

Trattamento con ultrasuoni a bassa frequenza per l'intenerimento di carni avicole

Report

INDICE DEI CONTENUTI

1. Effetto del trattamento con ultrasuoni a bassa frequenza sulle principali proprietà tecnologiche della carne di petto di pollo trattata tal quale e confezionata skin	
1.1 Introduzione	1
1.2 Obiettivo della ricerca	1
1.3 Disegno sperimentale	1
1.3.1 Trattamento	2
1.3.2 Determinazioni Analitiche	2
1.4 Risultati	4
2. Effetto del trattamento con ultrasuoni a bassa frequenza sulle principali proprietà tecnologiche della carne di petto di pollo affetta da anomalia Wooden Breast	
2.1 Introduzione	11
2.2 Obiettivo della ricerca	11
2.3 Disegno sperimentale	12
2.3.1 Trattamento	12
2.3.2 Determinazioni Analitiche	13
2.4 Risultati	13
3. Effetto del trattamento con ultrasuoni a bassa frequenza sulla tenerezza della carne di petto di pollo affetta da anomalia Wooden Breast	
3.1 Introduzione	19
3.2 Obiettivo della ricerca	20
3.3 Disegno sperimentale	20
3.3.1 Trattamento	21
3.3.2 Determinazioni Analitiche	21
3.4 Risultati	21
4. Conclusioni	25
5. Bibliografia	26

28/06/2021

Premessa

Il trattamento ad ultrasuoni (US) a bassa frequenza (20-100 kHz) ed alta intensità (200-1000 W) rappresenta una tecnologia non termica potenzialmente fruibile dall'industria della carne per incrementare i trasferimenti di massa in processi di trasformazione e migliorare la tenerezza delle carni fresche (Alarcon-Rojo *et al.*, 2019). A tal proposito, diversi studi condotti su carni bovine e suine hanno suggerito come il fenomeno di microcavitazione indotto dal trattamento ad US possa indurre un indebolimento fisico delle strutture cellulari che, accoppiato all'attivazione di proteasi endogene, provoca un intenerimento della carne e/o una diminuzione dei tempi di frollatura (Barekat and Soltanizadeh, 2018; Al-Hilphy *et al.* 2020). Infine, seppure i risultati in letteratura siano contrastanti, è stata riportata l'efficacia del trattamento ad US sulla riduzione della carica microbica della carne, in particolare su *Escherichia coli* e *Salmonella* (Al-Hilphy *et al.*, 2020). Mentre sono numerosi gli studi condotti su carni bovine, suine ed ovine, sono scarse le ricerche riguardanti gli effetti di questa tecnologia applicata alle carni avicole. In questo contesto, il presente progetto di ricerca si propone di valutare l'effetto del trattamento US sull'intenerimento delle carni di pollo.

Tuttavia, considerata la mancanza di informazioni in letteratura, sono state condotte tre prove sperimentali finalizzate alla messa a punto dell'applicazione del trattamento ad US sulla carne di pollo in specifiche condizioni di processo, confezionamento e conservazione, nonché allo studio degli effetti sulle principali proprietà tecnologiche e sulla stabilità microbiologica della carne. In tabella 1, è riportato l'elenco delle prove con l'indicazione degli obiettivi, del tipo di campioni utilizzati, le determinazioni analitiche ed i principali risultati ottenuti.

Tabella 1. Riassunto delle prove sperimentali condotte nell'ambito del progetto

Prova sperimentale	Obiettivo/i	Campioni utilizzati	Determinazioni analitiche	Principali risultati ottenuti
<i>#1 - Effetto del trattamento con ultrasuoni a bassa frequenza sulle principali proprietà tecnologiche della carne di petto di pollo trattata tal quale e confezionata skin.</i>	Valutare le condizioni di processo e confezionamento ottimali e determinare gli effetti del trattamento (25 kHz, 40 min) sulle principali proprietà tecnologiche e sulla stabilità microbiologica della carne di pollo.	Petti di pollo esenti da difetti qualitativi. Gruppi sperimentali: • Controllo • Trattato in acqua • Trattato sottovuoto n=10/gruppo/tempo	Proprietà tecnologiche (pH, colore, tenerezza, capacità di ritenzione idrica) e stabilità microbiologica	<ul style="list-style-type: none"> • Il trattamento ad ultrasuoni ha comportato un intenerimento della carne senza comprometterne le proprietà tecnologiche • Il trattamento ad ultrasuoni non ha influenzato la stabilità microbiologica della carne • Necessità di trattare la carne previo confezionamento sottovuoto
<i>#2 - Effetto del trattamento con ultrasuoni a bassa frequenza sulle principali proprietà tecnologiche della carne di petto di pollo affetta da anomalia Wooden Breast (WB)</i>	Valutare l'effetto del trattamento ad ultrasuoni (25 kHz, 40 min) sulla tenerezza, le principali caratteristiche tecnologiche e la stabilità microbiologica della carne di pollo (confezionata sottovuoto) esente da difetti ed affetta da anomalia WB durante la conservazione refrigerata.	Petti di pollo esenti da difetti qualitativi e affetti da anomalia WB. Gruppi sperimentali: • Controllo non trattato • Controllo trattato • WB non trattato • WB trattato n=12/gruppo	Proprietà tecnologiche (pH, colore, tenerezza, capacità di ritenzione idrica) e stabilità microbiologica	<ul style="list-style-type: none"> • Il trattamento ad ultrasuoni ha comportato un notevole intenerimento della carne affetta da anomalia WB • Il trattamento ad ultrasuoni non ha influenzato la stabilità microbiologica della carne • Necessità di modificare la modalità di campionamento per ridurre la variabilità dei dati
<i>#3 - Effetto del trattamento con ultrasuoni a bassa frequenza sulla tenerezza della carne di petto di pollo affetta da anomalia WB</i>	Valutare l'efficacia del trattamento ad US a 25 kHz per 40 minuti sull'intenerimento della carne affetta da anomalia WB	Petti di pollo esenti da difetti qualitativi e affetti da anomalia WB. Gruppi sperimentali: • Controllo non trattato • Controllo trattato • WB non trattato • WB trattato n=15/gruppo/tempo	Proprietà tecnologiche (tenerezza, capacità di ritenzione idrica) e valutazione del processo di frammentazione miofibrillare	<ul style="list-style-type: none"> • Il trattamento ad ultrasuoni ha comportato un notevole intenerimento della carne affetta da anomalia WB. • L'intenerimento non è dovuto ad un aumento dell'indice di frammentazione miofibrillare, dai fenomeni proteolitici a carico della desmina, né da una redistribuzione dell'acqua nei compartimenti cellulari

Prova sperimentale #1: Effetto del trattamento con ultrasuoni a bassa frequenza sulle principali proprietà tecnologiche della carne di petto di pollo trattata tal quale e confezionata skin.

1.1 Introduzione

Il trattamento ad ultrasuoni (US) a bassa frequenza (20-100 kHz) ed alta intensità (200-1000 W) rappresenta una tecnologia non termica potenzialmente fruibile dall'industria della carne per incrementare i trasferimenti di massa in processi di trasformazione e migliorare la tenerezza delle carni fresche (Alarcon-Rojo *et al.*, 2019). A tal proposito, diversi studi condotti su carni bovine e suine hanno suggerito come il fenomeno di microcavitazione indotto dal trattamento ad US possa indurre un indebolimento fisico delle strutture cellulari che, accoppiato all'attivazione di proteasi endogene, provoca un intenerimento della carne e/o una diminuzione dei tempi di frollatura (Barekat and Soltanizadeh, 2018; Al-Hilphy *et al.* 2020). Infine, seppure i risultati in letteratura siano contrastanti, è stata riportata l'efficacia del trattamento ad US sulla riduzione della carica microbica della carne, in particolare su *Escherichia coli* e *Salmonella* (Al-Hilphy *et al.*, 2020).

Mentre sono numerosi gli studi condotti su carni bovine, suine ed ovine, sono scarse le ricerche riguardanti l'effetto di questa tecnologia sull'intenerimento e l'inattivazione microbica della carne avicola. A tal proposito, si rende necessario approfondire l'applicazione del trattamento con US sulla carne di pollo in specifiche condizioni di processo, confezionamento e conservazione.

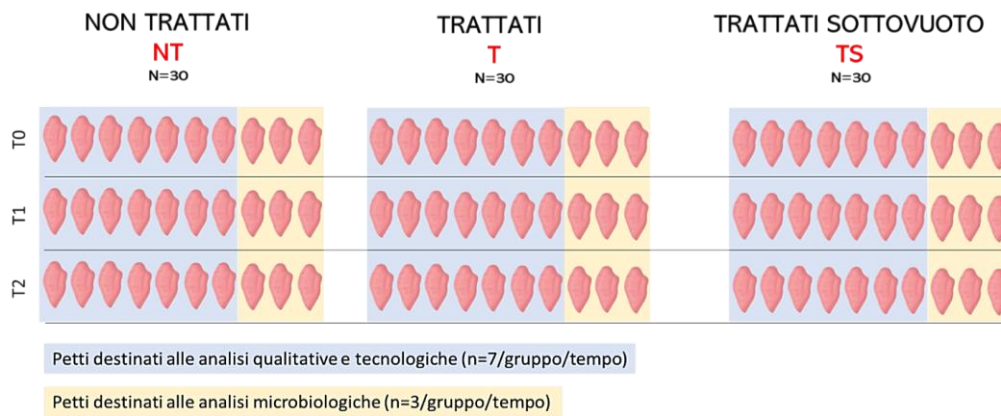
1.2 Obiettivo della ricerca

L'obiettivo generale del progetto è stato quello di valutare l'effetto del trattamento US sull'intenerimento delle carni di pollo. Tuttavia, considerata la mancanza di informazioni in letteratura, si è resa necessaria una prova preliminare volta a stabilire l'effetto della modalità di confezionamento sull'efficacia del trattamento US. Pertanto, l'obiettivo specifico di questa prova è stato quello di valutare l'effetto del trattamento US (25 kHz, 40 min) sulla tenerezza, le principali caratteristiche tecnologiche e la stabilità microbiologica della carne di pollo (trattata tal quale e confezionata sottovuoto *skin*) durante due settimane di conservazione refrigerata.

1.3 Disegno sperimentale

La ricerca è stata condotta su un totale di 90 petti di pollo (muscolo *Pectoralis major*) appartenenti allo stesso lotto di individui maschi a pelle bianca (peso 2,8-3,0 kg) presso i laboratori del CIRI Agroalimentare, dove sono stati condotti i trattamenti e le analisi. I filetti destinati alle analisi sono stati suddivisi in tre gruppi sperimentali (n=30/gruppo) secondo lo schema riportato in figura 1:

- Non trattati (NT): filetti di controllo che non hanno subito alcun tipo di trattamento;



- Trattati (T): filetti sottoposti a trattamento ad ultrasuoni;
- Trattati sottovuoto (TS): filetti confezionati sottovuoto e sottoposti a trattamento ad ultrasuoni.

Tutti i filetti sono stati confezionati sottovuoto (99%) in buste di plastica termoresistenti, ad eccezione di quelli appartenenti al gruppo T, che sono stati trattati direttamente in acqua e confezionati solo una volta terminato il trattamento. Pertanto, in seguito al trattamento US, tutti i filetti sono stati conservati nelle medesime condizioni di refrigerazione per due settimane. Le determinazioni analitiche sono state effettuate subito dopo il trattamento (T0) e a 5 giorni (T1) e 10 giorni (T2) dopo il trattamento. Per ogni tempo di campionamento, tre filetti interi sono stati destinati alle analisi microbiologiche, mentre sui restanti sette sono state eseguite le analisi qualitative e tecnologiche.

Figura 1. Schema di campionamento

1.3.1 Trattamento

I campioni sono stati immersi in un bagno ad ultrasuoni Elmasonic X-tra ST 600H (Elma Schmidbauer GmbH, Singen, Germania) riempito con acqua (45 l) e trattati a bassa frequenza (25 kHz) per 40 minuti alla potenza di 800W. Per tutta la durata del trattamento la temperatura dell'acqua è stata controllata mediante un termometro a sonda e mantenuta costante a $5 \pm 2^\circ\text{C}$ mediante un chiller di raffreddamento con scambiatore a serpentina inserito nella vasca di trattamento.

1.3.2 Determinazioni analitiche

Ogni filetto di pollo è stato sezionato con l'ausilio di un bisturi al fine di ottenere dei sottocampioni utilizzati per le determinazioni analitiche effettuate, riportate in tabella 2. Tutte le determinazioni analitiche riportate in tabella sono state effettuate immediatamente dopo il trattamento (T0) e a 5 giorni (T1) e 10 giorni (T2) dopo il trattamento.

Determinazioni analitiche		Prove sperimentali	Fonti bibliografiche
<i>Caratteristiche qualitative e proprietà tecnologiche</i>			
pH	Misurazione del pH in fase dispersa	1 – 2	Jeacocke, 1977
Colore	Misurazione del colore (CIE L*a*b*) in triplo sulla porzione ventrale del muscolo pettorale	1 – 2	Petracci & Baéza, 2007
<i>Drip Loss</i>	Misurazione delle perdite di liquido per sgocciolamento durante la conservazione refrigerata	1 – 2	Petracci & Baéza, 2007
<i>Cooking Loss</i>	Misurazione delle perdite di liquidi in seguito a cottura in bagno termostato ad 80°C.	1 – 2	Petracci & Baéza, 2007
Texture	Misurazione della texture di campioni di carne crudi tramite test di compressione al 40 e 80%.	1 – 2 – 3	Petracci & Baéza, 2007
	Misurazione della texture di campioni cotti tramite test di Allo-Kramer.		
Entalpia di denaturazione proteica	Misurazione dell'entalpia totale di denaturazione delle proteine tramite calorimetro a scansione differenziale.	1 – 2	Baldi <i>et al.</i> , 2019
Indice di frammentazione miofibrillare	Valutazione dell'indice di frammentazione delle miofibrille	3	Culler <i>et al.</i> , 1978
TD-NMR	Determinazione dell'intensità e mobilità delle frazioni d'acqua legata, intra- ed extra-miofibrillare	3	Baldi <i>et al.</i> , 2019
Western Blot	Valutazione della quantità di desmina	3	Soglia <i>et al.</i> , 2020
<i>Stabilità microbiologica</i>			
	Carica mesofila totale (CMT)	1 – 2	
	<i>Lactobacillus spp.</i>	1 – 2	
	Lieviti totali	1 – 2	
	<i>Pseudomonadaceae</i>	1 – 2	
	Coliformi totali	1 – 2	
	<i>Bochotrix thermosphacta</i>	1 – 2	
	Clostridi solfito riduttori	1 – 2	
	<i>Salmonella spp.</i>	1	EN ISO 6579-1:2017/A1:2020
	<i>Listeria monocytogenes</i>	1	EN ISO 11290-1:2017

Tabella 2. Determinazioni analitiche

1.4 Risultati

In tabella 3 sono riportati i risultati relativi all'effetto dell'applicazione degli US sui principali parametri qualitativi e tecnologici della carne di petto di pollo. Il trattamento con US non ha esercitato alcun effetto significativo sul pH della carne ($p > 0,05$) mentre ha fatto registrare variazioni colorimetriche significative. A tal proposito, se paragonati ai campioni non trattati, quelli trattati direttamente in acqua (T) hanno fatto registrare una diminuzione significativa ($p < 0,05$) degli indici di rosso (a^*) e di giallo (b^*), mentre quelli trattati sottovuoto (TS) hanno mostrato valori paragonabili al gruppo di controllo. La luminosità della carne (L^*) del gruppo sperimentale T è incrementata significativamente ($p < 0,001$) dopo il trattamento. Da questi risultati si evince come il trattamento con US senza confezionamento abbia causato in linea generale uno scolorimento della carne, che potrebbe causare delle problematiche a livello di accettazione del prodotto da parte dei consumatori.

Tabella 3. Caratteristiche qualitative e tecnologiche dei campioni di petto di pollo tal quali (NT), trattati con US sottovuoto (TS) e trattati con US non confezionati (T) valutate immediatamente dopo il trattamento (T0).

F_{max} 40% (kg): Forza massima necessaria a comprimere il campione del 40% della sua altezza.

F_{max} 80% (kg): Forza massima necessaria a comprimere il campione del 80% della sua altezza.

*= $p < 0,05$; ***= $p < 0,001$; ns= non significativo. esm= errore standard della media. a-b= $p < 0,05$.

Parametri	Gruppo sperimentale			esm	p value	
	TEMPO 0	NT	TS			T
pH		5,84	5,76	5,78	0,02	ns
L^*		55,4 ^b	54,5 ^b	60,1 ^a	0,66	***
a^*		2,29 ^{ab}	2,67 ^a	1,46 ^b	0,21	*
b^*		3,70 ^{ab}	4,27 ^a	2,61 ^b	0,25	*
Drip loss (%)		1,92	1,64	1,63	0,09	ns
Cooking loss (%)		21,7	20,7	23,2	0,59	ns
F_{max} 40% (kg)		13,5	11,2	12,9	0,65	ns
F_{max} 80% (kg)		34,2 ^b	36,1 ^{ab}	40,8 ^a	1,01	*
Sforzo di taglio (kg)		3,44	2,94	3,36	0,13	ns

Ad ogni modo, in seguito a valutazioni visive al termine del trattamento US, sono emerse delle alterazioni sulla superficie dei campioni trattati in acqua (senza confezionamento). In particolare, come si può notare dalla figura 2, sui campioni erano visibili zone puntiformi di colore bianco/grigio (tipico della carne cotta). Questo fenomeno potrebbe essere causato dalle bolle di cavitazione generate dal trattamento ad US che, venendo a contatto con il tessuto muscolare, potrebbero aver causato delle scottature, dal momento che possono raggiungere in loco temperature molto elevate. Tale modificazione visiva pregiudicherebbe di gran lunga l'accettabilità globale del prodotto da parte del consumatore, pertanto è possibile evincere che sarebbe preferibile eseguire il trattamento su prodotti confezionati sottovuoto, così da escludere questa problematica.



Figura 2. Zone puntiformi bianche visibili su un petto appartenente al gruppo sperimentale T.

Per quanto concerne la capacità di ritenzione idrica dei campioni presi in esame, il *drip loss* dei gruppi sperimentali trattati (TS e T) si è ridotto di circa il 14% rispetto al controllo, un miglioramento che tuttavia non risulta significativo dall'analisi statistica, probabilmente a causa dell'alta variabilità dei dati. Il trattamento ad US non ha fatto registrare alcuna differenza fra i gruppi nemmeno per quanto riguarda le perdite di liquidi in seguito a cottura.

Dai risultati relativi alla texture della carne cruda (misurata tramite i test di compressione al 40 e 80%) e cotta (misurata tramite l'analisi dello sforzo di taglio) è possibile evincere che, subito dopo il trattamento, l'applicazione degli ultrasuoni non ha avuto alcun effetto significativo sull'intenerimento della carne avicola. Tuttavia, è possibile osservare una riduzione del 16.9% della forza massima di compressione al 40% fra il gruppo sperimentale TS e NT. Inoltre, è opportuno sottolineare che, seppur le differenze non sono risultate significative ai test statistici, i campioni TS hanno mostrato valori inferiori al test di sforzo di taglio del 14,5% se paragonati al gruppo di controllo. Al contrario di quanto ci si aspettava, la stessa tendenza non è stata confermata per l'analisi della compressione all'80%, effettuata per comprendere il contributo del tessuto connettivo sulla tenerezza della carne. Nel dettaglio, i campioni trattati senza confezionamento (T) hanno mostrato valori di compressione significativamente superiori se paragonati al gruppo NT (+ 6%, $p < 0.05$).

Nelle tabelle 4 e 5 sono riportati i valori dei test condotti sui campioni di petto di pollo dopo 5 e 10 giorni di conservazione refrigerata. Dopo 5 giorni di conservazione refrigerata, i tre gruppi sperimentali hanno mostrato variazioni minime per quasi tutti i parametri, fatta eccezione per i valori colorimetrici (L^* e b^*) e per la forza massima al 40% di compressione.

Tabella 4. Caratteristiche qualitative e tecnologiche dei campioni di petto di pollo tal quali (NT), trattati con US sottovuoto (TS) e trattati con US non confezionati (T) valutate dopo 5 giorni dal trattamento (T1).
F_{max} 40% (kg): Forza massima necessaria a comprimere il campione del 40% della sua altezza.
F_{max} 80% (kg): Forza massima necessaria a comprimere il campione del 80% della sua altezza.
 *= $p < 0,05$; ns= non significativo. esm= errore standard della media. a-b= $p < 0,05$.

TEMPO 1 Parametri	Gruppo sperimentale			esm	p value
	NT	TS	T		
pH	5,87	5,86	5,88	0,03	ns
L*	56,7 ^{ab}	55,1 ^b	58,7 ^a	0,54	*
a*	2,81	3,08	3,15	0,16	ns
b*	3,11 ^b	3,92 ^{ab}	4,42 ^a	0,22	*
Drip loss (%)	1,70	1,53	1,66	0,07	ns
Cooking loss (%)	23,5 ^b	25,0 ^{ab}	26,0 ^a	0,42	*
F _{max} 40% (kg)	12,6 ^{ab}	9,82 ^b	13,8 ^a	0,73	*
F _{max} 80% (kg)	38,5	35,6	39,0	0,78	ns
Sforzo di taglio (kg)	2,95	2,62	3,03	0,14	ns

Per quanto concerne il colore della carne, è stato riscontrato un aumento significativo della luminosità (confermando quanto riscontrato al T0) e dell'indice di giallo dei campioni trattati senza confezionamento. La variazione del colore nel tempo dopo il trattamento è spesso associata alla modifica del pH, che però non è stato modificato significativamente dagli US nemmeno dopo 5 giorni di conservazione refrigerata. Pertanto, è possibile ipotizzare che l'incremento dell'indice di giallo possa essere correlato all'innescio di fenomeni ossidativi a carico della frazione lipidica dal momento che è generalmente riconosciuto che il trattamento con US possa provocare un incremento dell'ossidazione attraverso la generazione di radicali idrossilici altamente reattivi durante la cavitazione.

Per quanto concerne la texture, nei campioni trattati sottovuoto sono stati registrati cambiamenti significativi nei valori di compressione al 40% sia dopo 5 che 10 giorni dal trattamento. In particolare, il gruppo sperimentale T ha subito un incremento del 26% della forza massima di compressione al 40% rispetto al gruppo di controllo NT. Al contrario, come già osservato immediatamente dopo il trattamento, il gruppo TS ha fatto registrare un intenerimento rispetto al gruppo di controllo (9,82 vs 12,7 kg). Seppur di entità ridotta, tale risultato è promettente per una futura applicazione industriale su questa matrice e le successive prove sperimentali saranno finalizzate a comprendere quale potrebbe essere il meccanismo che ha contribuito all'intenerimento. Secondo Alarcon-Rojo et al. (2015, 2019) l'intenerimento da parte degli ultrasuoni è attribuito alla frammentazione delle proteine miofibrillari in seguito alla liberazione di enzimi proteolitici endogeni e alla rottura fisica della struttura muscolare mediante il processo di cavitazione. Tecnicamente, gli

US possono agire in due modi nei tessuti animali: promuovere le reazioni enzimatiche o rompere l'integrità delle cellule muscolari (Bhat et al., 2018). Dai dati ottenuti è indubbiamente complesso individuare il meccanismo responsabile dell'intenerimento dei campioni appartenenti al gruppo TS. Tuttavia, si può affermare che tale risultato non è attribuibile alla ritenzione di liquidi nei tessuti cellulari, in quanto i campioni non hanno mostrato particolari differenze nell'analisi del *drip loss* a nessuno dei tempi di campionamento considerati. È bene comunque sottolineare che, seppur il dato non sia risultato significativo, il medesimo gruppo sperimentale ha mostrato valori inferiori al test di compressione all'80% sia dopo 5 che 10 giorni di conservazione refrigerata, suggerendo quindi una riduzione nel contributo del collagene alla tenerezza della carne. Al contrario, il trattamento senza confezionamento non ha fatto registrare gli stessi risultati, bensì sembra aver scaturito un indurimento della carne. Tale aspetto è di difficile interpretazione, e potrebbe essere ascrivibile ad un'eccessiva perdita di liquidi durante il trattamento in acqua.

Tabella 5 Caratteristiche qualitative e tecnologiche dei campioni di petto di pollo tal quali (NT), trattati con US sottovuoto (TS) e trattati con US non confezionati (T) valutate dopo 10 giorni dal trattamento (T2).

*F*_{max} 40% (kg): Forza massima necessaria a comprimere il campione del 40% della sua altezza.

*F*_{max} 80% (kg): Forza massima necessaria a comprimere il campione del 80% della sua altezza.

*= $p < 0,05$; ns= non significativo. *esm*= errore standard della media. *a-b*= $p < 0,05$

Parametri	Gruppo sperimentale			SEM	<i>p</i> value	
	TEMPO 2	NT	TS			T
pH		5,84	5,91	5,90	0,03	ns
<i>L</i> *		57,7	57,3	59,5	0,53	ns
<i>a</i> *		2,41	2,50	2,48	0,16	ns
<i>b</i> *		5,22	4,21	5,03	0,22	ns
Drip loss (%)		1,23	1,12	1,19	0,05	ns
Cooking loss (%)		15,1	14,7	18,1	0,74	ns
<i>F</i> _{max} 40% (kg)		12,4 ^{ab}	11,4 ^b	15,3 ^a	0,66	*
<i>F</i> _{max} 80% (kg)		33,2	31,0	36,4	1,20	ns
Sforzo di taglio (kg)		2,60	2,40	2,94	0,12	ns

I risultati relativi alle analisi condotte con il calorimetro a scansione differenziale (DSC) sono riportati in tabella 6. Considerato che il gruppo trattato in acqua non ha fatto registrare un intenerimento della carne è stato volutamente escluso per questa tipologia di analisi, che ha avuto come scopo quello di valutare se l'intenerimento riscontrato dai test di compressione possa essere dovuto a delle modifiche microstrutturali a carico delle proteine. Nei termogrammi sono stati osservati cinque picchi endotermici, che sono stati rispettivamente attribuiti alla denaturazione delle

proteine sarcoplasmatiche (picco 1 – 58,7 °C), dello stroma (picco 2 – 64,7°C), miofibrillari (es. miosina; picco 3 – 68,7°C) e altre proteine (picco 4 – 73,2°C) e, infine, dell'actina (picco 5 - 78.1 °C), come suggerito da Soglia et al. (2019).

Tabella 6. Entalpie totali di denaturazione proteica (ΔH) ed entalpie di denaturazione relative alle frazioni proteiche (%) dei campioni di pollo immediatamente dopo il trattamento (Tempo 0), dopo 5 giorni (Tempo 1) e dopo 10 giorni di conservazione (Tempo 2). (n = 28; 14/gruppo) *= p<0.05; ***= p<0.001; ns= non significativo. esm= errore standard della media.

		Entalpia di denaturazione relativa alle frazioni proteiche (%)					
		Entalpia totale ΔH (J/g)	Picco 1 (58,7°C) - <i>Proteine sarcoplasmatiche</i>	Picco 2 (64,7°C) - <i>Proteine dello stroma</i>	Picco 3 (68,7°C) - <i>Proteine miofibrillari</i>	Picco 4 (73,2°C) - <i>Altre proteine</i>	Picco 5 (78,1°C) - <i>Actina</i>
Tempo 0	NT	2,64	35,1	31,2	8,6	10,1	14,9
	TS	2,58	30,6	34,7	8,7	12,4	13,4
	esm	0,10	1,53	2,12	0,86	1,68	1,07
	<i>p value</i>	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Tempo 1	NT	3,10	36,4	25,8	12,1	13,9	11,8
	TS	2,33	34,3	32,5	6,21	13,8	13,0
	esm	0,13	1,48	2,36	1,25	1,76	1,19
	<i>p value</i>	***	ns	ns	*	ns	ns
Tempo 2	NT	2,85	36,7	28,9	5,00	20,3	8,92
	TS	2,51	37,6	28,5	6,11	13,3	14,4
	esm	0,09	1,55	1,80	0,75	1,40	1,20
	<i>p value</i>	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Immediatamente dopo il trattamento (tempo 0), non sono state riscontrate differenze significative tra i gruppi per quanto riguarda le entalpie totali (ΔH) e relative (%). Dopo 5 giorni di conservazione, i valori relativi all'entalpia totale di denaturazione proteica del gruppo TS sono risultati significativamente inferiori se paragonati al gruppo di controllo (p<0.001). Nel dettaglio, l'entalpia totale è diminuita del 24,8% rispetto al gruppo non trattato, suggerendo quindi che sarebbe necessaria una minore quantità di energia per denaturare le frazioni proteiche. Tale risultato può essere interpretato positivamente come una denaturazione già avvenuta precedentemente all'analisi, ovvero innescata dal trattamento con US. Come si evince dalla tabella, il trattamento ad US ha fatto registrare una riduzione del 50% nell'entalpia di denaturazione delle proteine miofibrillari. Tale risultato può essere ascrivibile alla frammentazione delle proteine miofibrillari in seguito all'attività degli enzimi proteolitici endogeni rilasciati dopo il trattamento ad US, oppure alla rottura fisica delle strutture cellulari causata dal processo di cavitazione. Ulteriori studi verranno condotti nelle prove successive per comprendere a pieno gli effetti del trattamento US sulla microstruttura della carne avicola. Tuttavia, al contrario di quanto atteso, l'entalpia totale non è risultata essere statisticamente

differente dopo 10 giorni di conservazione, seppur il gruppo TS abbia mostrato valori lievemente inferiori se paragonato al gruppo di controllo (2.51 vs 2.85 J/g).

In tutti i campioni analizzati non è stata rilevata presenza di *Salmonella spp.*, e *Listeria monocytogenes* in 25 g di prodotto. Per quanto concerne i gruppi microbici degradativi e indicatori di contaminazione di processo (Tabella 7), non sono state riscontrate differenze significative in termini di carico microbico, a seguito dei trattamenti US, indipendentemente dalla modalità di confezionamento, per tutti i gruppi microbici ricercati, ad eccezione del carico mesofilo totale (CMT). Nello specifico, i campioni trattati con US confezionati sottovuoto e il gruppo di controllo hanno fatto registrare una carica mesofila aerobia comparabile e pari a 3,50 log UFC/g, mentre i campioni trattati con US non confezionati hanno fatto registrare un valore di carico pari a 5 Log UFC/g. Queste differenze possono essere imputate alla qualità microbiologica dell'acqua utilizzata per il bagno ad ultrasuoni e al fatto che i campioni trattati sono stati immersi direttamente in queste acque. Tuttavia, dopo 5 giorni (T1) di conservazione refrigerata, i valori di CMT riscontrati erano pari a 5,69 log UFC/g, 6,17 log UFC/g e 6,11 log UFC/g per i campioni controllo, trattati sottovuoto e trattati, rispettivamente. Da un punto di vista della shelf-life microbiologica, dove la soglia di spoilage viene posta a valori di CMT compresi tra 5×10^5 e 5×10^6 UFC/g di prodotto, i campioni risultano ancora accettabili dopo 5 giorni di conservazione refrigerata ma non lo sono più al tempo T2. Per quanto concerne il carico dei batteri lattici, questi hanno raggiunto, con cinetiche molto simili nei tre campioni, valori di carico microbico oltre i 7 log ufc/g di prodotto dopo 10 giorni di conservazione refrigerata mentre il carico dei lieviti è rimasto, anche al termine del periodo di osservazione considerato, al di sotto dei 2,5 log ufc/g di prodotto in tutti i campioni. D'altra parte, seppur monitorati, non rappresentano il principale gruppo microbico di spoilage associato a questa tipologia di prodotti. Per quanto concerne i coliformi totali, indicatori di igiene di processo, seppur entro i limiti di accettabilità al tempo T0, questi hanno raggiunto valori di carico al di sopra di 4 log ufc/g al tempo T1 e di oltre 6 cicli logaritmici al tempo T2. Dal momento che *E. coli* può essere contenuto in questo gruppo, è necessario partire da un livello di contaminazione della materia prima più basso.

Tabella 7. Effetto del trattamento ad ultrasuoni sulla carne di pollo sui differenti gruppi microbici rilevati (Log UFC/g) durante la conservazione refrigerata a 4°C: CMT, *Lactobacillus spp.*, Lieviti totali, *Pseudomonadaceae*, Coliformi totali, *Bochotrix thermosphacta*, Clostridi solfito riduttori.

I risultati sono la media di tre replicati \pm DS

^a al di sotto del limite di determinazione (<1 log UFC/g)

		Log UFC/g								
		T0			T1			T2		
NT	CMT	3,51	\pm	0,44	5,69	\pm	0,24	7,34	\pm	0,11
	<i>Lactobacillus spp.</i>	3,89	\pm	0,09	4,85	\pm	0,41	7,13	\pm	0,07
	Lieviti totali	1,11	\pm	0,27	1,61	\pm	0,4	1,70	\pm	0,18
	<i>Pseudomonadaceae</i>	2,08	\pm	0,27	5,03	\pm	0,11	6,76	\pm	0,21
	Coliformi totali	3,23	\pm	0,54	4,96	\pm	0,55	6,35	\pm	0,07
	<i>Bochotrix thermosphacta</i>	- ^a			4,51	\pm	0,19	5,62	\pm	0,43
	Clostridi solfito riduttori	1,78	\pm	0,2	- ^a			- ^a		
T2	CMT	3,53	\pm	0,19	6,17	\pm	0,15	7,48	\pm	0,42
	<i>Lactobacillus spp.</i>	3,67	\pm	0,29	5,27	\pm	0,39	7,07	\pm	0,36
	Lieviti totali	1,02	\pm	0,34	1,02	\pm	0,34	1,50	\pm	0,22
	<i>Pseudomonadaceae</i>	4,57	\pm	0,33	5,33	\pm	0,44	6,79	\pm	0,41
	Coliformi totali	3,09	\pm	0,14	5,07	\pm	0,27	6,39	\pm	0,05
	<i>Bochotrix thermosphacta</i>	- ^a			5,25	\pm	0,38	6,38	\pm	0,49
	Clostridi solfito riduttori	1,26	\pm	0,26	- ^a			- ^a		
T	CMT	5,01	\pm	0,15	6,11	\pm	0,34	7,53	\pm	0,18
	<i>Lactobacillus spp.</i>	3,36	\pm	0,22	5,30	\pm	0,29	7,23	\pm	0,10
	Lieviti totali	1,26	\pm	0,22	1,81	\pm	0,32	2,0	\pm	0,23
	<i>Pseudomonadaceae</i>	4,57	\pm	1,2	5,12	\pm	0,14	6,76	\pm	0,21
	Coliformi totali	2,62	\pm	0,33	4,92	\pm	0,33	6,43	\pm	0,12
	<i>Bochotrix thermosphacta</i>	2,34	\pm	0,37	4,99	\pm	0,1	5,68	\pm	0,43
	Clostridi solfito riduttori	1,11	\pm	0,22	- ^a			- ^a		

Prova sperimentale #2: Effetto del trattamento con ultrasuoni a bassa frequenza sulle principali proprietà tecnologiche della carne di petto di pollo affetta da anomalia Wooden Breast.

2.1 Introduzione

Nel corso dell'ultimo secolo, il mercato dei prodotti avicoli ha subito un'importante evoluzione nelle forme di consumo e commercializzazione dei prodotti principalmente riconducibile al cambiamento delle preferenze dei consumatori. Infatti, alla vendita del pollame vivo (caratteristico del primo dopoguerra) si è susseguita la commercializzazione sotto forma di carcassa intera, sezionati e prodotti trasformati, comportando sempre più la selezione verso ibridi genetici a rapido accrescimento ed elevata resa nei tagli anatomici di maggior interesse commerciale (petto e cosce) (Petracci *et al.*, 2015). Questa tendenza ha determinato la comparsa di miopatie ed alterazioni a carico del tessuto muscolare, fra le quali l'anomalia Wooden Breast (WB). Essa è caratterizzata dalla comparsa di aree pallide, indurite e rigonfie nella zona craniale e caudale dei filetti ed interessa le zone del tessuto muscolare che hanno subito danneggiamenti dal punto di vista istologico (Sihvo, Immonen and Puolanne, 2014). È pertanto di particolare interesse per l'industria della lavorazione delle carni avicole l'identificazione di tecniche in grado di intenerire le carni troppo consistenti, quali quelle caratterizzate da anomalia WB, altrimenti destinate alla formulazione di prodotti trasformati.

2.1.1 Premessa

I risultati della prova preliminare hanno consentito di escludere la possibilità di trattare la carne direttamente in acqua, in quanto questo comporterebbe non solo un peggioramento delle proprietà tecnologiche ma anche la comparsa di escoriazioni bianche puntiformi che comprometterebbero notevolmente la propensione all'acquisto dei consumatori. D'altra parte, i valori riscontrati al test di compressione al 40% (effettuato sulla carne cruda) e di sforzo di taglio (effettuato su carne cotta) suggeriscono che i campioni trattati confezionati sottovuoto abbiano presentato un intenerimento. Tale risultato sembra essere confermato anche dall'analisi effettuata tramite DSC, che ha evidenziato dei ridotti valori di entalpia nei petti sottoposti a trattamento ad US suggerendo una possibile denaturazione delle proteine miofibrillari causata dal trattamento. Infine, dalle analisi microbiologiche è emerso come il carico microbico sia invariato indipendentemente dal trattamento rispetto ai controlli, probabilmente a causa dell'elevata carica batterica iniziale dei campioni. Si rende pertanto necessario l'invio dei campioni destinati alle analisi microbiologiche già confezionati in azienda secondo le pratiche HACCP. In generale, dai risultati ottenuti dalla prova preliminare è altresì emersa la necessità di irrobustire il disegno sperimentale effettuando le analisi sui medesimi campioni durante la conservazione, per valutare al meglio un potenziale effetto degli US non solo immediatamente dopo il trattamento, ma anche durante la conservazione.

2.2 Obiettivo della ricerca

Valutare l'effetto del trattamento ad ultrasuoni (25 kHz, 40 min) sulla tenerezza, le principali caratteristiche tecnologiche e la stabilità microbiologica della carne di pollo (confezionata sottovuoto) esente da difetti ed affetta da anomalia WB durante la conservazione refrigerata.

2.3 Piano sperimentale

La ricerca è stata condotta su un totale di 180 petti di pollo (muscolo *Pectoralis major*) appartenenti allo stesso lotto di individui maschi a pelle bianca (peso 2.8-3.0 kg) presso i laboratori del Campus di Scienze degli Alimenti dell'Università di Bologna (sede di Cesena), dove sono stati condotti i trattamenti e le analisi. Di questi 180 filetti, 144 sono stati consegnati sfusi (72 normali e 72 affetti da WB), mentre i restanti 36 filetti (18 normali e 18 WB) sono stati confezionati sottovuoto *skin* seguendo le pratiche HACCP aziendali al fine di mantenere quanto più bassa possibile la carica microbica.

I filetti sono stati suddivisi in 4 gruppi sperimentali:

- 1) **Controllo non trattato (C):** filetti che non mostrano difetti qualitativi, non subiranno alcun tipo di trattamento, verranno dunque analizzati tal quali;
- 2) **Wooden Breast non trattati (WB):** filetti affetti gravemente da anomalia WB, non subiranno alcun tipo di trattamento, verranno analizzati tal quali;
- 3) **Controllo trattato (CT):** filetti che non mostrano difetti qualitativi, verranno confezionati sottovuoto in buste di plastica e sottoposti a trattamento ad ultrasuoni a bassa frequenza (25 kHz) per un tempo totale di 40 minuti;
- 4) **Wooden Breast trattati (WBT):** filetti affetti gravemente da anomalia WB, verranno confezionati sottovuoto in buste di plastica e sottoposti a trattamento ad ultrasuoni a bassa frequenza (25 kHz) per un tempo totale di 40 minuti.

Prima del trattamento, tutti i filetti sono stati confezionati sottovuoto (99%) in buste di plastica.

2.3.1 Trattamento

I campioni sono stati immersi in un bagno ad ultrasuoni Elmasonic X-tra ST 600H (Elma Schmidbauer GmbH, Singen, Germania) riempito con acqua (45 l) e trattati a bassa frequenza (25 kHz) per 40 minuti alla potenza di 800W. Per tutta la durata del trattamento la temperatura dell'acqua è stata controllata mediante un termometro a sonda e mantenuta costante a 5 ± 2 °C mediante un chiller di raffreddamento con scambiatore a serpentina inserito nella vasca di trattamento. Considerato l'elevato numero di campioni da trattare, al fine di non apportare modifiche alla potenza ed efficacia

del trattamento, sono stati condotti 5 diversi trattamenti da 18 campioni ciascuno (scelti in modo random) in modo tal da ottenere lo stesso rapporto acqua:campione nella vasca di trattamento.

2.3.2 Determinazioni analitiche

Le determinazioni analitiche, riassunte in Tabella 2, sono state condotte a tre diversi tempi di campionamento sugli stessi petti conservati per 10 giorni a 4°C. Considerato il numero di analisi da condurre sul medesimo campione e i tempi di campionamento (3), sono state necessarie quattro serie di filetti per ogni gruppo sperimentale, ciascuna delle quali è stata destinata a delle specifiche determinazioni analitiche, come riportato in figura 3.

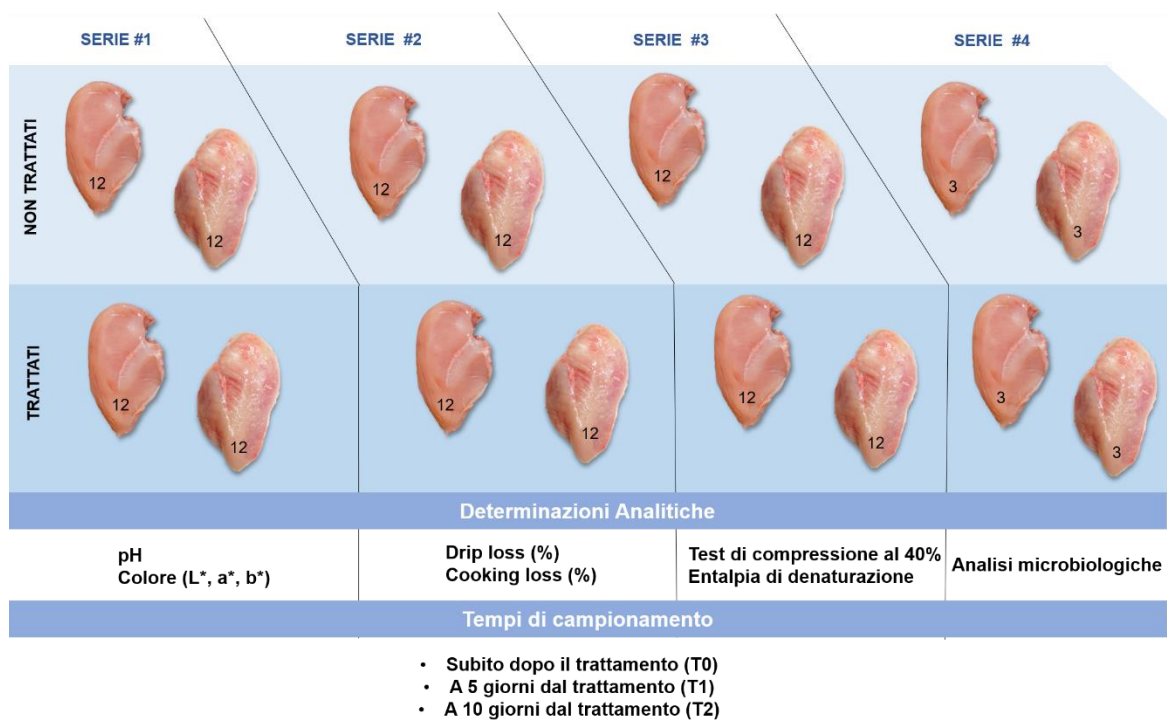


Figura 3. Schema di campionamento.

Ogni filetto di pollo è stato sezionato con l'ausilio di un bisturi al fine di ottenere dei sottocampioni utilizzati per le determinazioni analitiche effettuate, i cui dettagli analitici sono riportati in tabella 1. Tutte le determinazioni analitiche sono state effettuate immediatamente dopo il trattamento (T0) e a 5 giorni (T1) e 10 giorni (T2) dopo il trattamento.

2.4 Risultati

In tabella 8 sono riportati i risultati relativi all'effetto del trattamento ad US a bassa frequenza sulle principali proprietà tecnologiche della carne di pollo esente da difetti qualitativi (gruppo di controllo). Come si evince dai dati, il trattamento non ha comportato dei cambiamenti nel pH della carne per nessuno dei tempi di campionamento considerati. Tuttavia, il trattamento ad US ha fatto

registrare delle variazioni nei parametri colorimetrici per tutti i tempi di campionamento considerati, con particolare riferimento alla luminosità e all'indice di giallo.

Tabella 8. Caratteristiche qualitative e tecnologiche dei campioni di petto di pollo tal quali (C) e trattati (CT) con ultrasuoni a bassa frequenza, valutate immediatamente dopo il trattamento (T0) e dopo 5 (T1) e 10 (T2) giorni dal trattamento.

I dati sono riportati come valori medi \pm DS.

¹Forza massima necessaria a comprimere il campione del 40% della sua altezza.

*= $p < 0,05$; **= $p < 0,01$; ***= $p < 0,001$; ns= non significativo.

a-b: valori medi contrassegnati da lettere diverse differiscono significativamente tra i tempi di campionamento, nell'ambito dello stesso gruppo sperimentale ($p < 0,05$).

A-B: valori medi contrassegnati da lettere diverse differiscono significativamente tra i gruppi sperimentali nell'ambito dello stesso tempo di campionamento ($p < 0,05$).

Parametro	Tempo (T)			p-value (T)	
	Gruppo (G)	T0	T1		T2
pH	C	5,88 \pm 0,12	5,87 \pm 0,13	5,90 \pm 0,12	ns
	CT	5,80 \pm 0,13	5,84 \pm 0,12	5,87 \pm 0,11	ns
	p-value (G)	ns	ns	ns	
L*	C	53,0 ^B \pm 1,90	54,9 \pm 2,16	54,1 \pm 1,65	0,077
	CT	55,9 ^A \pm 1,71	55,3 \pm 1,23	55,3 \pm 1,60	ns
	p-value (G)	***	ns	ns	
a*	C	1,70 ^b \pm 0,59	2,34 ^a \pm 0,74	2,38 ^a \pm 0,78	*
	CT	1,90 ^b \pm 0,83	2,38 ^{ab} \pm 0,79	2,83 ^a \pm 0,80	*
	p-value (G)	ns	ns	ns	
b*	C	3,85 ^{B,b} \pm 0,90	4,85 ^a \pm 0,94	4,64 ^{B,a} \pm 0,95	*
	CT	5,44 ^A \pm 1,34	5,74 \pm 1,26	5,82 ^A \pm 1,21	ns
	p-value (G)	**	0,064	*	
Drip Loss %	C	3,33 \pm 0,64	3,11 ^B \pm 0,46	2,85 \pm 0,28	0,061
	CT	2,66 \pm 0,99	3,63 ^A \pm 1,08	2,63 \pm 0,53	ns
	p-value (G)	0,062	*	0,077	
Cooking Loss %	C	22,6 \pm 3,32	21,3 \pm 1,97	22,3 \pm 2,04	ns
	CT	21,5 \pm 2,20	19,8 \pm 3,71	21,6 \pm 1,68	ns
	p-value (G)	ns	ns	ns	
¹ Fmax 40% (kg)	C	2,94 ^b \pm 0,60	3,09 ^{ab} \pm 0,52	3,83 ^a \pm 1,25	*
	CT	2,82 ^b \pm 0,53	2,92 ^{ab} \pm 0,92	3,56 ^a \pm 1,67	*
	p-value (G)	ns	ns	ns	
Entalpia di denaturazione	C	2,97 ^b \pm 0,36	2,84 ^{ab} \pm 0,33	2,60 ^a \pm 0,30	*
	CT	2,66 \pm 0,52	2,63 \pm 0,45	2,69 \pm 0,42	ns
	p-value (G)	ns	ns	ns	

Infatti, come già riscontrato nella prova preliminare, il trattamento ha causato un aumento significativo di tali parametri che, tuttavia, è di piccola entità e probabilmente non riscontrabile dall'occhio umano. Inoltre, dai dati emerge come il trattamento ad US non abbia causato particolari variazioni di colore durante la conservazione refrigerata. Per quanto concerne i parametri relativi alla capacità di ritenzione idrica, non è emerso un chiaro effetto del trattamento ad US: infatti, seppur al T0 e T2 i campioni trattati abbiano mostrato valori di *drip loss* lievemente inferiori, al T1 sono stati riscontrati valori significativamente più elevati. Tuttavia, è bene sottolineare come tali differenze

siano di trascurabile entità, così come quelle riscontrate nei valori di *cooking loss*. Nel complesso, è possibile affermare che il trattamento non abbia influito né negativamente né positivamente sulla capacità di ritenzione idrica a nessun tempo di campionamento preso in considerazione.

Analogamente, il trattamento ad US non ha fatto registrare differenze significative per quanto riguarda la texture dei campioni valutata tramite test di compressione al 40%. Dai risultati ottenuti emerge come sia i campioni di controllo che quelli trattati mostrino valori di compressione progressivamente più elevati al procedere dei giorni di conservazione refrigerata. Sembrerebbe pertanto che il trattamento ad US non abbia esercitato un effetto di intenerimento sulla carne di pollo esente da anomalie muscolari. Tale risultato è supportato dall'analisi con calorimetro differenziale a scansione, i cui risultati suggeriscono che il trattamento non ha comportato una denaturazione della frazione proteica ($p > 0,05$), che tuttavia ha mostrato valori progressivamente inferiori durante 10 giorni di conservazione refrigerata nei campioni di controllo.

In tabella 9 sono riportati i risultati relativi all'effetto del trattamento ad US a bassa frequenza sulle principali proprietà tecnologiche della carne di pollo affetta da anomalia WB. A prescindere dal tempo di campionamento considerato, il trattamento ad US non ha esercitato alcun effetto significativo sul pH e il colore della carne, eccezion fatta per il parametro della luminosità che, al T0, è risultato essere significativamente ($p < 0,05$) superiore nei campioni trattati rispetto a quelli tal quali, corroborando quanto riscontrato per i petti esenti da anomalie (tabella 6). Per ogni tempo di campionamento considerato, i petti WB trattati con US non hanno mostrato variazioni dei parametri di *drip* e *cooking loss* se paragonati alla controparte non trattata. Tuttavia, nel corso della conservazione, i campioni trattati con US hanno mostrato un significativo aumento di perdite di liquidi per sgocciolamento ($p < 0,05$) e conseguente diminuzione di perdite di liquidi durante la cottura ($p < 0,05$). Sebbene le differenze siano state di entità più ridotta, questo trend è stato osservato anche nei campioni non trattati e potrebbe essere ascrivibile alla struttura muscolare dei petti affetti da WB che, essendo gravemente compromessa (es. presenza di cellule infiammatorie, accumulo di adipociti e tessuto connettivo, ecc.), è responsabile per la ridotta capacità idrica di queste carni e potrebbe essere stata esacerbata dal trattamento con US.

Se paragonati ai campioni non trattati, quelli sottoposti a trattamento con US hanno mostrato valori inferiori di forza di compressione al 40% ad ogni tempo di campionamento, seppur il dato non è risultato essere rilevante dal punto di vista statistico probabilmente a causa dell'elevata variabilità. Tuttavia, entrambi i gruppi sperimentali hanno mostrato una significativa ($p < 0,05$) diminuzione della loro tenerezza durante la conservazione, probabilmente dovuta al concomitante aumento delle perdite di liquido per sgocciolamento. D'altro canto, i risultati ottenuti dall'analisi con calorimetro differenziale a scansione suggeriscono una significativa ($p < 0,05$) riduzione del 16% dell'entalpia di

denaturazione delle proteine nei campioni WB trattati con US durante la conservazione. Gli stessi campioni hanno mostrato, immediatamente dopo il trattamento, valori di entalpia significativamente ($p < 0,05$) superiori se paragonati al gruppo di controllo, per poi esibire al termine della conservazione valori notevolmente ridotti. Questi andamenti potrebbero suggerire una degradazione della frazione proteica miofibrillare indotta dall'attività di enzimi proteolitici endogeni rilasciati dopo il trattamento, oppure alla rottura fisica delle strutture cellulari causata dal processo di cavitazione. Nella successiva prova sperimentale verranno condotte analisi sperimentali al fine di chiarire questo aspetto.

Tabella 9. Caratteristiche qualitative e tecnologiche dei campioni di petto di pollo affetti da anomalia WB tal quali (WB) e trattati (WBT) con ultrasuoni a bassa frequenza, valutate immediatamente dopo il trattamento (T0) e dopo 5 (T1) e 10 (T2) giorni dal trattamento.

I dati sono riportati come valori medi \pm DS.

¹Forza massima necessaria a comprimere il campione del 40% della sua altezza.

*= $p < 0,05$; ***= $p < 0,001$; ns= non significativo.

a-b: valori medi contrassegnati da lettere diverse differiscono significativamente tra i tempi di campionamento, nell'ambito dello stesso gruppo sperimentale ($p < 0,05$).

A-B: valori medi contrassegnati da lettere diverse differiscono significativamente tra i gruppi sperimentali nell'ambito dello stesso tempo di campionamento ($p < 0,05$).

Parametro	Tempo (T)			p-value (T)	
	Gruppo (G)	T0	T1		T2
pH	WB	6,10 \pm 0,15	6,09 \pm 0,16	6,12 \pm 0,14	ns
	WBT	6,08 \pm 0,16	6,09 \pm 0,15	6,10 \pm 0,13	ns
	p-value (G)	ns	ns	ns	
L*	WB	52,7^B \pm 3,38	54,3 \pm 2,16	54,4 \pm 2,14	ns
	WBT	55,3^A \pm 3,10	54,6 \pm 2,84	55,1 \pm 2,61	ns
	p-value (G)	*	ns	ns	
a*	WB	1,70 \pm 0,94	2,34 \pm 1,10	2,38 \pm 0,85	ns
	WBT	1,90 \pm 0,43	2,38 \pm 0,57	2,83 \pm 0,51	ns
	p-value (G)	ns	ns	ns	
b*	WB	5,56 \pm 1,27	6,55 \pm 0,82	6,22 \pm 1,25	ns
	WBT	6,10 \pm 1,09	6,00 \pm 1,46	6,05 \pm 1,26	ns
	p-value (G)	ns	ns	ns	
Drip Loss %	WB	3,40 \pm 0,47	3,04 \pm 1,04	3,62 \pm 0,69	ns
	WBT	3,16^b \pm 0,94	3,21^b \pm 1,00	4,06^a \pm 0,93	*
	p-value (G)	ns	ns	ns	
Cooking Loss %	WB	27,7^b \pm 4,44	22,5^b \pm 2,05	21,5^a \pm 2,43	***
	WBT	26,7^b \pm 3,26	23,7^{ab} \pm 4,72	22,8^a \pm 3,50	*
	p-value (G)	ns	ns	ns	
¹ Fmax 40% (kg)	WB	8,99^b \pm 2,99	8,64^b \pm 2,15	11,92^a \pm 1,25	*
	WBT	7,97^b \pm 1,79	7,04^{ab} \pm 2,15	9,21^a \pm 1,67	*
	p-value (G)	ns	0,082	0,070	
Entalpia di denaturazione	WB	2,65^B \pm 0,35	2,60 \pm 0,35	2,78^A \pm 0,24	ns
	WBT	2,96^{A,b} \pm 0,39	2,84^a \pm 0,44	2,50^{B,a} \pm 0,27	*
	p-value (G)	*	ns	*	

Da un punto di vista microbiologico, in tutti i campioni, a seguito del trattamento US e indipendente dalla presenza o meno dell'anomalia WB, non è stata rilevata presenza di *Salmonella spp.*, e di *Listeria monocytogenes* in 25 g di prodotto. Per quanto concerne i gruppi microbici

degradativi e indicatori di contaminazione di processo (Tabella 9), non sono state riscontrate differenze in termini di carica microbica, per tutti gruppi microbici ricercati a seguito del trattamento US e indipendentemente dalla presenza di WB. Tutti i campioni, inoltre, hanno mostrato il medesimo andamento quantitativo dei gruppi microbici considerati per la durata della intera conservazione refrigerata (Tabella 10). Tuttavia, va sottolineato come incrementando le GMP sui campioni prelevati, il livello di coliformi iniziale si sia notevolmente ridotto rispetto alla prova precedente, consentendo, anche alla fine del periodo di conservazione considerato, di mantenere livelli di coliformi totali più bassi rispetto alla prima prova. Anche i dati di carico microbico totale si sono, di conseguenza, abbassati permettendo di raggiungere il limite della soglia di spoilage verso il decimo giorno di conservazione refrigerata.

Tabella 10. Effetto del trattamento ultrasuoni sulla carne di pollo sui differenti gruppi microbici rilevati (Log UFC/g) durante la conservazione refrigerata a 4°C e in relazione alla presenza o meno di WB. CMT, *Lactobacillus spp.*, Lieviti totali, *Pseudomonadaceae*, Coliformi totali, *Bochotrix thermosphacta*, Clostridi solfito riduttori. I risultati sono la media di tre replicati ± DS.

^a al di sotto del limite di determinazione (<1 Log UFC/g).

		Log UFC/g								
		T0			T1			T2		
C	CMT	3,33	±	0,24	4,65	±	0,92	6,75	±	0,15
	<i>Lactobacillus spp.</i>	3,37	±	0,28	3,90	±	0,27	6,83	±	0,28
	Lieviti totali	1,67	±	0,20	1,73	±	0,51	2,15	±	0,62
	<i>Pseudomonadaceae</i>	1,82	±	0,16	3,08	±	0,23	6,04	±	0,44
	Coliformi totali	3,24	±	0,09	3,85	±	0,33	4,92	±	0,25
	<i>Bochotrix thermosphacta</i>	1,41	±	0,16	1,72	±	0,58	4,47	±	0,40
	clostridi Solfito riduttori	1,28	±	0,28	1,20	±	0,10			- ^a
CT	CMT	4,17	±	0,87	5,14	±	0,84	6,75	±	0,14
	<i>Lactobacillus spp.</i>	3,26	±	0,18	4,23	±	0,44	6,78	±	0,14
	Lieviti totali	2,87	±	0,34	1,56	±	0,24	3,07	±	0,55
	<i>Pseudomonadaceae</i>	1,68	±	0,14	4,15	±	0,32	6,76	±	0,11
	Coliformi totali	3,96	±	0,85	3,38	±	0,35	3,80	±	0,24
	<i>Bochotrix thermosphacta</i>	1,11	±	0,17	2,67	±	0,44	5,42	±	0,12
	clostridi Solfito riduttori	1,08	±	0,30	1,17	±	0,36			- ^a
WB	CMT	3,29	±	0,30	3,54	±	0,34	6,60	±	0,29
	<i>Lactobacillus spp.</i>	3,24	±	0,20	4,56	±	0,68	6,42	±	0,15
	Lieviti totali	1,7	±	0,15	1,69	±	0,12	2,47	±	0,62
	<i>Pseudomonadaceae</i>	1,72	±	0,40	3,4	±	0,22	5,88	±	0,12
	Coliformi totali	3,00	±	0,51	2,85	±	0,44	3,66	±	0,12
	<i>Bochotrix thermosphacta</i>	1,22	±	0,35	2,81	±	0,18	3,67	±	0,73
	Batteri Solfito riduttori	1,33	±	0,21	1,10	±	0,23			- ^a
WBT	CMT	3,56	±	0,17	4,12	±	0,74	6,88	±	0,17
	<i>Lactobacillus spp.</i>	3,21	±	0,17	5,03	±	0,17	6,88	±	0,01
	Lieviti totali	2,69	±	0,37	1,6	±	0,23	2,62	±	0,46
	<i>Pseudomonadaceae</i>	2,02	±	0,45	3,55	±	0,48	6,83	±	0,35
	Coliformi totali	2,73	±	0,23	3,10	±	0,45	4,36	±	0,41
	<i>Bochotrix thermosphacta</i>	2,19	±	0,64	3,36	±	0,73	5,12	±	0,23
	clostridi Solfito riduttori	1,26	±	0,17	0,78	±	0,23			- ^a

Prova sperimentale #3: Effetto del trattamento con ultrasuoni a bassa frequenza sulla tenerezza della carne petto di pollo affetta da anomalia Wooden Breast.

3.1 Introduzione

Il trattamento ad US genera il fenomeno della cavitazione, ossia un passaggio di onde all'interno di un sistema in grado di determinare dei meccanismi di disgregazione fisica a livello della microstruttura muscolare, favorendo un miglioramento della tenerezza della carne (Alarcon-Rojo *et al.*, 2019). Tale miglioramento potrebbe essere sì dovuto alla rottura fisica delle strutture muscolari, ma anche alla frammentazione delle macromolecole di collagene, all'accelerazione della proteolisi, alle modificazioni delle proprietà termiche del collagene o all'attivazione delle calpaine (Al-Hilphy *et al.*, 2020). Tuttavia, l'efficacia del trattamento dipende da diversi fattori quali la specie, il tipo di muscolo e le condizioni operative degli ultrasuoni (ossia frequenza ed intensità) (Mirmoghtadaie, Shojaee Aliabadi and Hosseini, 2016). Pertanto, gli studi condotti finora suggeriscono un potenziale ruolo significativo dell'applicazione degli US nel settore alimentare, specialmente quello delle carni rosse. In questo contesto, considerate le problematiche riguardanti la comparsa delle anomalie emergenti delle carni avicole, risulta interessante comprendere ed approfondire i meccanismi alla base di un possibile effetto degli US sull'intenerimento della carne affetta da anomalia WB.

3.1.1 Premessa

Dalle prove precedenti è emerso che gli US non hanno alterato in maniera significativa le proprietà tecnologiche della carne esente o meno da anomalie muscolari, eccezion fatta per il parametro della luminosità che aumenta in modo significativo dopo il trattamento, non compromettendo tuttavia l'aspetto visivo della carne. Per quanto riguarda il possibile ruolo degli US sull'intenerimento della carne affetta da WB, non è stato evidenziato un chiaro trend: ciò potrebbe essere dovuto principalmente al fatto che i petti selezionati non presentavano un grado di gravità dell'anomalia uniforme (es., alcuni petti presentavano simultaneamente anomalia WB e SM). Inoltre, eseguire le analisi sullo stesso filetto durante la conservazione ha reso inevitabilmente necessario prelevare il sotto campione destinato all'analisi della texture sempre più verso la zona caudale (Figura 4). Questo ha generato un'alta variabilità nei dati, in quanto non tutti i petti selezionati presentavano un grado di gravità dell'anomalia uniforme.

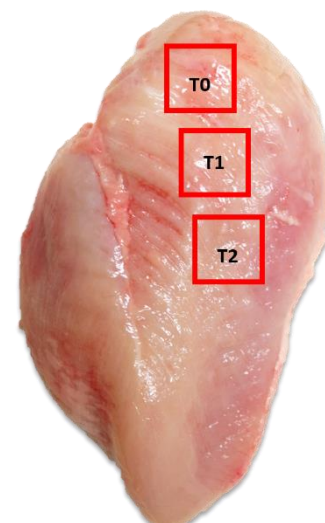


Figura 4. Schema di campionamento impiegato nella prova sperimentale #2.

Tuttavia, per tutti i tempi di campionamento considerati, i petti WB trattati con US hanno presentato forze di compressioni inferiori se paragonati a quelli non trattati, suggerendo un possibile ruolo del trattamento sull'intenerimento della carne. Infatti, sarà necessario, nella prossima prova sperimentale, approfondire questo meccanismo tramite lo studio dello stato di integrità della componente miofibrillare (es. tramite analisi dell'indice di frammentazione miofibrillare e degradazione della desmina, una proteina responsabile dell'integrità strutturale dei sarcomeri). Inoltre, considerati i dati microbiologici riscontrati al termine della conservazione (10 giorni) risulta opportuno ridurre la durata della conservazione dei campioni per le analisi sperimentali. Considerati tutti questi aspetti, si rende necessario i) utilizzare diverse serie di petti per ogni tempo di campionamento (2: immediatamente il trattamento e dopo 4 giorni), in modo tale da minimizzare le interferenze dovute alle posizioni di campionamento per le analisi relative alla texture e ii) dividere a metà, in senso longitudinale, il muscolo pettorale in modo da destinare metà petto al trattamento e poterlo confrontare con la sua stessa controparte non trattata. Inoltre, dal momento che esiste una stretta relazione fra la capacità di ritenzione idrica e la tenerezza della carne, sarebbe interessante ai fini della ricerca valutare qualora il trattamento possa causare una redistribuzione dell'acqua nei compartimenti intracellulari, modificandone la consistenza.

3.2 Obiettivo della ricerca

Valutare l'efficacia del trattamento ad US a 25 kHz per 40 minuti sull'intenerimento della carne affetta da anomalia WB.

3.3 Piano sperimentale

La ricerca è stata condotta su un totale di 30 petti di pollo (muscolo *Pectoralis major*) appartenenti allo stesso lotto di individui maschi a pelle bianca (peso 3,0-3,5 kg), di cui 15 esenti da difetti qualitativi e 15 affetti da WB. Una volta trasportati presso i laboratori del Campus di Scienze degli Alimenti dell'Università di Bologna (sede di Cesena), dove sono stati condotti i trattamenti e le analisi. Tutti i filetti sono tagliati a metà nel senso longitudinale (Figura 5), le metà sono poi state randomizzate e suddivise in 4 gruppi sperimentali:

1. Controllo non trattato (C)
2. Controllo trattato (CT)
3. Wooden Breast non trattati (WB)
4. Wooden Breast trattati (WBT)

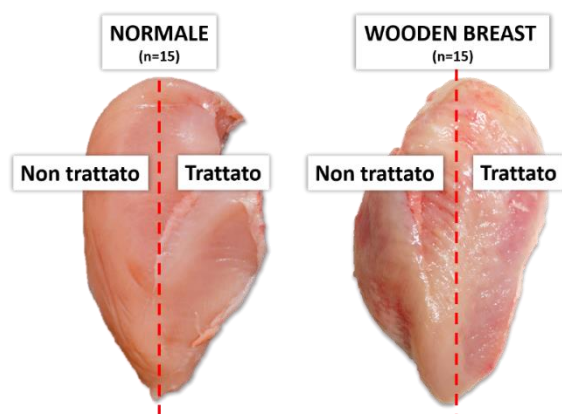


Figura 5. Schema di campionamento

Metà dei campioni sono stati destinati alle analisi al T0, l'altra metà al T1 (dopo 4 giorni dal trattamento). Prima del trattamento, tutti i filetti sono stati confezionati sottovuoto (99%) in buste di plastica.

3.3.1 *Trattamento*

I campioni sono stati immersi in un bagno ad ultrasuoni Elmasonic X-tra ST 600H (Elma Schmidbauer GmbH, Singen, Germania) riempito con acqua (45 l) e trattati a bassa frequenza (25 kHz) per 40 minuti alla potenza di 800W. Per tutta la durata del trattamento la temperatura dell'acqua è stata controllata mediante un termometro a sonda e mantenuta costante a 5 ± 2 °C mediante un chiller di raffreddamento con scambiatore a serpentina inserito nella vasca di trattamento. Al fine di non apportare modifiche alla potenza ed efficacia del trattamento, sono stati condotti 2 diversi trattamenti da 30 campioni ciascuno (scelti in modo random) in modo tal da ottenere lo stesso rapporto acqua:campione nella vasca di trattamento.

3.3.2 *Determinazioni analitiche*

Ogni campione è stato sezionato con l'ausilio di un bisturi al fine di ottenere dei sotto-campioni utilizzati per le determinazioni analitiche effettuate, riportate in tabella 1. Le determinazioni analitiche sono state condotte a due diversi tempi di campionamento (immediatamente dopo il trattamento e dopo 4 giorni). I petti sono stati conservati a temperature di refrigerazione per l'intera durata del trial.

3.4 Risultati

In tabella 11 sono riportati i risultati relativi all'effetto del trattamento ad US a bassa frequenza sulla tenerezza e la capacità di ritenzione idrica (valutata tramite risonanza magnetica nucleare) della carne di pollo dopo il trattamento e a 4 giorni dal trattamento. Come già riscontrato nelle prove precedenti, i campioni trattati con US hanno mostrato, immediatamente dopo il trattamento, una riduzione della forza di compressione. A supporto di ciò, al T0, l'indice di frammentazione miofibrillare è risultato essere significativamente ($p < 0,05$) più elevato nei campioni trattati, suggerendo che il trattamento possa aver parzialmente degradato la struttura miofibrillare.

L'analisi TD-NMR (*time domain nuclear magnetic resonance*) è una tecnica che consente di ottenere informazioni riguardanti la quantità (espressa in termini di intensità relativa) e la mobilità (espressa in tempo di rilassamento) delle tre frazioni di acqua presenti nel tessuto muscolare: acqua legata, acqua intra-miofibrillare ed acqua extra-miofibrillare. Dai risultati ottenuti emerge che gli US non hanno causato nessun cambiamento nell'intensità e nella mobilità dell'acqua presente nel

muscolo, suggerendoci che il trattamento non ha alterato la funzionalità delle proteine né, di conseguenza, la capacità di ritenzione idrica della carne.

Tuttavia, dopo 4 giorni dal trattamento, non sono state riscontrate differenze fra i gruppi sperimentali, né per quanto concerne la tenerezza dei campioni né per il loro indice di frammentazione miofibrillare. Tale risultato è piuttosto inaspettato e di difficile interpretazione. Tuttavia, dai risultati ottenuti tramite analisi TD-NMR, emerge come i campioni trattati con US abbiano mostrato un tempo di rilassamento dell'acqua extra-miofibrillare significativamente superiore se paragonato al gruppo di controllo (122,1 vs. 110,2 ms; $p < 0,05$). Questo risultato indica che, dopo 4 giorni dal trattamento, l'acqua presente negli scomparti extra-miofibrillari risulta essere debolmente legata e quindi viene facilmente rilasciata dalla carne. A livello pratico, ciò potrebbe indicare una maggiore perdita di liquidi della carne, già riscontrata con l'analisi del *drip loss* nelle prove precedenti, e potrebbe - seppur solo in parte - giustificare l'assenza di differenze riscontrate dall'analisi della texture.

Tabella 11. Effetto del trattamento ad US sulla tenerezza e distribuzione dell'acqua in campioni di petto di pollo tal immediatamente dopo il trattamento (tempo 0) e a 4 giorni dal trattamento (tempo 4)

¹Fmax 40% (kg): Forza massima necessaria a comprimere il campione del 40% della sua altezza;

²MFI: Indice di frammentazione miofibrillare

*= $p < 0,05$; ns= non significativo. esm= errore standard della media.

	Tempo 0				Tempo 4			
	C	CT	esm	P-value	C	CT	esm	P-value
¹ Fmax 40% (kg)	6,88	5,28	0,38	0,069	5,77	6,84	0,31	ns
² MFI	62,5	67,4	1,18	*	68,3	65,3	1,25	ns
<i>Intensità relativa (%)</i>								
Acqua legata	2,36	2,30	0,07	ns	2,42	2,49	0,06	ns
Acqua intra-miofibrillare	76,4	75,9	1,76	ns	79,8	76,7	1,04	ns
Acqua extra-miofibrillare	18,7	22,8	1,19	ns	17,8	20,7	1,01	ns
<i>Tempo di rilassamento (ms)</i>								
Acqua legata	3,19	2,93	0,17	ns	3,28	3,39	0,44	ns
Acqua intra-miofibrillare	42,9	42,8	0,63	ns	42,3	43,3	0,85	ns
Acqua extra-miofibrillare	112,5	114,7	2,79	ns	110,2	122,1	3,11	*

In tabella 12, sono riportati i risultati relativi all'effetto del trattamento ad US a bassa frequenza sulla tenerezza e la capacità di ritenzione idrica (valutata tramite risonanza magnetica nucleare) della carne di pollo affetta da WB dopo il trattamento e a 4 giorni dal trattamento. Il dato più interessante è senza dubbio quello riguardante la texture: immediatamente dopo il trattamento, i campioni trattati con US hanno mostrato una significativa riduzione della forza di compressione rispetto alla controparte non trattata (7,57 vs. 10,2 kg, $p < 0,01$). Questo intenerimento, tuttavia, non può essere ascrivibile né ad un aumentata frammentazione delle miofibrille, né ad una redistribuzione dell'acqua

nel tessuto muscolare, dal momento che non sono state riscontrate differenze fra i gruppi sperimentali per quanto riguarda l'indice di frammentazione miofibrillare e l'analisi TD-NMR.

Dopo 4 giorni dal trattamento, i campioni trattati con US hanno mostrato, analogamente a quanto riscontrato al T0, una lieve riduzione della forza di compressione, seppur il dato non sia risultato significativo dal punto di vista statistico (9,14 vs. 10,4 kg; $p > 0,05$). D'altro canto, non sono state evidenziate differenze fra i gruppi sperimentali, né per quanto riguarda l'indice di frammentazione miofibrillare, né per la distribuzione e mobilità nell'acqua nel tessuto muscolare.

Tabella 12. Effetto del trattamento ad US sulla tenerezza e distribuzione dell'acqua in campioni di petto di pollo tal immediatamente dopo il trattamento (tempo 0) e a 4 giorni dal trattamento (tempo 4)

¹Fmax 40% (kg): Forza massima necessaria a comprimere il campione del 40% della sua altezza;

²Indice di frammentazione miofibrillare.

*= $p < 0,05$; ns= non significativo. esm= errore standard della media.

	Tempo 0				Tempo 4			
	WB	WBT	esm	P-value	WB	WBT	esm	P-value
¹ Fmax 40% (kg)	10,2	7,57	0,51	**	10,4	9,14	0,46	ns
² MFI	71,7	68,3	0,94	ns	73,8	69,9	11,0	ns
<i>Intensità relativa (%)</i>								
Acqua legata	2,62	2,35	0,14	ns	2,33	2,29	0,20	ns
Acqua intra-miofibrillare	63,7	65,1	1,78	ns	65,4	62,7	9,17	ns
Acqua extra-miofibrillare	33,7	35,9	1,73	ns	30,7	35,0	8,67	ns
<i>Tempo di rilassamento (ms)</i>								
Acqua legata	4,53	3,83	0,33	ns	4,68	4,77	1,27	ns
Acqua intra-miofibrillare	46,1	45,0	0,62	ns	47,2	47,8	4,16	ns
Acqua extra-miofibrillare	135,9	137,3	3,86	ns	135,7	134,8	20,3	ns

Dall'analisi Western Blot non sono emerse differenze statisticamente significative ascrivibili all'applicazione del trattamento, a prescindere dalla presenza dell'anomalia WB e dal tempo di campionamento considerato (Tabella 13). Pertanto, è possibile concludere che l'intenerimento riscontrato al T0 non può essere ascrivibile ad un maggiore livello di proteolisi a carico della desmina, considerata una delle proteine target dei processi proteolitici.

Tabella 13. Effetto del trattamento ad US sulla quantità di desmina in campioni esenti da anomalie e affetti da WB immediatamente dopo il trattamento (Tempo 0) e dopo 4 giorni dal trattamento (tempo 4).

¹= i pesi molecolari si riferiscono alla desmina tal quale (65 kDa) e alla forma eterodimerica (130 kDa).

Peso molecolare (kDa) ¹	Tempo 0				Tempo 4			
	C	CT	esm	P-value	C	CT	esm	P-value
65	100	95,6	17,5	ns	100	106,8	5,51	ns
130	100	73,5	8,11	ns	100	109,1	10,8	ns
	WB	WBT	esm	P-value	WB	WBT	esm	P-value
65	100	100,9	17,1	ns	100	94,7	15,1	ns
130	100	79,3	14,3	ns	100	140,3	34,9	ns

4. Conclusioni

Alla luce dei risultati ottenuti, è possibile concludere che:

- È necessario trattare i campioni di carne previo confezionamento sottovuoto (99%), in quanto il trattamento in acqua comporta la comparsa di escoriazioni bianche puntiformi sulla superficie del petto, nonché una notevole riduzione delle proprietà tecnologiche e un peggioramento della stabilità microbiologica.
- Se applicato sulla carne avicola priva di difetti, il trattamento ad US non esercita un effetto né peggiorativo né migliorativo sulle principali caratteristiche tecnologiche della carne.
- Se applicato alla carne affetta da anomalia WB, il trattamento ad US consente di intenerire la carne riducendo la forza di compressione dal 20 al 25%.
- Il fenomeno di intenerimento non è ascrivibile ad un aumento dell'indice di frammentazione miofibrillare, a fenomeni proteolitici a carico della desmina, né ad una ridistribuzione dell'acqua nei compartimenti cellulari, ma può essere probabilmente dovuto a fenomeni degradativi a carico del collagene.
- Il trattamento ad US ha ridotto del 6% la variabilità nella tenerezza strumentale riscontrata nei campioni affetti da WB, mentre l'effetto sull'omogeneità dei campioni normali è trascurabile.
- La qualità microbiologica sembra essere influenzata dalla modalità di conduzione del trattamento (su petti confezionati sottovuoto o trattati in acqua) più che dalla presenza di anomalie della carne o dal trattamento, facendo quindi intravedere buone potenzialità applicative nel mantenimento delle buone pratiche di lavorazione.

Nel complesso, è stato possibile evidenziare come il trattamento ad ultrasuoni a bassa frequenza alle condizioni applicate (25 kHz, 40 min, 800 W) non abbia comportato variazioni significative nelle caratteristiche tecnologiche delle carni avicole, sebbene i risultati promettenti ottenuti dall'analisi della texture ne suggeriscono una potenziale applicazione a livello industriale.

5. Bibliografia

- Al-Hilphy, A. R. *et al.* (2020) 'Ultrasound applications in poultry meat processing: A systematic review', *Journal of Food Science*, 85(5), pp. 1386–1396. doi: 10.1111/1750-3841.15135.
- Alarcon-Rojo, A. D. *et al.* (2015) 'Power ultrasound in meat processing', *Meat Science*. Elsevier Ltd, 107, pp. 86–93. doi: 10.1016/j.meatsci.2015.04.015.
- Alarcon-Rojo, A. D. *et al.* (2019) 'Ultrasound and meat quality: A review', *Ultrasonics Sonochemistry*. Elsevier B.V., pp. 369–382. doi: 10.1016/j.ultsonch.2018.09.016.
- Baldi, G. *et al.* (2019) 'Comparison of Quality Traits Among Breast Meat Affected by Current Muscle Abnormalities', *Food Research International*. Elsevier, 115, pp. 369–376. doi: 10.1016/j.foodres.2018.11.020.
- Barekat, S. and Soltanizadeh, N. (2018) 'Effects of Ultrasound on Microstructure and Enzyme Penetration in Beef Longissimus lumborum Muscle', *Food and Bioprocess Technology*. Springer New York LLC, 11(3), pp. 680–693. doi: 10.1007/s11947-017-2043-8.
- Bhat, Z. F. *et al.* (2018) 'Applied and Emerging Methods for Meat Tenderization: A Comparative Perspective', *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(4), pp. 841–859. doi: 10.1111/1541-4337.12356.
- Culler, R. D. *et al.* (1978) 'Relationship of Myofibril Fragmentation Index to Certain Chemical, Physical and Sensory Characteristics Of Bovine longissimus Muscle', *Journal of Food Science*. John Wiley & Sons, Ltd, 43(4), pp. 1177–1180. doi: 10.1111/j.1365-2621.1978.tb15263.x.
- Jeacocke, R. E. (1977) 'Continuous measurements of the pH of beef muscle in intact beef carcasses', *International Journal of Food Science & Technology*. John Wiley & Sons, Ltd (10.1111), 12(4), pp. 375–386. doi: 10.1111/j.1365-2621.1977.tb00120.x.
- Mirmoghtadaie, L., Shojaee Aliabadi, S. and Hosseini, S. M. (2016) 'Recent approaches in physical modification of protein functionality', *Food Chemistry*. Elsevier Ltd, pp. 619–627. doi: 10.1016/j.foodchem.2015.12.067.
- Petracci, M. *et al.* (2015) 'Meat quality in fast-growing broiler chickens', *World's Poultry Science Journal*, 71(2), pp. 363–374. doi: 10.1017/S0043933915000367.
- Petracci, M. and Baéza, E. (2007) 'Harmonization of methodology of assessment of meat quality

features’, *World Poultry Science Association, 18th European Symposium on the quality of poultry meat and 12th European Symposium on the quality of eggs and egg products of WPSA, Prague, Czech Republic, 2-5 September, 2007*, (July), pp. 1–12.

Sihvo, H. K., Immonen, K. and Puolanne, E. (2014) ‘Myodegeneration With Fibrosis and Regeneration in the Pectoralis Major Muscle of Broilers’, *Veterinary Pathology*. SAGE Publications Ltd, 51(3), pp. 619–623. doi: 10.1177/0300985813497488.

Soglia, F. *et al.* (2019) ‘Gaping of pectoralis minor muscles: Magnitude and characterization of an emerging quality issue in broilers’, *Poultry Science*, 98(11), pp. 6194–6204. doi: 10.3382/ps/pez418.

Soglia, F. *et al.* (2020) ‘Distribution and Expression of Vimentin and Desmin in Broiler Pectoralis major Affected by the Growth-Related Muscular Abnormalities’, *Frontiers in Physiology*. Frontiers Media S.A., 10. doi: 10.3389/fphys.2019.01581.