

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS

JULIANA LOPES DE LIMA

EFEITO DA MARINAÇÃO ENZIMÁTICA E ULTRASSOM NA QUALIDADE DE
PEITO DE FRANGO AMADEIRADO ‘*Wooden Breast*’

JOÃO PESSOA - PB
2021

JULIANA LOPES DE LIMA

**EFEITO DA MARINAÇÃO ENZIMÁTICA E ULTRASSOM NA QUALIDADE DE
PEITO DE FRANGO AMADEIRADO ‘*Wooden Breast*’**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Tecnologia, Universidade Federal da Paraíba em cumprimento aos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Dra. Marta Suely Madruga
Coorientadora: Dra. Leila Moreira de Carvalho

JOÃO PESSOA – PB

2021

**Catálogo na publicação Seção de
Catálogo e Classificação**

L732e Lima, Juliana Lopes de.

Efeito da marinação enzimática e ultrassom na qualidade de peito de frango amadeirado (Wooden Breast) / Juliana Lopes de Lima. - João Pessoa, 2021.
82 f.

Orientação: Marta Suely Madruga. Coorientação: Leila
Moreira de Carvalho. Dissertação (Mestrado) - UFPB/CT.

1. Papaína. 2. Ave. 3. Propriedades funcionais. 4. Textura. I. Madruga,
Marta Suely. II. Carvalho, Leila Moreira de. III. Título.

UFPB/BC

CDU 637.5.032:637.54

JULIANA LOPES DE LIMA

**EFEITO DA MARINAÇÃO ENZIMÁTICA E ULTRASSOM NA QUALIDADE DE
PEITO DE FRANGO AMADEIRADO ‘*Wooden Breast*’**

Dissertação _____ em ____/____/_____

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dra. Marta Suely Madruga – PPGCTA/CT/UFPB

Orientadora e Presidente da Banca

Dra. Leila Moreira de Carvalho – LAQA/CT/UFPB

Coorientadora e Membro Interno

Prof. Dr. Mario Estevez - Universidade de Extremadura/UE/Caceres/Espanha

Membro Externo

Prof^a. Dra. Elza Iouko Ida – Universidade Estadual de Londrina/UEL

Membro Externo

AGRADECIMENTO

A Universidade Federal da Paraíba pelos seus recursos físicos, financeiros e humanos.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa concedida.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA), a todos os professores, os coordenadores e os secretários, por toda dedicação.

A minha orientadora Profa. Dra. Marta Suely Madruga, pela confiança na realização deste trabalho, pelo acolhimento em seu grupo de pesquisa e todo conhecimento repassado. Obrigada.

A minha coorientadora Dra. Leila Moreira de Carvalho, pelas correções, ajuda nas análises, por todo conhecimento, conselhos e amizade. Obrigada.

Aos professores Dra. Elza Iouko Ida e Dr. Mario Estévez, por participarem da banca examinadora desta pesquisa com suas excelentes contribuições.

A profa. Dra. Taliana Kennia Alencar Bezerra por ter me apresentando a profa. Marta e a todo o grupo de pesquisa, e disponibilidade em ajudar. Obrigada.

A toda a equipe “Madruga” (doutorandas, mestrandos e PIBICS) as técnicas Dra. Mércia Galvão e Dra. Leila Carvalho e a pós-doc Dra. Lorena Lucena por toda ajuda e amizade. Os dias foram mais leves porque tinha a presença de vocês nele.

A todos os colegas do PPGCTA, em especial os mestrandos e doutorandos ingressos em 2019. Gratidão por ter conhecidos cada um de vocês.

A todos que compõem as famílias “Lima” e “Lopes”, por acreditarem em mim, e sonhar junto, em especial as minhas tias Lúcia e Daluz, vocês são uma inspiração.

Aos meus pais Manuel e Graça, minhas irmãs Janayna e Joice, e meu sobrinho Miguel, por todas as orações, por sonharem junto e estarem diariamente comigo através das mensagens.

Vocês são o combustível necessário para continuar.

A todas as pessoas que de forma direta ou indireta me ajudaram no desenvolvimento da dissertação e me inspiram a ir sempre em busca os meus sonhos. Gratidão.

A Deus por seu amor e misericórdia incondicional, por me permitir sonhar e realizar sonhos, por me agraciar com tantas bênçãos e por ter enviado todas as pessoas citadas e tantas outras para me ajudar nessa etapa da minha caminhada. Sem Ti nada sou, em lugar algum posso chegar.

RESUMO

O peito madeira (WB) é uma miopatia observada em aves de rápido crescimento, pela aparência visual, funcionalidade e textura do músculo peitoral, tornando-o mais rígido. Os objetivos desta pesquisa foram avaliar o efeito do uso combinado da enzima papaína e ultrassom na marinação sob textura e qualidade física, análise química e tecnológica de peito de frango WB. Para avaliar os efeitos da concentração da enzima papaína (0,1; 0,2; 0,3%) e do tempo no ultrassom (10; 20; 30 min) na marinada, foi utilizado o planejamento fatorial completo 2^2 com 3 repetições no ponto central e a variável dependente foi a força de cisalhamento (FC). Os peitos marinados com textura ideal (MWB), peitos de frango PWB (sem ultrassom), WB e Normal (N) foram avaliados quanto à qualidade físico-química e propriedades tecnológicas. A FC da carne WB próximo ao da mama Normal foi obtido quando se utilizou papaína 0,2% e 20 min de ultrassom. O uso da enzima papaína na marinada de carne WB reduziu significativamente ($p < 0,05$), em até 48% (MWB) sua dureza, não sendo observado efeito do uso do ultrassom ou da interação enzima: ultrassom no intervalo estudado. A marinada reduziu a mastigabilidade da carne WB cozida; entretanto, o uso isolado da papaína conferiu à carne maior adesividade e consistência pastosa na superfície. As amostras marinadas (MWB e PWB) foram associadas a um maior teor de umidade, colágeno e solubilidade de proteínas miofibrilares. Do ponto de vista tecnológico, a marinada reduziu a perda de peso no cozimento da carne WB, tornando-a semelhante ($p < 0,05$) à carne normal. As medidas de oxidação lipídica apresentaram baixos valores de TBARS nos tratamentos marinados após o cozimento e na quantificação de compostos carbonílicos. No geral, a carne de frango WB marinada com papaína (com / sem ultrassom) apresentou textura e propriedades tecnológicas semelhantes às da carne Normal, com redução nos parâmetros de oxidação de proteínas e lipídios. Porém, o uso de papaína sem aplicação de ultrassom mostrou-se uma alternativa mais eficiente para melhorar a textura de peitos de frango WB.

Palavras-chave: Propriedades funcionais. Papaína. Tecnologias Emergentes. Textura.

ABSTRACT

Wooden breast (WB) is a myopathy seen in fast-growing birds, the visual appearance, functionality and texture of the chest muscle, making it more rigid. The objectives of this research were to evaluate the effect of the combined use of the enzyme papain and ultrasound on marinating under texture and physical quality, chemical and technological analysis of WB chicken breast. To assess the effects of the enzyme concentration papain (0.1; 0.2; 0.3%) and the time in the ultrasound (10; 20; 30 min) in marinating, the complete 2² factorial design was used with 3 repetitions at the central point and the dependent variable was the shear force (SF). The marinated breast with ideal texture condition (MWB), PWB chicken breasts without ultrasound, WB and Normal were evaluated for physical-chemical quality and technological properties. The SF of the WB meat close to that of the Normal breast was obtained when using 0.2% papain and 20 min of ultrasound. The use of the enzyme papain in marinating WB meat has significantly reduced ($p < 0.05$), by up to 48% (MWB) its hardness, with no effect of the use of ultrasound or of the enzyme: ultrasound interaction being observed within the studied range. Marinating reduced the chewiness of cooked WB meat; however, the isolated use of papain gave the meat greater adhesiveness, and a pasty consistency on the surface. The marinated samples (MWB and PWB) were associated with a higher moisture content, collagen and solubility of myofibrillar proteins. From a technological point of view, marinating reduced weight loss when cooking WB meat, making it similar ($p < 0.05$) to normal meat. The measures of lipid oxidation showed low values of TBARS in the treatments marinated after cooking and in the quantification of carbonyl compounds. Overall, WB chicken meat marinated with papain (with / without ultrasound) presented texture and technological properties similar to those of Normal meat, with reduction in protein and lipid oxidation parameters. However, the use of papain without application ultrasound proved to be a more efficient alternative to improve the texture of WB chicken breasts.

Keywords: Functional Properties. Papain. Emerging Technologies. Texture.

LISTA DE QUADROS E ILUSTRAÇÕES

MATERIAL E MÉTODOS

Figura 1- Esquema de separação e coleta de amostras de peito de frango (<i>Pectoralis major</i>) para análises químicas, físicas e bioquímicas.	29
---	----

ARTIGO

Figure 1 - Pareto chart of standardized effects of the different variables tested in the SF of marinated WB meat	78
Figure 2 - Response surface plot and contour plot showing the effects of variables on Shear Force	79
Figure 3 - SF and Texture profile (TPA) of WB, marinating WB and N chicken meat.....	80
Figure 4 - Principal component analysis (PCA) of WB, marinating WB (MWB and PWB) and N chicken meat	80

LISTA DE TABELAS

MATERIAL E MÉTODOS

Tabela 1- Variáveis independentes (papaína e tempo de ultrassom) e níveis codificados e valores reais usados no planejamento fatorial completo	28
Tabela 2- Planejamento experimental completo $2^2 + 3$ repetições do ponto central	28

ARTIGO

Table 1 - Design matrix (in coded level of two variables) and response value for Shear Force (SF) of marinated chicken breast	75
Table 2 - Analysis of variance (ANOVA) for full factorial experimental design	76
Table 3 - Characterization of N, WB and marinating MWB and PWB chicken meat	77

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

a*	Componente da cor vermelho-verde
ANOVA	Análise de Variância
b*	Componente da cor amarelo-azul
DNPH	Dinitrofenilhidrazina
FC	Força de cisalhamento
L*	Luminosidade
MDA	Malonoaldeído
PPC	Perda de Peso por Cozimento
PS	Proteína Sarcoplasmática
PM	Proteína Miofibrilar
R ²	Coeficiente de determinação
TBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
TPA	Perfil de Textura
WOF	Aroma Requentado (<i>Warmed-over flavor</i>)
WB	<i>Wooden Breast</i>

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	14
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	17
2.1 MIOPATIAS EM FRANGO DE CORTE	17
2.2 QUALIDADE DA CARNE WB	19
2.3 AMACIAMENTO DE CARNE	21
2.3.1 Amaciamento por enzimas.....	22
2.4 USO DE ULTRASSOM NO AMACIAMENTO DE CARNES.....	24
3 MATERIAL E MÉTODOS	27
3.1 MATÉRIA-PRIMA	27
3.1.1 Animais	27
3.1.2 Avaliação do efeito da marinação com papaína e ultrassom dos peitos de frango de WB sobre a força de cisalhamento	27
3.2 MÉTODOS ANALÍTICOS.....	30
3.2.1. Medições da Força de Cisalhamento (FC)	30
3.2.2 Caracterização físico-química	30
3.2.3 Caracterização das propriedades tecnológicas	30
3.2.4 Análises de oxidação lipídica e proteica	32
3.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	33
4 REFERÊNCIAS.....	34
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	50
5.1 ARTIGO: MARINATING WOODEN BREAST: EFFECT OF ENZYMATIC HYDROLYSIS AND LOW FREQUENCY ULTRASOUND	50
Abstract	51
1. Introduction.....	52
2. Material and Methods	54
2.1 Sample collection and breast classification	54
2.2 Evaluation of the effect of marinating with papain and ultrasound on the shear force of WB chicken breasts.....	54
2.3 Warner-Bratzler shear force measurements	55
2.4 Physico-chemical characterization.....	55
2.5 Characterization of technological properties	56
2.6 Analysis of lipid and protein oxidation.....	57
2.7 Statistical analysis	58
3. Results and discussion	58

3.1 Evaluation of shear force (SF) in the marinating process of WB meat using papain and ultrasound.....	58
3.2 Characterization of WB marinated, N and WB chicken meat	60
3.3 Texture parameters of WB, marinating WB (best condition) and N chicken meat	62
3.4 Principal Component Analysis (PCA) of WB, marinating WB and N chicken meat	64
4. Conclusion	65
ACKNOWLEDGEMENTS	65
Reference	65
CONCLUSÕES GERAL.....	82

1 INTRODUÇÃO

A produção avícola mundial vem crescendo continuamente, alcançando valores de aproximadamente 100 milhões toneladas no ano de 2019 (ABPA, 2020; FAOSTAT, 2020), graças aos avanços na seleção genética, manejo e alimentação das aves (PETRACCI *et al.*, 2019). No entanto, o surgimento de anormalidades acompanhou o desenvolvimento da cadeia produtiva avícola influenciando negativamente a qualidade da carne, em especial os peitos (HUANG; AHN, 2018).

As anormalidades comumente encontradas na carne de frango incluem a miopatia ‘*Deep Pectoral Myopathy*’ (DPM) (MARONPOT, R; BUCCI, T; STEDHAM, M, 1968), condições de ‘*Pale, Soft and Exudative*’ (PSE) (BARBUT *et al.*, 2008) e recentemente as miopatias ‘*White Striping*’ (WS), ‘*Wooden Breast*’ (WB) e ‘*Spaghetti Meat*’ (SM) (PETRACCI *et al.*, 2019). O fenômeno WB evidenciou-se no peito de frango a partir de 2010, sendo caracterizado por apresentar um peito de cor pálida e com maior rigidez no músculo *Pectoralis major* das aves (SIHVO, H. K.; IMMONEN; PUOLANNE, 2014). Além disso, a miopatia WB altera também a qualidade química e funcionalidade da carne (MUDALAL *et al.*, 2015a; SIHVO, H. K. *et al.*, 2018), gerando perdas no setor avícola em diversos países do mundo (HUANG; AHN, 2018).

No Brasil, o Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal (DIPOA) por meio do Ofício Circular nº 17, de 13 de dezembro de 2019, classifica as carnes WB em três graus distintos, sendo eles: leve e moderado leve, moderado acentuado e severo (BRASIL, 2019). Conforme o grau, essas carnes podem ser comercializadas *in natura*, utilizadas como matéria-prima para industrializados ou direcionadas para a produção de produtos não comestíveis (BRASIL, 2019). Alternativas utilizando a carne WB em produtos cárneos processados como hambúrgueres (SANTOS *et al.*, 2019), linguiça frescal (MADRUGA *et al.*, 2019) e mortadela (OLIVEIRA *et al.*, 2019); têm sido enfatizados por pesquisadores, objetivando agregar valor à carne WB.

Do ponto de vista sensorial, um dos principais problemas da carne WB é a dureza parcial ou integral desses peitos. Portanto, há um interesse considerável em desenvolver estratégias para melhorar a maciez da carne WB. Imersão ou injeção com fosfato foi utilizado na carne WB com intuito de melhorar sua textura e qualidade (AGUIRRE *et al.*, 2018; BOWKER, B; ZHUANG, 2018; MAXWELL *et al.*, 2018); entretanto, os resultados apresentaram redução na capacidade de retenção de água e força de cisalhamento superior a carne normal. Por outro lado, até o momento, o emprego de enzimas no amaciamento do peito WB ainda não foi reportado.

As proteases vegetais, como bromelina, ficina, e papaína, têm sido usadas com sucesso na indústria de alimentos objetivando-se o amaciamento de diferentes músculos (CAO *et al.*, 2021; JUN-HUI *et al.*, 2020; MAQSOOD *et al.*, 2018; MUTHULAKSHMI *et al.*, 2018). A papaína é uma cisteína protease de origem vegetal extraída do mamão (*Carica papaya*), capaz de hidrolisar proteínas miofibrilares e tecido conjuntivo, em uma ampla faixa de temperatura (ARSHAD *et al.*, 2016). Seu uso como amaciante de carne pode ser por injeção em animais antes de serem abatidos, entretanto, o emprego nos animais após o abate é o mais aceitável através de mistura em líquidos com outros ingredientes (FERNÁNDEZ-LUCAS; CASTAÑEDA; HORMIGO, 2017).

A marinação de cortes cárneos e peças inteiras é uma técnica antiga, utilizada para agregar aroma e sabor à carne, além de amaciar a textura de cortes mais rígidos (YUSOP *et al.*, 2010). A marinação consiste em submeter uma peça de carne a uma salmoura contendo sal, ácidos orgânicos, fosfatos, ervas, especiarias e outros ingredientes que melhorem sua qualidade sensorial (SENGUN *et al.*, 2021).

Os métodos mais utilizados para marinar consistem na imersão em salmoura, a manipulação física e injeção do líquido por agulhas, normalmente adotado em plantas comerciais (YUSOP *et al.*, 2012). Entretanto, o tempo de marinação para alcançar resultados satisfatórios costuma ser longo e limita a produção em escala industrial (YUSOP *et al.*, 2010). Porém, estudos tem registrado o uso de novas tecnologias, como a alta pressão e o ultrassom, que podem diminuir consideravelmente o tempo de preparo de cortes marinados.

O ultrassom é uma tecnologia emergente, não térmica, não invasiva e verde (ALARCON-ROJO *et al.*, 2015,) que pode ser utilizada no amaciamento de tecidos cárneos (LI *et al.*, 2018; MCDONNELL *et al.*, 2014; PEÑA-GONZALEZ *et al.*, 2019; ZOU *et al.*, 2018) e tem mostrado resultados satisfatórios. O ultrassom de alta frequência e baixa intensidade (> 1 MHz, < 1 W cm⁻²), e ultrassom de baixa frequência e alta intensidade (20-100 kHz com 10-100 W cm⁻²) são úteis na tecnologia de alimentos, sendo o último utilizado para modificar estruturas celulares, e de uma série de outros processos (ALARCON-ROJO, A. D. *et al.*, 2015).

O uso combinado com outros métodos tem sido usado para aumentar a eficiência no processamento e preservação de alimentos (NATARAJAN; PONNUSAMY, 2020). O uso associado de ultrassom e enzimas na indústria de carne tem apontado uma melhoria nas propriedades funcionais da carne, como o aumento na capacidade de retenção de água, capacidade e estabilidade de emulsões e redução na perda por cozimento e da força de cisalhamento têm sido reportados (BAREKAT; SOLTANIZADEH, 2019; CAO *et al.*, 2021). Apesar disso, ainda não foi investigado o efeito do uso do ultrassom e da protease papaína na

melhoria da qualidade do peito de frango WB. Portanto, faz-se necessário desenvolver estratégias que possam minimizar a dureza do peito WB, possibilitando o melhor aproveitamento dos mesmos sem que se afete suas propriedades tecnológicas. Logo, os objetivos deste estudo foram: i) avaliar o efeito do uso combinado da enzima papaína e ultrassom na textura do peito de frango WB usando a metodologia de Superfície de Resposta; ii) avaliar o efeito da marinação enzimática do peito WB na qualidade física, química e tecnológica.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 MIOPATIAS EM FRANGO DE CORTE

Os últimos anos mostraram aumento da preferência do consumidor por carne de frango, em relação a outras proteínas de origem animal. O acréscimo no consumo mundial da carne de frango pode ser atribuído ao custo relativamente baixo, valor nutricional, propriedades sensoriais e diversidade de preparo (PETRACCI *et al.*, 2019).

A demanda populacional por carne de frango, levou a seleção de animais de maior peso e rendimento, impulsionando os avanços em seleção genética e nutrição, que foram fundamentais para garantir a redução no tempo de crescimento de mercado das aves em cerca da metade do tempo e aumento de até 5% no músculo do peito (BESKI; SWICK; IJI, 2015). Entretanto, a produção do frango moderno é acompanhada por alterações na arquitetura muscular do peito das aves, descritas como miopatias (PETRACCI *et al.*, 2015).

Miopatias são alterações que afetam principalmente a estrutura do músculo esquelético, o metabolismo ou a função do músculo (NAGY; VEERAPANENI, 2020). Um dos primeiros relatos de miopatia em aves, foi observado primeiro em perus, e mais tarde em frangos de corte, e tratava-se da miopatia peitoral profunda (SILLER, 1984). Outras alterações relacionadas a desordens na musculatura do peito das aves vêm sendo classificadas como ‘*Spaghetti Meat*’ (SM) “peito desfiado”, ‘*White Striping*’ (WS) “peito estriado” e o ‘*Wooden Breast*’ (WB) “peito amadeirado” (PETRACCI *et al.*, 2019).

A miopatia peitoral profunda é causada pela deficiência de aporte sanguíneo e oxigênio ao músculo, sendo caracterizada principalmente pela coloração que varia do amarelo claro ao verde-azulado do músculo, com textura fibrosa e seca, e aparência edematosa (KIJOWSKI; KONSTANCZAK, 2009). Além disso, está relacionada com linhagens de aves de maior rendimento do peito, e aves com essa miopatia, estão sujeitas ao descarte da carcaça ou peça após o abate (MELOCHE *et al.*, 2018).

A carne espaguete (SM), a mais recente das miopatias modernas é uma anormalidade muscular emergente, associada ao frango de corte moderno, que afeta o músculo *Pectoralis major*, cujo as primeiras características morfológicas foram descritas pela primeira vez em 2015 (TASONIERO, *et al.*, 2020). SM altera a integridade estrutural do músculo na superfície cranial, uma consistência fibrosa e macia na porção ventro-cranial devido à pouca coesão dos feixes de fibras musculares (BALDI *et al.*, 2018).

WS é descrita como o aparecimento de estrias brancas seguindo a mesma direção da fibra muscular na superfície do músculo *Pectoralis major*, com taxa de incidência superior a 50 % em condições experimentais, facilmente visualizadas na carne crua (KUTTAPPAN *et al.*, 2012; PETRACCI *et al.*, 2019). Caracterizada pela primeira vez em 2009 por Kuttappan *et al.* (2009) as estrias revelam acúmulo de lipídeos e a proliferação de tecido conjuntivo, levando o consumidor a rejeição do produto, influenciado pela aparência negativa dos peitos de frango (DE CARVALHO, L.M. *et al.*, 2020; PETRACCI *et al.*, 2019).

O peito madeira (WB) é caracterizado por áreas endurecidas, pálidas e protuberâncias em forma de crista na extremidade caudal (SIHVO, H. K.; IMMONEN; PUOLANNE, 2014; ZHANG *et al.*, 2020). Geralmente, encontra-se associada a miopatia WS, e exibe prejuízo nas propriedades tecnológicas, como capacidade de retenção de água reduzida, maior perda de peso no cozimento e menor absorção de salmoura na marinação, além de alterações na textura e coloração da superfície do peito e na qualidade final da carne (BOWKER, B; ZHUANG, 2018; KUTTAPPAN; HARGIS; OWENS, 2016; MUDALAL *et al.*, 2015a PETRACCI *et al.*, 2019; SOGLIA, *et al.*, 2017).

A carne afetada por essas miopatias não representa risco de segurança alimentar, no entanto, a sua qualidade é inferior a carne normal (MUDALAL *et al.*, 2015b). Peitos WB apresentam menor teor de proteínas e aumento do conteúdo lipídico e de colágeno em comparação ao peito Normal (CARVALHO *et al.*, 2020). Pesquisas realizadas com consumidores, exibem que a informação sobre a miopatia, aumenta a rejeição de carnes com miopatias (CARVALHO *et al.*, 2020), gerando perdas econômicas para a indústria avícola (KUTTAPPAN; HARGIS; OWENS, 2016; TASONIERO, G *et al.*, 2016).

As informações sobre a causa dessas miopatias ainda é limitada, e relacionam-se à animais de maior peso de mercado, em linhagens comerciais, geneticamente melhoradas para alcançar maior rendimento (PETRACCI *et al.*, 2015). Um estudo com análise sequenciada de RNA, sugeriu que hipóxia localizada, estresse oxidativo, níveis mais altos de cálcio intramuscular e troca de tipo de fibra muscular (MUTRYN *et al.*, 2015), associados aos fatores citados anteriormente podem estar fortemente associados à ocorrência destas miopatias (PETRACCI *et al.*, 2019).

A seleção para obter características de alto rendimento de peito tende a aumentar a pressão genética sobre as aves, e podem estar relacionadas com modificações bioquímicas e histológicas do tecido muscular (BAILEY; SOUZA; AVENDANO, 2020). O crescimento do musculo peitoral obtido pela seleção genética tem sido alcançado através da hipertrofia das fibras musculares, resultando em aumento do diâmetro das fibras, reduzindo o espaço para o

tecido conjuntivo e, como consequência, causa aumento na degeneração muscular (VELLEMAN; CLARK, 2015).

Além do aspecto prejudicado, há um aumento nos problemas de qualidade da carne associado ao processamento dessas proteínas como falta de tenacidade, fraca coesão e aumento da ocorrência de problemas relacionados com capacidade reduzida da carne para reter água durante o processamento e armazenamento (BAILEY *et al.*, 2015b).

2.2 QUALIDADE DA CARNE WB

O surgimento da miopatia ‘wooden breast’ (WB) é um fenômeno recente, característico de frangos modernos, que afeta principalmente as aves com alta taxa de crescimento e maior peso do músculo do peito. A miopatia é encontrada em sua maior parte subclínica, que é assintomática, e na maioria das vezes, a condição só se torna clínica na idade de abate das aves, em torno de 40-50 dias (PAPAH *et al.*, 2017).

WB resulta na aparência fenotípica da descoloração muscular, com revestimento viscoso na superfície externa e consistência palpavelmente dura, com pequenas hemorragias (SIHVO, H. K.; IMMONEN; PUOLANNE, 2014). Peitos WB, segundo o Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal (DIPOA), são classificados em graus variáveis, descritos como leve e Moderado Leve (lesões no músculo de grau leve, como menos de 40% de lesões no tecido, na região caudal e cranial do peito, endurecido em partes do filé e sem presença de petéquias); moderado acentuado (lesões no músculo de grau moderado, com 40% a 80% de lesões no tecido, e possível presença de pequenas petéquias localizadas, na região caudal e cranial do peito, endurecido integral da peça) e severo (lesões no músculo de grau severo, com mais de 80% de lesões distribuídas no tecido, com presença de hemorragias e fluído amarelado, caracterizando uma lesão aparente extensa (BRASIL, 2019).

O início e a gravidade de WB são influenciados pelo genótipo, sexo, taxa de crescimento, dieta e peso de *P. major* (GRIFFIN *et al.*, 2018). A ocorrência das miopatias WB e WS parece prevalecer em frangos machos, enquanto que na condição SM prevalece em aves fêmeas (PETRACCI *et al.*, 2019).

O início da miopatia WB é caracterizado pelo inchaço do músculo *Pectoralis major*, seguida de lesões descoloridas, que inicialmente aparece na região cranial podendo se estender à região caudal do músculo *Pectoralis major*, sendo o músculo afetado principalmente quando o frango atinge o peso de mercado de 3 a 4 kg, entre os 42 até a 56 dias após a eclosão (ABASHT *et al.*, 2019), sendo facilmente detectada quando as aves atingem a idade de mercado ou durante

o abate na indústria (PAPAH *et al.*, 2017). Nos casos mais grave é notório a presença de uma protuberância proeminente na área caudal do filé (SIHVO *et al.*, 2017)

É possível identificar evidências de WB a partir da primeira semana de idade (PAPAH *et al.*, 2017; SIHVO, H.-K. *et al.*, 2017), todavia, os casos mais severos são notados 30 dias após a eclosão, e inclui mudanças proeminentes na forma do músculo como fibrose extensa e deposição de colágeno, visualizado como um espessamento do tecido perimísio (GRIFFIN *et al.*, 2018).

Estima-se que de 48% a 73% dos frangos comerciais são pelo menos afetados moderadamente pelo peito amadeirado (SIHVO, H.-K. *et al.*, 2017). Cruz *et al.* (2017) estimaram que a ocorrência de WB atinge cerca de 39% das aves com até 35 dias de crescimento. Essa estimativa aumenta para 89% das aves quando atingem 42 dias de crescimento, resultando em perdas econômicas para os abatedouros de aves em escala mundial, já que frangos acometidos pela miopatia WB são encontrados em diversos países do mundo, entre eles, Finlândia, Estados Unidos, Itália, Reino Unido e Brasil (KUTTAPPAN *et al.*, 2017).

Nos países com alta produção de carne de frango como USA, estima-se que as perdas causadas pelo WB possam chegar a US \$ 200 milhões ao ano (HUANG; AHN, 2018). No Brasil, Madruga *et al.* (2019) consideraram a incidência média de 11% sob a produção de frangos em 2015 e a cotação de preço da carcaça em janeiro de 2018, concluindo que as perdas econômicas podem atingir valores de US \$ 30 milhões a cadeia produtiva ao país.

Entre os danos causados por essa miopatia, a textura do músculo é a mais afetada, resultando em maior força e energia para o corte tanto na carne crua, quanto na carne cozida (CHATTERJEE *et al.*, 2016). Processos como o congelamento, descongelamento, cozimento e marinação com NaCl não são satisfatórios para melhorar a textura do músculo WB (BOWKER, B. C. *et al.*, 2018; GOKOGLU *et al.*, 2017; MAXWELL *et al.*, 2018), permanecendo com a textura mais firme que o peito de frango normal.

A aparência visual com pequenas hemorragias e o aspecto sensorial prejudicado, é outro aspecto negativo da anomalia no músculo do peito, (VELLEMAN, 2018). De acordo com a Instrução normativa nº 20/1999, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), carne de frango deve ter uma aparência geral uniforme, sem acúmulo de sangue, sem corpos estranhos e manchas escuras, além de possuírem fibras musculares finas. A cor deve ser uniforme, variando do avermelhado amarelo a amarelo esbranquiçado, com peito de frango tendo o tom mais claro, sem machas escura. A consistência é geralmente firme, macia e ligeiramente úmida (BRASIL, 1999).

Ademais, como consequência da sua composição alterada (baixa proteína e elevado conteúdo de umidade, colágeno e gordura), os músculos WB exibem um comprometimento do perfil nutricional, que podem resultar em maiores níveis de oxidação lipídica (SOGLIA, F. *et al.*, 2016).

Uma alternativa é o uso da carne WB na elaboração de produtos processados como embutidos cozidos e emulsionados (ROCHA *et al.*, 2020; SANTOS *et al.*, 2019). Porém, produtos processados como linguiça e emulsionados tipo hambúrguer apresentam menor valor comercial, o que acarreta perdas econômicas para os abatedouros de aves. Buscar alternativas para melhorar a qualidade e a textura do peito de frango WB é um campo ainda com muitas vertentes a ser explorado.

2.3 AMACIAMENTO DE CARNE

A maciez é considerada um dos principais fatores na decisão de compra de carnes (MADHUSANKHA; THILAKARATHNA, 2021). Os consumidores entendem a variabilidade na maciez da carne ao associá-la ao preço e aos métodos de cozimento para diferentes cortes de carne (GAGAOUA *et al.*, 2021).

A maciez depende de vários fatores como espécie, idade do animal, estado de nutrição, sexo e tipo de músculo, fatores pré e pós-abate, bem como duração e temperatura em que o produto é armazenado *post-mortem* (BOLUMAR *et al.*, 2013). As fibras musculares variam em seu tipo e conteúdo de colágeno e, portanto, músculos com diferentes composições de tipos de fibras variam em sua maciez (BHAT *et al.*, 2018; KEMP *et al.*, 2010; KEMP; PARR, 2012). A maciez do músculo é resultado da quantidade de tecido adiposo e conjuntivo, comprimento dos sarcômeros, proporção dos sistemas proteolíticos ou inibidores endógenos (GAGAOUA *et al.*, 2021).

Naturalmente, após o abate, as fibras musculares encurtam, fazendo com que a carne fique dura (PALKA, 2003). Após as 48 horas, ocorrem mudanças bioquímicas complexas que resultam em uma carne macia o suficiente para atender as expectativas do consumidor, cujo processo é conhecido como tenderização (WOINUE *et al.*, 2020).

Vários processos bioquímicos, incluindo lipólise e oxidação, estão envolvidos durante o envelhecimento *post-mortem* da carne, mas o processo mais importante para a maciez é a proteólise das miofibrilas (BEKHIT *et al.*, 2014; BHAT *et al.*, 2018; HA *et al.*, 2013).

A proteólise é responsável pelo enfraquecimento das miofibrilas, endomísio e perimísio do tecido conjuntivo (TAKAHASHI, 1996). As principais enzimas envolvidas neste processo

são proteinases (catepsinas e calpaínas) e exopeptidases (peptidases e aminopeptidases) (TABILO *et al.*, 1999).

Embora o envelhecimento seja um método comum de amaciamento e seja muito eficaz para melhorar a palatabilidade dos cortes de carne que têm quantidades relativamente pequenas de tecido conjuntivo e não foram encurtados a frio, ele tem considerações econômicas em termos de espaço, tempo, trabalho e energia, e quando se trata do músculo WB as mudanças são diferentes do peito de frango normal (TASONIERO *et al.*, 2020). Na tentativa de melhorar a textura da carne vários métodos podem ser utilizados para amaciá-la, entre eles produtos químicos, métodos físicos e mecânicos e enzimas de fontes vegetais (ARSHAD *et al.*, 2016).

2.3.1 Amaciamento por enzimas

A hidrólise de proteínas miofibrilares da carne é considerada um fator chave responsável pela maciez. Algumas enzimas têm o potencial de reduzir a quantidade de tecidos conjuntivos detectáveis com a degradação mínima de fibras musculares por proteólise controlada de proteínas direcionadas (BHAT *et al.*, 2018), e outras enzimas exógenas podem degradar tanto as proteínas miofibrilares quanto os tecidos conectivos (ARSHAD *et al.*, 2016; RYDER *et al.*, 2015).

Proteases, peptidases ou proteinases são enzimas que hidrolisam ligações peptídicas das proteínas em fragmentos mais curtos (peptídeos), e eventualmente em seus componentes, aminoácidos (FERNÁNDEZ-LUCAS; CASTAÑEDA; HORMIGO, 2017). O uso de proteases exógenas no amaciamento da carne é um dos métodos mais importantes, popular e progressivos para alcançar a maciez sem afetar agressivamente a estrutura da carne (MAQSOOD *et al.*, 2018).

A textura da carne pode ser melhorada pela degradação de proteínas musculares através de enzimas exógenas, como enzimas de origem vegetal e microbiana (BHAT *et al.*, 2018). Enzimas proteolíticas derivadas de fontes vegetais como a papaína, actidina, a bromelina, a zingibaina e a ficina, têm sido testadas mais frequentemente como amaciadores de carne (GAGAOUA *et al.*, 2021).

Cada uma dessas proteases tem diferentes graus de atividade contra as proteínas miofibrilares e estruturais, e o colágeno (GAGAOUA *et al.*, 2021). Essas enzimas também são as principais proteases usadas, para aumentar a maciez da carne de diferentes espécies, por exemplo, no peito de frango (CRUZ *et al.*, 2020), galinha comercial de postura (CAO *et al.*, 2021), na carne de cavalo (KIM; JOO, 2020), em bifes bovinos (ZHU *et al.*, 2018), iaque (MA

et al., 2019), camelo (BAREKAT; SOLTANIZADEH, 2017) e lula gigante (JUN-HUI *et al.*, 2020).

Entre essas proteases de origem vegetal, e até onde se sabe, apenas bromelina, ficina e papaína foram reconhecidas como seguras (GRAS) para serem usadas como agentes amaciantes de carne ou para produzir peptídeos e hidrolisados de proteínas (ARSHAD *et al.*, 2016). Essas proteases também podem induzir maciez excessiva, tornando a carne ainda pastosa; portanto, otimizar as condições físicas e o tempo de uso é muito importante (GAGAOUA *et al.*, 2021).

Como amaciadores de carne, as enzimas proteolíticas são mais adequadas para a degradação de colágeno no tecido conjuntivo a pH e temperatura relativamente baixos (RYDER *et al.*, 2015). Entre as enzimas vegetais utilizadas a papaína é a protease frequentemente usada no amaciamento de tecidos cárneos.

2.3.1.1 Papaína

A papaína é uma protease vegetal isolada do mamão (*Carica papaya*), onde o fruto e a folha têm sido utilizados, historicamente, para o amaciamento de carne. A aplicação da enzima papaína para aumentar a sensibilidade da carne é considerada há anos. Sendo uma das enzimas mais comuns usadas para amaciamento artificial de carne devido à sua capacidade de quebrar proteínas miofibrilares e tecidos conjuntivos, e aumentar a sensibilidade da carne (BAREKAT; SOLTANIZADEH, 2019).

A papaína é uma protease de cisteína da família da peptidase de ampla especificidade, que hidrolisa proteínas, peptídeos, amidas e ésteres de aminoácidos e peptídeos. A papaína tem peso molecular de 23 kDa e o pH e a temperatura ideais para a atividade são de 6,0, - 7,0 e 65°C, respectivamente (KAKIZAKI *et al.*, 2019).

A aplicação da enzima papaína em galinha comercial de postura melhora a qualidade tecnológica como a capacidade de retenção de água e o rendimento após o processo de cocção (CAO *et al.*, 2021). Outros parâmetros também são significativamente afetados ao marinar a carne contendo enzima, tais como a solubilidade do colágeno e a força de cisalhamento que, em geral, apresenta-se menor (FERNÁNDEZ-LUCAS; CASTAÑEDA; HORMIGO, 2017).

A enzima papaína é eficaz no tratamento de tenderização de tecidos musculares de diferentes animais, mostrando-se sempre mais eficiente do que as outras enzimas vegetais comumente empregadas no amaciamento cárneo, tais como a bromelina e ficina, mesmo quando empregada pela técnica tradicional de imersão por longo período de tempo, em temperatura distinta a sua ótima de atuação (MAQSOOD *et al.*, 2018).

Tradicionalmente as enzimas são empregadas no amaciamento cárneo por processos que envolvam imersão da carne em uma salmoura, injeção da salmoura na carne ou reidratação da carne liofilizada numa solução enzimática (BAREKAT; SOLTANIZADEH, 2019; YUSOP *et al.*, 2010). No entanto, esses métodos são pouco satisfatórios por causar baixa penetração da enzima (MAQSOOD *et al.*, 2018). Assim, a indústria procura métodos novos que acelere ou potencialize a penetração da salmoura (BAREKAT; SOLTANIZADEH, 2017).

Embora o conceito para o uso de enzimas proteolíticas não seja novo, o sinergismo entre as enzimas vegetais e outras tecnologias ainda é pouco explorado (ARSHAD *et al.*, 2016).

2.4 USO DE ULTRASSOM NO AMACIAMENTO DE CARNES

Investimentos em tecnologia levaram ao desenvolvimento e surgimento de métodos de processamentos inovadores térmicos e não térmicos para melhorar a qualidade microbiológica, reduzir as perdas, aumentar a eficiência e modificar a textura (ALARCON-ROJO *et al.*, 2019). Outros métodos para amaciar os tecidos cárneos, têm recebido muita atenção de pesquisadores, oferecendo possibilidades únicas, que não podem ser alcançadas em outros métodos (BOLUMAR *et al.*, 2013).

Warner *et al.*, (2017), citaram o processamento de alta pressão, ondas de choque, campo elétrico pulsado, alongamento muscular e ultrassom como tecnologias aplicáveis à carne para amaciar, causando o mínimo de prejuízo a qualidade.

O ultrassom se refere a ondas sonoras além da faixa de frequência audível (> 20 kHz). Uma tecnologia inovadora que tem ganhado importância na indústria de alimentos por apresentar capacidade de inativar enzimas, não altera o sabor, cor e qualidade nutricional dos alimentos (PINTON *et al.*, 2019), tornou-se uma tecnologia viável na indústria de alimentos em grande escala a partir da década de 1990 (GALLO; FERRARA; NAVIGLIO, 2018).

O princípio básico do ultrassom é a cavitação acústica. A compreensão e a depressão induzidas por ondas ultrassônicas que se propagam por qualquer meio, energia excessiva produzida devido à sonicação, produzem microbolhas na estrutura, cuja implosão leva a um fenômeno conhecido como cativação que propaga ondas de choque de alta energia por todo o tecido, provocando efeitos químicos, físicos e biológicos (BAREKAT; SOLTANIZADEH, 2017; NATARAJAN; PONNUSAMY, 2020).

Os efeitos químicos e físicos provocados pelo ultrassom são todos microscópicos, entretanto, as interações dessas reações químicas e físicas induzidas pela cavitação com o alimento, provoca mudanças macroscópicas perceptíveis pelo consumidor em termos de sabor,

cor e consistência (GALLO; FERRARA; NAVIGLIO, 2018) dependendo da potência usada no tratamento.

As ondas ultrassônicas são vibrações mecânicas com frequência superior a 20 kHz, podendo ser dividido basicamente em duas faixas, a de alta potência (alta intensidade) e baixa potência (baixa intensidade) (BAREKAT; SOLTANIZADEH, 2019). O ultrassom de baixa e alta frequências podem ser utilizados na avaliação das propriedades físico-químicas, estruturais das substâncias alimentícias e também na detecção de materiais estranhos presentes nos produtos alimentícios (NATARAJAN; PONNUSAMY, 2020).

O ultrassom é uma tecnologia segura, relativamente barata e simples e de rápida aplicação. Além disso, possui uma ampla gama de aplicações na indústria alimentícia, principalmente com a finalidade de modificar propriedades das proteínas alimentares, aumentar o prazo de validade e qualidade dos produtos, melhorando os processos de congelamento, descongelamento, fermentação, liofilização, emulsificação, cristalização cinética de reações, técnicas de extração, marinação, amaciamento entre outros (SINGLA; SIT, 2021; TURANTAŞ; KILIÇ; KILIÇ, 2015).

O ultrassom também pode ser aplicado para amaciar a carne. Rotineiramente, o ultrassom de baixa frequência é usado para melhorar a qualidade da carne, o sabor e a maciez, que são atributos de qualidade muito importantes para o consumidor (PEÑA-GONZALEZ *et al.*, 2019).

No tecido cárneo o ultrassom atua de duas maneiras distinta: quebrando a integridade das células musculares, causando o rompimento físico dos materiais por meio dos mecanismos da cavitação e promovendo reações enzimáticas (ALARCON-ROJO, A. D. *et al.*, 2015; CHANDRAPALA *et al.*, 2012). Sua ação libera proteínas miofibrilares das células musculares e aumenta a capacidade de ligação de água e coesão da carne (GALLO; FERRARA; NAVIGLIO, 2018), entretanto retêm os voláteis da carne e aumentam a oxidação de proteínas e lipídeos (NATARAJAN; PONNUSAMY, 2020), o que não é desejável.

Kang *et al.* (2017) descreveram que o uso do ultrassom poderia melhorar as características de textura da carne, pois o transporte de água e NaCl podem ser acelerados, e influenciar na capacidade de retenção de água, e a funcionalidade do gel de carne, através da modificação da estrutura proteica e degradação das miofibrilas. O uso do ultrassom também é eficiente no aumento da água em tecido cárneos, na redução da coesão e gomosidade, isto porque as ondas ultrassônicas podem ajudar na transferência de salmoura, além de reduzir o tempo de processamento (MCDONNELL *et al.*, 2014).

Em resumo os mecanismos de amaciamento do ultrassom na carne correspondem a três aspectos i) destruição física das miofibrilas e estruturas; ii) aumento da hidrólise das proteínas durante o envelhecimento (como aumento da liberação de catepsina) e ruptura do colágeno e das membranas celulares; e iii) alterações físico-químicas de proteínas e propriedades de gelificação (SHI *et al.*, 2020).

Além do uso isolado, o ultrassom pode ser utilizado na indústria da carne combinado com outras técnicas para reduzir o tempo de processo. Xiong *et al.* (2020) relataram que o uso do ultrassom combinado com a marinação, pode ter um efeito sinérgico nas propriedades da carne, tais como acréscimo de sensibilidade e decréscimo na perda após cocção.

Barekat e Soltanizadeh (2017) estudaram a aplicação do ultrassom combinado a enzima papaína em músculos *Longissimus lumborum* e apresentaram redução na força de cisalhamento e parâmetros de textura quando o ultrassom foi aplicado na potência ultrassônica de 100W por 20 min em ondas de 20 kHz. Já Cao *et al.* (2021) relataram que a aplicação combinada de enzima e ultrassom na carne de galinha comercial de postura pode, ter efeitos adversos sobre a cor e o pH da carne, entretanto, há uma redução significativa na força de cisalhamento e aumento na capacidade de retenção de água da carne. Embora os mesmos autores, descrevam uma piora gradativa na força de cisalhamento e capacidade de retenção de água da carne com a extensão do tempo de ultrassom.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MATÉRIA-PRIMA

3.1.1 Animais

Os filés de peitos de frango da linhagem comercial Cobb®, machos e fêmeas, com idade de abate entre 42 e 46 dias foram coletados em abatedouros do estado da Paraíba, com Selo de Inspeção Federal (SIF). Os peitos foram selecionados aleatoriamente logo após o abate e desossa. Foram coletados os filés de peito de frango conforme a classificação da Inspeção Federal Normal (N) (sem áreas endurecidas ou estrias brancas aparentes na superfície) e os acometidos pela miopatia ‘Wooden Breast’ severo (WB) (peitos com dureza extrema por toda superfície, com pontos de hemorragia). A identificação dos peitos em N e WB foi feita por aspecto visual e palpação do músculo *Pectoralis major*, conforme descrito por Bailey *et al.*, (2015a).

Após a classificação, os filés foram colocados em sacos plásticos de polietileno e armazenados em caixa térmica, com gelo, e conduzido ao Laboratório de Análises Químicas de Alimentos (LAQA/CT/UFPB). No laboratório, os peitos foram limpos do excesso de gordura, fragmentos de ossos e tecido conectivo, identificados e armazenados sob refrigeração (4 °C). No tempo de 24 horas após a coleta os filés foram divididos em duas metades, sendo a porção direita denominada de controle (WB sem marinação) e a esquerda submetida a marinação (MWB).

3.1.2 Avaliação do efeito da marinação com papaína e ultrassom dos peitos de frango de WB sobre a força de cisalhamento

As condições do processo de amaciamento da carne WB, utilizando a enzima papaína e o ultrassom, foram avaliadas mediante um Planejamento Fatorial Completo 2², com 4 pontos fatorais e 3 pontos centrais, totalizando 7 experimentos (Tabela 1). As variáveis independentes investigadas foram: X₁ ou E (concentração da enzima papaína: 0,1; 0,2; 0,3%; Brauzyn®100, marca Prozyn) e X₂ ou U (tempo de ultrassom: 10, 20, 30 min); a variável dependente para o amaciamento foi FC (Força de cisalhamento) (Tabela 2). Foi considerado como FC desejável do peito de frango marinado o ensaio que apresentou FC similar ao normal.

Tabela 1- Variáveis independentes (papaína e tempo de ultrassom) e níveis codificados e valores reais usados no planejamento fatorial completo

Variáveis independentes	Nível codificado		
	-1	0	+1
X ₁ - Papaína ¹ (%)	0,1	0,2	0,3
X ₂ - Tempo de ultrassom (min)	10	20	30

¹Baseado no peso do peito de frango

Tabela 2- Planejamento experimental completo 2² + 3 repetições do ponto central

Ordem	Peitos de frango marinados	Papaína (%)	Tempo de ultrassom (min)
4	MWB-1	-1 (0,1)	-1 (10)
2	MWB-2	+1 (0,3)	-1 (10)
6	MWB-3	- 1 (0,3)	+1 (30)
1	MWB-4	+1 (0,3)	+1 (30)
7	MWB-5	0 (0,2)	0 (20)
3	MWB-6	0 (0,2)	0 (20)
5	MWB-7	0 (0,2)	0 (20)

Valores codificados e reais do planejamento experimental

O modelo de superfície de resposta foi elaborado utilizando a Equação 1.

$$Y = \beta_0 - \beta_1 (E) - \beta_2 U + \beta_3 (E)(U) + 0 \quad \text{Equação 1}$$

Onde,

Y: função resposta, predito pelo modelo;

β_0 : coeficiente médio (ou a constante);

β_1 e β_2 : coeficiente linear;

β_3 : coeficiente de interação.

A marinação foi realizada pela técnica de imersão do peito em salmoura resfriada ($T \leq 4^\circ\text{C}$) na proporção de 3:1 (filé de frango: salmoura). A salmoura foi preparada individualmente para cada meio filé de peito, contendo 5% de NaCl e diferentes percentuais da enzima papaína (Tabela 2). O percentual da enzima foi calculado com base no peso do peito de frango. Cada peito foi pesado, homogeneizado na salmoura e embalado a vácuo. Em seguida os peitos foram submetidos a agitação em banho ultrassônico (modelos UltrasCleaner 1400, Indaiatuba, SP,

Brasil) com potência de 40 KHz a temperatura de 22 °C, por tempos variáveis (Tabela 2). Após o processo de marinação os peitos foram secos em papel absorvente, para retirar o excesso de líquido. Os peitos N, WB e MWB marinados (1 a 7) foram avaliados quanto ao parâmetro força de cisalhamento (variável dependente).

Após a obtenção da função resposta (FC), foi realizada ANOVA e obtido o modelo estimado. No modelo estimado, o melhor tratamento foi aquele que apresentou FC próximo ao FC do peito normal (N) e foi denominado de MWB. Em seguida. Considerando que o ultrassom na marinação não foi significativo, um novo processo de marinação foi realizado utilizando apenas a enzima papaína por 20 minutos (sem ultrassom) e foi denominado de PWB.

Os peitos N, WB, MWB e PWB foram avaliados quanto aos parâmetros físico-químicos (pH, cor, umidade, proteínas, gordura e colágeno), propriedades tecnológicas (perda de peso por cocção, perfil de textura instrumental, força de cisalhamento, solubilidade de proteínas miofibrilares e sarcoplasmáticas), a qualidade oxidativa (TBATS, WOF e carbonilas) de acordo com a Figura 1. Os resultados de MWB e PWB foram comparados entre si e com relação ao peito N e WB.

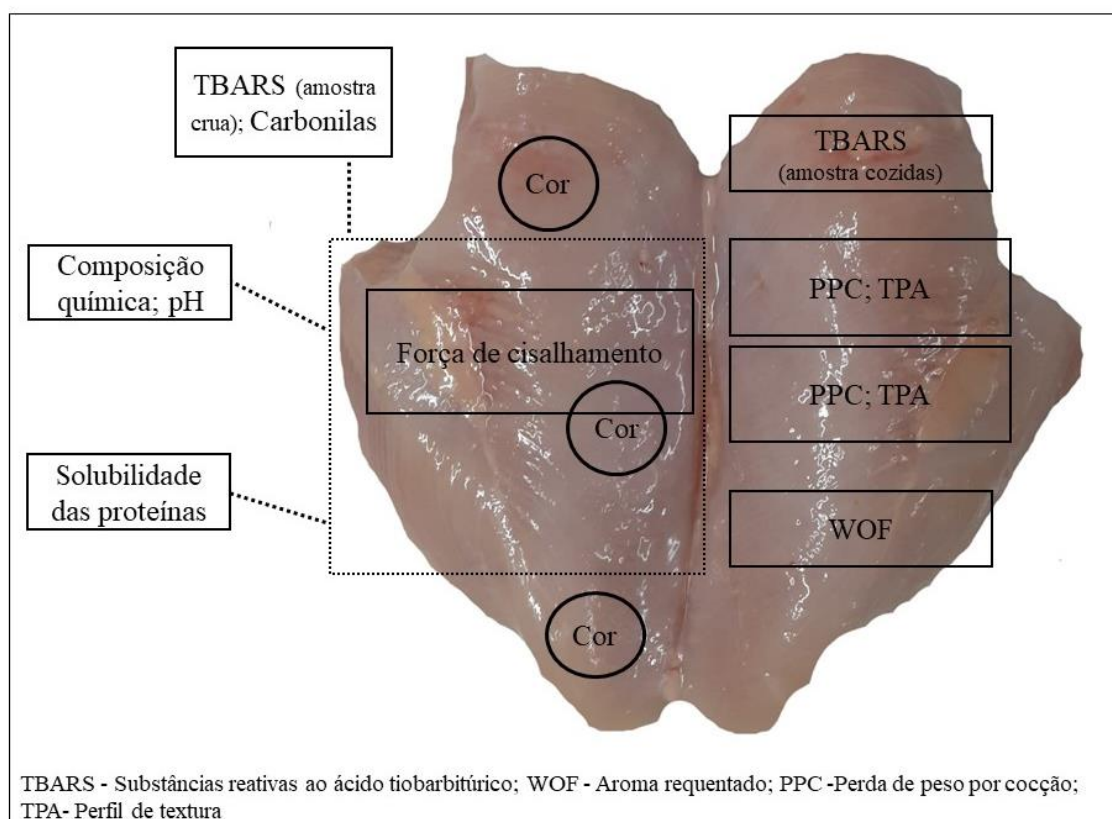


Figura 1- Esquema de separação e coleta de amostras de peito de frango (*Pectoralis major*) para análises químicas, físicas e tecnológicas

3.2 MÉTODOS ANALÍTICOS

3.2.1. Medições da Força de Cisalhamento (FC)

A força de cisalhamento (FC) foi medida na região cranial dos peitos, em quadruplicatas. Os peitos foram cortados nas dimensões 30 x 10 x 10 mm, sendo a maior dimensão paralela à direção da fibra. Os valores foram medidos usando o Texturometer Texture Analyzer TA-TX2i com célula de carga de 50 kg, equipado com lâmina Warner-Bratzler (HDP/WBV) e regulado com velocidade de descida e penetração de 100 mm/min, profundidade de penetração de 20 mm e uma força de contato de 10 g. O resultado do FC foi expresso em Newton (Newton).

3.2.2 Caracterização físico-química

O pH foi determinado utilizando um pHmetro Modelo Q400 AS (Quimis Aparelhos Científicos Ltda., Diadema, SP, Brasil) segundo a AOAC (2000) nº 981.12.

A cor instrumental foi determinada através das leituras dos parâmetros L^* (luminosidade), a^* (intensidade de vermelho/verde) e b^* (intensidade de amarelo/azul) utilizando um colorímetro digital Konica Monolta (Modelo CR-400, Osaka, Japão), na porção cranial, intermediária e caudal na superfície ventral (lado da pele) e dorsal (lado do osso) do peito de frango. As seguintes condições foram definidas para a leitura: iluminante C, ângulo de visão de 8°, ângulo padrão do observador de 10°, especular incluído, conforme especificações da Commission Internationale de L'éclairage (CIE, 1986). Antes da realização das leituras, o instrumento foi calibrado em uma placa de cerâmica branca (Iluminante C: $Y = 92,84$ $X = 0,3136$, $y = 0,3201$).

A composição química foi determinada seguindo metodologias descritas pela AOAC (2000) para teor de umidade (nº 950.46.41), proteínas (nº 928.08) e colágeno (nº 990.26).

3.2.3 Caracterização das propriedades tecnológicas

A perda de peso por cocção (PPC) foi determinada conforme (CARVALHO *et al.*, 2018). As amostras foram cortadas de duas peças de 80 mm x 30 mm x 30 mm e pesadas. As peças foram individualmente transferidas para uma embalagem plástica temo-resistente e

mantidas em banho aquecido ($T \geq 90\text{ }^{\circ}\text{C}$) até a carne alcançar temperatura interna de $75\text{ }^{\circ}\text{C}$. Posteriormente, as amostras foram resfriadas em banho de gelo até a temperatura atingir $28 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$. As amostras foram secas em papel absorvente e novamente pesadas. PPC foi expresso como o percentual de água perdido durante o cozimento conforme a Equação 2.

$$\%PPC = \frac{(P_i - P_f)}{P_i} \times 100 \quad \text{Equação 2}$$

Onde,

Pi = Peso da amostra antes do cozimento;

Pf = Peso da amostra após o cozimento.

O perfil de textura instrumental (TPA) foi determinado nas amostras cozidas após a determinação de PPC. Antes da análise as amostras utilizadas na determinação de PPC foram mantidas sob refrigeração a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 12 horas. As amostras foram cortadas em paralelepípedos de $20 \times 20 \times 10\text{ mm}$ com faca de lâmina afiada e auxílio de uma régua, e analisadas em dois ciclos de compressão em texturômetro (TA.XTplusC, Stable Microsystems, Godalming, Surrey, Reino Unido). As condições de teste foram: compressão de 50% da altura original, velocidade pré-teste e de teste 50 mm/min , *probe* de compressão de duas polegadas de diâmetro ($P/2''$), conforme descrito por (CARVALHO *et al.*, 2020), com modificações.

Determinação da solubilidade das proteínas sarcoplasmáticas (PS) e miofibrilares (PM) tiveram início com a extração das proteínas conforme metodologia descrita por Zhu *et al.* (2011), com modificações. Para extração de proteínas sarcoplasmáticas, foi pesado cerca de 2,5 g de carne. Em seguida, as amostras foram homogeneizadas em 10 mL de tampão contendo fosfato de sódio 10 mM, NaCl 0,1 N, MgCl_2 2 mM e EGTA 1 mM, pH 7.0, com turrax a 9000 rpm por 30 s. O homogeneizado foi centrifugado a 2000 rpm por 15 min a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$, o sobrenadante reservado e o precipitado foi re-suspendido e homogeneizado em 10 mL do tampão, e novamente centrifugado sob igual condição. O sobrenadante foi combinado com o anterior e armazenado sob refrigeração (extrato PS). O precipitado foi re-suspendido em 10 mL de NaCl 0,1 N, homogeneizado e filtrado em gaze (remoção do tecido conectivo). O filtrado, foi centrifugado a 2000 rpm por 15 min a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$, o sobrenadante foi descartado e o precipitado suspendido em tampão fosfato de sódio 10 mM e NaCl 0,6 N, pH 6.5 (extrato PM) e armazenado sob refrigeração. Para determinação da solubilidade, uma alíquota de 2 mL do extrato PS foi centrifugada a 4000 rpm por 15 min a 4°C , e a concentração de proteínas foi determinada por espectroscopia a 280 nm usando uma curva padrão de BSA (0,0625 a 2 mg/mL). Outra alíquota de 2 mL foi retirada do extrato PS e lida no espectrofotômetro (Q798U,

UV–Vis Spectrophotometer, Quimis, São Paulo, Brasil), sem que tivesse passado pela etapa de centrifugação. Esse mesmo procedimento foi realizado para o extrato de proteínas miofibrilares (PM). A solubilidade foi expressa como: concentração de proteínas no sobrenadante do extrato centrifugado / concentração de proteínas no extrato não centrifugado.

3.2.4 Análises de oxidação lipídica e proteica

O TBARS foi quantificado para amostras cruas e cozidas de acordo como método proposto por Rosmini *et al.* (1996), no qual 2,5 g da amostra triturada foi pesada e colocada em tubo falcon de 15 mL, adicionado de 10 mL de ácido tricloroacético (TCA) a 10% e 2,5 mL de água destilada, sendo o tubo agitado por 5 min e, em seguida, centrifugado por 5 min a 3.500 rpm (1643 g). O sobrenadante foi filtrado em tubo de ensaio rosqueado de 15 mL, e em seguida, adicionado 5 mL de solução de ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,02M. O tubo foi conduzido ao banho a 100°C por 35 min e resfriado em banho de água fria. A leitura da absorbância foi realizada a 532 nm em espectrofotômetro (Q798U, UV–Vis Spectrophotometer, Quimis, São Paulo, Brasil). A análise foi realizada em triplicata, e o resultado final foi expresso em mg de malanoaldeído por kg da amostra. Para a quantificação da amostra cozida, a peça de carne foi submetida ao cozimento em banho de água em saco termorresistente até atingir temperatura interna de 75°C.

O aroma requeimado (WOF) foi determinado de acordo conforme descrito por Soares *et al.* (2004) com adaptações. Peito de frango (40 g) foi inserido em um bolsa termo resistente e colocados em banho-maria a 85 °C até que a temperatura interna de 75 °C. Em seguida, a bolsa foi armazenada sob refrigeração (4 °C) por um período de 48 horas sob luz fluorescente. Após esse período, a amostra foi reaquecida em banho a 85°C ± 5°C por 15 min. A amostra foi então triturada e analisada quanto à oxidação lipídica em TBARS, seguido a técnica descrita por Rosmini *et al.* (1996).

A dosagem de carbonilas totais, medida da oxidação proteica, foram determinadas pelo método de dinitrofenilhidrazina (DNPH) descrito por Ganhão; Morcuende; Estévez, (2010) com adaptações. Em tubo Falcon 50 mL, 1,0g da amostra foi pesado e adicionado 10 mL de NaCl 0,6 N em tampão de fosfato de sódio 20mM pH 6,5 imerso em gelo. Em seguida, foi tomado 150 µL da mistura e colocado em tubo eppendorf de 2 mL, sendo um para medir compostos carbonílicos e o outro para medir concentração de proteína (etiquetados com “C” e outro com “P”). Foi adicionado 1 mL de TCA 10% em cada tubo, agitado em vórtex e centrifugar à frio (4°C) durante 5 minutos a 5000 rpm. O sobrenadante foi descartado, no

eppendorf “P” foi adicionado 1 mL de HCl 2N, e no eppendorf “C” 1 mL de HCl 2N+DNPH 0.2%. Os eppendorf foram agitando em vórtex até dissolver o precipitado e deixado em repouso por uma hora a temperatura ambiente, agitando-o periodicamente. Em seguida, foi agregado 1 mL de TCA 10% aos tubos, seguido de agitação em vórtex e centrifugar a frio durante 10 minutos a 10000 rpm. O sobrenadante foi descartado e ao precipitado agregado 1 mL da solução de etanol/acetato de etila (1:1), o tubo foi agitado em vórtex e centrifugado na mesma condição anterior. O novo sobrenadante foi retirado, e tal procedimento foi repetido por duas vezes. Depois de lavados e descartados o líquido, o solvente foi evaporado. O precipitado foi dissolvido com 1,5 mL de Cloridrato de Guanidina 6M em tampão fosfato de sódio 20mM pH 6,5, o tubo foi agitado no vórtex e centrifugado à frio por 2min a 2000 rpm. O branco utilizado foi a solução Cloridrato de Guanidina 6M em tampão fosfato de sódio 20mM pH 6,5. A solução “C” foi transferida para cubeta visível e lida no espectrofotômetro (Q798U, UV–Vis Spectrophotometer, Quimis, São Paulo, Brasil) a 370 nm, e a solução “P” na cubeta UV a 280 nm.

.

3.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O efeito da concentração da papaína e do tempo ultrassônico sobre a força de cisalhamento dos peitos de frango WB foi investigado usando a metodologia de superfície de resposta na qual utilizou o software STATISTICA (versão 10, StatSoft Inc., Tulsa, OK, EUA).

Os resultados da caracterização físico-química e propriedades tecnológicas foram submetidos ao teste de normalidade Shapiro-Wilk ($\alpha = 0,05$). Em seguida, os resultados foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Os testes estatísticos e a Análise dos Componentes Principais (PCA) foram realizados com os dados de composição físico-química, propriedades tecnológicas e processo de oxidação dos peitos MWB, PWB, N e WB no software XLSTAT (versão 2014.5.03, Addinsoft, New York, USA) e o gráfico usando o software GraphPad Prism (versão 6.0 para Windows, Graphpad Software Inc., San Diego, Califórnia, EUA).

4 REFERÊNCIAS

ABASHT, B.; ZHOU, N.; LEE, W. R.; ZHUO, Z.; PERIPOLLI, E.. The metabolic characteristics of susceptibility to wooden breast disease in chickens with high feed efficiency. **Poultry Science**, , p. 1–11, 2019. DOI 10.3382/ps/pez183. Available at: <https://academic.oup.com/ps/advance-article/doi/10.3382/ps/pez183/5474936>.

ABPA (Associação Brasileira de Proteína Animal). Relatório Anual 2020. São Paulo: ABPA, 2020, 158 p. Disponível em: <<http://abpa-br.org/relatorios/>>. Acesso em: 4 fev. 2021.

AGUIRRE, M.E.; OWENS, C.M.; MILLER, R.K.; ALVARADO, C.Z. Descriptive sensory and instrumental texture profile analysis of woody breast in marinated chicken. **Poultry Science**, vol. 97, no. 4, p. 1456–1461, Apr. 2018. DOI 10.3382/ps/pex428. Available at: <http://dx.doi.org/10.3382/ps/pex428>.

ALARCON-ROJO, A. D.; JANACUA, H.; RODRIGUEZ, J. C.; PANIWNKY, L.; MASON, T. J. Power ultrasound in meat processing. **Meat Science**, vol. 107, p. 86–93, 2015. DOI 10.1016/j.meatsci.2015.04.015. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.04.015>.

ALARCON-ROJO, A. D.; CARRILLO-LOPEZ, L. M.; REYES-VILLAGRANA, R.; HUERTA-JIMÉNEZ, M.; GARCIA-GALICIA, I. A. Ultrasound and meat quality: A review. **Ultrasonics Sonochemistry**, vol. 55, no. June 2018, p. 369–382, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.09.016>.

ALVARADO, C; MCKEE, S. Marination to Improve Functional Properties and Safety of Poultry Meat. **Poultry Science**, vol. 16, no. 1, p. 113–120, 2007. DOI 10.1093/japr/16.1.113. Available at: <http://dx.doi.org/10.1093/japr/16.1.113>.

ARSHAD, M. S.; KWON, J.-H.; IMRAN, M.; SOHAIB, M.; ASLAM, A.; NAWAZ, I.; AMJAD, Z.; KHAN, U.; JAVED, M. Plant and bacterial proteases: A key towards improving meat tenderization, a mini review. **Cogent Food & Agriculture**, vol. 2, no. 1, p. 1–10, 2016. DOI 10.1080/23311932.2016.1261780. Available at: <http://dx.doi.org/10.1080/23311932.2016.1261780>.

BAILEY, R. A.; WATSON, K. A.; BILGILI, S. F.; AVENDANO, S.. The genetic basis of pectoralis major myopathies in modern broiler chicken lines. **Poultry Science**, vol. 94, no. 12, p. 2870–2879, 2015a. DOI 10.3382/ps/pev304. Available at: <http://dx.doi.org/10.3382/ps/pev304>.

BAILEY, R. A.; SOUZA, E.; AVENDANO, S. Characterising the Influence of Genetics on Breast Muscle Myopathies in Broiler Chickens. **Frontiers in Physiology**, vol. 11, no. August, p. 1–12, 20 Aug. 2020. DOI 10.3389/fphys.2020.01041. Available at: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fphys.2020.01041/full>.

BAILEY, R. A.; WATSON, K. A.; BILGILI, S F; AVENDANO, S.. The genetic basis of pectoralis major myopathies in modern broiler chicken lines. **Poultry Science**, vol. 94, no. 12, p. 2870–2879, 2015b. DOI 10.3382/ps/pev304. Available at: <http://dx.doi.org/10.3382/ps/pev304>.

BALDI, G.; SOGLIA, F.; MAZZONI, M.; SIRRI, F.; CANONICO, L.; BABINI, E.; LAGHI, L.; CAVANI, C.; PETRACCI, M. Implications of white striping and spaghetti meat abnormalities on meat quality and histological features in broilers. **Animal**, vol. 12, no. 1, p. 164–173, 2018. DOI 10.1017/S1751731117001069. Available at: <http://dx.doi.org/10.1017/S1751731117001069>.

BARBUT, S.; SOSNICKI, A.A.; LONERGAN, S.M.; KNAPP, T.; CIOBANU, D.C.; GATCLIFFE, L.J.; HUFF-LONERGAN, E.; WILSON, E.W. Progress in reducing the pale, soft and exudative (PSE) problem in pork and poultry meat. **Meat Science**, vol. 79, no. 1, p. 46–63, May 2008. DOI 10.1016/j.meatsci.2007.07.031. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0309174007002732>.

BAREKAT, S.; SOLTANIZADEH, N.. Application of high-intensity ultrasonic radiation coupled with papain treatment to modify functional properties of beef Longissimus lumborum. **Journal of Food Science and Technology**, vol. 56, no. 1, p. 224–232, 2019. DOI 10.1007/s13197-018-3479-1. Available at: <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3479-1>.

BAREKAT, S.; SOLTANIZADEH, N. Improvement of meat tenderness by simultaneous application of high-intensity ultrasonic radiation and papain treatment. **Innovative Food**

Science and Emerging Technologies, vol. 39, p. 223–229, 2017.

<https://doi.org/10.1016/j.ifset.2016.12.009>.

BEKHIT, A. A.; HOPKINS, D. L.; GEESINK, G.; BEKHIT, A. A.; FRANKS, P.. Exogenous Proteases for Meat Tenderization. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, vol. 54, no. 8, p. 1012–1031, 5 Jan. 2014. DOI 10.1080/10408398.2011.623247. Available at: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10408398.2011.623247>.

BESKI, S. S M; SWICK, R. A; IJI, P. A. Specialized protein products in broiler chicken nutrition : A review. **Animal Nutrition**, vol. 1, no. 2, p. 47–53, 2015. DOI 10.1016/j.aninu.2015.05.005. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.aninu.2015.05.005>.

BHAT, Z. F.; MORTON, J. D.; MASON, S. L.; BEKHIT, A. E. D. A. Applied and Emerging Methods for Meat Tenderization: A Comparative Perspective. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, vol. 17, no. 4, p. 841–859, 2018. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12356>.

BOLUMAR, T.; ENNEKING, M.; TOEPFL, S.; HEINZ, Volker. New developments in shockwave technology intended for meat tenderization: Opportunities and challenges. A review. **Meat Science**, vol. 95, no. 4, p. 931–939, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.04.039>.

BOWKER, B. C.; MAXWELL, A. D.; ZHUANG, H.; ADHIKARI, K. Marination and cooking performance of portioned broiler breast fillets with the woody breast condition. **Poultry Science**, vol. 97, no. 8, p. 2966–2970, 2018. <https://doi.org/10.3382/ps/pey144>.

BOWKER, B; ZHUANG, H. Detection of razor shear force differences in broiler breast meat due to the woody breast condition depends on measurement technique and meat state 1. **Poultry Science**, vol. 98, no. 11, p. 6170–6176, 2018. DOI 10.3382/ps/pez334. Available at: <http://dx.doi.org/10.3382/ps/pez334>.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, Ofício Circular nº 17/2019/CGI/DIPOA/DAS/MAPA., (2019) 12–14.

CAO, C.; XIAO, Z.; TONG, H.; TAO, X.; GU, D.; WU, Y.; XU, Z.; GE, C.. Effect of ultrasound-assisted enzyme treatment on the quality of chicken breast meat. **Food and Bioproducts Processing**, vol. 125, p. 193–203, Jan. 2021. DOI 10.1016/j.fbp.2020.11.005. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135907>.

CARVALHO, L. M.; OLIVEIRA, M. É. S.; FREITAS, A. S.; SOUSA NETO, A. C.; IDA, E. I.; SHIMOKOMAKI, M.; MADRUGA, M. S.. Further evidence for the existence of broiler chicken PFN (pale, firm, non-exudative) and PSE (pale, soft, exudative) meat in brazilian commercial flocks. **Food Science and Technology**, vol. 38, no. 4, p. 704–710, 16 Apr. 2018. DOI 10.1590/fst.15617. Available at: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612018000400704&lng=en&tlng=en.

CARVALHO, L. M.; DELGADO, J.; MADRUGA, M.S.; ESTÉVEZ, M. Pinpointing oxidative stress behind the white striping myopathy: depletion of antioxidant defenses, accretion of oxidized proteins and impaired proteostasis. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, vol. 101, no. 4, p. 1364–1371, 15 Mar. 2020. DOI 10.1002/jsfa.10747. Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jsfa.10747>.

CARVALHO, L. M.; VENTANAS, S.; OLEGARIO, L. S.; MADRUGA, M. S.; ESTÉVEZ, M. Consumers awareness of white-striping as a chicken breast myopathy affects their purchasing decision and emotional responses. **Lwt**, vol. 131, no. December 2019, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109809>.

CHANDRAPALA, J.; OLIVER, C.; KENTISH, S.; ASHOKKUMAR, M. Ultrasonics Sonochemistry Ultrasonics in food processing. **Ultrasonics - Sonochemistry**, vol. 19, no. 5, p. 975–983, 2012. DOI 10.1016/j.ultsonch.2012.01.010. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ultsonch.2012.01.010>.

CHATTERJEE, D; ZHUANG, H; BOWKER, B.C.; SANCHEZ-BRAMBILA, G.; RINCON, A.M. Instrumental texture characteristics of broiler pectoralis major with the wooden breast condition. **Poultry Science**, vol. 95, no. 10, p. 2449–2454, Oct. 2016. DOI 10.3382/ps/pew204. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0032579119317754>.

CRUZ, P. L.; PANNO, P. H. C.; GIANNOTTI, J. D. G.; CARVALHO, R. V.; ROBERTO, C. D. Effect of proteases from ginger rhizome on the fragmentation of myofibrils and tenderness of chicken breast. **LWT**, vol. 120, no. November 2019, p. 108921, Feb. 2020. DOI 10.1016/j.lwt.2019.108921. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108921>.

CRUZ, R. F.A.; VIEIRA, S. L.; KINDLEIN, L.; KIPPER, M.; CEMIN, H. S.; RAUBER, S. M. Occurrence of white striping and wooden breast in broilers fed grower and finisher diets with increasing Lysine levels. **Poultry Science**, 2017. <https://doi.org/10.3382/ps/pew310>.

FAOSTAT. Download Data: Livestock Primary. 2020. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QL>. Acesso em: 4 fev. 2021.

FERNÁNDEZ-LUCAS, J.; CASTAÑEDA, D.; HORMIGO, D.. New trends for a classical enzyme: Papain, a biotechnological success story in the food industry. **Trends in Food Science and Technology**, vol. 68, no. 2017, p. 91–101, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.08.017>.

GAGAOUA, M.; DIB, A. L.; LAKHDARA, N.; LAMRI, M.; BOTINEȘTEAN, C.; LORENZO, J. M. Artificial meat tenderization using plant cysteine proteases. **Current Opinion in Food Science**, vol. 38, p. 177–188, Apr. 2021. DOI 10.1016/j.cofs.2020.12.002. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S221479932030134X>.

GALLO, M.; FERRARA, L.; NAVIGLIO, D. Application of Ultrasound in Food Science and Technology: A Perspective. **Foods**, vol. 7, no. 10, p. 164, 2018. <https://doi.org/10.3390/foods7100164>.

GANHÃO, R.; MORCUENDE, D.; ESTÉVEZ, M. Protein oxidation in emulsified cooked burger patties with added fruit extracts: Influence on colour and texture deterioration during chill storage. **Meat Science**, vol. 85, no. 3, p. 402–409, 2010. DOI 10.1016/j.meatsci.2010.02.008. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.02.008>.

GOKOGLU, N.; YERLIKAYA, P.; UCAK, I.; YATMAZ, H. Aydan. Effect of bromelain and

papain enzymes addition on physicochemical and textural properties of squid (*Loligo vulgaris*). **Journal of Food Measurement and Characterization**, vol. 11, no. 1, p. 347–353, 2017. DOI 10.1007/s11694-016-9403-3. Available at: <http://dx.doi.org/10.1007/s11694-016-9403-3>.

GRIFFIN, J. R.; MORAES, L.; WICK, M.; LILBURN, M. S.. Onset of white striping and progression into wooden breast as defined by myopathic changes underlying Pectoralis major growth. Estimation of growth parameters as predictors for stage of myopathy progression. **Avian Pathology**, vol. 47, no. 1, p. 2–13, 2018. <https://doi.org/10.1080/03079457.2017.1356908>.

HA, M.; BEKHIT, A. E. D.; CARNE, A.; HOPKINS, D. L. Comparison of the Proteolytic Activities of New Commercially Available Bacterial and Fungal Proteases toward Meat Proteins. **Journal of Food Science**, vol. 78, no. 2, 2013. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12027>.

HUANG, X.; AHN, D. U. The Incidence of Muscle Abnormalities in Broiler Breast Meat – A Review. **Korean journal for food science of animal resources**, vol. 38, no. 5, p. 835–850, Oct. 2018. DOI 10.5851/kosfa.2018.e2. Available at: http://www.kosfaj.org/archive/view_article?doi=10.5851/kosfa.2018.e2.

ISTRATI, D.; VIZIREANU, C.; DIMA, F.; DINIC, R.. ORIGINAL RESEARCH PAPER EFFECT OF MARINATION WITH PROTEOLYTIC ENZYMES ON QUALITY OF BEEF MUSCLE ♦. vol. 13, no. April 2011, p. 81–89, 2012.

JUN-HUI, X.; HUI-JUAN, C.; BIN, Z.; HUI, Y. The mechanistic effect of bromelain and papain on tenderization in jumbo squid (*Dosidicus gigas*) muscle. **Food Research International**, vol. 131, no. 1, p. 108991, 2020. DOI 10.1016/j.foodres.2020.108991. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.108991>.

KAKIZAKI, E.; SONODA, A.; SHINKAWA, N.; YUKAWA, N. A new enzymatic method for extracting diatoms from organs of suspected drowning cases using papain: Optimal digestion and first practical application. **Forensic Science International**, vol. 297, p. 204–216, 2019. DOI 10.1016/j.forsciint.2019.02.008. Available at:

<https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2019.02.008>.

KANG, D.; GAO, X.; GE, Q.; ZHOU, G.; ZHANG, W. Effects of ultrasound on the beef structure and water distribution during curing through protein degradation and modification. **Ultrasonics Sonochemistry**, vol. 38, p. 317–325, 2017. DOI 10.1016/j.ultsonch.2017.03.026. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ultsonch.2017.03.026>.

KEMP, C. M.; PARR, T. Advances in apoptotic mediated proteolysis in meat tenderisation. **Meat Science**, vol. 92, no. 3, p. 252–259, 2012. DOI 10.1016/j.meatsci.2012.03.013. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.03.013>.

KEMP, C. M.; SENSKY, P.L.; BARDSLEY, R. G.; BUTTERY, P. J.; PARR, Tim. Tenderness - An enzymatic view. **Meat Science**, vol. 84, no. 2, p. 248–256, 2010. DOI 10.1016/j.meatsci.2009.06.008. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.06.008>. KIJOWSKI, Jacek; KONSTANCZAK, MAŁGORZATA. DEEP PECTORAL MYOPATHY IN BROILER CHICKENS. **Bull Vet Ins Pulawyull Vet Ins Pulawy**, vol. 59, p. 487–491, 2009.

KIM, D.; JOO, N. Texture Characteristics of Horse Meat for the Elderly Based on the Enzyme Treatment. **Food Science of Animal Resources**, vol. 40, no. 1, p. 74–86, Jan. 2020. DOI 10.5851/kosfa.2019.e86. Available at: http://www.kosfaj.org/archive/view_article?doi=10.5851/kosfa.2019.e86.

KUTTAPPAN, V. A.; BREWER, V. B.; APPLE, J. K.; WALDROUP, P. W.; OWENS, C. M. Influence of growth rate on the occurrence of white striping in broiler breast fillets. **Poultry Science**, vol. 91, no. 10, p. 2677–2685, 2012. DOI 10.3382/ps.2012-02259. Available at: <http://dx.doi.org/10.3382/ps.2012-02259>.

KUTTAPPAN, V.A.; HARGIS, B.M.; OWENS, C.M. White striping and woody breast myopathies in the modern poultry industry: a review. **Poultry Science**, vol. 95, no. 11, p. 2724–2733, Nov. 2016. DOI 10.3382/ps/pew216. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S003257911931898X>.

KUTTAPPAN, V.A.; OWENS, C.M.; COON, C; HARGIS, B.M.; VAZQUEZ-AÑÓN, M. Incidence of broiler breast myopathies at 2 different ages and its impact on selected raw meat quality parameters. **Poultry Science**, vol. 96, no. 8, p. 3005–3009, Aug. 2017. DOI

10.3382/ps/pex072. Available at:

<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0032579119315020>.

KUTTAPPAN, V A; SHIVAPRASAD, H; SHAW, D P; VALENTINE, B A; HARGIS, B M; CLARK, F D; MCKEE, S R; OWENS, C M. IMMUNOLOGY , HEALTH , AND DISEASE Pathological changes associated with white striping in broiler breast muscles. **Poultry Science**, vol. 92, no. 2, p. 331–338, 2009. DOI 10.3382/ps.2012-02646. Available at: <http://dx.doi.org/10.3382/ps.2012-02646>.

LI, X.; WANG, Y.; SUN, Y. Y.; PAN, D. D.; CAO, J. X. The effect of ultrasound treatments on the tenderizing pathway of goose meat during conditioning. **Poultry Science**, vol. 97, no. 8, p. 2957–2965, 2018. <https://doi.org/10.3382/ps/pey143>.

MA, Y.; YUAN, Y.; BI, X.; ZHANG, Li; XING, Y.; CHE, Z. Tenderization of Yak Meat by the Combination of Papain and High-Pressure Processing Treatments. **Food and Bioprocess Technology**, vol. 12, no. 4, p. 681–693, 2019. <https://doi.org/10.1007/s11947-019-2245-3>.

MADHUSANKHA, G D M P; THILAKARATHNA, R C N. Meat tenderization mechanism and the impact of plant exogenous proteases : A review. **Arabian Journal of Chemistry**, vol. 14, no. 2, p. 102967, 2021. DOI 10.1016/j.arabjc.2020.102967. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2020.102967>.

MADRUGA, M. S.; DA ROCHA, T. C.; DE CARVALHO, L. M.; SOUSA, A. M. B. L.; DE SOUSA NETO, A.C.; COUTINHO, D. G. DE CARVALHO FERREIRA, A. S.; SOARES, A. J.; DE SOUSA GALVÃO, M.; IDA, E. I.; ESTÉVEZ, M.. The impaired quality of chicken affected by the wooden breast myopathy is counteracted in emulsion-type sausages. **Journal of Food Science and Technology**, vol. 56, no. 3, p. 1380–1388, 2019. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03612-0>.

MAQSOOD, S.; MANHEEM, K.; GANI, A.; ABUSHELAIBI, A. Degradation of myofibrillar, sarcoplasmic and connective tissue proteins by plant proteolytic enzymes and their impact on camel meat tenderness. **Journal of Food Science and Technology**, vol. 55, no. 9, p. 3427–3438, 13 Sep. 2018. DOI 10.1007/s13197-018-3251-6. Available at: <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3251-6>.

MARONPOT, R, R; BUCCI, T, J;; STEDHAM, M, A. Focal Degenerative in Turkeysa. **Avian Diseases**, vol. 12, no. 1, p. 96–103, 1968. .

MAXWELL, A. D.; BOWKER, B. C.; ZHUANG, H.; CHATTERJEE, D.; ADHIKARI, K. Descriptive sensory analysis of marinated and non-marinated wooden breast fillet portions. **Poultry Science**, vol. 97, no. 8, p. 2971–2978, 2018. <https://doi.org/10.3382/ps/pey145>.

MCDONNELL, C K; ALLEN, P; MORIN, C; LYNNG, J G. The effect of ultrasonic salting on protein and water – protein interactions in meat. **Food Chemistry**, vol. 147, p. 245–251, 2014. DOI 10.1016/j.foodchem.2013.09.125. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.09.125>.

MELOCHE, K.J.; FANCHER, B.I.; EMMERSON, D.A.; BILGILI, S.F.; DOZIER, W.A. Effects of quantitative nutrient allocation on myopathies of the Pectoralis major muscles in broiler chickens at 32, 43, and 50 days of age. **Poultry Science**, vol. 97, no. 5, p. 1786–1793, May 2018. DOI 10.3382/ps/pex453. Available at: <http://dx.doi.org/10.3382/ps/pex453>.

MUDALAL, S.; LORENZI, M.; SOGLIA, F.; CAVANI, C.; PETRACCI, M. Implications of white striping and wooden breast abnormalities on quality traits of raw and marinated chicken meat. **Animal**, vol. 9, no. 4, p. 728–734, 2015a. DOI 10.1017/S175173111400295X. Available at: 10.1017 / S175173111400295X.

MUDALAL, S.; LORENZI, M.; SOGLIA, F.; CAVANI, C.; PETRACCI, M. Implications of white striping and wooden breast abnormalities on quality traits of raw and marinated chicken meat. **Animal**, vol. 9, no. 4, p. 728–734, 2015b. <https://doi.org/10.1017/S175173111400295X>.

MUTHULAKSHMI, M.; VAITHIYANATHAN, S.; MUTHUKUMAR, M.; SARAVANAKUMAR, S. Effect of Partially Purified Ginger Enzyme and Commercially Available Papain on Quality of Spent Hen Meat. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, vol. 7, no. 10, p. 1734–1745, 20 Oct. 2018. DOI 10.20546/ijcmas.2018.710.199. Available at: <https://www.ijcmas.com/abstractview.php?ID=10312&vol=7-10-2018&SNo=199>.

MUTRYN, M. F.; BRANNICK, E. M.; FU, W.; LEE, W. R.; ABASHT, B. Characterization of a novel chicken muscle disorder through differential gene expression and pathway analysis using RNA-sequencing. **BMC Genomics**, vol. 16, no. 1, 2015.

<https://doi.org/10.1186/s12864-015-1623-0>.

NATARAJAN, S.; PONNUSAMY, V. A review on the applications of ultrasound in food processing. **Materials Today: Proceedings**, no. xxxx, 2020. DOI

10.1016/j.matpr.2020.09.516. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.09.516>.

NAGY H., VEERAPANENI K.D. Myopathy. In: StatPearls. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL), 2020.

OLIVEIRA, Jair Rodrigues De; TEIXEIRA, Sabrina Tolotti Fraga; LEVANDOWSKI, Rafael; SANTOS, Luciana Ruschel dos; DICKEL, Elci Lotar. Mortadella formulations using poultry breasts with White Striping and Wooden Breast. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, vol. 13, no. 3, p. 411–417, 2019. DOI 10.5935/1981-2965.20190031.

Available at: <http://www.gnresearch.org/doi/10.5935/1981-2965.20190031>.

PALKA, K.. The influence of post-mortem ageing and roasting on the microstructure, texture and collagen solubility of bovine semitendinosus muscle. **Meat Science**, vol. 64, no. 2, p. 191–198, 2003. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(02\)00179-1](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(02)00179-1).

PAPAH, M. B.; BRANNICK, E. M.; SCHMIDT, C. J.; ABASHT, B.. Evidence and role of phlebitis and lipid infiltration in the onset and pathogenesis of Wooden Breast Disease in modern broiler chickens. **Avian Pathology**, vol. 46, no. 6, p. 623–643, 2017.

<https://doi.org/10.1080/03079457.2017.1339346>.

PEÑA-GONZALEZ, E.; ALARCON-ROJO, A. D.; GARCIA-GALICIA, I.; CARRILLO-LOPEZ, L.; HUERTA-JIMENEZ, M. Ultrasound as a potential process to tenderize beef: Sensory and technological parameters. **Ultrasonics Sonochemistry**, vol. 53, no. October 2018, p. 134–141, 2019. DOI 10.1016/j.ultsonch.2018.12.045. Available at:

<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.12.045>.

PETRACCI, M.; MUDALAL, S.; SOGLIA, F.; CAVANI, C. Meat quality in fast-growing

broiler chickens. **World's Poultry Science Journal**, vol. 71, no. 2, p. 363–374, 2015.
<https://doi.org/10.1017/S0043933915000367>.

PETRACCI, M.; SOGLIA, F.; MADRUGA, M.; CARVALHO, L.; IDA, Elza; ESTÉVEZ, M. Wooden-Breast, White Striping, and Spaghetti Meat: Causes, Consequences and Consumer Perception of Emerging Broiler Meat Abnormalities. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, vol. 18, no. 2, p. 565–583, 2019.
<https://doi.org/10.1111/1541-4337.12431>.

PINTON, M. B.; CORREA, L. P.; FACCHI, M. M. X.; HECK, R. T.; LEÃES, Y.S. V.; CICHOSKI, A. J.; LORENZO, J. M.; DOS SANTOS, M.; POLLONIO, M. A. R.; CAMPAGNOL, P. C. B.. Ultrasound: A new approach to reduce phosphate content of meat emulsions. **Meat Science**, vol. 152, no. October 2018, p. 88–95, 2019. DOI 10.1016/j.meatsci.2019.02.010. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.02.010>.

ROCHA, T. ; CARVALHO, L. M.; SOARES, A. J.; COUTINHO, D. G.; OLEGARIO, L. S.; SOUSA GALVÃO, M.; ESTÉVEZ, M.; MADRUGA, M. S.. Impact of chicken wooden breast on quality and oxidative stability of raw and cooked sausages subjected to frozen storage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, vol. 100, no. 6, p. 2630–2637, 11 Apr. 2020. DOI 10.1002/jsfa.10292. Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jsfa.10292>.

ROSMINI, M.R.; PERLO, F.; PÉREZ-ALVAREZ, J.A.; PAGÁN-MORENO, M.J.; GAGO-GAGO, A.; LÓPEZ-SANTOVEÑA, F.; ARANDA-CATALÁ, V. TBA test by an extractive method applied to ‘paté.’ **Meat Science**, vol. 42, no. 1, p. 103–110, Jan. 1996. DOI 10.1016/0309-1740(95)00010-0. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0309174095000100>.

RYDER, K.; HA, M.; BEKHIT, A. E. D.; CARNE, A. Characterisation of novel fungal and bacterial protease preparations and evaluation of their ability to hydrolyse meat myofibrillar and connective tissue proteins. **Food Chemistry**, vol. 172, p. 197–206, 2015. DOI 10.1016/j.foodchem.2014.09.061. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.061>.

SANTOS, M. M. F.; DE LIMA, D. A. S.; BEZERRA, T. K. A.; DE SOUSA GALVÃO, M.; MADRUGA, M. S.; DA SILVA, Fábio Anderson Pereira. Effect of wooden breast condition on quality traits of emulsified chicken patties during frozen storage. **Journal of Food Science and Technology**, 2019. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03886-4>.

SENGUN, I. Y.; YILDIZ TURP, G.; CICEK, S. N.; AVCI, T.; OZTURK, B.; KILIC, Gulden. Assessment of the effect of marination with organic fruit vinegars on safety and quality of beef. **International Journal of Food Microbiology**, vol. 336, no. June 2020, p. 108904, 2021. DOI 10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108904. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108904>.

SHI, H.; XINXIAO, Z.; CHEN, X.; FANG, R.; ZOU, Y.; WANG, D.; XU, W. How ultrasound combined with potassium alginate marination tenderizes old chicken breast meat: Possible mechanisms from tissue to protein. **Food Chemistry**, vol. 328, no. p. 127144, 2020. DOI 10.1016/j.foodchem.2020.127144. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127144>

SIHVO, H.-K.; LINDÉN, J.; AIRAS, N.; IMMONEN, K.; VALAJA, J.; PUOLANNE, E. Wooden Breast Myodegeneration of Pectoralis Major Muscle Over the Growth Period in Broilers. **Veterinary Pathology**, vol. 54, no. 1, p. 119–128, 20 Jan. 2017. DOI 10.1177/0300985816658099. Available at: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0300985816658099>.

SIHVO, H. K.; AIRAS, N.; LINDÉN, J.; PUOLANNE, E. Pectoral Vessel Density and Early Ultrastructural Changes in Broiler Chicken Wooden Breast Myopathy. **Journal of Comparative Pathology**, vol. 161, p. 1–10, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2018.04.002>.

SIHVO, H. K.; IMMONEN, K.; PUOLANNE, E. Myodegeneration With Fibrosis and Regeneration in the Pectoralis Major Muscle of Broilers. **Veterinary Pathology**, vol. 51, no. 3, p. 619–623, 2014. <https://doi.org/10.1177/0300985813497488>.

SILLER, W. G. Deep Pectoral Myopathy : A Penalty of Successful Selection for Muscle Growth. **Poultry Science**, vol. 64, no. 8, p. 1591–1595, 1984. DOI 10.3382/ps.0641591. Available at: <http://dx.doi.org/10.3382/ps.0641591>.

SINGLA, M.; SIT, N.. Application of ultrasound in combination with other technologies in food processing: A review. **Ultrasonics Sonochemistry**, vol. 73, p. 105506, May 2021. DOI 10.1016/j.ultsonch.2021.105506. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1350417721000481>.

SOARES, A. L.; OLIVO, R.; SHIMOKOMAKI, M.; IDA, E. I.. Synergism between dietary vitamin E and exogenous phytic acid in prevention of warmed-over flavour development in chicken breast meat, Pectoralis major M. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, vol. 47, no. 1, p. 57–62, Mar. 2004. DOI 10.1590/S1516-89132004000100008. Available at: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-89132004000100008&lng=en&tlng=en.

SOGLIA, F.; MUDALAL, S.; BABINI, E.; DI NUNZIO, M.; MAZZONI, M.; SIRRI, F.; CAVANI, C.; PETRACCI, M. Histology, composition, and quality traits of chicken Pectoralis major muscle affected by wooden breast abnormality. **Poultry Science**, vol. 95, no. 3, p. 651–659, 2016. DOI 10.3382/ps/pev353. Available at: <http://dx.doi.org/10.3382/ps/pev353>.

SOGLIA, F.; CAVANI, C.; PETRACCI, M.; GAO, J.; PUOLANNE, E.; ERTBJERG, P.; MAZZONI, M. Superficial and deep changes of histology, texture and particle size distribution in broiler wooden breast muscle during refrigerated storage. **Poultry Science**, vol. 96, no. 9, p. 3465–3472, 2017. <https://doi.org/10.3382/ps/pex115>.

TABILO, G.; FLORES, M.; FISZMAN, S. M.; TOLDRA, F. Postmortem meat quality and sex affect textural properties and protein breakdown of dry-cured ham. **Meat Science**, vol. 51, no. 3, p. 255–260, 1999. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(98\)00125-9](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(98)00125-9).

TAKAHASHI, K. Structural weakening of skeletal muscle tissue during post-mortem ageing of meat: the non-enzymatic mechanism of meat tenderization. **Meat Science**, vol. 43, no. SUPPL. 1, p. 67–80, Jan. 1996. DOI 10.1016/0309-1740(96)00056-3. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0309174096000563>.

TASONIERO, G; BOWKER, B; STELZLENI, A; ZHUANG, H; RIGDON, M;

THIPPAREDDI, H. Use of blade tenderization to improve wooden breast meat texture 2. **Poultry Science**, vol. 98, no. 9, p. 4204–4211, 2016. DOI 10.3382/ps/pez163. Available at: <http://dx.doi.org/10.3382/ps/pez163>.

TASONIERO, G.; ZHUANG, H.; GAMBLE, G. R.; BOWKER, B. C. Effect of spaghetti meat abnormality on broiler chicken breast meat composition and technological quality. **Poultry Science**, vol. 99, no. 3, p. 1724–1733, Mar. 2020. DOI 10.1016/j.psj.2019.10.069. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.psj.2019.10.069>.

TURANTAŞ, F.; KILIÇ, G. B.; KILIÇ, B. Ultrasound in the meat industry: General applications and decontamination efficiency. **International Journal of Food Microbiology**, vol. 198, p. 59–69, Apr. 2015. DOI 10.1016/j.ijfoodmicro.2014.12.026. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168160514006321>.

VELLEMAN, S. G. Recent Developments in Breast Muscle Myopathies Associated with Growth in Poultry. **Annual Review of Animal Biosciences**, vol. 7, no. 1, p. 289–308, 2018. <https://doi.org/10.1146/annurev-animal-020518-115311>.

VELLEMAN, S. G.; CLARK, D; L. Histopathologic and Myogenic Gene Expression Changes Associated with Wooden Breast in Broiler Breast Muscles. **Avian Diseases**, vol. 59, no. 3, p. 410–418, 2015. <https://doi.org/10.1637/11097-042015-Reg.1>.

WARNER, R. D.; MCDONNELL, C. K.; BEKHIT, A. E.D.; CLAUS, J.; VASKOSKA, R.; SIKES, A.; DUNSHEA, F. R.; HA, M. Systematic review of emerging and innovative technologies for meat tenderisation. **Meat Science**, vol. 132, no. April, p. 72–89, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.04.241>.

WOINUE, Y; AYELE, A; HAILU, M;; CHAURASIYA, R.S. Comparison of different meat menderization methods: A review. **Food Research**, , p. 1–7, 2020.

XIONG, Q.; ZHANG, M.; WANG, T.; WANG, D.; SUN, C.; BIAN, H.; LI, P.; ZOU, Ye; XU, W.. Lipid oxidation induced by heating in chicken meat and the relationship with oxidants and antioxidant enzymes activities. **Poultry Science**, vol. 99, no. 3, p. 1761–1767, Mar. 2020. DOI 10.1016/j.psj.2019.11.013. Available at:

<https://doi.org/10.1016/j.psj.2019.11.013>.

YUSOP, S. M; SULLIVAN, M. G O; KERRY, J. F; KERRY, J. P. Effect of marinating time and low pH on marinade performance and sensory acceptability of poultry meat. **Meat Science**, vol. 85, no. 4, p. 657–663, 2010. DOI 10.1016/j.meatsci.2010.03.020. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.03.020>.

YUSOP, S.M; SULLIVAN, M. G O; KERRY, J. F; KERRY, J. P. LWT - Food Science and Technology Influence of processing method and holding time on the physical and sensory qualities of cooked marinated chicken breast fillets. **LWT - Food Science and Technology**, vol. 46, no. 1, p. 363–370, 2012. DOI 10.1016/j.lwt.2011.08.007. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2011.08.007>.

ZHANG, Y.; WANG, P.; XU, X.; XIA, T.; LI, Z.; ZHAO, T.. Effect of wooden breast myopathy on water-holding capacity, rheological and gelling properties of chicken broiler breast batters. **Poultry Science**, 2020. DOI 10.1016/j.psj.2020.03.032. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.03.032>.

ZHU, X.; KAUR, L.; STAINCLIFFE, M.; BOLAND, M.. Actinidin pretreatment and sous vide cooking of beef brisket: Effects on meat microstructure, texture and in vitro protein digestibility. **Meat Science**, vol. 145, no. December 2017, p. 256–265, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.06.029>.

ZHU, X.; RUUSUNEN, M.; GUSELLA, M.; ZHOU, G.; PUOLANNE, E. High post-mortem temperature combined with rapid glycolysis induces phosphorylase denaturation and produces pale and exudative characteristics in broiler Pectoralis major muscles. **Meat Science**, vol. 89, no. 2, p. 181–188, 2011. DOI 10.1016/j.meatsci.2011.04.015. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.04.015>.

ZOU, Y.; ZHANG, K.; BIAN, H.; ZHANG, M.; SUN, C.; XU, W.; WANG, D.. Rapid tenderizing of goose breast muscle based on actomyosin dissociation by low-frequency ultrasonication. **Process Biochemistry**, vol. 65, no. October 2017, p. 115–122, 2018. DOI 10.1016/j.procbio.2017.11.010. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2017.11.010>.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos nesta pesquisa estão apresentados no formato de artigo, em atendimento a Norma Complementar nº 03/2011 do PPGCTA. O formato do artigo está de acordo com o periódico *Enzyme and Microbial Technology*.

5.1 ARTIGO: MARINATING WOODEN BREAST: EFFECT OF ENZYMATIC HYDROLYSIS AND LOW FREQUENCY ULTRASOUND

MARINATING WOODEN BREAST: EFFECT OF ENZYMATIC HYDROLYSIS AND LOW FREQUENCY ULTRASOUND

Juliana L. Lima¹, Taliana K. A. Bezerra¹, Leila M. Carvalho², Mércia S. Galvão², Lorena Lucena¹, Thayse C. Rocha¹, Mario Estevez³, Marta S. Madruga^{1*}.

¹ Post-Graduate Program in Food Science and Technology, Department of Food Engineering, Technology Centre, Federal University of Paraíba, 58051-900, João Pessoa, Paraíba, Brazil

² Department of Food Engineering, Technology Centre, Federal University of Paraíba, 58051-900, João Pessoa, Paraíba, Brazil

³ Institute of Meat and Meat Products (IPROCAR), TECAL Research Group, University of Extremadura, Cáceres, Spain

* Corresponding author: E-mail: msmadruga@uol.com.br – telephone; +55 83 3216 7473; +55 83 98847 5800

Abstract

Wooden breast (WB) is a recurrent myopathy in fast-growing birds, which alters the visual appearance, functionality and especially the texture of the breast muscle, making it tougher. The objectives of this study were i) to evaluate the effect of a combined use of papain enzyme and ultrasound on the texture of WB chicken using Response Surface methodology and ii) to assess the effect of marinating on the quality of WB chicken meat. Full factorial experimental design method was used to obtain the ideal conditions to soften the WB chicken fillet. The independent variables were the concentration of the enzyme papain (0.1 to 0.3%) and the time in ultrasonic bath (10 to 30 min). The dependent variable was the shear force (SF). The optimum results were obtained at a concentration of 0.2% papain and 20 min on ultrasound. The use of papain enzyme in marinating WB meat had a great influence on the texture of chicken breast, reducing its hardness. However, the effect of the ultrasonic on the shear force response (SF) variable was not observed. The WB chicken meat marinated with papain (with/without ultrasound bath) showed texture and technological properties similar to N meat, with reduction in the parameters of protein and lipid oxidation. The use of papain without ultrasound bath proved to be an efficient alternative for improving the tenderness of WB breasts.

Keywords: Chicken breast, Myopathy, Papain, Sonication, Tenderization, Ultrasound, Wooden Breast.

1. Introduction

Wooden Breast (WB) is a myopathy that affects the *Pectoralis major* muscle of chicken, due to rapid growth and animal development [1]. Hardness and the presence of hemorrhage and exudate on the surface appears as typical symptoms of WB myopathy [2]. In terms of quality, WB can affect the nutritional and technological properties of chicken breast and its incidence leads to economic losses worldwide [1,3–5]. In the WB breasts, fibers are affected in varying degrees of myodegeneration, which leads to an increase in interstitial connective tissue by a fibrosis process, affecting directly the breast texture [6–8]. From a sensory point of view, one of the main problems of WB meat is the partial or integral hardness of these breasts. Therefore, there is considerable interest in developing strategies to improve the softness of WB meat.

In Brazil, the Animal Products Inspection Department (DIPOA), through Circular Letter No. 17, of December 13, 2019, classifies WB myopathy in three degrees: light, moderate accentuated and severe [9]. According with the myopathy degree, chicken WB can be marketed i) as raw fresh meat for direct consumption, ii) used as raw meat for processed meat production, or iii) destined for production of non-edible products [9]. Marinating is a technique that involves the process of soaking or injecting meat with a solution that includes various ingredients, such as salt, phosphates, herbs, spices, tenderizers and other additives [10,11]. This technique results in changes in pH and leads to denaturation of connective and myofibrillar protein [12], being frequently used for the purpose of improving the sensory and texture properties of meat [10,13]. Application of proteases in brine is common in different types of muscle tissues [14–17].

The use of proteolytic enzymes, including those derived from vegetable such as papain, bromelin and ficin, has been widely applied for meat tenderization [18]. Papain, cysteine protease of vegetable origin [19], easily digest connective tissue and muscle proteins [20]. Its action has been effectively proven in improving the toughness – texture and water retention capacity - of spent hen breast [17]. However, the action of the enzyme in the flesh tissue usually takes long time, limiting its application in an industrial plant [20].

Ultrasound of low frequency (20-100 kHz) is a non-invasive and economical technique, used mainly to improve the properties of meat [21], without changing its taste, color and nutritional quality [22]. The effects of ultrasound are due to the phenomenon of cavitation [23]. Mechanical vibrations cause disturbances in muscle integrity and mainly modify the structure

of collagen [24]. In addition, ultrasound can reduce the soaking time in brine, which is too long, modifying cell membranes through cavitation, improving the marinating process [25].

Although previous studies have provided information on changes in marinated chicken WB with phosphates and other salts [26–29], the effect of marinating using proteolytic enzyme combined with the ultrasound technique in improving WB texture and quality has not yet been studied. So, it is necessary to develop strategies that can minimize the toughness of chicken WB, enabling to a best use of these breasts without affecting its technological properties. Therefore, the objectives of this study were: i) evaluate the effect of a combined use of papain enzyme and ultrasound on the texture of WB chicken using the Response Surface methodology and ii) assess the effect of marinating WB chicken breasts, under the best tenderizing conditions, on their physical, chemical and technological quality.

2. Material and Methods

2.1 Sample collection and breast classification

Cobb® chicken breasts, slaughter age 44 days, boneless and skinless were collected in the section of a Brazilian slaughterhouse with Federal Inspection, approximately 2 hours *post-mortem*. At the time of collection, the fillets were classified into two groups based on the visual aspect and palpation of the *Pectoralis major* muscle, namely, Wooden Breast (WB) and normal breast (N). The WB breasts had extreme and extensive hardness throughout the pectoral muscle with the presence of hemorrhagic points on the surface; while the breast free of apparent white strip and without hardened areas or exudate on the surface was classified as normal. After collection, the breasts ($T \leq 7^{\circ}\text{C}$) were packed in a polybag type Zip Lock bag, transported in a cool box with ice to the Laboratory and stored under refrigeration ($T \leq 3^{\circ}\text{C}$).

2.2 Evaluation of the effect of marinating with papain and ultrasound on the shear force of WB chicken breasts

Approximately 24 hours *post-mortem*, excess of fat and connective tissues and bone fragments were removed from the WB and N breasts. Each WB breast was divided into two halves, the right portion was called WB control (WB, without marinating), and the left portion was subjected to the marinating process (MWB).

To evaluate the effect of marination process on the texture (SF) of the chicken WB, the full factorial experimental design 2^2 was used, with 4 factorial points (levels ± 1) and 3 central points (level 0). The independent variables were the concentration of the papain enzyme (E: 0.1; 0.2; 0.3%; Brauzyn®100, Prozyn) and ultrasound time (U: 10, 20, 30 min). The dependent variable was the shear force (SF). The response surface model was elaborated using the following Equation 1: (Eq 1):

$$\text{SF} = \beta_0 - \beta_1(\text{E}) - \beta_2 \text{U} + \beta_3(\text{E})(\text{U}) + 0 \quad (\text{Eq. 1})$$

Where SF is the response value predicted by the model; β_0 is the mean coefficient (or the constant) β_1 , β_2 and β_3 are the linear coefficients.

Marinating was performed by immersing the breast (Temperature $\leq 4^{\circ}\text{C}$) in chilled brine (Temperature $\leq 4^{\circ}\text{C}$) in a 3:1 ratio (chicken fillet: brine). New brine was prepared for each half breast. The brine contained 5% NaCl and different percentages of the papain enzyme. The

percentage of the enzyme was calculated based on the weight of the chicken breast. Each half breast was weighed, homogenized in the respective brine and vacuum packed. Then the meat was subjected to agitation in an ultrasonic bath (modelo UltraCleaner 1400, Indaiatuba, SP, Brasil) with power of 40 khz, the temperature of 22 °C, for variable times according to the experimental design conducted. After marinating, the chicken breast fillets were dried on absorbent paper towels. N, WB and marinated MWB breasts (1 to 7) were evaluated for the SF.

After obtaining the response function (SF), ANOVA was performed and the estimated model was obtained. The treatment that presented SF close to the SF of the normal breast (N) was considered the best effect on the response (desirable shear force). A new process was carried out using the enzyme papain in the best marinating condition observed in the experimental design (papain concentration versus ultrasound time), called MWB. These samples were analyzed for instrumental texture, technological properties, physical-chemical, oxidative stress, and color parameters. Results were compared to those obtained from N and WB breast meat (without marinating) and another marinated WB meat with enzyme concentration and marinating time equal to that of MWB meat, but without submitting it to the ultrasonic bath, called PWB. PWB was tested to verify that it was possible to obtain the desired texture of the meat without the need to use ultrasound.

2.3 Warner-Bratzler shear force measurements

The shear force (SF) was determined in the cranial region of the breasts, in quadruplicate. The breasts were cut to dimensions 30 x 10 x 10 mm with the largest dimension parallel to the direction of the fiber. Values were measured using the Texturometer Texture Analyzer TA-TX2i with a 50 kg load cell, equipped with a Warner-Bratzler blade (HDP/WBV) and regulated with a descent and penetration speed of 100 mm/min, a penetration depth of 20 mm and a contact force of 10 g. The SF result was expressed in Newton.

2.4 Physico-chemical characterization

The pH was determined using a pH meter Model Q400 AS (Quimis Aparelhos Científicos Ltda., Diadema, SP, Brazil) according to [30] No. 981.12. The instrumental color was measured at three points on the ventral surface of the chicken fillet (cranial, intermediate and caudal ends). The reading was determined using the parameters L* (brightness), a* (red/green intensity) and b* (yellow/blue intensity), using a Konica Monolta digital colorimeter

(Model CR-400, Osaka, Japan), according to CIE [31] procedures. The following conditions were set for the reading: illuminant C, viewing angle 8 °, standard angle of the observer 10 °, specular included, according to specifications of the Commission Internationale de L'éclairage [31]. Before the readings were performed, the instrument was calibrated on a white ceramic plate (Illuminant C: $Y = 92.84$ $X = 0.3136$, $y = 0.3201$).

The moisture content (n° 950.46.41), protein (n° 928.08) and collagen (n° 990.26), were determined according to the methodologies described by [30]. The results were expressed on a dry basis.

2.5 Characterization of technological properties

Cooking weight loss (CL) was determined according to [32]. The samples were cut from two pieces of 80 mm x 30 mm x 30 mm and weighed. The pieces were individually transferred to a thermo-resistant plastic package and kept in a heated bath ($T \geq 90$ °C) until the meat reached an internal temperature of 75 °C. Subsequently, the samples were cooled in an ice bath until the temperature reached 28 ± 2 °C. The samples were dried on absorbent paper and weighed again. CL was expressed as the percentage of water lost during cooking process.

The instrumental texture profile (TPA) was determined in the cooked samples. Before the analysis, the samples used in the determination of CL were kept under refrigeration at 4 °C for 12 h. The samples were cut in 20 x 20 x 10 mm with a sharp blade knife and the aid of a ruler, and analyzed in two texturemeter compression cycles (TA.XTplusC, Stable Microsystems, Godalming, Surrey, United Kingdom). The test conditions were: compression of 50% of the original height, pre-test and test speed of 50 mm / min, two inch diameter compression probe (P/2”), as described by Carvalho et al. [33] with modifications.

The fractions of myofibrillary and sarcoplasmic proteins were extracted according to Zhu et al. [34], with modifications. The sarcoplasmic protein was extracted from 2.5 g of crushed muscle and 10 mL of buffer (10 mM sodium phosphate, 0.1 N NaCl, 2 mM magnesium chloride and 1 mM EGTA (pH 7.0), homogenized in Ultraturrax for 30 s and centrifuged at 2000 rpm for 15 min, the supernatant was reserved and the precipitate was resuspended in 10 mL of the same buffer (vortexed) and centrifuged in the same condition. The supernatant was combined with the previous one and homogenized (Vortex). A 2 mL aliquot was removed, centrifuged at 4000 rpm for 15 min, another 2 mL aliquot was reserved (without centrifuging) and also analyzed at 280 nm. The concentration of sarcoplasmic proteins was measured at 280 nm. The myofibrillar protein was extracted in 10 mL of 10 mM sodium phosphate buffer and

0.6 N NaCl (pH 6.5), homogenized (vortex), filtered through gauze and centrifuged at 2000 rpm for 15 min. The supernatant was discarded and the myofibrillar proteins dissolved in 10 mL of the same buffer. A 2 ml aliquot was centrifuged at 4000 rpm for 15 min and the concentration of myofibrillar proteins measured at 280 nm, another 2 ml aliquot was reserved (without centrifuging) and also analyzed at the same wavelength. Solubility was determined by the formula: Solubility (%) = Protein concentration at 280 nm after centrifugation/protein concentration at 280 nm before centrifugation.

2.6 Analysis of lipid and protein oxidation

Lipid oxidation was determined by the method of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), reported by Rosmini et al. [35]. Briefly, 2.5 g of samples were homogenized with 5.0 mL of 10% TCA and 2.5 mL of manually distilled water. The mixed homogenate was centrifuged (3500 rpm for 5 min) and filtered through Whatman No. 54 filter paper in 15 ml test tubes. Aliquots of 5.0 ml of the 0.02 M TBA reagent was added and taken to the 100 °C water bath for 35 min. to develop the color reaction. The absorbance readings were performed at 532 nm in a UV-VIS spectrophotometer (UV-1800, Shimadizu, Tokyo, Japan). The results were plotted against a standard curve prepared from tetraethoxypropane (TEP) and expressed in milligrams of malonodialdehyde (MDA) per kilogram of meat.

Warmed-over flavor (WOF) was determined according to Soares et al. [36] with adaptations, where samples of approximately 40 g were inserted in a thermo-resistant polypropylene bag, and heat treated in a bath at 85 °C ± 5 °C, until the internal temperature reached 75 °C, measured using a thermocouple (Incoterm, Porto Alegre / RS, Brazil) introduced in the geometric center of the sample. Then, the pouch containing the cooked sample was stored under refrigeration (4 °C) for a period of 48 hours under fluorescent light. After this period, the sample was reheated in a bath at 85 °C ± 5 °C for 15 minutes. The result was determined by measuring the number of TBARS, following the technique described by Rosmini et al. [35].

Protein oxidation analysis was determined using the dinitrophenylhydrazine (DNPH) method described by Ganhão et al. [37] with some modifications. Aliquots of 1.0 g of sample was homogenized with 9.0 mL of 20 mM Na₃PO₄ buffer and 0.6 M NaCl pH 6.5 (1:10). From this homogenate, two 150 µL aliquots of each sample were placed in corresponding 2 mL Eppendorf tubes: one was treated for protein quantification and the other for carbonyl quantification. The proteins were then precipitated by the addition of 1 ml of cold 10% trichloroacetic acid (TCA), followed by centrifugation at 4 °C at 600 g for 5 min. and the

supernatants were rejected. For the determination of carbonyl compounds, 1 ml of the 2M HCl solution with 0.2% DNPH was added to the sediments. For protein determination, 1 ml of 2M HCl was added to the tablets. After incubation at room temperature for 1 h, the proteins were again precipitated with 1 ml of cold 10% TCA, followed by centrifugation at 4 ° C, 1200 g for 10 min and washed twice with 1 ml of ethanol / ethyl acetate (1: 1 v / v). The pellets were dissolved in 1.5 ml of 20 mM Na₃PO₄ buffer, pH 6.5, added with 6 M guanidine hydrochloride. The protein concentration was calculated from absorbance readings at 280 nm using a standard bovine serum albumin (BSA) curve. The amount of carbonyls was expressed in nmoles of carbonyls per mg of protein using a hydrazone molar extinction coefficient (21.0 nM⁻¹ cm⁻¹) with absorbance readings at 370 nm.

2.7 Statistical analysis

The main effects of the concentration of papain enzyme and ultrasonic time were investigated using the response surface methodology. The graphs of the response were drawn using the STATISTICA software (version 10, StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA). For the results obtained with the physical-chemical characterization and technological properties, the Shapiro-Wilk normality test was performed ($\alpha = 0.05$). Then, the samples were submitted to Analysis of Variance (ANOVA) and the means compared by the Tukey test ($p < 0.05$). Statistical tests, Principal Component Analysis (PCA) of data on physical-chemical composition, technology and oxidation process of N, WB and marinated samples were generated by the XLSTAT software (version 2014.5.03, Addinsoft, New York, USA) and the graphs bar were generated using the GraphPad Prism software (version 6.0 for Windows, Graphpad Software Inc., San Diego, California, USA).

3. Results and discussion

3.1 Evaluation of shear force (SF) in the marinating process of WB meat using papain and ultrasound

The effect of marinating process on the texture of WB meat was evaluated using the complete factorial design with two factors, including the concentration of the papain enzyme (E) and the ultrasound marinating time (U). The response values, expressed as shear force (SF)

for each sample obtained in their respective experimental condition are shown in Table 1. The response values (SF) was calculated from the following function (Equation 2):

$$SF = 29.8199 - 59.9220 (E) - 0.0019 (U) + 0.1147 (E)(U) \quad (\text{Eq. 2})$$

The ANOVA values for the response surface are shown in Table 2. The determination coefficient (R^2 and adjusted R^2) resulting from the model were 0.9670 and 0.9340, respectively. This result shows that the model was able to provide an excellent response within the considered range. In addition, the p value observed for the effect of papain concentration ($p = 0.0026$) indicates statistical significance.

The detailed effect of the variables studied in the experiment is shown in Figure 1, in the form of a Pareto graph. This analysis revealed that the enzyme papain exhibited a very strong influence on meat tenderization, with this factor being statistically significant ($p < 0.05$). In addition, it is possible to observe that papain presented a negative effect on the response, which indicates that papain cause a dose-dependent tenderization effect on chicken meat. However, neither the ultrasound time ($p > 0.05$) nor the effect of the interaction between these two variables (papain versus ultrasound time) ($p > 0.05$) significantly influenced the softening process, within the range considered.

The response surface (Figure 2A) and the contour graph (Figure 2B) illustrate the effect of the percentage of the papain enzyme and the ultrasound marinating time on the SF of WB meat. These graphs indicate that the enzyme variable plays a very important role in the response, that is, a lower shear force was achieved in the higher concentrations of papain and vice versa; while the time of marinating in the ultrasound, within the experimental conditions had little influence on the response of the model.

Figure 2B shows that the shear force in WB meats marinated with 0.10% of the papain enzyme, was greater than 24 newtons, while in meats marinated with 0.30% were less than 13 newtons. The SF value obtained from meats marinated with 0.2% of the enzyme ranged from 18 to 19 Newtons, regardless of the ultrasound marinating time, with these values being similar to those from N meat.

These results indicate that increasing the concentration of papain led to more intense hydrolysis in the WB meat, probably as a result of the breakdown of chemical bonds, such as the peptide bonds between the amino acids of myofibrillar proteins and collagen [38]. This split resulted in a lower shear force applied to the meat cut, leading to a softer meat, even with WB myopathy.

WB meat presents unwanted toughness, probably caused by chronic myodegeneration with regeneration, accumulation of connective tissue or fibrosis [7]. One of the characteristics of WB myopathy is the accumulation of collagen in the chicken breast, affecting partial (cranial region) or total muscle extension [4,6,39]. However, vegetable enzymes are able to degrade connective tissue made up of 80% collagen to tenderize meat [20]. The present results corroborate this positive tenderizing effect of papain in WB meat.

Ultrasound marinating time had no effect on the SF, which is consistent with results from McDonnell et al. [40], who assessed the effect of ultrasound during the salting of pork. Ultrasound causes acoustic cavitation, a phenomenon of generation, growth and eventual collapse of the bubbles that causes thermal, mechanical wear and chemical effects [15]. Ultrasound waves are able to permeate the cell membrane and induce structural and physical-chemical changes and accelerate chemical reactions, in addition, the acoustic cavitation can induce the mechanical breakdown of myofibrillar proteins and cause protein denaturation [41]. These mechanical effects could have facilitated the action of papain on WB meat proteins.

3.2 Characterization of WB marinated, N and WB chicken meat

The results of the meat characterization are shown in Table 3. Marinated meats (MWB and PWB) have higher moisture content (77.32 and 77.00 g/100g, respectively) compared to N and WB meats (75.09 and 75.64 g/100 g, respectively). As expected, marination promoted an increase in moisture content of 2.2% and 1.9% for MWB and PWB chicken breasts, respectively, due to the uptake of brine. Regarding the moisture content of N and WB breasts no significant difference was observed, confirming the findings of other authors [42,43]. For protein content, no differences ($p > 0.05$) were observed between samples WB, MWB and PWB, indicating that the use of papain does not cause loss of the protein fraction of WB chicken meat. However, these samples had lower protein content compared to N meat. The reduced protein content in WB meats is a result of the degenerative lesions of muscle fibers resulting from the development of this myopathy [44]. Similar effects on protein content were reported by Wold et al. [45], Cai et al. [46] and Carvalho et al. [47].

The collagen content of marinated meat (MWB and PWB) was higher compared to N meat (Table 3). Although N meat had lower collagen content, it did not differ significantly from the observed WB meat content. Several studies report higher collagen content in WB meats compared to N meats, as a consequence of the deposition of connective tissue, which has collagen as its main component, in place of injured muscle fibers (fibrosis) [48]. Collagen

accretion also affects the contractile properties of the muscle, decreasing the quality of the meat, by increasing toughness [49]. WB breasts are characterized by lower protein content, and higher moisture and collagen values [26,42,47].

CL ranged from 17.13 to 25.89 % in N and WB breasts, respectively. Both marinated WB chicken breasts (MWB and PWB) did not differ significantly from N meat. However, WB breasts differed statistically ($p < 0.05$) from the other samples, showing higher weight loss during cooking. Xing et al. [50], reported higher weight loss in WB meat due to the extensive loss of membrane integrity and the presence of viscous fluid on the breast surface. In contrast, the use of proteolytic enzyme papain in marinades contributes to less weight loss during cooking [18]. The decrease in CL usually occurs after meat improves its own water-holding capacity [51,52]. In addition, Latoch [53] highlights that the marinating process, in addition to bringing benefits to the texture of the meat, makes it juicier, due to natural relationship between WHC and weight loss in meat. The greater the meat's WHC, the less weight loss during cooking [51].

The results of pH and sarcoplasmic protein solubility did not differ ($p > 0.05$) among N, WB and marinating (MWB and PWB) meats. However, myofibrillar protein solubility (MPs) in PWB marinating meat (84,67 %) was higher compared to other samples, whereas N, WB and MWB did not differ from each other (73.77% N; 74.19% WB; 76.18% MWB, respectively). The greater solubility of myofibrillar proteins in sample PWB may be the result of the intense myofibrillar hydrolysis caused by the papain enzyme. According to Wouters et al. [54], enzymatic hydrolysis considerably increases the solubility of proteins and changes their functional properties. The increase in protein solubility is related to the increase in protein-water interaction due to the increased exposure of hydrophilic groups on the surface of proteins.

TBARS of MWB raw sample were higher (0.12 mg MDA / kg) compared to the TBARS of WB raw one. No differences were observed between PWB and WB. After cooking, MWB and PWB meat exhibited lower oxidation values (0.29 and 0.34 mg MDA / kg, respectively) compared to WB chicken (1.11 mg MDA / kg) and similar value compared N meat (0.36 MDA / kg), suggesting an improvement in the quality of chicken breasts after enzymatic treatment, irrespective of the application of the ultrasonic bath. There was no significant difference ($p > 0.05$) in WOF between the four samples. PWB had the lowest protein oxidation value (2.52 nM carbonyl / mg protein), with this not being statistically different from the MWB breast (3,32 nM carbonyl / mg protein). Higher total carbonyls content was observed in N chicken breast (5.98 nM carbonyl / mg protein).

Chen, Zhang & Yang [55] observed a remarkable effect of cavitation on oxidative properties of meat after cooking. Natarajan and Ponnusamy [56] reported the increase in lipid and protein oxidation in meats after the use of ultrasound. However, this behavior was not observed in our study. Oxidation occurs readily during meat processing and storage, triggering several complex chemical reactions that directly impact meat quality [57]. WB meat has an altered chemical composition, reduced protein content, higher moisture content and lipids [44] which make it more susceptible to oxidative processes. Ferreira et al. [58] reports that the rancid aroma can be detected with MDA concentrations between 2-3 mg/kg. On the hand, the values observed for the warmed-over flavor indicate that the rancid aroma would be detected in WB meat (2.10 mg MDA / kg sample), compromising the quality of the meat by reducing the shelf life, due to the formation of radicals free, hydroperoxides, malonaldehyde and other toxic compounds.

The instrumental color parameters presented a significant difference ($p < 0.05$) especially in the ventral region. There was no significant difference between samples for parameters a^* (cranial and dorsal regions) and b^* (dorsal region). The b^* parameter measured in the ventral region of MWB and PWB presented lower value compared to N meat. WB breast (56.33) presented higher lightness compared to N (56.33). Our findings showed no difference in L^* (ventral and dorsal regions) of chicken breast after the marinating process, which indicating a similar color to N. In practice, WB breasts are more luminous (L^*) and yellowing (b^*) due to the viscous liquid present in the ventral portion of the chicken breast, and greater redness (a^*) due to hemorrhagic spots than in the N chicken breast [45,46].

In general, marinated meats (MWB and PWB) showed similar texture and technological properties to meat N, in addition to a lower level of protein and lipid oxidation of cooked meat. However, as no significant differences were observed between MWB and PWB, in the analyzed parameters, and because MWB uses a new technology but which adds a cost to production, PWB marinated meat (0.2% papain and 20 minutes of marination without ultrasound) seems to be the best option to improve the texture of WB meat, making it similar to meat of meat N, without significant changes, mainly in technological properties.

3.3 Texture parameters of WB, marinating WB (best condition) and N chicken meat

The results of the SF and TPA of the chicken breasts are shown in Figure 3. The WB meat showed the highest SF (29.71 Newton) differing from the N, MWB and PWB samples (17.30; 17.94; 15.50 Newton, respectively). In agreement with the literature, a reduction by 40

and 48% in SF was observed in MWB and PWB respectively, compared with WB. Dramatic reductions in SF in papain-treated meat tissues are achieved by hydrolysis of connective tissue proteins and myofibrillar proteins [59]. Muscle breakdown begins after activation of the enzyme system and includes tropamine-1, tropamine-t, desmin, vinculin, meta-vinciline, dystrophin, nebulin and titin [20].

In addition, SF values in marinated WB samples were statistically similar to N meat, indicating that, irrespective to the application of ultrasound, the enzymatic marinade significantly reduced the toughness of meat. To similar conclusions came Smith [60] who highlighted that sonication alone does not alter the shear values in chicken meat.

Regarding the TPA, significant differences ($p < 0.05$) were observed among the samples evaluated, except for springiness. The cooked WB chicken breast presented the highest hardness values among the studied treatments. However, no significant differences ($p > 0.05$) were observed among N and marinated breast (MWB and PWB). These results corroborate the results of greater tenderness observed for marinating meats compared to WB meat.

Regarding the adhesion parameter, the marinated meats MWB and PWB had the lowest values (-23.50 and -73.35 gs, respectively), besides, they differed statistically between themselves, and between N and WB meats (-17.20 and -15.27 gs, respectively). The lowest value observed for the PWB breast represents the greatest effort to overcome the attractive forces of this sample in contact with the probe compared to the other samples. This may be related to the fact that enzymatic hydrolysis acted mainly on the muscle surface, which led to an undesirable pasty appearance on the surface of this meat after cooking. According to Ashie, Sorensen & Nielsen [61], papain is very stable to heat and has very broad specificity, which allows them to break down muscle proteins even after cooking the meat, resulting in extreme tenderization. Similar action of papain on the surface of meat has been reported by McKeith, Brewer & Bruggen [62] and Ionescu, Aprodu & Pascaru [63]. While in the MWB meat, despite having also been subjected to enzymatic hydrolysis, the ultrasound cavitation process seems to have allowed the action of the enzymes throughout the muscle extension and not just on the surface of the chest.

Regarding cohesiveness, the N, MWB and PWB meats did not differ statistically from each other, and showed lower value when compared to WB meat. In addition, the marinating of the meat had an effect on the gummy parameters, reducing the values observed for WB meat by 49 and 30% for MWB and PWB, respectively. Among all samples, the WB breast showed the highest values of gumminess between treatments (47.06). The averages of the MWB and

PWB treatments do not differ significantly ($p > 0.05$) from the N meat; however, they differed significantly ($p < 0.05$) among them.

Meat tenderness is highly correlated with chewability. It was observed that the immersion of WB chicken fillets in brine with papain (0.2%) reduced ($p < 0.05$) the chewability of the meat, probably due to the hydrolysis of peptide bonds provided by the action of enzymes [20] and the greater ability to retain water in the cooking process after treatment. The lowest values of chewability were observed in the sample marinated under MWB sonication (15.63). There was no difference between samples N and PWB (18.89 and 18.71, respectively). In agreement with the literature [64–66], these results have the highest chew values in WB meat (32.20).

In general, the marinated samples (MWB and PWB) showed less resilience when compared to meat without marinating (N and WB). The treatments N and WB showed greater capacity to return to the initial format and do not differ significantly ($p > 0.05$) from each other. Reduction in resilience was observed in the MWB and PWB samples, compared to untreated meats (N and WB), however, between the marinated treatments there was no statistical difference ($p > 0.05$).

3.4 Principal Component Analysis (PCA) of WB, marinating WB and N chicken meat

The PCA (Figure 4) was performed to assess the connection between all measurements of meat characterization. The first Principal Component (PC1) explained 56.04% of the total variation among the samples, which PC2 explained 33.28% of total variability among the parameters, PC1 x PC2 explained 86.32% of the variability among the components.

Marinating meats with similar chemical parameters were positioned in the quadrats in nearby regions. PC1 separated the WB meat (in the positive side of PC1) from the N, MWB and PWB marinating meat (in the negative side of PC1).

Mainly the texture attributes, lipid oxidation and CL parameters are in the positive side of PC1 that were associated to the WB meat, and it was best characterized by the SF, hardness, chewiness, gumminess, cohesiveness, TBARS_{cooked} and WOF. MWB and PWB meat, both submitted to the marinating process with papain, are located in the negative side of PC1, and they were associated to the chemical parameters of moisture, collagen, myofibrillar protein solubility and TBARS_{raw}. Sample N was positioned on the positive axis of PC2, indicating that this meat has a higher content of proteins and carbonyls and a lower content of collagen, moisture, pH, WOF and CL.

Thus, PCA discriminated WB and N chicken meats 3 groups according to the quality characteristics of each one. The TPA and lipid oxidation was a marker of WB meat, while moisture and collagen characterized marinating WB meat.

4. Conclusion

The use of papain enzyme in marinated WB meat had a great influence on the texture of chicken breast, reducing its hardness. However, the effect of the ultrasonic bath on the shear force response (SF) variable was not observed. The marinated WB chicken meat with papain showed texture and technological properties similar to those from N meat, with reduction in the parameters of protein and lipid oxidation. The use of papain without the use of ultrasound bath proved to be an efficient alternative for improving the tenderness of WB breasts and has a lower cost compared to the enzymatic marinating combined with the ultrasound bath.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank Guaraves Guarabira Aves Ltda for donating the study material. They also thank the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) and the Brazilian Federal Agency for Support and Evaluation of Graduate Education (CAPES) for the scholarship and grants awarded to student JLL and for the financial support through project 430832/2016-8. Lastly, the authors declare that the present study was conducted with the support of CAPES—Financing Code 001.

Reference

- [1] M. Petracci, F. Soglia, M. Madruga, L. Carvalho, E. Ida, M. Estévez, Wooden-Breast, White Striping, and Spaghetti Meat: Causes, Consequences and Consumer Perception of Emerging Broiler Meat Abnormalities, *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 18 (2019) 565–583. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12431>.
- [2] R.A. Bailey, K.A. Watson, S.F. Bilgili, S. Avendano, The genetic basis of pectoralis major myopathies in modern broiler chicken lines, *Poult. Sci.* 94 (2015) 2870–2879. <https://doi.org/10.3382/ps/pev304>.

- [3] B.C. Geronimo, S.M. Mastelini, R.H. Carvalho, S. Barbon Júnior, D.F. Barbin, M. Shimokomaki, E.I. Ida, Computer vision system and near-infrared spectroscopy for identification and classification of chicken with wooden breast, and physicochemical and technological characterization, *Infrared Phys. Technol.* 96 (2019) 303–310. <https://doi.org/10.1016/j.infrared.2018.11.036>.
- [4] V.A. Kuttappan, B.M. Hargis, C.M. Owens, White striping and woody breast myopathies in the modern poultry industry: a review, *Poult. Sci.* 95 (2016) 2724–2733. <https://doi.org/10.3382/ps/pew216>.
- [5] V.A. Kuttappan, C.M. Owens, C. Coon, B.M. Hargis, M. Vazquez-Añón, Incidence of broiler breast myopathies at 2 different ages and its impact on selected raw meat quality parameters, *Poult. Sci.* 96 (2017) 3005–3009. <https://doi.org/10.3382/ps/pex072>.
- [6] H.K. Sihvo, K. Immonen, E. Puolanne, Myodegeneration With Fibrosis and Regeneration in the Pectoralis Major Muscle of Broilers, *Vet. Pathol.* 51 (2014) 619–623. <https://doi.org/10.1177/0300985813497488>.
- [7] H.K. Sihvo, N. Airas, J. Lindén, E. Puolanne, Pectoral Vessel Density and Early Ultrastructural Changes in Broiler Chicken Wooden Breast Myopathy, *J. Comp. Pathol.* 161 (2018) 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2018.04.002>.
- [8] J.P. Caldas-Cueva, C.M. Owens, A review on the woody breast condition, detection methods, and product utilization in the contemporary poultry industry, *J. Anim. Sci.* 98 (2020) 1–10. <https://doi.org/10.1093/jas/skaa207>.
- [9] Brasil. Ministério da Agricultura Pecuária e abastecimento, Ofício Circular nº 17/2019/CGI/DIPOA/DAS/MAPA., (2019) 12–14.
- [10] D. Istrati, C. Vizireanu, F. Dima, R. Dinic, ORIGINAL RESEARCH PAPER EFFECT OF MARINATION WITH PROTEOLYTIC ENZYMES ON QUALITY OF BEEF MUSCLE ♦, 13 (2012) 81–89.

- [11] S.M. Yusop, M.G.O. Sullivan, J.F. Kerry, J.P. Kerry, LWT - Food Science and Technology Influence of processing method and holding time on the physical and sensory qualities of cooked marinated chicken breast fillets, LWT - Food Sci. Technol. 46 (2012) 363–370. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.08.007>.
- [12] S.M. Yusop, M.G.O. Sullivan, J.F. Kerry, J.P. Kerry, Effect of marinating time and low pH on marinade performance and sensory acceptability of poultry meat, Meat Sci. 85 (2010) 657–663. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.03.020>.
- [13] C. Alvarado, S. Mckee, Marination to Improve Functional Properties and Safety of Poultry Meat, Poult. Sci. 16 (2007) 113–120. <https://doi.org/10.1093/japr/16.1.113>.
- [14] X. Jun-hui, C. Hui-juan, Z. Bin, Y. Hui, The mechanistic effect of bromelain and papain on tenderization in jumbo squid (*Dosidicus gigas*) muscle, Food Res. Int. 131 (2020) 108991. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.108991>.
- [15] D. cheng Kang, X. qin Gao, Q. feng Ge, G. hong Zhou, W. gang Zhang, Effects of ultrasound on the beef structure and water distribution during curing through protein degradation and modification, Ultrason. Sonochem. 38 (2017) 317–325. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2017.03.026>.
- [16] S. Maqsood, K. Manheem, A. Gani, A. Abushelaibi, Degradation of myofibrillar, sarcoplasmic and connective tissue proteins by plant proteolytic enzymes and their impact on camel meat tenderness, J. Food Sci. Technol. 55 (2018) 3427–3438. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3251-6>.
- [17] M. Muthulakshmi, S. Vaithiyanathan, M. Muthukumar, S. Saravanakumar, Effect of Partially Purified Ginger Enzyme and Commercially Available Papain on Quality of Spent Hen Meat, Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci. 7 (2018) 1734–1745. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.710.199>.
- [18] N. Gokoglu, P. Yerlikaya, I. Ucak, H.A. Yatmaz, Effect of bromelain and papain enzymes addition on physicochemical and textural properties of squid (*Loligo vulgaris*),

- J. Food Meas. Charact. 11 (2017) 347–353. <https://doi.org/10.1007/s11694-016-9403-3>.
- [19] A.A. Bekhit, D.L. Hopkins, G. Geesink, A.A. Bekhit, P. Franks, Exogenous Proteases for Meat Tenderization, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 54 (2014) 1012–1031. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.623247>.
- [20] M.S. Arshad, J.-H. Kwon, M. Imran, M. Sohaib, A. Aslam, I. Nawaz, Z. Amjad, U. Khan, M. Javed, Plant and bacterial proteases: A key towards improving meat tenderization, a mini review, *Cogent Food Agric.* 2 (2016) 1–10. <https://doi.org/10.1080/23311932.2016.1261780>.
- [21] F. Turantaş, G.B. Kılıç, B. Kılıç, Ultrasound in the meat industry: General applications and decontamination efficiency, *Int. J. Food Microbiol.* 198 (2015) 59–69. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.12.026>.
- [22] M.B. Pinton, L.P. Correa, M.M.X. Facchi, R.T. Heck, Y.S.V. Leães, A.J. Cichoski, J.M. Lorenzo, M. dos Santos, M.A.R. Pollonio, P.C.B. Campagnol, Ultrasound: A new approach to reduce phosphate content of meat emulsions, *Meat Sci.* 152 (2019) 88–95. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.02.010>.
- [23] A.D. Alarcon-Rojo, L.M. Carrillo-Lopez, R. Reyes-Villagrana, M. Huerta-Jiménez, I.A. Garcia-Galicia, Ultrasound and meat quality: A review, *Ultrason. Sonochem.* 55 (2019) 369–382. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.09.016>.
- [24] A.D. Alarcon-rojo, H. Janacua, J.C. Rodriguez, L. Paniwnyk, T.J. Mason, Power ultrasound in meat processing, *MESC.* 107 (2015) 86–93. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.04.015>.
- [25] E.S. Inguglia, Z. Zhang, C. Burgess, J.P. Kerry, B.K. Tiwari, Influence of extrinsic operational parameters on salt diffusion during ultrasound assisted meat curing, *Ultrasonics.* 83 (2018) 164–170. <https://doi.org/10.1016/j.ultras.2017.03.017>.

- [26] S. Mudalal, M. Lorenzi, F. Soglia, C. Cavani, M. Petracci, Implications of white striping and wooden breast abnormalities on quality traits of raw and marinated chicken meat, *Animal*. 9 (2015) 728–734. <https://doi.org/10.1017/S175173111400295X>.
- [27] V. V. Tijare, F.L. Yang, V.A. Kuttappan, C.Z. Alvarado, C.N. Coon, C.M. Owens, Meat quality of broiler breast fillets with white striping and woody breast muscle myopathies, *Poult. Sci.* 95 (2016) 2167–2173. <https://doi.org/10.3382/ps/pew129>.
- [28] M.E. Aguirre, C.M. Owens, R.K. Miller, C.Z. Alvarado, Descriptive sensory and instrumental texture profile analysis of woody breast in marinated chicken, *Poult. Sci.* 97 (2018) 1456–1461. <https://doi.org/10.3382/ps/pex428>.
- [29] A.D. Maxwell, B.C. Bowker, H. Zhuang, D. Chatterjee, K. Adhikari, Descriptive sensory analysis of marinated and non-marinated wooden breast fillet portions, *Poult. Sci.* 97 (2018) 2971–2978. <https://doi.org/10.3382/ps/pey145>.
- [30] AOAC. Association of Official Chemists, Official methods of analysis the os AOAC International, 17th ed., Washington, USA, 2000.
- [31] CIE. Commission Internationale de l'Eclairage, Commission Internationale de l'Eclairage, (1986) 15.2.
- [32] L.M. de CARVALHO, M.É. da S. OLIVEIRA, A.S. FREITAS, A.C. SOUSA NETO, E.I. IDA, M. SHIMOKOMAKI, M.S. MADRUGA, Further evidence for the existence of broiler chicken PFN (pale, firm, non-exudative) and PSE (pale, soft, exudative) meat in brazilian commercial flocks, *Food Sci. Technol.* 38 (2018) 704–710. <https://doi.org/10.1590/fst.15617>.
- [33] L.M. Carvalho, J. Delgado, M.S. Madruga, M. Estévez, Pinpointing oxidative stress behind the white striping myopathy: depletion of antioxidant defenses, accretion of oxidized proteins and impaired proteostasis, *J. Sci. Food Agric.* 101 (2020) 1364–1371. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10747>.

- [34] X. Zhu, M. Ruusunen, M. Gusella, G. Zhou, E. Puolanne, High post-mortem temperature combined with rapid glycolysis induces phosphorylase denaturation and produces pale and exudative characteristics in broiler Pectoralis major muscles, *Meat Sci.* 89 (2011) 181–188. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.04.015>.
- [35] M.R. Rosmini, F. Perlo, J.A. Pérez-Alvarez, M.J. Pagán-Moreno, A. Gago-Gago, F. López-Santoveña, V. Aranda-Catalá, TBA test by an extractive method applied to ‘paté,’ *Meat Sci.* 42 (1996) 103–110. [https://doi.org/10.1016/0309-1740\(95\)00010-0](https://doi.org/10.1016/0309-1740(95)00010-0).
- [36] A.L. Soares, R. Olivo, M. Shimokomaki, E.I. Ida, Synergism between dietary vitamin E and exogenous phytic acid in prevention of warmed-over flavour development in chicken breast meat, Pectoralis major M., *Brazilian Arch. Biol. Technol.* 47 (2004) 57–62. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132004000100008>.
- [37] R. Ganhão, D. Morcuende, M. Estévez, Protein oxidation in emulsified cooked burger patties with added fruit extracts: Influence on colour and texture deterioration during chill storage, *Meat Sci.* 85 (2010) 402–409. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.02.008>.
- [38] S. Barekat, N. Soltanizadeh, Application of high-intensity ultrasonic radiation coupled with papain treatment to modify functional properties of beef Longissimus lumborum, *J. Food Sci. Technol.* 56 (2019) 224–232. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3479-1>.
- [39] M. Petracci, S. Mudalal, F. Soglia, C. Cavani, Meat quality in fast-growing broiler chickens, *Worlds. Poult. Sci. J.* 71 (2015) 363–374. <https://doi.org/10.1017/S0043933915000367>.
- [40] C.K. McDonnell, J.G. Lyng, P. Allen, The use of power ultrasound for accelerating the curing of pork, *MESC.* 98 (2014) 142–149. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.04.008>.
- [41] L.M. Carrillo-Lopez, M. Huerta-Jimenez, I.A. Garcia-Galicia, A.D. Alarcon-Rojo, Bacterial control and structural and physicochemical modification of bovine

- Longissimus dorsi by ultrasound, *Ultrason. Sonochem.* 58 (2019) 104608. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.05.025>.
- [42] G. Baldi, F. Soglia, L. Laghi, S. Tappi, P. Rocculi, S. Tavaniello, D. Prioriello, R. Mucci, G. Maiorano, M. Petracci, Comparison of quality traits among breast meat affected by current muscle abnormalities, *Food Res. Int.* 115 (2019) 369–376. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.11.020>.
- [43] T. Cavalcante da Rocha, L.M. Carvalho, A.J. Soares, D.G. Coutinho, L.S. Olegario, M. Sousa Galvão, M. Estévez, M.S. Madruga, Impact of chicken wooden breast on quality and oxidative stability of raw and cooked sausages subjected to frozen storage, *J. Sci. Food Agric.* 100 (2020) 2630–2637. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10292>.
- [44] F. Soglia, L. Laghi, L. Canonico, C. Cavani, M. Petracci, Functional property issues in broiler breast meat related to emerging muscle abnormalities, *Food Res. Int.* 89 (2016) 1071–1076. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.04.042>.
- [45] J.P. Wold, E. Veiseth-Kent, V. Høst, A. Løvland, Rapid on-line detection and grading of wooden breast myopathy in chicken fillets by near-infrared spectroscopy, *PLoS One.* 12 (2017) e0173384. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0173384>.
- [46] K. Cai, W. Shao, X. Chen, Y.L. Campbell, M.N. Nair, S.P. Suman, C.M. Beach, M.C. Guyton, M.W. Schilling, Meat quality traits and proteome profile of woody broiler breast (pectoralis major) meat, *Poult. Sci.* 97 (2018) 337–346. <https://doi.org/10.3382/ps/pex284>.
- [47] L.M. Carvalho, M.S. Madruga, M. Estévez, A.T. Badaró, D.F. Barbin, Occurrence of wooden breast and white striping in Brazilian slaughtering plants and use of near-infrared spectroscopy and multivariate analysis to identify affected chicken breasts, *J. Food Sci.* 85 (2020) 3102–3112. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15465>.
- [48] F. Soglia, S. Mudalal, E. Babini, M. Di Nunzio, M. Mazzoni, F. Sirri, C. Cavani, M. Petracci, Histology, composition, and quality traits of chicken Pectoralis major muscle

- affected by wooden breast abnormality, *Poult. Sci.* 95 (2016) 651–659. <https://doi.org/10.3382/ps/pev353>.
- [49] J.R. Tonniges, D.L. Clark, S.G. Velleman, The Effect of the Wooden Breast Fibrotic Myopathy in Broilers on Fibrillar Collagen Organization and Decorin-Collagen Binding, *Avian Dis.* 63 (2018) 48. <https://doi.org/10.1637/11985-102218-Reg.1>.
- [50] T. Xing, X. Zhao, M. Han, L. Cai, S. Deng, G. Zhou, X. Xu, A comparative study of functional properties of normal and wooden breast broiler chicken meat with NaCl addition, *Poult. Sci.* 96 (2017) 3473–3481. <https://doi.org/10.3382/ps/pex116>.
- [51] A.R. Al-Hilphy, A.B. Al-Temimi, H.H.M. Al Rubaiy, U. Anand, G. Delgado-Pando, N. Lakhssassi, Ultrasound applications in poultry meat processing: A systematic review, *J. Food Sci.* 85 (2020) 1386–1396. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15135>.
- [52] P. Kadioğlu, M. Karakaya, K. Unal, A.S. Babaoğlu, Technological and textural properties of spent chicken breast, drumstick and thigh meats as affected by marinating with pineapple fruit juice, *Br. Poult. Sci.* 60 (2019) 381–387. <https://doi.org/10.1080/00071668.2019.1621990>.
- [53] A. Latoch, Effect of meat marinating in kefir, yoghurt and buttermilk on the texture and color of pork steaks cooked sous-vide, *Ann. Agric. Sci.* 65 (2020) 129–136. <https://doi.org/10.1016/j.aoas.2020.07.003>.
- [54] A.G.B. Wouters, I. Rombouts, E. Fierens, K. Brijs, J.A. Delcour, Relevance of the Functional Properties of Enzymatic Plant Protein Hydrolysates in Food Systems, *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 15 (2016) 786–800. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12209>.
- [55] F. Chen, M. Zhang, C. Yang, Ultrasonics - Sonochemistry Application of ultrasound technology in processing of ready-to-eat fresh food: A review, *Ultrason. - Sonochemistry.* 63 (2020) 104953. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.104953>.

- [56] S. Natarajan, V. Ponnusamy, A review on the applications of ultrasound in food processing, *Mater. Today Proc.* (2020). <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.09.516>.
- [57] O.P. Soladoye, M.L. Juárez, J.L. Aalhus, P. Shand, M. Estévez, Protein Oxidation in Processed Meat: Mechanisms and Potential Implications on Human Health, *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 14 (2015) 106–122. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12127>.
- [58] V.C.S. Ferreira, D. Morcuende, M.S. Madruga, S.H. Hernández-López, F.A.P. Silva, S. Ventanas, M. Estévez, Effect of pre-cooking methods on the chemical and sensory deterioration of ready-to-eat chicken patties during chilled storage and microwave reheating, *J. Food Sci. Technol.* 53 (2016) 2760–2769. <https://doi.org/10.1007/s13197-016-2248-2>.
- [59] Y. Zhang, D. Zhang, Y. Huang, L. Chen, P. Bao, H. Fang, *LWT - Food Science and Technology* Effects of basic amino acid on the tenderness , water binding capacity and texture of cooked marinated chicken breast, *LWT - Food Sci. Technol.* 129 (2020) 109524. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109524>.
- [60] R. Smith, *_Smith 2011.pdf*, (2011) 757–759.
- [61] I.N.A. Ashie, T.L. Sorensen, P.M. Nielsen, Effects of Papain and a Microbial Enzyme on Meat Proteins and Beef Tenderness, *J. Food Sci.* 67 (2002) 2138–2142. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb09516.x>.
- [62] F.K. MCKEITH, M.S. BREWER, K.A. BRUGGEN, EFFECTS OF ENZYME APPLICATIONS ON SENSORY, CHEMICAL AND PROCESSING CHARACTERISTICS OF BEEF STEAKS AND ROASTS, *J. Muscle Foods.* 5 (1994) 149–164. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4573.1994.tb00527.x>.
- [63] A. Ionescu, I. Aprodu, G. Pascaru, Effect of papain and bromelin on muscle and collagen proteins in beef meat, *Ann. Univ. Dunarea Jos Galati.* (2008) 9–16.

- [64] D. Chatterjee, H. Zhuang, B.C. Bowker, A.M. Rincon, Instrumental texture characteristics of broiler pectoralis major with the wooden breast condition, *Poult. Sci.* 95 (2016) 2449–2454. <https://doi.org/10.3382/ps/pew204>.
- [65] B. Pang, B. Bowker, Y. Yang, J. Zhang, H. Zhuang, Relationships between instrumental texture measurements and subjective woody breast condition scores in raw broiler breast, *Poult. Sci.* 99 (2018) 3292–3298. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2019.12.072>.
- [66] G. Tasoniero, B. Bowker, A. Stelzleni, H. Zhuang, M. Rigdon, H. Thippareddi, Use of blade tenderization to improve wooden breast meat texture2, *Poult. Sci.* (2019) 1–8. <https://doi.org/10.3382/ps/pez163>.

Table 1 - Design matrix (in coded level of two variables) and response value for Shear Force (SF) of marinated chicken breast

Order	Marinated poultry breast	Papain (%)	Ultrasound time (min)	SF (Newton)
4	MWB-1	-1 (0.1)	-1 (10)	24.23
2	MWB-2	+1 (0.3)	-1 (10)	12.48
6	MWB-3	-1 (0.1)	+1 (30)	24.43
1	MWB-4	+1 (0.3)	+1 (30)	13.13
7	MWB-5	0 (0.2)	0 (20)	17.84
3	MWB-6	0 (0.2)	0 (20)	19.19
5	MWB-7	0 (0.2)	0 (20)	16.49
Normal breast (N)				17.33
Wooden breast (WB)				29.52

SF: Shear Force.

Table 2 - Analysis of variance (ANOVA) for full factorial experimental design

Factor	Sum of square (SS)	Df ¹	Mean square	F-value ²	P-value
(1) Papain (%)	132.8348	1	132.8348	87.7766	0.0026
(2) Ultrasound time (min)	0.1777	1	0.1777	0.1174	0.7545
1 by 2	0.0527	1	0.0527	0.0348	0.8639
Pure error	4.5400	3	1.5133		
Total SS	137.6052	6			
R-squared	0.9670				
Adjusted R-squared	0.9340				

¹ Df: degrees of freedom.

² Test for comparing model variance with residual (error) variance.

Table 3 - Characterization of N, WB and marinating MWB and PWB chicken meat

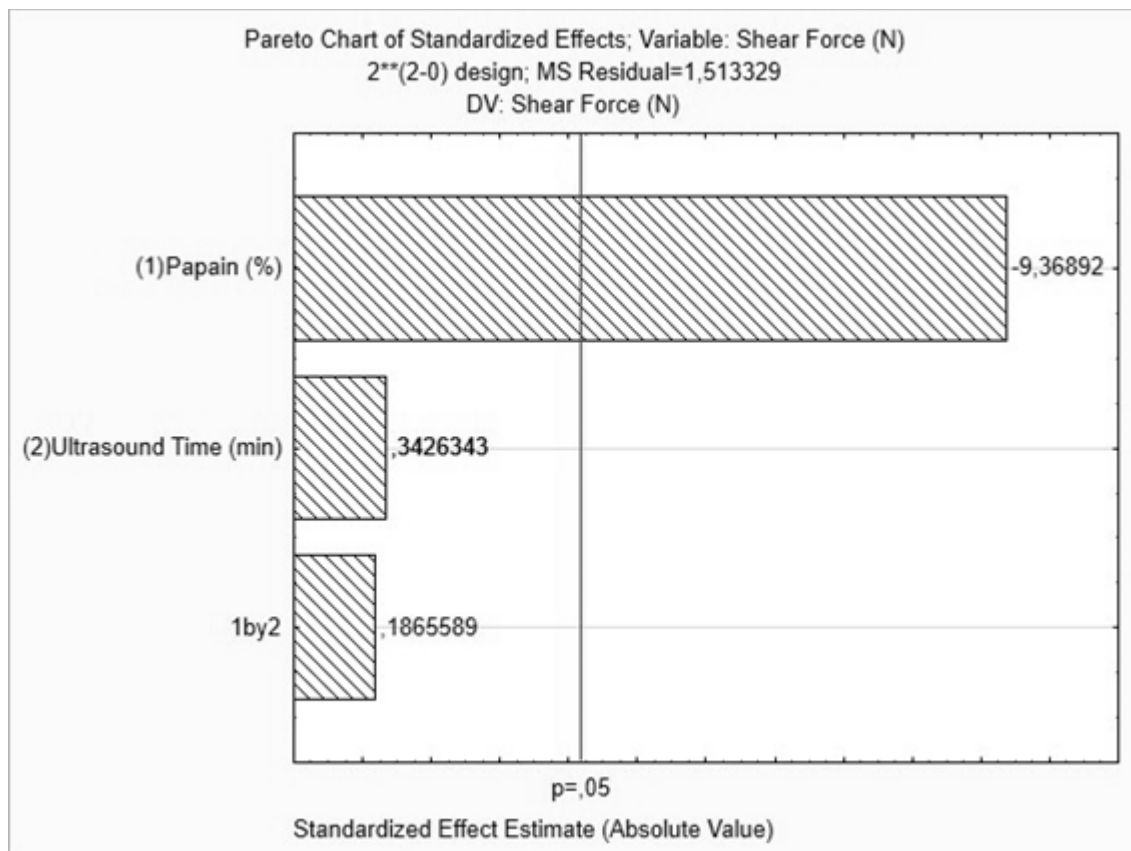
Parameter	N	WB	MWB	PWB
Moisture ¹	75.09 ± 0.31 ^b	75.64 ± 0.79 ^b	77.32 ± 0.29 ^a	77.00 ± 0.33 ^a
Protein ^{*1}	83.45 ± 1.50 ^a	80.26 ± 0.99 ^b	79.05 ± 0.69 ^b	78.17 ± 1.49 ^b
Collagen ^{*1}	1.67 ± 0.41 ^c	1.85 ± 0.09 ^{bc}	2.49 ± 0.25 ^{ab}	2.61 ± 0.32 ^a
pH	5.98 ± 0.09 ^a	6.08 ± 0.08 ^a	6.02 ± 0.11 ^a	6.01 ± 0.04 ^a
Cooking loss ¹	17.13 ± 1.38 ^b	25.89 ± 1.87 ^a	21.01 ± 1.78 ^b	19.45 ± 2.03 ^b
Sarcoplasmic protein solubility ¹	75.90 ± 5.87 ^a	74.46 ± 0.17 ^a	77.69 ± 2.06 ^a	74.73 ± 1.63 ^a
Myofibrillar protein solubility ¹	74.77 ± 1.74 ^b	74.19 ± 3.84 ^b	76.18 ± 3.58 ^b	84.66 ± 2.77 ^a
TBARs raw ²	0.04 ± 0.00 ^c	0.07 ± 0.01 ^b	0.12 ± 0.01 ^a	0.08 ± 0.01 ^b
TBARs cooked ²	0.36 ± 0.09 ^b	1.11 ± 0.04 ^a	0.29 ± 0.03 ^b	0.34 ± 0.06 ^b
WOF ²	1.66 ± 0.27	2.10 ± 0.18	1.64 ± 0.21	1.82 ± 0.11
Carbonyls ³	5.98 ± 0.70 ^a	4.16 ± 0.23 ^b	3.32 ± 0.06 ^{bc}	2.52 ± 0.27 ^c
<i>Instrumental color</i>				
L* (ventral)	56.33 ± 3.04 ^b	62.43 ± 1.75 ^a	59.70 ± 1.31 ^{ab}	59.5 ± 1.02 ^{ab}
a* (ventral)	0.68 ± 0.57 ^a	1.65 ± 0.78 ^a	1.33 ± 0.31 ^a	2.16 ± 1.20 ^a
b* (ventral)	7.31 ± 0.70 ^a	5.43 ± 1.32 ^{ab}	3.71 ± 2.08 ^b	2.95 ± 0.40 ^b
L* (dorsal)	55.11 ± 0.56 ^{ab}	57.36 ± 3.45 ^a	52.48 ± 0.12 ^b	55.89 ± 0.50 ^{ab}
a* (dorsal)	1.02 ± 1.42 ^a	1.02 ± 0.70 ^a	0.68 ± 0.65 ^a	0.14 ± 0.35 ^a
b* (dorsal)	9.91 ± 0.37 ^a	9.70 ± 1.60 ^a	8.85 ± 0.85 ^a	10.09 ± 1.26 ^a

*dry base.

¹Results expressed as percentage.²Results expressed as mg MDA/kg muscle.³Results expressed as nmol/mg protein.^{a,b} Mean values within the same parameter followed by different superscript letters significantly differ by the Tukey test ($p < 0.05$).

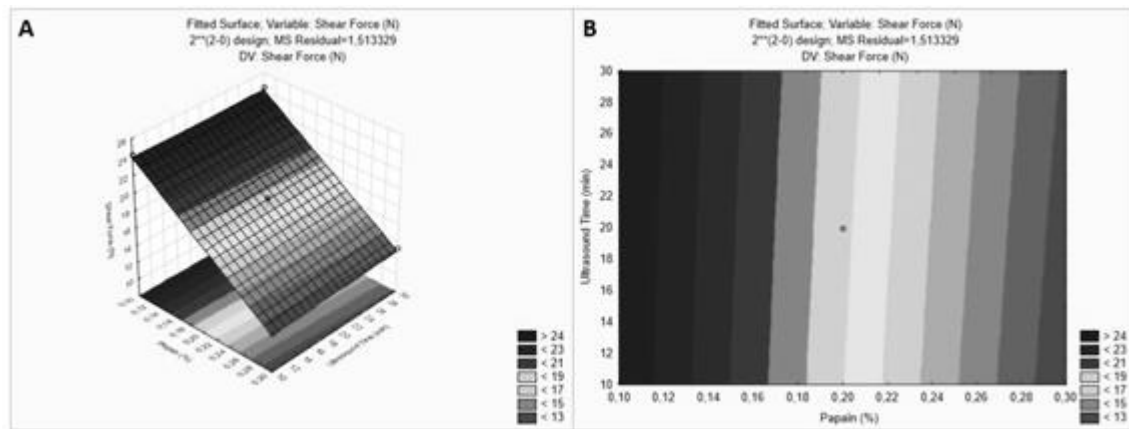
N (Normal meat); WB (Wooden Breast meat); MWB (Marinating with 0.2% papain during 20 min in ultrasound); PWB (marinating with 0.2% papain during 20 min without ultrasound).

Figure 1 - Pareto chart of standardized effects of the different variables tested in the SF of marinated WB meat



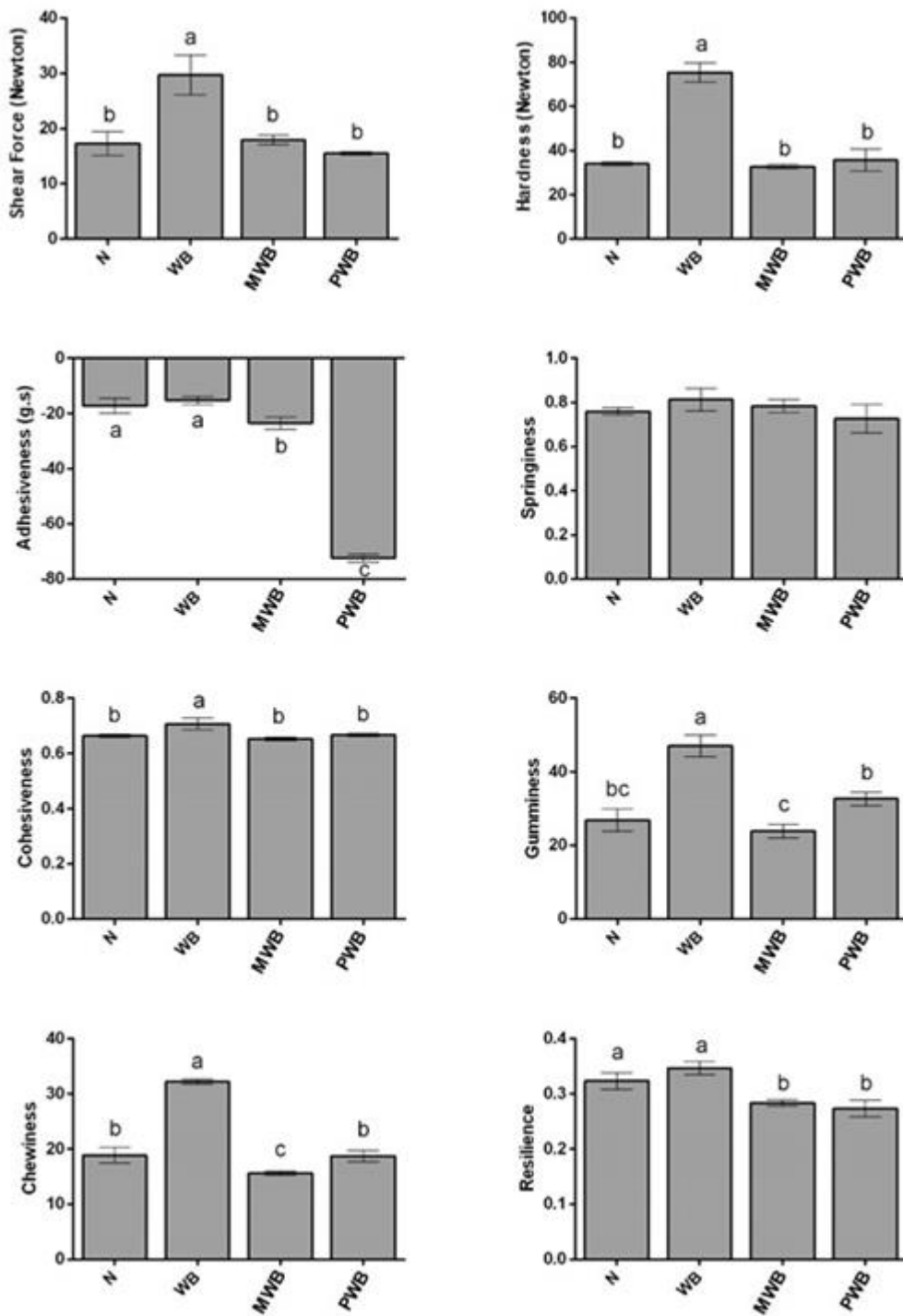
Vertical line in the chart defines 95 % confidence level.

Figure 2 - Response surface plot and contour plot showing the effects of variables on Shear Force



A: surface plot of SF versus percentage of papain and ultrasound time (min); B: Contour plot of SF versus percentage of papain and ultrasound time (min).

Figure 3 - SF and Texture profile (TPA) of WB, marinating WB and N chicken meat

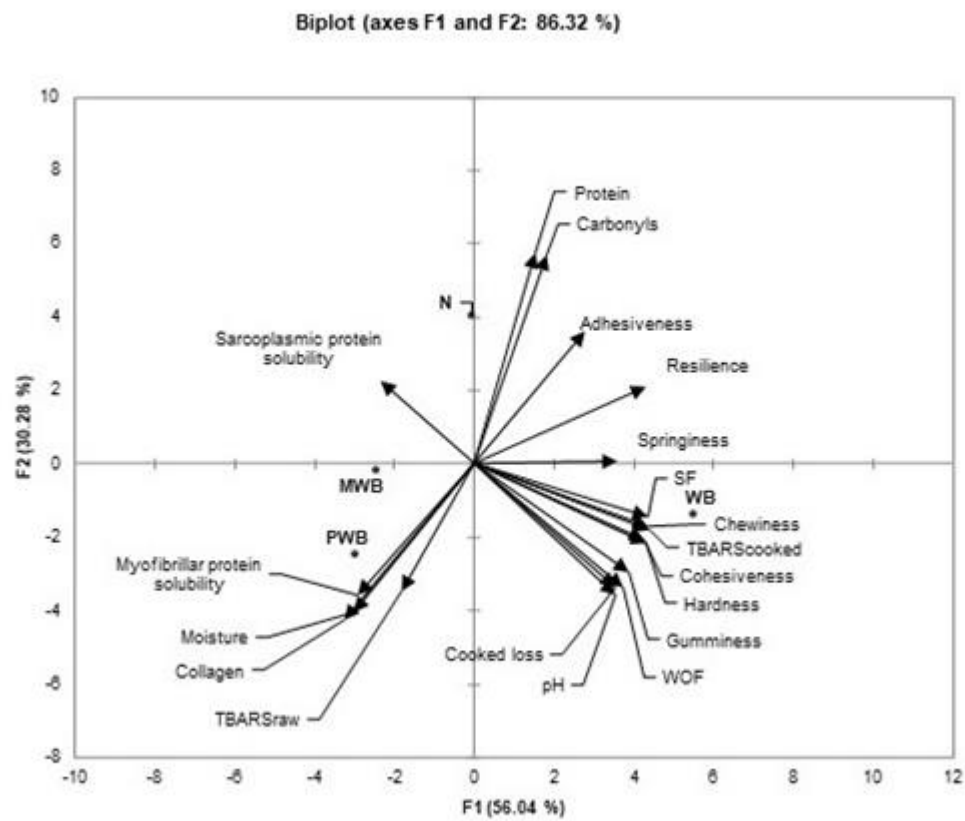


a,b

Mean values within the same parameter followed by different superscript letters significantly differ by the Tukey test ($p < 0.05$).

N (Normal meat); WB (Wooden Breast meat); MWB (Marinating with 0.2% papain during 20 min in ultrasound); PWB (marinating with 0.2% papain during 20 min without ultrasound).

Figure 4 - Principal component analysis (PCA) of WB, marinating WB (MWB and PWB) and N chicken meat



N (Normal meat); WB (Wooden Breast meat); MWB (Marinating with 0.2% papain during 20 min in ultrasound); PWB (marinating with 0.2% papain during 20 min without ultrasound).

CONCLUSÕES GERAL

A papaína exerce uma influência relevante no processo de amaciamento do peito WB; entretanto, nas condições estudadas o ultrassom ou a combinação ultrassom/enzima não apresentaram influência na FC avaliada na superfície de resposta. A papaína exerce uma função negativa sobre a FC da carne marinada, ou seja, quanto maior a concentração da enzima utilizada no processo de marinação menor será a força de cisalhamento.

A marinação do peito WB em uma concentração de papaína superior a 0,2% pode deixar a carne WB com uma consistência pastosa e uma textura indesejável. Os peitos marinados MWB e PWB apresentaram maior teor de umidade e adesividade comparados ao peito WB sem tratamento, observando-se também uma redução na FC, dureza e mastigabilidade. O uso de marinação enzimático com 0,2% reduziu a perda de peso durante o cozimento e não afetou a oxidação lipídica e proteica da carne cozida.

Sugere-se pesquisas futuras avaliando os efeitos da marinada na estrutura do músculo e nos parâmetros sensoriais da carne WB; além de estudos que avaliem o uso de enzimas menos destrutivas para o amaciamento e qualidade do peito de frango WB.

ANEXO

Comprovante de submissão do artigo

Journal: Enzyme and Microbial Technology
Title: MARINATING WOODEN BREAST: EFFECT OF ENZYMATIC HYDROLYSIS AND LOW FREQUENCY ULTRASOUND
Corresponding Author: Dr. Marta Suely Madruga
Co-Authors: Juliana Lopes de Lima; Taliana Kênia Alencar Bezerra; Leila Moreira de Carvalho; Mércia de Sousa Galvão; Lorena Lucena de Medeiros; Thayse Cavalcante da Rocha; Mario Estévez
Manuscript Number:

Dear Lima,

Dr. Marta Suely Madruga submitted this manuscript via Elsevier's online submission system, Editorial Manager, and you have been listed as a Co-Author of this submission.

Elsevier asks Co-Authors to confirm their consent to be listed as Co-Author and track the papers status. In order to confirm your connection to this submission, please click here to confirm your co-authorship: <https://www.editorialmanager.com/enzmictec/1.asp?i=250726&i=JTQTR7TK>

If you have not yet registered for the journal on Editorial Manager, you will need to create an account to complete this confirmation. Once your account is set up and you have confirmed your status as Co-Author of the submission, you will be able to view and track the status of the submission as it goes through the editorial process by logging in at <https://www.editorialmanager.com/enzmictec/>

If you did not co-author this submission, please contact the Corresponding Author directly at msmadruga@pq.cnpq.br

Thank you,
Enzyme and Microbial Technology

More information and support
FAQ: What is Editorial Manager Co-Author registration?
https://service.elsevier.com/ann/answers/detail/a_id/28460/sunorthub/publishing/kw/co-author+editorial+manager/