

Alma Mater Studiorum - UNIVERSITÀ DI BOLOGNA
CAMPUS DI CESENA

SCUOLA DI AGRARIA E MEDICINA VETERINARIA
CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN SCIENZE E
TECNOLOGIE ALIMENTARI

CARATTERISTICHE QUALITATIVE DELLE CARNI DI PETTO DI POLLO ANOMALE

Tesi in

Innovazioni nella filiera dei prodotti carnei e ovoprodotti
(Innovazioni e sicurezza dei prodotti di origine animale c.i.)

Relatore:

Prof. Massimiliano Petracci

Presentata da:

Carlos Villavicencio Ferro

Correlatore:

Dott.ssa Francesca Soglia

Sessione III

Anno Accademico 2014-2015

INDICE

CAPITOLO 1

COMPOSIZIONE CHIMICA DELLA CARNE

1.1 Composizione del tessuto muscolare e della carne.....	- 1 -
1.1.1 Umidità	- 2 -
1.1.2 Proteine e composti azotati non proteici.....	- 3 -
1.1.3 Lipidi.....	- 4 -
1.1.4 Carboidrati	- 5 -
1.1.5 Minerali.....	- 6 -
1.2 Il tessuto adiposo.....	- 6 -
1.1.1 Trigliceridi e fosfolipidi.....	- 7 -
1.1.2 Gli Acidi grassi	- 8 -
1.1.3 Fattori che influenzano la composizione in acidi grassi della carne.-	13 -

CAPITOLO 2

ANOMALIE EMERGENTI NELLE CARNI DI POLLO

2.1 Comparsa delle anomalie delle carni e selezione genetica del pollo da carne	- 21 -
2.1.1 Anomalia white-stripping	- 23 -
2.1.2 Anomalia Wooden-breast	- 25 -
2.2 Conseguenze delle anomalie emergenti sulla qualità della carne.....	- 25 -
2.2.1 Valore nutrizionale.....	- 26 -
2.2.2 Proprietà tecnologiche e sensoriali	- 27 -
2.2.3 Shelf-life microbiologica	- 27 -

CAPITOLO 3

SPERIMENTAZIONE

3.1 Argomento di studio e scopo della ricerca.....	- 29 -
3.2 Materiali e metodi	- 30 -
3.2.1 Umidità	- 32 -
3.2.2 Collagene	- 33 -
3.2.3 Proteine	- 33 -
3.2.4 Lipidi.....	- 34 -
3.2.5 Suscettibilità all'ossidazione lipidica (TBARS).....	- 37 -
3.2.6 Ossidazione delle proteine	- 38 -
3.2.7 Contenuto in emepigmenti totali	- 39 -
3.2.8 Analisi statistica	- 39 -
3.3 Risultati e discussione.....	- 40 -
3.3.1 Composizione centesimale	- 40 -
3.3.2 Acidi grassi	- 42 -
3.3.3 Emepigmenti e ossidazione lipidica e proteica.....	- 45 -
3.4 Conclusioni	- 48 -
 BIBLIOGRAFIA.....	 - 49 -

CAPITOLO 1

COMPOSIZIONE CHIMICA DELLA CARNE

1.1 Composizione del tessuto muscolare e della carne

Il tessuto muscolare è costituito principalmente da acqua, proteine, grassi, carboidrati e costituenti inorganici presenti in proporzioni variabili (Tabella 1.1). È caratterizzato da un tenore di umidità pari a circa il 75%. L'acqua, il costituente più rilevante in termini quantitativi, occupa la maggior parte del volume extracellulare e rappresenta il mezzo nel quale si trovano in soluzione i principali enzimi metabolici (Hedrick *et al.*, 1993).

Tabella 1.1. Composizione del tessuto muscolare scheletrico

COMPONENTE		%	
Umidità		74	
Proteine	Miofibrillari	65	23
	Sarcoplasmatiche	25	
	Dello stroma	10	
Lipidi		2	
Carboidrati		0,5	
Ceneri		0,5	

Le proteine rappresentano il 23% del tessuto muscolare. In funzione della loro solubilità in soluzioni a diversa forza ionica, vengono suddivise in proteine miofibrillari, sarcoplasmatiche e dello stroma (Hedrick *et al.*, 1993).

In particolare, le proteine sarcoplasmatiche sono facilmente estraibili in soluzioni acquose a bassa forza ionica (0,15 M). Esse comprendono la mioglobina e gli enzimi glicolitici (Hedrick *et al.*, 1993).

Al contrario, le proteine miofibrillari non possono essere estratte attraverso l'utilizzo di soluzioni a bassa forza ionica ma, per essere solubilizzate, richiedono l'impiego di soluzioni saline a forza ionica maggiore (> 0,3 M). Infine, le

proteine dello stroma sono costituite dalle proteine del tessuto connettivo. A causa della loro natura fibrosa, sono insolubili anche in soluzioni saline ad elevata forza ionica e costituiscono pertanto la frazione insolubile (Hedrick *et al.*, 1993).

Oltre alle proteine, nel muscolo si evidenzia la presenza di altri composti azotati. Essi vengono definiti come composti azotati non proteici (NPN) e comprendono amminoacidi, peptidi semplici, creatina, creatina fosfato, creatinina, alcune vitamine, nucleosidi e nucleotidi fra i quali l'adenosina trifosfato (ATP) (Hedrick *et al.*, 1993).

Il contenuto lipidico è estremamente variabile, compreso in un range fra l'1,5 e il 13%. Esso si compone principalmente di trigliceridi e fosfolipidi. Nonostante sia possibile distinguere la presenza di alcuni lipidi a livello intracellulare (principalmente fosfolipidi di membrana), la maggior parte dei depositi lipidici si accumula in corrispondenza del perimisio (Hedrick *et al.*, 1993).

Il contenuto in carboidrati del tessuto muscolare è in genere molto ridotto e destinato a scomparire nel corso delle reazioni biochimiche che determinano la trasformazione del muscolo in carne. In termini quantitativi, il glicogeno rappresenta il carboidrato più abbondante nel muscolo (0,5-1,3%). Oltre ad esso è possibile riscontrare la presenza di glicosaminoglicani, glucosio e altri mono o disaccaridi. Infine, possono essere individuati composti inorganici fra i quali gli ioni Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , Na^+ , Fe^{2+} e Cl^- che contribuiscono al mantenimento dell'omeostasi cellulare e all'attività degli enzimi (Hedrick *et al.*, 1993).

1.1.1 Umidità

Nell'animale *in vivo*, i tessuti muscolari sono costituiti da circa 65-80 % di acqua, che partecipa ai meccanismi biologici quali il metabolismo cellulare e il trasporto di metaboliti e prodotti di scarto. Inoltre, essa contribuisce alla termoregolazione e funge da solvente per i principali enzimi glicolitici (Keeton e Eddy, 2004).

Così come nel muscolo *in vivo*, anche *post-mortem* l'acqua rappresenta il costituente principale della carne (73-75%) in quanto compone il sarcoplasma nel quale si trovano immerse le proteine miofibrillari (Keeton e Eddy, 2004).

La capacità di ritenzione idrica (WHC) nei tessuti muscolari è influenzata dal pH, dalla disponibilità di cationi e anioni specifici nonché dal grado di contrazione delle proteine miofibrillari (Keeton e Eddy, 2004).

È stato stimato che il 95% dell'acqua presente in un sistema cellulare, denominata "*bulk-phase*" e costituita sia dall'acqua libera che di quella trattenuta, è suscettibile a perdite durante trattamenti termici, è congelabile e consente la mobilità molecolare. Questa frazione d'acqua si trova al di fuori di una sfera d'idratazione (attorno alla proteina), che si forma dall'interazione tra circa il 5% dell'acqua presente nel tessuto muscolare e i gruppi polari carichi presenti sulla superficie delle proteine.

Infine, circa il 0,1% del totale di acqua che circonda la proteina è strettamente legata o assorbita nei siti polari disponibili. Essa, denominata "acqua di costituzione" (legata o monostato), è strettamente ritenuta dalle proteine e definita come "non congelabile" in quanto non congela a -40 °C (Keeton e Eddy, 2004).

1.1.2 Proteine e composti azotati non proteici

Le proteine costituiscono il 23% del tessuto muscolare scheletrico e sono composte da 20 amminoacidi uniti tramite un legame peptidico (Figura 1.1). Hanno un contenuto totale di azoto di circa il 16% (inclusi i composti azotati non proteici) e tale valore è impiegato per calcolare la percentuale di proteina grezza a partire di quella di azoto ($100/16 = 6,25$) determinabile analiticamente (Keeton e Eddy, 2004).

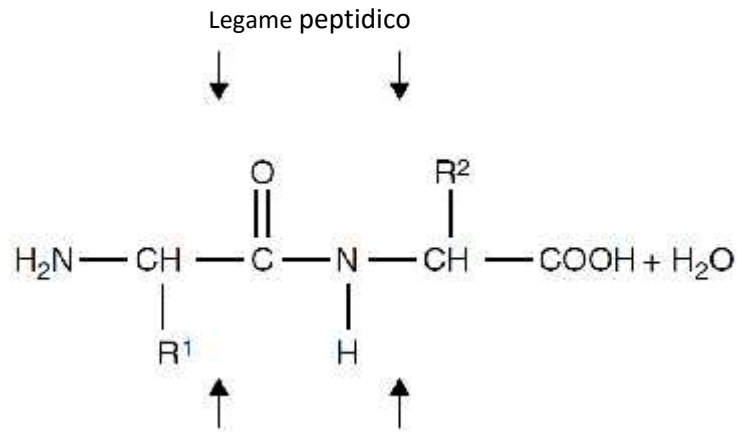


Figura 1.1. Legame peptidico. R¹ è all'estremità carbossilica (-COOH) e R² è all'estremità amminica (-NH₂) di un aminoacido (Keeton e Eddy, 2004).

Le proteine sono generalmente classificate in: miofibrillari (che esplicano principalmente un ruolo nella contrazione muscolare), sarcoplasmatiche (metaboliche) e dello stroma (costituiscono il tessuto connettivo e contribuiscono al mantenimento dell'integrità del tessuto muscolare).

Le proteine miofibrillari (o frazione sale-solubile) costituiscono circa il 65% del contenuto totale di proteine (Tabella 1) e influenzano la WHC del tessuto muscolare, le proprietà gelificanti ed emulsionanti (Keeton e Eddy, 2004).

Le proteine sarcoplasmatiche (o frazione solubile) costituiscono circa il 30% delle proteine totali. Sono rappresentate principalmente da enzimi ed emepigmenti.

Le proteine dello stroma (o tessuto connettivo) costituiscono circa il 10% del contenuto totale di proteine del muscolo scheletrico e sono insolubili. Il tessuto connettivo consiste in una soluzione viscosa di glicoproteine solubili (proteoglicani) con fibre extracellulari di collagene ed elastina immerse nella matrice glicoproteica (Keeton e Eddy, 2004).

1.1.3 Lipidi

La distinzione fra le tipologie di depositi di tessuto adiposo prevede: 1) grasso intracellulare, in gran parte costituito dai lipidi di membrana cellulari (fosfolipidi); 2) grasso sottocutaneo, rappresentato dai depositi di grasso

localizzati sulla superficie del muscolo e prevalentemente costituito da trigliceridi e acidi grassi saturi; 3) grasso intermuscolare, rappresentato dal grasso localizzato tra i differenti muscoli che compongono una parte anatomica e composizione simile a quello sottocutaneo; 4) grasso intramuscolare o grasso di marezzatura (“*marbling*”), localizzato tra le fibre muscolari e tra i fasci di fibre che compongono un muscolo e influenza sia le caratteristiche nutrizionali che organolettiche (tenerezza, succulenza, flavour) delle carni (Figura 1.2).

Il 30% del contenuto lipidico totale è costituito dai tessuti adiposi sottocutaneo e intermuscolare, mentre quelli intracellulari e intramuscolari rappresentano circa l’1% e tra l’1 e il 35%, rispettivamente (Smith *et al.*, 2004).

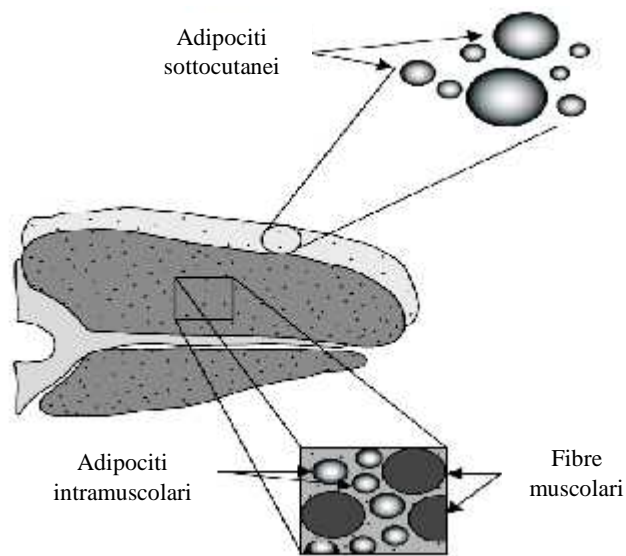


Figura 1.2. Fonti di lipidi nella carne (Smith *et al.*, 2004)

1.1.4 Carboidrati

Il carboidrato più abbondante nei tessuti animali è il glicogeno, un polisaccaride ramificato di elevato peso molecolare costituito da unità α -D-glucosio collegate tra di loro mediante legami α -1,6 glucosidico e α -1,4 glucosidico. La sua concentrazione nel muscolo scheletrico dell’animale *in vivo* risulta compresa in un range tra 0,5 e 1,5% (Keeton e Eddy, 2004).

Nell’animale vivo, l’adrenalina (epinefrina) è liberata nel flusso sanguigno in risposta a un stress e inizia una reazione in cascata nella cellula muscolare,

portando alla degradazione del glucosio mediante la glicolisi aerobia con un rendimento netto di 37 ATP. Questo processo fornisce energia per la contrazione muscolare e successiva conversione dell'acido lattico a glicogeno. Alla morte, non si trova più ossigeno nel sangue e il mitocondrio non è più capace di produrre ATP mediante il ciclo dell'acido tricarbossilico e la catena di trasporto di elettroni. Per questa ragione, la sintesi di energia avviene tramite la glicolisi anaerobia, con ogni mole di glucosio muscolare metabolizzato a due mole di lattato, il cui accumulo porta a un calo del pH da 7,1-7,3 a 5,5-5,7. La diminuzione del pH di un muscolo o carcassa dipende dalla temperatura: il pH di un muscolo "caldo" diminuisce più velocemente rispetto a un muscolo o carcassa raffreddata rapidamente (Keeton e Eddy, 2004).

1.1.5 Minerali

I minerali costituiscono circa il 3,5% del peso totale dell'animale. Nei tessuti carnei, i minerali sono presenti nei componenti cellulari (mioglobina, emoglobina, enzimi), nelle ossa nonché negli ingredienti utilizzati nel corso della preparazione di prodotti carnei trasformati (NaCl, KCl, fosfati alcalini, sali di lattato, spezie, condimenti, pastelle). Il tessuto muscolare presenta un basso contenuto di Ca^{2+} , ma abbondante in K^+ , P , Na^+ , Mg^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} e Cu^{2+} . Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ e P sono direttamente coinvolti nella contrazione del muscolo. Lo zolfo è presente in alcuni amminoacidi, mentre l'ione Cl^- forma parte di sali nei tessuti soffici e fluidi intracellulari (Keeton e Eddy, 2004).

1.2 Il tessuto adiposo

L'industria carnea moderna tende a concentrarsi sull'elaborazione di prodotti magri, nonostante sia il grasso il componente più influente sulla qualità sensoriale della carne (Webb e O'Neill, 2008). Diversi studi hanno infatti confermato la percezione chimica del grasso alimentare nella cavità orale (Hiraoka *et al.*, 2003) e l'effetto esplicato della quantità e tipo di grasso su due

parametri qualitativi fondamentali per i prodotti carnei: tenerezza e flavour (Wood *et al.*, 1999).

Molti consumatori percepiscono negativamente il grasso della carne, soprattutto dal punto di vista salutistico (si presume che incrementi il rischio di cancro colo-rettale) (Webb e O'Neill, 2008). Tuttavia, dalle prove svolte da Lin *et al.* (2004), non è stata dimostrata un'associazione tra il grasso consumato e il rischio di cancro colo-rettale. Esiste, però, una relazione tra i grassi animali e l'insorgenza delle malattie cardiovascolari, perciò si consigliano livelli moderati di consumo anche se, di recente, l'attenzione si sta concentrando piuttosto sulla qualità che sulla quantità di grasso.

Gli acidi grassi a lunga catena, sia nel tessuto adiposo che muscolare, contribuiscono alla qualità della carne e influenzano i valori nutrizionali e sensoriali della carne (Webb e O'Neill, 2008).

Il tessuto adiposo è composto principalmente da lipidi neutri (noti anche come trigliceridi) e fosfolipidi, che costituiscono dall'1,5% al 13% del tessuto muscolare. I lipidi comprendono anche steroli ed esteri di steroli (colesterolo e componenti di colesterolo) e cerebrosidi. I lipidi svolgono diverse funzioni all'interno dell'organismo: fonte di energia per la cellula, componente strutturale e funzionale della membrana cellulare, isolamento o protezione per gli organi vitali e mezzo nel quale si trovano disciolti alcuni ormoni e vitamine liposolubili (A, D, E, K). Inoltre, i depositi lipidici possono essere metabolizzati per produrre 2,25 volte più energia rispetto a quella ottenuta a partire dai carboidrati o proteine (Keeton e Eddy, 2004).

1.1.1 Trigliceridi e fosfolipidi

I lipidi neutri (trigliceridi) sono esteri del glicerolo composti da una molecola di glicerolo e tre acidi grassi (Figura 1.3). Possono essere semplici (tutti gli acidi grassi legati sono identici) o misti (due o più degli acidi grassi legati sono differenti) (Keeton e Eddy, 2004).

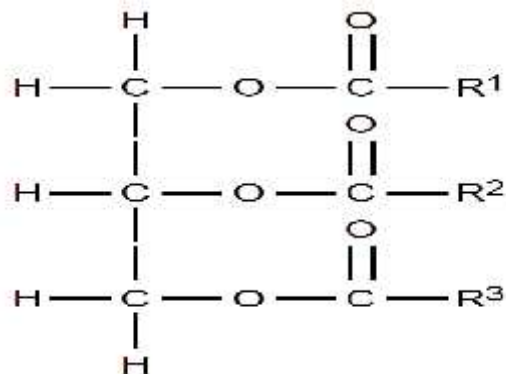


Figura 1.3. Struttura generale dei trigliceridi; R¹, R² e R³ rappresentano le catene di acidi grassi (Keeton e Eddy, 2004).

I fosfolipidi sono i componenti strutturali e funzionali delle membrane cellulari e costituiscono lo 0,5-1% dei lipidi presenti nel muscolo scheletrico. Nonostante questi lipidi siano molto simili ai trigliceridi, con un acido fosforico inserito tra il legame estere del glicerolo e l'acido grasso R³ mostrato nella Figura 3, sono più facilmente ossidati dall'ossigeno, dando luogo allo sviluppo di specifici *off-flavours* e aromi noti come *warmed-over flavours* (WOF) (Keeton e Eddy, 2004).

1.1.2 Gli Acidi grassi

1.1.1.1 Acidi grassi Saturi, Monoinsaturi e Polinsaturi

Gli acidi grassi sono “anfifilici”, cioè, hanno un gruppo carbossilico (idrofilo) nella terminazione polare e una catena idrocarburica nella coda apolare (idrofobica) (Webb e O'Neill, 2008).

Una prima divisione degli acidi grassi si basa sulla quantità di doppi legami (tra atomi di C) nella loro catena, che li distingue in: saturi (SFA, senza doppi legami); monoinsaturi (MUFA, un doppio legame); e polinsaturi (PUFA, due o più doppi legami). Inoltre, gli acidi grassi legati a un trigliceride presentano diverse caratteristiche chimiche (lunghezza della catena carboniosa, numero di doppi legami, punto di fusione, suscettibilità all'ossidazione lipidica) che determinano gli attributi specifici del grasso. La maggior parte degli acidi grassi presenti nei tessuti animali contengono un numero pari di atomi di carbonio, ma

sono anche noti alcuni acidi grassi a numero dispari di carbonio (Keeton e Eddy, 2004).

Nelle Tabelle 1.2 e 1.3 si presentano i punti di fusione caratteristici degli acidi grassi e trigliceridi normalmente presenti nei tessuti animali.

Tabella 1.2. Punti di fusione caratteristici degli acidi grassi e trigliceridi trovati normalmente nei tessuti animali (Keeton e Eddy, 2004)

ACIDO GRASSO	FORMULA CHIMICA	PUNTO DI FUSIONE (°C)
SATURI		
Butirrico	C ₄	-8,0
Caproico	C ₆	-3,4
Caprilico	C ₈	16,7
Caprico	C ₁₀	31,6
Laurico	C ₁₂	44,2
Miristico	C ₁₄	54,4
Palmitico	C ₁₆	62,6
Stearico	C ₁₈	69,6
Arachico	C ₂₀	75,4
MONOINSATURI		
Miristoleico	C _{14:1, 9C}	
Palmitoleico	C _{16:1, 9C}	-1
Oleico	C _{18:1, 9C}	13
Vaccenico	C _{18:1, 11C}	39
POLINSATURI		
Linoleico	C _{18:2, 9C, 12C}	-5,1
Linolenico	C _{18:3, 9C, 12C, 15C}	-11,2
Arachidonico	C _{20:4, 5C, 8C, 11C, 14C}	-49,5
TRIGLICERIDI		
Palmitodiolein Oleopalmitostearin Oleodipalmitin Sterodiolein		Solidi a temperatura corporea

Tabella 1.3. Punti di fusione di lipidi nei tagli e tessuti di carne usati normalmente nell'elaborazione di prodotti carnei macinati (Keeton e Eddy, 2004)

SPECIE	PUNTO DI FUSIONE (°C)
Agnello	32,2-46,1
Bovino	31,7-43,3
Suino	30,0-40,0
Pollame	26,7-43,3

Il punto di fusione dei grassi è determinato dalla lunghezza della catena carboniosa degli acidi grassi e dal numero di doppi legami (grado di insaturazione) che la caratterizzano. In particolare, all'aumentare della lunghezza della catena carboniosa, il punto di fusione aumenta mentre, all'aumentare il numero di doppi legami, il punto di fusione diminuisce (Tabella 1.4) (Keeton e Eddy, 2004).

Tabella 1.4. Modifiche del punto di fusione dei grassi a causa della lunghezza di catena e dei gradi di saturazione (Keeton e Eddy, 2004)

MODIFICA DELL'ACIDO GRASSO	EFFETTO SUL PUNTO DI FUSIONE (PF)
Addizione di due carboni	PF aumenta 8 °C
Addizione di un doppio legame	PF diminuisce 60 °C
Addizione di un secondo doppio legame	PF diminuisce in altri 20 °C
Addizione di un terzo doppio legame	PF diminuisce in altri 5 °C

Questi effetti sul punto di fusione sono anche evidenziati nella Tabella 2: gli acidi grassi saturi con più di 12 atomi di carbonio sono solidi a temperatura corporea e sono quelli con punti di fusione maggiori. Inoltre, i grassi interni che circondano gli organi sono generalmente più saturi e hanno punti di fusione superiori rispetto ai grassi esterni sottocutanei. (Keeton e Eddy, 2004).

La nomenclatura degli acidi grassi è derivata dalla numerazione degli atomi di carbonio a partire dalla terminazione carbossilica (COOH) o metilica (CH₃) della molecola. Utilizzando il metodo di numerazione dal gruppo

carbossilico, l'acido oleico ($C_{18:1,9c}$) è chiamato acido *cis*-9-ottadecenoico. Dall'altra parte, nella forma di numerazione dal metile, si prende come punto di riferimento la posizione in cui si trova il doppio legame, ad esempio: se il doppio legame è localizzato sul terzo carbonio dall'estremità metilica, l'acido grasso è denominato (*n*-3) oppure "omega-3", il quale si trova principalmente nel pesce di acqua fredda, mentre quelli della varietà *n*-6 (doppio legame sul sesto carbonio dalla terminazione metilica) costituiscono la maggior parte degli acidi grassi insaturi nelle carni (Keeton e Eddy, 2004).

Gli acidi grassi insaturi possono essere resi più saturi mediante l'idrogenazione dei carboni insaturi con l'uso di un catalizzatore come nichel o metossido di sodio. Da questo processo si può ottenere una conformazione di acido grasso *trans*, che, nonostante sia più stabile (presenta meno mobilità e fluidità), può contribuire allo sviluppo della malattia coronarica del cuore e al incremento del colesterolo LDL (lipoproteina a bassa densità) riducendo il colesterolo HDL (lipoproteina ad alta densità) (Keeton e Eddy, 2004).

Gli acidi grassi meno sensibili all'ossidazione lipidica dai radicali liberi sono i saturi, seguiti dai monoinsaturi e infine i polinsaturi (i più sensibili). L'ossidazione ad opera dei radicali liberi genera diversi prodotti di degradazione indesiderabili, specialmente acidi a corta catena, aldeidi e chetoni (Keeton e Eddy, 2004).

1.1.1.2 Acidi grassi essenziali

Gli acidi grassi PUFA *n*-3 e *n*-6 sono considerati essenziali perché, non potendo essere sintetizzati, devono essere incorporati necessariamente tramite la dieta (Webb e O'Neill, 2008).

Gli acidi grassi essenziali con 18 atomi di carbonio comprendono l'acido α -linolenico (acido *cis*-9,12,15-ottadecatrienoico; $C_{18:3}$ *n*-3) e l'acido linoleico (acido *cis*-9,12-ottadecadienoico; $C_{18:2}$ *n*-6). Secondo Smith (2007), i due acidi grassi con 20 atomi di carbonio più importanti sono l'acido arachidonico ($C_{20:4}$ *n*-6), che si forma dalla desaturazione (aumento del numero di legami insaturi) e

dall'elongazione (allungamento della catena) dell'acido linoleico, e l'acido eicosapentaenoico (C20:5 n-3, EPA), che si forma dalla desaturazione ed elongazione dell'acido α -linolenico (Figura 1.4). La carne, il pesce e l'olio di pesce sono le uniche fonti alimentari significanti di acido arachidonico e acido docosaesaenoico (C22:6 n-3, DHA). La carne contiene concentrazioni minori di questi PUFA rispetto all'olio di pesce. Gli acidi grassi n-3 che sono più facili da trovare nell'olio di pesce sono EPA e DHA (Webb e O'Neill, 2008).

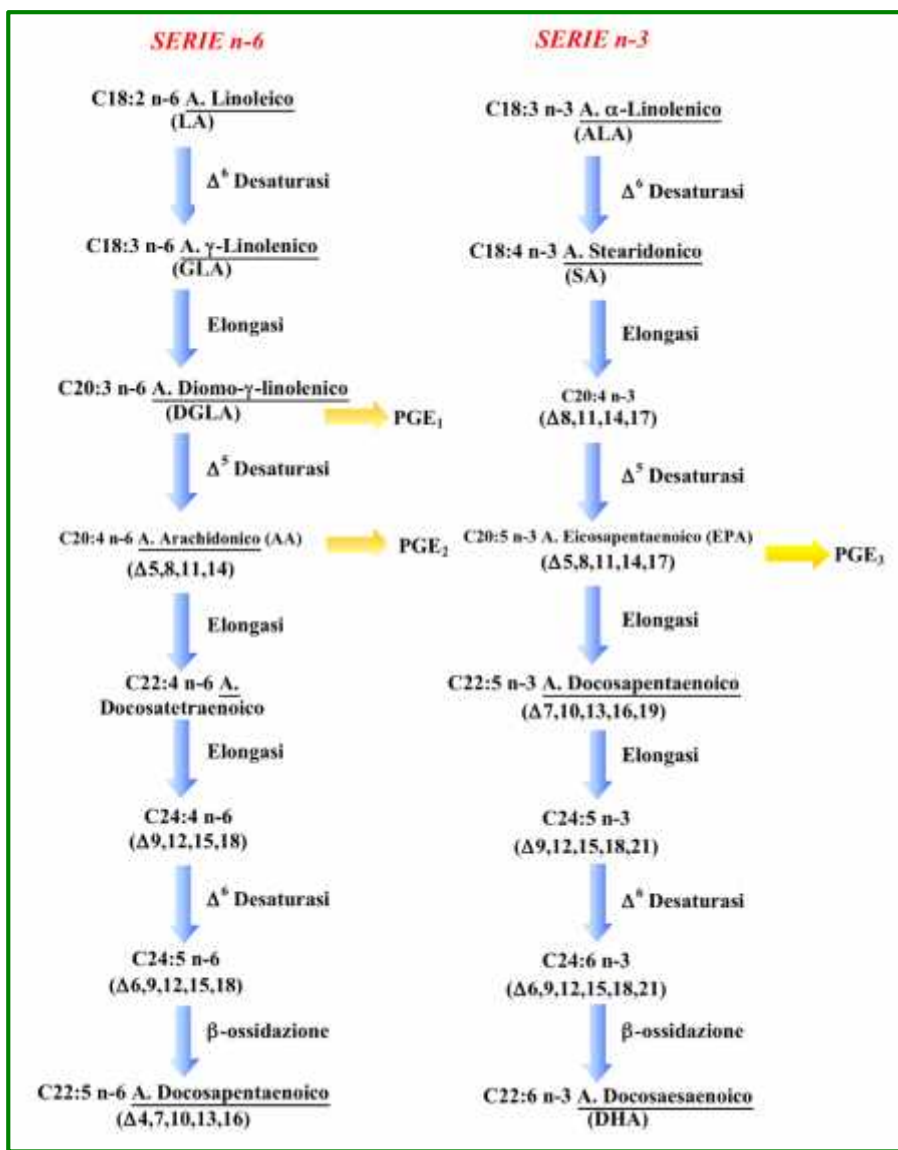


Figura 1.4. Desaturazione ed elongazione degli acidi grassi essenziali

1.1.1.3 Acidi grassi non essenziali

Gli acidi grassi non essenziali sono quelli che, a differenza degli acidi grassi n-3 e n-6, non provengono necessariamente solo dalla dieta ma possono anche essere sintetizzati negli animali a partire dall'acetil CoA con diversi cofattori. I principali sono i fosfogliceridi e gli sfingolipidi che comprendono gli acidi grassi saturi a 16 e 18 atomi di carbonio (ad esempio l'acido palmitico e stearico) e gli acidi grassi monoinsaturi n-9 (ad esempio l'acido oleico) (Webb e O'Neill, 2008).

1.1.1.4 Acido linoleico coniugato (CLA)

L'acido linoleico coniugato (CLA) è un gruppo di diversi isomeri geometrici e posizionali coniugati dell'acido linoleico (C18:2 *cis*-9, *cis*-12), un acido grasso essenziale. Il CLA presenta doppi legami (in configurazione *cis* o *trans*) nelle posizioni 9 e 11 o 10 e 12 lungo la catena carboniosa, ma gli isomeri più rappresentativi e più biologicamente attivi sono *cis*-9, *trans*-11 (il più importante dal punto di vista della salute umana) e *trans*-10, *cis*-12 (Sirri *et al.*, 2003).

Molti acidi grassi con doppi legami coniugati vengono sintetizzati nel rumine e sono stati individuati nel grasso del latte e nel sego del bovino. Per questo, la maggior parte degli CLA rilevabili nei tessuti umani provengono dalla dieta, anche se si può verificare una sintesi endogena attraverso la desaturazione delta-9 del C18:1 *trans*-11 (Webb e O'Neill, 2008).

Recentemente, si è attribuito a questo gruppo di lipidi un effetto benefico sulla salute umana. Ad essi è infatti attribuito un ruolo protettivo nei confronti del cancro, aterosclerosi e ipercolesterolemia (Sirri *et al.*, 2003).

1.1.3 Fattori che influenzano la composizione in acidi grassi della carne

La composizione in acidi grassi della carne varia in funzione della specie, della selezione genetica, della modalità di allevamento e della dieta somministrata agli animali.

1.1.3.1 Effetto della specie

Esistono grandi differenze tra le specie riguardo alla composizione in acidi grassi essenziali, non essenziali, polinsaturi e monoinsaturi e al rapporto n-6/n-3 della carne (Webb e O'Neill, 2008).

In generale, l'acido oleico (C_{18:1}) e il palmitico (C₁₆) sono i più presenti. La composizione in acidi grassi, classificandone dai più saturi (grasso più duro) ai meno saturi (più oleosi) secondo la specie, è la seguente: agnello > bovini > suini > pollame > pesce. Per bovini, agnelli, suini e pollame, gli acidi grassi saturi quali palmitico (C₁₆) e stearico (C₁₈) predominano, con minori quantità di arachico (C₂₀) (Keeton e Eddy, 2004).

1.1.3.2 Selezione genetica

La proporzione di grasso e la composizione in acidi grassi nel pollo possono cambiare in funzione del genotipo. Confrontando le razze a crescita lenta (quali Livorno e Ancona) con gli ibridi selezionati commerciali (Ross), nelle prime si verifica un contenuto totale di acidi grassi saturi e PUFA più elevato e, nonostante il maggiore consumo di foraggio fresco, un minore contenuto di acido α -linolenico (ALA, C_{18:3} n-3), causato probabilmente da una maggiore conversione di questo acido grasso ai suoi derivati a lunga catena (EPA e DHA) (Dal Bosco *et al.*, 2012).

1.1.3.3 Tipo di allevamento

L'influenza del sistema di produzione è più pronunciata nella composizione dei fosfolipidi rispetto a quella dei trigliceridi. Inoltre, nei polli alimentati con mais e in quelli allevati all'aperto, i trigliceridi presentano contenuti maggiori di EPA e DHA (benefici dal punto di vista nutrizionale) rispetto ai trigliceridi dei polli biologici e convenzionali (Jahan e Paterson, 2007).

1.1.3.4 Dieta

Vari studi hanno determinato che l'aggiunta di diversi fonti di grasso nella dieta del pollo da carne influenza la proporzione di acidi grassi (principalmente PUFA) presenti nella carne (Scaife *et al.*, 1994; Hrdinka *et al.*, 1996; López-Ferrer *et al.* 1999) e la quantità di grasso depositato (Sanz *et al.*, 1999, Crespo e Esteve-García, 2002).

Si è anche osservato che la fortificazione con PUFA *n-3* è il metodo più diffuso per massimizzare i benefici salutistici degli alimenti di origine animale, tra cui il pollame (Zdu czyk e Jankowski, 2013).

Le diete ricche in acidi grassi polinsaturi *n-3* (PUFA *n-3* LC), tra cui EPA, DHA e ALA, riducono il rischio di malattie cardiovascolari mediante l'abbassamento delle concentrazioni plasmatiche di trigliceridi, la diminuzione della produzione di fattori chemiotattici e di crescita, l'aumento del rilassamento endoteliale, la variabilità della frequenza cardiaca e la stabilità della placca aterosclerotica (Zdu czyk e Jankowski, 2013).

Negli ultimi anni, la maggior parte degli studi degli effetti della dieta si sono concentrati sugli oli vegetali (principalmente oli di semi di lino, di colza e d'oliva) come conseguenza della diminuzione delle fonti di olio di pesce e del suo possibile effetto negativo sulle caratteristiche sensoriali dei prodotti carnei (Zdu czyk e Jankowski, 2013). Kitessa e Young (2009) hanno dimostrato che l'olio di echium (composizione in acidi grassi simile a quella dell'olio di pesce) arricchisce più efficacemente la carne di pollame con PUFA *n-3* rispetto all'olio di colza.

EPA e DHA si trovano naturalmente negli oli di pesce e nei prodotti ittici. Negli oli vegetali è presente ALA, a partire dal quale possono essere sintetizzati EPA e DHA attraverso l'elongazione e la desaturazione (Figura 1.4) (Zdu czyk e Jankowski, 2013). A rapporti troppo elevati di *n-6/n-3*, l'efficienza della conversione di ALA a EPA e DHA potrebbe non essere sufficientemente elevata per migliorare il valore nutrizionale delle carni di pollame (Qi *et al.*,

2010). Inoltre, Pisulewski (2005) sostiene che l'applicazione di ALA nella dieta aumenta EPA, ma non DHA.

Utilizzando diversi oli (ovvero diverse fonti di PUFA) nell'alimentazione di polli, la proporzione di PUFA n-3 e n-6 della dieta e quella ritrovata nella carne risultano simili, cioè, l'assunzione netta di entrambi i gruppi di acidi grassi è piuttosto elevata (Tabella 1.5). Inoltre, confrontando le varie fonti, l'accumulo dei PUFA forniti dall'olio di semi di lino è chiaramente maggiore degli altri oli, associati ad accumuli simili (Poureslami *et al.*, 2010).

Tabella 1.5. Composizione in acidi grassi di diete con diverse fonti di PUFA e la concentrazione in PUFA di tutto il corpo dei polli (Poureslami *et al.*, 2010)

	Fonti di PUFA n-3 LC			
	Olio di palma	Olio di soia	Seme di lino	Olio di pesce
Composizione in acidi grassi nella dieta (%)				
PUFA <i>n-6</i>	14.7	24.1	14.5	12.4
PUFA <i>n-3</i>	0.9	2.4	14.1	9.8
Rapporto <i>n-6/n-3</i>	16.7	10	1	1.3
Concentrazione in PUFA <i>n-3</i> LC di tutto il pollo				
PUFA <i>n-6</i>	11.9	22.7	14.4	10.5
PUFA <i>n-3</i>	0.7	2.2	13.4	6.9
Rapporto <i>n-6/n-3</i>	17	10.3	1.1	1.5
Accumulo (% di assunzione netta)				
PUFA <i>n-6</i>	73.1	74.7	85.2	73
PUFA <i>n-3</i>	63.9	64.3	65.3	58.4

Secondo Zelenka *et al.* (2008), nelle diete di pollo arricchite con olio di semi di lino da cultivar (con un alto contenuto di acido ω -linolenico o acido linoleico), il rapporto più piccolo di PUFA *n-6/n-3* (0,77:1 e 0,93:1 in petto e coscia, rispettivamente) si presenta nelle diete contenenti 36 g di acido ω -linolenico per kg di dieta, mentre il rapporto più ampio (13,6:1 e 17,2:1 nel petto

e coscia, rispettivamente) è evidenziato nelle diete contenenti 2 g di acido - linolenico.

A basse proporzioni di PUFA nelle diete di pollo, il contenuto totale di acidi grassi del petto è inferiore a quello della coscia mentre, se la concentrazione di PUFA aumenta, il contenuto degli acidi grassi totali della coscia si riduce (acidi grassi saturi e monoinsaturi diminuiscono linearmente all'incrementare i PUFA nella dieta) e quello del petto rimane costante (minori variazioni e maggiori incorporazioni di PUFA rispetto alla coscia) (Cortinas *et al.*, 2004).

Sono stati fatti pochissimi tentativi per modificare la composizione in acidi grassi della carne di tacchino. A causa della scarsità di tali studi, l'efficacia della modifica dietetica nei polli e quella nei tacchini non possono essere confrontate in modo attendibile (Zdu czyk e Jankowski, 2013).

I principali fattori che limitano la fortificazione della carne di pollame con PUFA *n-3* sono: deterioramento delle caratteristiche organolettiche della carne (minore stabilità ossidativa), maggiori costi di produzione, disponibilità di metodi alternativi per modificare il valore nutrizionale della carne e restrizioni legali applicabili all'industria alimentare (Zdu czyk e Jankowski, 2013).

Un metodo efficace per prevenire l'ossidazione dei lipidi e per migliorare la qualità sensoriale della carne di pollame all'aumentarne il contenuto di PUFA è l'integrazione con antiossidanti, quali l' *-tocoferolo* (protegge gli PUFA dall'ossidazione). Tra l'altro, integrando le diete con diverse concentrazioni di *-tocoferolo acetato* (*-TA*), la quantità di acidi grassi in cosce e petti di pollo non è influenzata (Cortinas, *et al.*, 2004). Nello stesso modo, le diete di pollo arricchiti con selenio e vitamina E hanno aumentato le concentrazioni di entrambi gli antiossidanti nei muscoli del petto senza agire sulla loro composizione in acidi grassi (Zdu czyk *et al.*, 2011). Tuttavia, Rozbicka-Wieczorek *et al.* (2012) sostengono che l'integrazione della dieta di polli con licopene e selenio aumenta il valore del rapporto PUFA/SFA nei muscoli delle pollastre e, soprattutto, dei galletti.

Un altro effetto possibile delle modifiche della composizione in acidi grassi della carne di pollo è lo stimolo delle funzioni immunitarie dei polli stessi: l'incremento delle concentrazioni di PUFA *n-3* nelle diete di pollo, ottenuto mediante l'aggiunta di olio di pesce, diminuisce la fagocitosi e la proliferazione dei linfociti nei polli da carne. In questo modo, gli oli ricchi in PUFA, come l'olio di semi di lino, possono essere utilizzati nelle diete di pollame per migliorare la loro salute e benessere (Al-Khalifa *et al.*, 2012).

Dall'altra parte, l'acido linoleico coniugato (CLA) può anche essere ottenuto mediante isomerizzazione con alcali. Questo processo rende possibile la sua integrazione nelle diete animali e, di conseguenza, l'aumento della sua concentrazione in prodotti derivati da animali monogastrici (Sirri *et al.*, 2003).

L'integrazione dietetica con CLA ha diversi effetti: diminuisce il contenuto di MUFA e PUFA non-CLA della carne di galline ovaiole (Du *et al.*, 2000); limita il grado di ossidazione lipidica della carne di pollo fresco durante lo stoccaggio (con una efficacia antiossidante maggiore dell' -tocoferolo) (Ha *et al.*, 1990); e riduce il contenuto di grassi della carcassa, sia in animali giovani che vecchi, migliorando il deposito del tessuto magro (Dugan *et al.*, 1997; Banni e Martin, 1998). Nello stesso modo, influenza la composizione in acidi grassi dei diversi tessuti dei polli da carne: nel petto e coscia si verifica una riduzione del contenuto di MUFA (acido oleico e palmitoleico) mentre nel grasso addominale si evidenzia un aumento significativo (di circa il 30%) degli acidi grassi saturi (acido miristico e stearico), migliorandone la fermezza. Inoltre, il contenuto di acido arachidonico (ARA) è significativamente ridotto e linearmente correlato all'aggiunta di CLA alla dieta, mentre altri PUFA non-CLA sono poco influenzati (Sirri *et al.*, 2003).

Un altro aspetto a tenere in conto è l'influenza del sistema di alimentazione degli animali, sia con diete concentrate o foraggi o tutte due, sulla crescita e le caratteristiche della carcassa. Nell'intento di migliorare la composizione in acidi grassi (incremento della proporzione di acidi grassi insaturi *n-3* e CLA), i

parametri di crescita possono essere influenzati negativamente sotto condizioni naturali di alimentazione (Dal Bosco *et al.*, 2012).

Per quanto riguarda al contenuto di colesterolo della carne, questo è generalmente resistente a modificazioni della dieta, tranne che i mezzi per aumentare la quantità di lipidi neutri intramuscolari causino alla fine piccoli e graduali incrementi della concentrazione di colesterolo (Smith *et al.*, 2004).

CAPITOLO 2

ANOMALIE EMERGENTI NELLE CARNI DI POLLO

2.1 Comparsa delle anomalie delle carni e selezione genetica del pollo da carne

Nel corso dell'ultimo secolo, il mercato dei prodotti avicoli ha subito un'importante evoluzione delle principali forme di consumo e commercializzazione dei prodotti, dovute al cambiamento delle preferenze dei consumatori (Tabella 2.1). Infatti, alla vendita del pollame vivo (caratteristico del primo dopoguerra), è seguita la commercializzazione sotto forma di carcassa intera (1960), sezionati (1980) e prodotti trasformati (1995). Le principali motivazioni alla base dell'incremento della domanda di prodotti avicoli sono riconducibili a: 1) il profilo nutrizionale caratterizzato da un elevato contenuto di proteine, ridotto contenuto di grassi associato ad un rapporto bilanciato fra PUFA n-6/n-3; 2) l'attitudine alla trasformazione e 3) i costi ridotti se paragonati alle carni rosse (Petracci *et al.*, 2013a).

Tabella 2.1. Relazioni tra la evoluzione delle forme di vendita, il criterio di selezione dei broilers e la comparsa delle anomalie nella carne di petto

	ANNO				
	1940	1960	1980	1995	2010
Forma di vendita principale	Animale vivo	Carcassa intera	Porzioni tagliate	Porzioni tagliate, Prodotti trasformati	Porzioni tagliate, Prodotti trasformati
Criterio di selezione principale	Performance <i>in vivo</i>	Performance in vivo; Resa in carcassa	Performance <i>in vivo</i> ; Resa in carcassa e sezionati	Performance <i>in vivo</i> ; Resa in carcassa, sezionati e carne	Performance in vivo; Resa in carcassa, sezionati e carne
Anomalie di qualità della carne			Miopatia dell'Oregon	Miopatia dell'Oregon, tipo-PSE	Miopatia dell'Oregon, tipo-PSE, White-stripping, Wooden-breast

Questa evoluzione dei consumi ha comportato un miglioramento genetico indirizzato alla selezione di specie a rapido accrescimento ed elevata resa nei singoli tagli anatomici, principalmente petto e cosce (Fletcher, 2004; Brewer *et al.*, 2012). Come riportato nella tabella 2.2, negli ultimi 50 anni il tasso di accrescimento degli animali è aumentato portando a circa 35 giorni il tempo necessario ad ottenere un peso alla macellazione di circa 2,5 kg ed una resa del petto superiore al 20% (Tabella 2.2) (Havenstein *et al.*, 2003a; Aviagen, 2007; 2012; 2014).

Tabella 2.2. Progresso del peso e resa di petto da 1957 a 2012 in ibridi di broilers commerciali

Anno	Ibrido	Peso corporeo (g)	Età (gg)	Peso del petto ³ (g)	Resa del petto (%)
1957 ¹	Razza random Atene-Canadese	2078	57	280	13,5
2001 ¹	Ross 308	2207	43	349	15,8
2007 ²	Ross 308	2200	36	410	18,6
2012 ²	Ross 308	2200	35	464	21,1
2014 ²	Ross 308	2,200	34	473	21,5

¹Havenstein *et al.* (2003b); ²Aviagen (2007; 2012; 2014); ³muscoli del petto senza ossa e pelle

La selezione genetica degli animali ha comportato, oltre che l'ipertrofia delle fibre muscolari, anche una modifica della loro composizione. Infatti, il tessuto muscolare degli ibridi commerciali presenta una maggiore densità di fibre a rapida contrazione (caratterizzate da diametro maggiore e minore velocità di degradazione proteica) rispetto agli avicoli non selezionati (Mahon, 1999; Schreurs, 2000; Picard *et al.*, 2002; Scheuermann *et al.*, 2004; Branciarri *et al.*, 2009). Inoltre, il minor livello di capillarizzazione delle fibre può determinare sia una carenza di ossigeno e nutrienti che un'inadeguata eliminazione dei prodotti metabolici di scarto che possono comprometterne la funzionalità. In particolare, il conseguente aumento della concentrazione di calcio può determinare l'attivazione di enzimi proteolitici e lipolitici responsabili di disfunzioni di membrana e dell'incremento della concentrazione di enzimi quali creatina chinasi e lattato deidrogenasi nel plasma (Mitchell, 1999; Sandercock e Mitchell, 2003;

MacRae *et al.*, 2006). Di conseguenza, il miglioramento genetico del pollo da carne ha determinato da un lato l'aumento delle rese di produzione, dall'altro la comparsa di diverse anomalie ad elevata incidenza (Barbut *et al.*, 2008; Lorenzi *et al.*, 2014). Fra queste la miopatia del muscolo pettorale profondo (DPM) (generalmente scartata da parte dell'industria), le carni tipo-PSE (caratterizzata da un aspetto pallido, texture soffice e ridotta attitudine alla trasformazione in ragione della scarsa WHC) e, più recentemente, le anomalie white-stripping e wooden breast (Petracci *et al.*, 2015a).

2.1.1 Anomalia white-stripping

L'anomalia white-stripping è caratterizzata dalla comparsa di striature bianche di spessore variabile parallele alla direzione delle fibre muscolari sulla superficie dei petti (Kuttappan *et al.*, 2012a). Come si evince dalla tabella 2.3, essa presenta una incidenza maggiore in avicoli maschi, pesanti, selezionati per una elevata resa in petto ed un tasso di crescita elevato (Kuttappan *et al.*, 2009; 2012a; 2013b; Petracci *et al.*, 2013b; Lorenzi *et al.*, 2014). In funzione della gravità della condizione, i campioni affetti da anomalie white-stripping possono essere classificati come “moderati” e “severi” (Kuttappan *et al.*, 2012a).

Tabella 2.3. Influenza dei fattori di produzione di polli da carne (in vivo) sull'incidenza di striature bianche nella carne di petto (Petracci *et al.*, 2015a)

Fattori di produzione in vivo	Incidenza di striature bianche	Fonti
Genotipo	Resa di petto alta > standard	Petracci <i>et al.</i> (2013b); Lorenzi <i>et al.</i> (2014)
Sesso	Maschi > Femmine	Kuttappan <i>et al.</i> (2013a); Lorenzi <i>et al.</i> (2014)
Tasso di crescita	Maggiore > minore	Kuttappan <i>et al.</i> (2012a; 2013b); Lorenzi <i>et al.</i> (2014)
Dieta	Contenuto energetico alto > basso	Kuttappan <i>et al.</i> (2012a)
Peso al macello	Più pesante > più leggero	Kuttappan <i>et al.</i> (2013a); Lorenzi <i>et al.</i> (2014)

Dal punto di vista istologico, i campioni affetti da anomalie white-striping presentano fibre atrofiche interessate da processi degenerativi e rigenerativi occasionali (a cui è associata una perdita dell'integrità strutturale del muscolo), una variazione nelle dimensioni della fibra, degenerazione flocculare/vacuolare e lisi delle fibre, moderata mineralizzazione, lipidosi e fibrosi (Kuttappan *et al.*, 2013b). Inoltre, i profili ematologici e sierologici hanno evidenziato come, nonostante l'assenza di un'infezione o infiammazione sistemica, sia riscontrabile un aumento dei livelli dell'enzima creatina chinasi, indice di danneggiamento del tessuto muscolare (Kuttappan *et al.*, 2013c). Pertanto, si può ipotizzare che una crescita rapida del muscolo pettorale generi uno stress metabolico che promuove la comparsa delle caratteristiche degenerative (simili alle distrofie muscolari). Di conseguenza, la produzione di radicali liberi e l'accumulo di calcio a livello intracellulare danneggia l'integrità della membrana determinando l'attivazione degli enzimi proteolitici e lipolitici e la necrosi delle fibre (che supera la capacità rigenerativa del muscolo) (Figura 2.1) (Petracci *et al.*, 2015a).

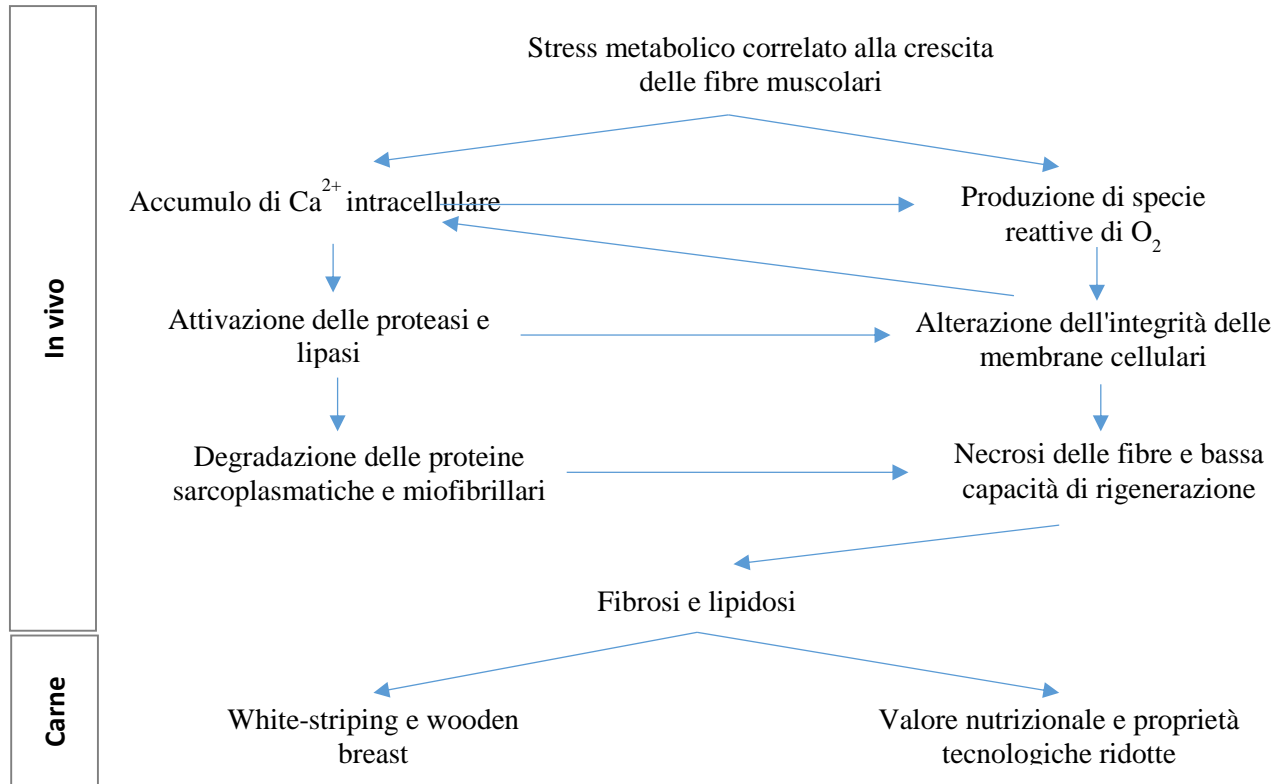


Figura 2.1. Possibili origini delle anomalie emergenti della carne di petto di broilers (Petracci *et al.*, 2015a)

Nonostante la somiglianza esistente con la distrofia muscolare nutrizionale legata ad una carenza di vitamina E, Kuttappan *et al.* (2012b) e Guetchom *et al.* (2012) hanno riscontrato come l'integrazione dietetica di vitamina E non espliciti alcun effetto significativo sull'incidenza dell'anomalia.

2.1.2 Anomalia Wooden-breast

Con il termine “wooden-breast” si intende un'anomalia osservata di recente sul muscolo pettorale degli ibridi commerciali selezionati per una rapida velocità di accrescimento. Essa interessa le zone del tessuto muscolare che hanno subito danneggiamenti dal punto di vista istologico e, in molti casi, l'anomalia è accompagnata dalla presenza di white-stripping (Sihvo *et al.*, 2014). Esso si manifesta come la comparsa di aree pallide, indurite e rigonfie nella zona craniale e caudale dei filetti.

Sihvo *et al.* (2014) e Ferreira *et al.* (2014) hanno determinato che le modifiche istopatologiche nei muscoli affetti da anomalia white-stripping e wooden breast presentano caratteristiche simili e, pertanto, è possibile ipotizzarne un'eziologia comune (Petracci *et al.*, 2015a). Le principali alterazioni istologiche osservate comprendono la degenerazione e successiva rigenerazione delle fibre muscolari a cui consegue un progressivo accumulo di tessuto connettivo nello spazio interstiziale. Essa a sua volta determina la comparsa di una fibrosi analoga a quella riscontrata nei campioni affetti da anomalia white-stripping (Sihvo *et al.*, 2014). Zimmermann *et al.* (2012) e Kuttappan *et al.* (2013b) hanno inoltre identificato lesioni simili a livello della coscia e nel dorso della carcassa.

2.2 Conseguenze delle anomalie emergenti sulla qualità della carne

In generale, le carni affette da anomalia white-stripping e wooden breast possono essere destinate al consumo umano in quanto non considerate pericolose per la salute dei consumatori. Tuttavia, a causa della compromissione della qualità visiva fondamentale nella fase di commercializzazione dei prodotti

sezionati, a livello industriale vengono prevalentemente destinate alla trasformazione (Petracci *et al.*, 2014). Nonostante questo, in ragione delle loro minori qualità nutrizionali, tecnologiche e microbiologiche, necessitano di una adeguata gestione e lavorazione da parte dell'industria di trasformazione.

La riduzione della qualità nutrizionale, tecnologica e microbiologica è particolarmente pronunciata quando le anomalie white-stripping e wooden breast si manifestano al livello moderato o grave. In particolare, nei casi gravi, le carni vengono declassate e destinate alla formulazione di prodotti trasformati (es. macinati ed emulsionati) (Petracci *et al.*, 2015a).

2.2.1 Valore nutrizionale

La maggiore richiesta dei consumatori di prodotti carnei a basso contenuto di grassi, sodio e colesterolo (Cavani *et al.*, 2009) ha determinato l'aumento della domanda di carni avicole (con particolare riferimento alla carne di petto) a discapito delle carni rosse.

La comparsa dell'anomalia di striature bianche è in grado di modificare la composizione della carne di petto, aumentando la percentuale di umidità, grasso intramuscolare e collagene e diminuendo il contenuto di proteine e ceneri (Petracci *et al.*, 2014).

L'analisi della composizione chimica della carne condotta in studi precedenti (Kuttappan *et al.*, 2012a; Soglia *et al.*, 2015) ha confermato che la manifestazione delle anomalie "white striping" e "wooden breast" determina un consistente aumento del tenore di lipidi e di umidità a discapito del contenuto di proteine che è risultato significativamente ridotto. A fronte di questa diminuzione del contenuto totale di proteine, è stato osservato un consistente aumento del livello di collagene. Tali modificazione nella composizione della carne sono associate ad una drastica riduzione della capacità di trattenere i liquidi durante la cottura e di assorbire le soluzioni di marinatura. Questo effetto è ascrivibile soprattutto alla riduzione del tenore in proteine ed in particolare di quelle miofibrillari che sono le principali responsabili della capacità della carne di

legare l'acqua aggiunta mediante marinatura e di gelificare durante la cottura. Inoltre, l'incremento del rapporto collagene/proteina totale, determina in una riduzione del valore nutrizionale a causa della bassa digeribilità del collagene e della mancanza di alcuni amminoacidi essenziali (Petracci *et al.*, 2014; Mudalal *et al.*, 2014).

2.2.2 Proprietà tecnologiche e sensoriali

Queste anomalie emergenti sono associate a una forte riduzione delle proprietà tecnologiche della carne di petto. In questo senso, sia i filetti affetti da anomalia white-stripping che wooden breast presentano una ridotta WHC, (parametro fondamentale per la definizione delle rese di processo e di trasformazione), nonché un'alterazione delle principali caratteristiche strutturali e della texture (Petracci *et al.*, 2013b; Mudalal *et al.*, 2015). I fenomeni alla base della riduzione della WHC, che si registra nel caso di entrambe le anomalie, non sono ancora stati completamente identificati. Tuttavia, la comparsa della degenerazione muscolare (in entrambi i casi) determina una riduzione significativa della funzionalità sia delle proteine contrattili che sarcoplasmatiche (Mudalal *et al.*, 2014).

Di conseguenza, le anomalie emergenti influenzano non solo l'aspetto del prodotto fresco, ma anche le proprietà tecnologiche. Questi problemi, considerando l'informazione disponibile finora, non possono essere mitigati attraverso l'adozione di strategie di lavorazione (come invece accade nel caso delle carni PSE, aumentando il pH). Tuttavia sarebbe auspicabile l'adozione di strategie di allevamento volte a regolare il tasso di crescita degli avicoli (Petracci *et al.*, 2015a).

2.2.3 Shelf-life microbiologica

Il pH è il principale parametro chimico-fisico in grado di influire sulla stabilità microbiologica de prodotti carnei. Nonostante un pH ultimo elevato abbia un effetto positivo sulla WHC e pertanto sulle proprietà tecnologiche della

carne, dal punto di vista microbiologico non è consigliato un valore maggiore di 6 (Barbut *et al.*, 2008). Questo, in ragione del fatto che valori di pH elevato determinano una maggiore predisposizione alla contaminazione microbica e alla proliferazione di diversi tipi di microrganismi che influenzano negativamente il sapore, il *flavour* e l'aspetto della carne (Mallia *et al.*, 2000a; 2000b).

Nessuno studio ha finora valutato l'effetto esplicato dalla comparsa delle anomalie white-stripping e wooden breast sulla shelf-life microbiologica dei prodotti. Nonostante ciò, dal momento i campioni affetti da entrambe le anomalie sono caratterizzati da valori di pH superiori a 6, sono particolarmente suscettibili alla contaminazione e allo sviluppo microbico (Petracci *et al.*, 2013b; Mudalal *et al.*, 2015).

CAPITOLO 3

SPERIMENTAZIONE

3.1 Argomento di studio e scopo della ricerca

Negli ultimi anni, a livello mondiale, è stato registrato un forte aumento nel consumo delle carni avicole sia in ragione delle caratteristiche nutrizionali che le contraddistinguono sia della loro attitudine ad essere impiegate nella lavorazione e produzione di prodotti trasformati. Tuttavia, si è registrata una maggiore incidenza di anomalie a carico del muscolo pettorale, fra le quali le anomalie “white-stripping” e “wooden breast” che, determinando una riduzione nella qualità e nelle proprietà tecnologiche delle carni comportano perdite economiche rilevanti per l’industria di trasformazione (Petracci *et al.*, 2015a). Inoltre, secondo quanto emerso nel corso di studi precedenti, la comparsa delle anomalie “white-stripping” e “wooden-breast” comporta un’alterazione nella composizione chimica della carne (Kuttappan *et al.*, 2012a; Soglia *et al.*, 2015). Essa risulta infatti caratterizzata da un consistente aumento nel tenore di umidità, lipidi e collagene a discapito del contenuto in proteine che risulta ridotto in maniera significativa. Tali alterazioni nella composizione del muscolo *Pectoralis major* sono associate ad una drastica riduzione delle proprietà tecnologiche della carne. Infatti, come dimostrato nel corso di ricerche precedenti, i petti nei quali l’anomalia “white-stripping” e “wooden breast” si presentano contestualmente sono caratterizzati da una ridotta capacità di ritenzione idrica nonché da un’alterazione delle principali caratteristiche strutturali e della texture (Petracci *et al.*, 2013b; Mudalal *et al.*, 2015). Tuttavia, nonostante sia noto l’effetto esplicato dall’insorgenza delle anomalie “white-stripping” e “wooden breast” sulle proprietà tecnologiche e la composizione della carne, nessuno studio condotto finora ha avuto come obiettivo la caratterizzazione del profilo in acidi grassi delle carni “white-stripping” e “wooden breast”.

Pertanto, tenendo conto di questi aspetti, il presente lavoro di tesi ha avuto lo scopo di valutare l'effetto dell'insorgenza delle anomalie “white-stripping” e “wooden breast” (sia separatamente che contestualmente nell'ambito dello stesso filetto) su composizione chimica, profilo in acidi grassi e suscettibilità all'ossidazione lipidica e proteica.

3.2 Materiali e metodi

L'analisi è stata condotta su un totale di 20 campioni di petto di pollo (muscolo *Pectoralis major*), campionati presso uno stabilimento di macellazione e lavorazione industriale di carni avicole.

Gli animali di sesso femminile, appartenenti al medesimo ibrido commerciale (Ross 708), sono stati allevati secondo il sistema intensivo convenzionale e macellati in condizioni industriali. I petti sono stati selezionati in funzione dei criteri proposti da Kuttappan *et al.* (2012a) e Sihvo *et al.* (2014) e classificati in 4 gruppi come segue:

1. “Normale” (NORM): filetti che non presentano nessuna alterazione superficiale (n = 5) (Figura 3.1)



Figura 3.1. Filetti normali

2. “White striping” (WS): filetti che presentano striature superficiali diffuse di spessore superiore a 1 mm (n = 5) (Figura 3.2)



Figura 3.2. Filetti affetti da anomalia white-striping (WS)

3. “Wooden breast” (WB): filetti caratterizzati da aree indurite diffuse e rigonfiate (a cresta), nella parte craniale e caudale (n = 5) (Figura 3.3)



Figura 3.3. Filetti affetti da anomalia wooden-breast (WB)

4. “White striping/Wooden breast” (WS/WB): filetti che presentano aree indurite nella zona caudale e craniale, e striature superficiali diffuse di spessore superiore a 1 mm (n = 5) (Figura 3.4)



Figura 3.4. Filetti affetti da anomali white-striping (WS) e wooden breast (WB)

Dopo la selezione all'interno dello stabilimento, ciascun gruppo di campioni è stato confezionato in atmosfera ordinaria all'interno di sacchetti di materiale plastico e trasportato presso i laboratori del Campus di Scienze degli Alimenti dell'Università di Bologna (Cesena). Dopo l'arrivo dei campioni, ciascun petto è stato sezionato, è stato separato il muscolo *Pectoralis major* dal quale sono stati rimossi gli eventuali depositi di grasso e di tessuto connettivo superficiali. In seguito i campioni sono stati macinati e conservati alla temperatura di -20°C fino al momento dell'analisi.

3.2.1 Umidità

Il tenore in umidità dei campioni è stato determinato ponendo 5 g di carne in stufa per 16 ore, alla temperatura di 105°C . Il contenuto di umidità è stato calcolato come differenza di peso tra il campione fresco e dopo essiccamento, ed espresso in percentuale (AOAC, 1990).

3.2.2 Collagene

La determinazione del contenuto di collagene è stata eseguita impiegando il metodo colorimetrico proposto da Kolar (1990). La metodica prevede un'idrolisi acida del campione (in acido solforico), un'ossidazione con clorammina-T e la formazione di un complesso rosso-porpora a seguito della reazione con 4-dimetilammino-benzaldeide la cui intensità viene misurata mediante lettura spettrofotometrica ad una lunghezza d'onda di 558 nm.

3.2.3 Proteine

La valutazione del contenuto proteico è stata eseguita secondo le indicazioni descritte nel metodo Kjeldhal (AOAC, 1990). Tale metodo è il principale per determinare il contenuto di azoto negli alimenti e quindi anche l'azoto proteico della carne. La materia organica è stata completamente mineralizzata in presenza di un catalizzatore e convertita in ammonio solfato. In seguito a processo di distillazione, l'azoto presente nel campione viene quantificata mediante titolazione acido-base con idrossido di sodio e la quantità di azoto calcolata a partire dalla quantità di ammoniaca liberata. Per convertire infine questo valore in una percentuale di proteine, il contenuto di azoto è stato moltiplicato per un coefficiente che tiene conto della composizione amminoacidica del campione secondo la formula:

$$G = V \times N \times pe/1000$$

V: ml di NaOH utilizzati nella titolazione

N: normalità dell'NaOH

pe: N contenuto in NH₃ = 14

3.2.4 Lipidi

3.2.4.1 Estrazione dei lipidi mediante metodo Folch

La determinazione del contenuto in lipidi è stata effettuata mediante il metodo proposto Folch (Folch *et al.*, 1957) a cui è stata apportata qualche modifica.

È stato sottoposto ad analisi un totale di 10 g di carne che sono stati inseriti all'interno di bottiglie di tipo Sovirel da 500 ml, con tappo a vite a cui sono stati aggiunti 50 μ l di metanolo anidro contenente circa 1,2 mg di BHT (terbutil-idrossitoluene). Dopo l'aggiunta di 100 ml di soluzione cloroformio:metanolo 1:1 (v/v) si è proceduto ad omogenizzare i campioni per 2 minuti mediante Ultraturrax (Figura 3.5). Ciascuna bottiglia è stata posta in stufa a 60°C per 20 minuti, facendo sfiatare dopo i primi 10 minuti il solvente evaporato.



Figura 3.5. Ultraturrax

Dopo il raffreddamento dei campioni sono stati aggiunti 50 ml di cloroformio, quindi è stata ripetuta la fase di omogeneizzazione per altri 2 minuti. In seguito i campioni sono stati filtrati mediante imbuto di Buchner (provvisto di carta da filtro), sfruttando il vuoto di una pompa idraulica. I

campioni sono stati poi trasferiti in imbuti separatori, nei quali erano già stati aggiunti 50 ml di soluzione una soluzione di cloruro di potassio (0,88% w/v) e si è attesa la separazione delle due fasi (16 ore) (Figura 3.6).



Figura 3.6. Separazione delle fasi

La fase organica sottostante è stata raccolta in una bottiglia Sovirel da 500 ml. Dopo aver aggiunto alcuni cucchiaini di sodio solfato anidro, si è lasciata la soluzione a riposo a 4°C per 4 h agitando la bottiglia di tanto in tanto. In seguito, il campione è stato filtrato mediante filtro a pieghe (al fine di eliminare eventuali residui di sodio solfato anidro) e raccolto in un pallone da 250 ml precedentemente pesato. Il campione è stato quindi portato a secco sotto vuoto alla temperatura di 40°C mediante Rotavapor (Figura 3.7) e al fine di assorbire eventuali tracce d'acqua, si è poi aggiunto nel pallone l'equivalente di una pipetta Pasteur di etanolo anidro (portato nuovamente a secco).



Figura 3.7. Rotavapor

A questo punto è stato effettuato il calcolo delle % di lipidi mediante determinazione del quantitativo di grasso contenuto nel pallone (Figura 3.8) dopo evaporazione (ricavato facendo la differenza tra peso del pallone pulito e peso del pallone più grasso) e suo rapporto con il peso della carne utilizzata per l'estrazione:

$$\% \text{ lipidi totali} = \frac{P_f - P_i}{P_c} \times 100$$

Pf: peso finale del pallone + grasso

Pi: peso iniziale del pallone vuoto

Pc: peso del campione di carne sottoposto a estrazione



Figura 3.8. Grasso portato a secco

Il grasso è stato ripreso lavando il pallone, per 3 volte consecutive, con una miscela esano:isopropanolo 2:1 (v/v) prelevata con una pipetta Pasteur e utilizzandone ogni volta la minima quantità. Il campione è stato trasferito in una provetta di tipo Sovirel con tappo a vite conservata in freezer a -18°C , fino al momento della transmetilazione.

3.2.4.2 Preparazione degli esteri metilici degli acidi grassi (FAME)

Dopo aver portato a secco sotto flusso di azoto 500 μl di estratto e pesato il quantitativo di grasso risultante, la conversione degli acidi grassi nei

corrispondenti esteri metilici è stata condotta aggiungendo esano e KOH metanolica nei seguenti rapporti:

1 mg grasso: 25 µl esano: 2.5µl KOH metanolica (2N)

Trascorsi 10 minuti dall'inizio della reazione il surnatante è stato prelevato e conservato fino al momento dell'analisi.

3.2.4.3 Analisi gascromatografica

I FAME sono stati separati utilizzando un Gascromatografo PerkinElmer Clarus 500 con rivelatore a ionizzazione di fiamma (FID) (PerkinElmer Instruments, LLC, Shelton, USA) dotato di una colonna capillare Varian CP-SIL88 dalla lunghezza di 50m, diametro interno pari a 0,25 mm e spessore di 0,20 mm (Varian Inc., Walnut Creek, CA, USA). Le condizioni operative sono state settate come segue: la temperatura del forno è stata mantenuta a 140°C per 1 minuto, dopodiché è stata aumentata fino a 150°C a una velocità di 5°C/min e mantenuta costante per 10 minuti, per poi essere incrementata fino a 180 °C a una velocità di 2°C/min e mantenuta costante per 20 minuti. La temperatura dell'iniettore e del rivelatore è stata impostata a 200 °C ed il flusso del gas carrier (idrogeno) a 1,7 ml/min.

È stato iniettato un volume pari a 2 µl di campione con un rapporto di splittaggio pari a 10.

L'identificazione degli esteri metilici è stata condotta confrontandone i tempi di ritenzione con quelli di una miscela di acidi grassi standard (PUFA-2 FAME standard di origine animale) (Supelco, Bellefonte, PA, USA).

3.2.5 Suscettibilità all'ossidazione lipidica (TBARS)

La misura delle sostanze reattive all'acido tiobarbiturico (TBARS), utilizzate come indice dell'ossidazione lipidica, è stata condotta secondo il metodo descritto da Bao e Ertbjerg (2015).

Cinque grammi di campione sono stati omogeneizzati in ghiaccio mediante Ultraturrax (30 secondi a 13.000 rpm) in 15 ml di acido tricloroacetico (TCA) al 5% (w/v) e 0,5 ml di butil idrossitoluene (BHT) (4,2% w/v in etanolo). Dopo aver filtrato l'omogenato mediante carta da filtro (Whatman 42), è stata prelevata un'aliquota di 2 ml a cui sono stati aggiunti 2 ml di acido tiobarbiturico (0,02 M). In seguito, dopo aver lasciato in incubazione la soluzione a 100°C per 40 minuti e aver raffreddato i campioni in ghiaccio, è stata misurata l'assorbanza a 532 nm.

Per calcolare la quantità di malondialdeide (MDA) prodotto è stata utilizzata una curva standard di 1,1,3,3-tetraetossipropano. Infine, il contenuto di TBARS è stato espresso in mg malondialdeide/kg carne.

3.2.6 Ossidazione delle proteine

La formazione di gruppi carbonilici nelle catene proteiche è stata determinata seguendo il metodo proposto da Soglia *et al.* (2016), basato sulla reazione dei gruppi carbonilici con 2,4-dinitrofenilidrazina (DNPH) e successiva lettura spettrofotometrica (Levine *et al.*, 1990).

Un grammo di carne è stato omogeneizzato in ghiaccio mediante Ultraturrax per 30 secondi a 13.000 rpm in 10 ml di soluzione di KCl 0,15 M. In seguito, sono state prelevate 5 aliquote da 100 µl ciascuna a cui è stato aggiunto 1 ml di TCA al 10%. Dopodiché la soluzione è stata centrifugata a 5.000 x g per 5 min, il surnatante rimosso e al *pellet* sono stati aggiunti 400 µl di sodio dodecil-solfato (SDS) al 5%. I campioni sono poi stati sottoposti a riscaldamento (100°C per 10 min) e posizionati in un bagno ad ultrasuoni a 40°C per 30 min. Successivamente, ai campioni (3) sono stati aggiunti 0,8 ml di DNPH allo 0,3% (w/v) in HCl 3M mentre i bianchi (2) sono stati addizionati con 0,8 ml di HCl 3M. Dopo 30 min di incubazione, sono stati aggiunti 400 µl di TCA al 40% per fare precipitare le proteine e il surnatante è stato separato mediante centrifugazione a 5.000 x g per 5 min. Il *pellet* risultante è stato lavato 3 volte con 1 ml di una soluzione etanolo : acetato di etile (1:1, v:v) mediante centrifugazione

a 10.000 x g per 5 min. Dopo l'ultimo lavaggio, il *pellet* è stato portato a secco con azoto e in seguito risospeso in 1,5 ml di una soluzione 6M di idrocloruro di guanidinio in NaH₂PO₄ 20 mM (pH 6,5). Dopo aver conservato i campioni a 4°C per una notte, si è misurata l'assorbanza a 280 e 370 nm. Il contenuto in carbonili, espresso in nmol/mg di proteine, è stato calcolato secondo l'equazione descritta da Levine et al. (1994) con piccole modifiche volte a considerare l'eventuale interferenza causata dagli idrazoni a 280 nm:

$$\text{Contenuto carbonilico} = \frac{A_{370} - A_{370}(\text{bianco})}{22000 \times [A_{280} - (A_{370} - A_{370}(\text{bianco})) \times 0,43]} \times 10^6$$

3.2.7 Contenuto in emepigmenti totali

La concentrazione di emepigmenti totali è stata determinata secondo la metodica descritta da Hornsey (1956).

Cinque grammi di campione sono stati aggiunti omogeneizzati mediante Ultraturrax (13000 rpm per 30 secondi) in 20 ml di una soluzione acetone:acqua (20:1). In seguito, dopo aver aggiunto 500 µl di HCl (37% v/v) ed aver incubato i campioni al buio per 1 ora, è stata misurata l'assorbanza a 640 nm. I risultati sono stati espressi in mg di ematina/ kg di carne.

3.2.8 Analisi statistica

L'effetto della presenza delle anomalie white-stripping e wooden breast su tutti i parametri testati è stato valutato tramite ANOVA a una via considerando come effetto principale la presenza delle anomalie. È stata utilizzata l'opzione ANOVA della procedura GLM (statistica 6). La differenza fra le medie è stata saggiata mediante il test di confronto multiplo Tukey's HSD. Prima di eseguire l'Analisi della Varianza, i dati caratterizzati da una distribuzione non "normale" e da eteroscedasticità, sono stati opportunamente trasformati.

3.3 Risultati e Discussione

3.3.1 Composizione centesimale

I risultati relativi all'effetto esplicito dall'insorgenza delle anomalie white-stripping (WS) e wooden breast (WB) sulla composizione chimica della carne sono riportati nella tabella 3.1. Confermando quanto riscontrato in studi precedenti (Petracci *et al.*, 2014; Mudalal *et al.*, 2015), la presenza delle anomalie WS e WB (presenti da sole o combinate nello stesso campione) ha esercitato un effetto significativo su tutti i parametri presi in considerazione.

Tabella 3.1. Effetto delle anomalie white-stripping (WS) e wooden breast (WB) sulla composizione chimica

Parametro	Gruppo				e.s.m.	Prob.
	Normale	WS	WB	WS/WB		
<i>Composizione centesimale</i>						
Umidità (%)	73,78 ^c	74,78 ^{bc}	77,26 ^a	74,99 ^b	0,34	***
Proteine (%)	24,65 ^a	22,98 ^b	21,60 ^b	22,06 ^b	0,36	**
Lipidi (%)	0,85 ^c	1,27 ^b	1,07 ^b	1,66 ^a	0,08	***
Collagene (%)	1,15 ^b	1,20 ^b	1,42 ^a	1,34 ^{ab}	0,04	*

Valori medi contrassegnati da lettere diverse differiscono significativamente tra i gruppi ($P < 0,05$)

e.s.m. = errore standard della media

* = $P < 0,05$; ** = $P < 0,01$; *** = $P < 0,001$

Nel complesso, i petti anomali hanno presentato un maggiore contenuto di umidità, lipidi e collagene e un minore livello di proteine. In particolare, nei campioni affetti unicamente da WB sono stati osservati i livelli maggiori di umidità e collagene, mentre i petti con entrambe le anomalie hanno mostrato la quantità più elevata di lipidi. Inoltre, nonostante non sia stata evidenziata una differenza significativa tra i campioni affetti da WS e WB, è stato osservato un notevole incremento nel contenuto lipidico andando dai filetti normali a quelli appartenenti al gruppo WS/WB (0,85 vs. 1,66%; $P < 0,001$). Inoltre, i campioni

anomali hanno presentato un contenuto proteico significativamente inferiore ($P < 0,01$), nonostante non abbiano presentato differenze tra di loro.

È verosimile che queste differenze siano correlate all'alterazione del tessuto muscolare osservato mediante tecniche istologiche in precedenti studi su muscoli pettorali affetti da WS e/o WB (Kuttappan *et al.*, 2013c; Sihvo *et al.*, 2014; Velleman e Clark, 2015; Soglia *et al.*, 2015). In particolare, l'aumentata deposizione di tessuto connettivo interstiziale (fibrosi) (Sihvo *et al.*, 2014; Velleman e Clark, 2015; Soglia *et al.*, 2015) e l'accumulo di grasso intramuscolare (lipidosi) (Kuttapan *et al.*, 2013c; Sihvo *et al.*, 2014; Soglia *et al.*, 2015) rendono conto delle maggiori quantità di collagene e lipidi riscontrate nei campioni anomali. Inoltre, l'elevata percentuale di umidità osservata nei petti affetti da WB può essere associata sia alla presenza di zone edematose (moderata o grave) formatesi come conseguenza del processo infiammatorio (Sihvo *et al.*, 2014), sia al maggiore accumulo di glicosamminoglicani nella matrice extracellulare riscontrato in un precedente studio da Velleman e Clark (2015) su campioni WB. I glicosamminoglicani, essendo dotati di numerose cariche di tipo negativo, sono in grado di idratarsi fortemente e quindi di aumentare la capacità di ritenzione idrica della carne (Velleman e Clark, 2015).

Nello studio condotto da Mudalal *et al.* (2015), sono state riscontrate perdite di liquido per cottura superiori nei campioni WB e WS/WB rispetto al gruppo di controllo, mentre le perdite per sgocciolamento non hanno fatto registrare differenze significative. Nella carne fresca, pertanto l'accumulo di glicosamminoglicani sembra essere in grado di limitare la maggiore propensione dei petti WB a perdere liquidi. Si può ipotizzare che la fuoruscita dovuta alla degenerazione delle fibre muscolari osservata nei muscoli WB provochi un abbondante rilascio di acqua negli spazi extracellulari nei quali tuttavia viene trattenuta, oltre che tramite forze capillari (Huff-Lonergan e Lonergan, 2005), dal legame con i glicosamminoglicani (Velleman e Clark, 2015). Ciò può essere anche la causa della presenza di fluido viscoso sulla superficie dei petti affetti da anomalia WB (Sihvo *et al.*, 2014).

Infine, il ridotto contenuto proteico evidenziato nei campioni anomali può essere attribuibile all'intensa degenerazione e riorganizzazione muscolare che comporta la sostituzione delle fibre muscolari con tessuto adiposo e connettivo (Soglia *et al.*, 2015).

Gli elevati livelli di lipidi e collagene e la ridotta percentuale di proteine determinano una notevole diminuzione del valore nutrizionale delle carni dei petti anomali, come riportato in precedenti studi da Kuttappan *et al.* (2012a) e Petracci *et al.* (2014). Questo aspetto può influenzare negativamente la percezione del consumatore nei confronti della carne di pollo, in quanto una delle motivazioni principali alla base dell'aumento vertiginoso della domanda di prodotti avicoli è proprio il profilo nutrizionale favorevole rispetto alle carni rosse (Petracci *et al.*, 2013a). Questo problema riguarda soprattutto le carni commercializzate fresche in quanto nei prodotti trasformati (es. macinati ed emulsionati) la composizione chimica può essere modificata in fase di formulazione (Petracci *et al.* 2015a).

Inoltre, queste modificazioni danno origine alla riduzione della capacità di trattenere i liquidi (Soglia *et al.*, 2015) e di assorbire le soluzioni di marinatura (Petracci *et al.*, 2013b) riscontrata in precedenti studi. In particolare, la diminuzione della quantità di proteine, e soprattutto di quelle miofibrillari, determina una minore capacità di ritenzione idrica nelle carni (Soglia *et al.*, 2015).

3.3.2 Acidi grassi

L'insorgenza delle anomalie WS e WB nei muscoli *Pectoralis major* ha esercitato un'influenza significativa anche sul profilo in acidi grassi anche se in maniera più limitata rispetto a quanto ci si poteva attendere in funzione dei risultati relativi alla composizione chimica (Tabella 3.2). Nel complesso, il contenuto in acidi grassi monoinsaturi (MUFA) e polinsaturi (PUFA) non ha presentato infatti differenze tra i quattro gruppi oggetto dello studio.

Tabella 3.2 Effetto delle anomalie white-stripping (WS) e wooden breast (WB) sul profilo in acidi grassi (i valori sono espressi in termini percentuali considerando la somma delle aree totali dei picchi pari al 100%)

Parametro	Gruppo				e.s.m.	Prob.
	NORM	WS	WB	WS/WB		
C14:0	0,47	0,43	0,46	0,49	0,013	ns
C14:1	0,06	0,07	0,07	0,06	0,005	ns
C15:0	0,10	0,09	0,10	0,10	0,004	ns
C16:0	21,91	20,05	20,40	20,07	0,327	ns
C16:1 cis	0,18	0,15	0,18	0,17	0,015	ns
C16:1 trans	1,62	2,08	2,08	1,64	0,145	ns
C17:0	0,38	0,40	0,40	0,48	0,016	ns
C17:1	0,09	0,08	0,08	0,08	0,003	ns
C18:0	8,29	7,02	8,46	7,35	0,283	ns
C18:1 n-9 cis	22,06	24,88	23,11	23,50	0,521	ns
C18:1 n-9 trans	0,64	0,59	0,58	0,45	0,030	ns
C18:2 n-6 cis	31,30 ^b	33,37 ^{ab}	31,41 ^b	35,42 ^a	0,613	*
C18:2 c9 t11	0,02	0,01	0,02	0,02	0,003	ns
C18:3 n-6	0,01	0,01	0,01	0,01	0,001	ns
C20:0	0,20	0,22	0,20	0,21	0,007	ns
C18:3 n-3	2,36 ^b	2,74 ^{ab}	2,61 ^{ab}	3,05 ^a	0,077	*
C20:1 c11	0,20	0,22	0,21	0,18	0,007	ns
C20:2	0,82	0,59	0,74	0,56	0,043	ns
C20:4 n-6	4,25 ^a	3,26 ^{ab}	3,98 ^{ab}	2,73 ^b	0,210	*
EPA	0,17 ^a	0,12 ^{ab}	0,16 ^{ab}	0,11 ^b	0,008	*
C20:3 n-6	0,07 ^a	0,05 ^{ab}	0,06 ^{ab}	0,04 ^b	0,005	*
C24:0	1,07 ^{ab}	0,83 ^b	1,24 ^a	0,79 ^b	0,060	*
C24:1	0,23 ^a	0,14 ^{ab}	0,20 ^{ab}	0,14 ^b	0,013	*
DPA	0,81 ^a	0,65 ^{ab}	0,85 ^a	0,54 ^b	0,045	*
DHA	0,44	0,31	0,37	0,24	0,030	ns
Altri	1,64	1,23	1,52	1,18	0,088	ns
(EPA+DPA+DHA)	1,43 ^a	1,08 ^{ab}	1,37 ^{ab}	0,89 ^b	0,077	*
5 e 6 desaturasi	16,18 ^a	12,01 ^{ab}	15,24 ^a	9,82 ^b	0,816	**
SFA	33,03 ^a	29,45 ^b	31,78 ^{ab}	29,89 ^{ab}	0,524	*
MUFA	25,06	28,21	26,50	26,21	0,617	ns
PUFA	40,26	41,10	40,20	42,72	0,553	ns
PUFA n3	3,78	3,82	3,98	3,94	0,060	ns
PUFA n6	36,46	37,27	36,19	38,76	0,518	ns
n6/n3	9,65	9,78	9,10	9,86	0,136	ns

Valori medi contrassegnati da lettere diverse differiscono significativamente tra i gruppi ($P < 0,05$)

e.s.m. = errore standard della media

* = $P < 0,05$; ** = $P < 0,01$; *** = $P < 0,001$

Alcuni autori hanno suggerito che le principali caratteristiche degenerative riscontrate nei muscoli affetti da WS e WB sono simili a quelle osservate nelle distrofie muscolari (Petracci *et al.*, 2015a; Velleman e Clark, 2015). In questo senso, è interessante notare come in un precedente studio condotto da Jordan *et al.* (1964), la composizione in acidi grassi dei muscoli *Pectoralis major* non differisca fra i campioni di tessuto muscolare di pollo normali e affetti da distrofie muscolari. Inoltre, in accordo con quanto evidenziato nei campioni WS/WB, un più elevato contenuto di acido linoleico è stato riscontrato anche in topi affetti da distrofia muscolare (Tuazon e Henderson, 2012).

A differenza di quanto evidenziato per il contenuto di PUFA e MUFA totali, una differenza significativa è stata riscontrata negli acidi grassi saturi totali (SFA) tra i campioni normali e anomali. Questi ultimi, nonostante l'elevato contenuto lipidico, hanno presentato valori di SFA significativamente inferiori (la quantità più bassa è stata osservata nei petti affetti da WS) rispetto ai filetti normali (29,45 vs 33,03%; $P < 0,05$). Tra i campioni affetti da WB e WS/WB non sono state trovate invece differenze sostanziali. Questi risultati sono in accordo con quanto evidenziato in un precedente studio condotto da Kuttappan *et al.* (2012a), nell'ambito del quale, comparando campioni normali e WS, è stata osservata una riduzione della quantità di SFA.

Per quanto riguarda il contenuto totale di EPA, DPA e DHA, sebbene non siano state osservate differenze importanti tra i petti affetti da WS e WB, è stata evidenziata una riduzione significativa fra i campioni normali e quelli affetti da WS/WB (1,43 vs 0,89%; $P < 0,05$). Inoltre, fra i quattro gruppi oggetto dello studio, sono state riscontrate differenze significative ($P < 0,01$) nell'attività delle 5 e 6 desaturasi. Nel dettaglio, i petti WS/WB hanno presentato un'attività delle 5 e 6 desaturasi più bassa rispetto ai campioni normali e WB. Infatti, a prescindere dalla quantità di precursori ($C_{18:2}$ n-6 e $C_{18:3}$ n-3), le differenze significative evidenziate nel contenuto di EPA, DPA e altri prodotti intermedi dall'elongazione e desaturazione possono essere associate a una complessiva

riduzione dell'attività delle 5 e 6 desaturasi nei campioni affetti da WS/WB. Un'analogia riduzione nell'attività delle 5 e 6 desaturasi è stata recentemente riscontrata confrontando polli appartenenti agli ibridi a rapido e lento accrescimento e attribuita ad una espressione differenziale dei geni codificanti tali enzimi (Sirri *et al.*, 2011; Boschetti *et al.*, 2015). Pertanto, siccome nei campioni affetti da WS/WB è stata individuata un'espressione differenziale di numerosi geni coinvolti nelle principali vie metaboliche e nell'omeostasi del calcio (Petracci *et al.*, 2015b), allo stesso modo si può ipotizzare una complessiva riduzione nell'espressione dei geni che codificano gli enzimi 5 e 6 desaturasi.

3.3.3 Emepigmenti e ossidazione lipidica e proteica

I risultati relativi al contenuto in emepigmenti totali, ossidazione lipidica e proteica sono mostrati in Tabella 3.3.

Tabella 3.3 Effetto delle anomalie white-stripping (WS) e wooden breast (WB) sulla stabilità ossidativa (ossidazione lipidica e proteica) e sul contenuto di emepigmenti totali

	Gruppo				e.s.m.	Prob.
	NORM	WS	WB	WS/WB		
<i>Parametro</i>						
Ematina (mg/kg di carne)	41,51 ^a	25,71 ^c	31,52 ^b	26,42 ^c	1,554	***
TBARS (mg MDA/kg di carne)	0,22 ^b	0,35 ^{ab}	0,41 ^a	0,29 ^{ab}	0,027	*
Carbonili (nmol/mg di proteine)	1,11 ^b	1,12 ^b	1,35 ^a	1,28 ^a	0,012	***
Concentrazione proteica (mg/ml)	0,85 ^a	0,81 ^{ab}	0,76 ^b	0,67 ^c	0,019	***

Valori medi contrassegnati da lettere diverse differiscono significativamente tra i gruppi ($P < 0,05$).

e.s.m. = errore standard della media

* = $P < 0,05$; ** = $P < 0,01$; *** = $P < 0,001$

Per quanto riguarda la quantità di emepigmenti totali, i campioni anomali hanno mostrato valori significativamente inferiori ($P < 0,001$) rispetto ai normali. Inoltre, sebbene non siano state identificate differenze significative tra i petti affetti da WS e WS/WB, il gruppo WB ha presentato un valore di TBARS

superiore ($P < 0,05$) rispetto ai campioni normali (0,41 vs 0,22 mg MDA/kg di carne). Infine, sono state riscontrate maggiori quantità di carbonili nei petti affetti da anomalia WS e WS/WB rispetto ai campioni normali e WS (1,35 e 1,28 vs. 1,11 e 1,12 nmol/mg di proteine; $P < 0,001$).

Le differenze osservate nella quantità di emepigmenti totali (associata all'attività della catalasi) possono contribuire a spiegare le variazioni nella stabilità ossidativa (Rhee *et al.*, 1996). Infatti, è stata dimostrata un'attività pro-ossidante degli emepigmenti a valori di pH normalmente riscontrati nella carne e nei prodotti carnei (Kendrick e Watss, 1969; Baron e Andersen, 2002). Pertanto, nel caso oggetto di studio, la stabilità ossidativa dei campioni sembra essere più influenzata dalla possibilità che il ferro-eme possa agire come pro-ossidante piuttosto che dalla concentrazione della mioglobina stessa nel muscolo *Pectoralis major* del pollo. In particolare, l'alterazione nella struttura del muscolo associata alle lesioni miopatiche degenerative osservate nei campioni anomali (Kuttappan *et al.*, 2013c; Sihvo *et al.*, 2014; Soglia *et al.*, 2015) può determinare un danneggiamento dell'anello porfirinico con il conseguente rilascio del ferro-eme dalla globina (Miller *et al.*, 1994; Min e Ahn, 2005). In aggiunta, le alterazioni evidenziate nella struttura muscolare dei petti anomali possono determinare l'esposizione dei fosfolipidi, accelerando così i processi di ossidazione lipidica (Ladikos e Lougovois, 1990). Infine, l'elevato livello di ossidazione proteica riscontrato nei campioni WB e WS/WB può essere spiegato in ragione dell'interazione tra l'ossidazione lipidica e proteica (Mercier *et al.*, 1998; Estévez *et al.*, 2008). In particolare, dal momento che l'ossidazione lipidica nelle carni e nei prodotti da esse derivati si innesca più precocemente di quella proteica (Lund *et al.*, 2011), è probabile che essa sia la diretta conseguenza dell'ossidazione dei lipidi che funge da innesco.

Inoltre, la ridotta stabilità ossidativa nei campioni con WB e WS/WB può ulteriormente rendere conto della ridotta capacità di ritenzione idrica riscontrata da Mudalal *et al.*, (2015) nei petti con WB e WS/WB.

Questi risultati sono particolarmente allarmanti in considerazione del fatto che l'incidenza dei casi gravi di WS in petti di pollo è aumentata drasticamente da 1,4-8,7% in 2012 (Kuttappan *et al.*, 2012a; Petracci *et al.*, 2013b) a 32,3-68,9% in 2015 (Tijare *et al.*, 2015; Kuttappan *et al.*, 2015). Di conseguenza, anche le perdite economiche generate dal declassamento delle carni che presentano queste anomalie sono aumentate nel corso degli ultimi anni. Al momento, tuttavia non sono state identificate strategie in grado di modulare il problema, in quanto nessuno dei tipi genetici ad elevata crescita attualmente presenti sul mercato ne è esente. Per mitigare i livelli di incidenza, l'unica strategia attualmente possibile sembra quella di ridurre il tasso di crescita durante la fase di allevamento (Petracci *et al.*, 2015a).

3.4 Conclusioni

Il presente lavoro di tesi ha fornito nuove evidenze a supporto del fatto che la comparsa delle anomalie white-stripping e wooden breast nei petti di pollo è associata a una notevole riduzione delle caratteristiche qualitative della carne.

Le modificazioni riscontrate nella composizione chimica (maggiori livelli di collagene e lipidi a discapito del tenore in proteine) determinano una ridotta qualità nutrizionale con possibili effetti negativi sulla percezione del consumatore nei confronti della carne di pollo, oltre che sulla capacità di ritenzione idrica come riscontrato in precedenti studi. Per quanto riguarda il profilo in acidi grassi, l'effetto delle anomalie è stato più limitato rispetto a quanto ipotizzato. Infatti, nonostante l'aumento dei lipidi totali, le carni di petto anomale non presentano modificazioni nel contenuto di acidi grassi monoinsaturi e polinsaturi totali. Le uniche differenze hanno riguardato il totale degli acidi grassi saturi e il contenuto di acidi grassi essenziali (EPA, DPA, DHA) che sono risultati significativamente inferiori. Le ridotte quantità di EPA e DPA nei petti anomali possono essere correlate alla minore attività degli enzimi 5 e 6 desaturasi, probabilmente in ragione della complessiva riduzione nell'espressione dei geni che codificano tali enzimi. Da sottolineare infine che le carni anomale hanno presentato livelli inferiori di emepigmenti.

Per quanto attiene alle caratteristiche tecnologiche, è stata osservato un maggiore livello di ossidazione delle proteine in relazione alla presenza dell'anomalia wooden breast. Al contrario, l'ossidazione dei lipidi non ha mostrato differenze sostanziali fra i campioni anomali e quelli normali.

Nel complesso, pertanto questo lavoro di tesi ha ulteriormente evidenziato i rischi connessi all'utilizzo delle carni anomale, e soprattutto di quelle affette da wooden breast, nella preparazione di prodotti trasformati in relazione al peggioramento delle rese di lavorazione dovuto alla minore concentrazione e qualità delle proteine. La componente lipidica sembra invece essere meno compromessa dalla presenza di tali anomalie.

BIBLIOGRAFIA

Al-Khalifa H., Givens D.I., Rymer C., Yaqoob P. (2012) Effect of n-3 fatty acids on immune function in broiler chickens, In: *Poultry Science*, 91, 74-88.

Association of Official Analytical Chemists (1990) Official methods of analysis of AOAC, 15th edition, AOAC, Washington, DC, USA.

Aviagen (2007) Ross 308 broiler performance objectives. In-house publication, global. Aviagen Ltd., Newbridge, UK.

Aviagen (2012) Ross 308 broiler performance objectives. In-house publication, global. Aviagen Ltd., Newbridge, UK.

Aviagen (2014) Ross 308 broiler performance objectives. In-house publication, global. Aviagen Ltd., Newbridge, UK.

Banni S., Martin J.C. (1998) Conjugated linoleic acid and metabolites, In: *Trans Fatty Acids in Human Nutrition*. Oily Press, Bridgewater, UK. pp. 261-302.

Bao Y., Ertbjerg P. (2015) Relationship between oxygen concentration, shear force and protein oxidation in modified atmosphere packaged pork, In: *Meat Science*, 110, 174-179.

Barbut S., Sosnicki A.A., Lonergan S.M., Knapp T., Ciobanu D.C., Gatcliffe L.J., Huff-Lonergan E., Wilson E.W. (2008) Progress in reducing the pale, soft and exudative (PSE) problem in pork and poultry meat, In: *Meat Science*, 79, 46-63.

Baron C.P., Andersen H.J. (2002) Myoglobin-induced lipid oxidation-A review, In: *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 3887-3897.

Boschetti E., Bordoni A., Meluzzi A., Castellini C., Dal Bosco A., Sirri F. (2015) Fatty acid composition of chicken breast meat is dependent on genotype-related variation of FADS1 and FADS2 gene expression and desaturating activity, In: *Animal*, 16, 1-9.

Branciarri R., Mugnai C., Mammoli R., Miraglia D., Ranucci D., Dal Bosco A., Castellini C. (2009) Effect of genotype and rearing system on chicken behavior and muscle fiber characteristics, In: *Journal of Animal Science*, 87, 4109-4117.

Brewer V.B., Kuttappan V.A., Emmert J.L., Meullenet J.F., Owens C. M. (2012) Big-bird programs: Effect of strain, sex, and debone time on meat quality of broilers, In: *Poultry Science*, 91, 248-254.

Cavani C., Petracchi, M., Trocino, A., Xiccato, G. (2009) Advances in research on poultry and rabbit meat quality, In: *Italian Journal of Animal Science*, 8, 741-750.

Cortinas L., Villaverde C., Galobart J., Baucells M.D., Codony R., Barroeta A.C. (2004) Fatty acid content in chicken thigh and breast as affected by dietary polyunsaturation level, In: *Poultry Science*, 83, 1155-1164.

Crespo N., Esteve-García E. (2002) Nutrient and fatty acid deposition in broilers fed different dietary fatty acid profiles, In: *Poultry Science*, 81, 512-518.

Dal Bosco A., Mugnai C., Ruggeri S., Mattioli S., Castellini C. (2012) Fatty acid composition of meat and estimated indices of lipid metabolism in different

poultry genotypes reared under organic system, In: *Poultry Science*, 91, 2039-2045.

Du M., Ahn D.U., Nam K.C., Sell J.L. (2000) Influence of dietary conjugated linoleic acid on volatile profiles color and meat oxidation of irradiated raw chicken meat, In: *Meat Science*, 56, 387–395.

Dugan M.E., Aalhus J.L., Schaefer A.L., Kramer J.K.G. (1997) The effect of conjugated linoleic acid on fat to lean repartitioning and feed conversion in pigs, In: *Canadian Journal of Animal Science*, 77, 723–725.

Estévez M., Kylli P., Puolanne E., Kivikari R., Heinonen M. (2008) Oxidation of skeletal muscle myofibrillar proteins in oil-in-water emulsions: interaction with lipids and effect of selected phenolic compounds, In: *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 10933-10940.

Ferreira T.Z., Casagrande R.A., Vieira S.L., Driemeier D., Kindlein L. (2014) An investigation of a reported case of white striping in broilers, In: *Journal Applied Poultry Research*, 23, 748-753.

Fletcher D.L. (2004) Further processing of poultry, In: Mead, G.C. (Ed) *Poultry Meat Processing and Quality* (Florida, CRC Press) pp. 108-134.

Folch J., Lees M., Sloane-Stanley G.H. (1957) A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues, In: *The Journal of Biological Chemistry*, 22, 497-509.

Guetchom B., Venne D., Chénier S., Chorfi Y. (2012) Effect of extra dietary vitamin E on preventing nutritional myopathy in broiler chickens, In: *Journal Applied Poultry Research*, 21, 548-555.

Ha Y.L., Storkson J., Pariza M.W. (1990) Inhibition of benzo(a)pyrene-induced mouse forestomach neoplasia by conjugated dienoic derivatives of linoleic acid, In: *Cancer Research*, 50, 1097–1101.

Havenstein G.B., Ferket P.R., Qureshi, M.A. (2003a) Carcass composition and yield of 1957 versus 2001 broilers when fed representative 1957 and 2001 broiler diet, In: *Poultry Science*, 82, 1509-1518.

Havenstein G.B., Ferket P.R., Qureshi, M.A. (2003b) Growth, liveability, and feed conversion of 1957 versus 2001 broilers when fed representative 1957 and 2001 broiler diets, In: *Poultry Science*, 82, 1500-1508.

Hedrick H.B., Aberle E.D., Forrest J.C., Judge M.D., Merkel R.A. (1993) Principles of Meat Science. 3a edizione. Ed. Kendall / Hunt, EEUU.

Hiraoka T., Fukuwatari T., Imaizumia M., Fushikia T. (2003) Effects of oral stimulation with fats on the cephalic phase of pancreatic enzyme secretion in esophagostomized rats, In: *Physiology and Behavior*, 79, 713-717.

Hornsey H.C. (1956) Color of cooked cured pork/Estimation of the nitric oxide-haem pigments, In: *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 7, 534-540.

Hrdinka C., Zollitsch, W., Knaus W., Lettner F. (1996) Effects of dietary fatty acid pattern on melting point and composition of adipose tissues and intramuscular fat of broiler carcasses, In: *Poultry Science*, 75, 208-215.

Huff-Lonergan E., Lonergan S.M. (2005) Mechanisms of water-holding capacity of meat: The role of postmortem biochemical and structural changes, In: *Meat Science*, 71, 194–204.

Jahan K, Paterson A. (2007) Lipid composition of retailed organic, free-range and conventional chicken breasts, In: *International Journal of Food Science and Technology*, 42, 251-262.

Jordan J.P., Kratzer F.H., Zarghami N.S. (1964) Lipid composition of the pectoral muscles of chickens with inherited muscular dystrophy, In: *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 116, 243-246.

Keeton J.T., Eddy S. (2004) Chemical and physical characteristics of meat/Chemical composition, In: Jensen W.K., Carrick D., Dikeman M. (Ed.) *Encyclopedia of meat sciences*. Oxford, UK: Elsevier Ltd. pp. 210-218.

Kendrick J., Watts B.M. (1969) Acceleration and inhibition of lipid oxidation by heme compounds, In: *Lipids*, 4, 454-458.

Kitessa S.M., Young P. (2009) Echium oil is better than rapeseed oil in enriching poultry meat with n-3 polyunsaturated fatty acids, including eicosapentaenoic acid and docosapentaenoic acid, In: *British Journal of Nutrition*, 101, 709-715.

Kolar K. (1990) Colorimetric determination of hydroxyproline as measure of collagen content in meat and meat products: NMKL collaborative study, In: *Association of Official Analytical Chemists Journal*, 73, 54-57.

Kuttappan V.A., Brewer V.B., Apple J.K., Waldroup P.W., Owens, C.M. (2012a) Influence of growth rate on the occurrence of white striping in broiler breast fillets, In: *Poultry Science*, 91, 2677-2685.

Kuttappan V.A., Brewer V.B., Clark F.D., McKee S.R., Meullenet J.F., Emmert J.L., Owens C.M. (2009) Effect of white striping on the histological and meat quality characteristics of broiler fillets, In: *Poultry Science*, 88, 136-137.

Kuttappan V.A., Brewer V.B., Mauromoustakos A., McKee S.R., Emmert J.L., Meullenet J.F., Owens, C.M. (2013a) Estimation of factors associated with the occurrence of white striping in broiler breast fillets, In: *Poultry Science*, 92, 811-819.

Kuttappan, V.A., Caldas J., Yang F.L., Tijare V., Hargis B.H., Coon C.N., Escobar J., Vazquez-Anon M., Owens C.M. (2015) White striping and woody breast: Effect on raw broiler breast fillet quality, In: *Poultry Science Association Annual Meeting* July 27-30, Louisville, KY. #521 (Abstr.)

Kuttappan V.A., Goodgame S.D., Bradley C.D., Mauromoustakos A., Hargis B.M., Waldroup P.W., Owens C.M. (2012b) Effect of different levels of dietary vitamin E (DL- α -tocopherol acetate) on the occurrence of various degrees of white striping on broiler breast fillets, In: *Poultry Science*, 91, 3230-3235.

Kuttappan V.A., Huff G.R., Huff W.E., Hargis B.M., Apple J.K., Coon C., Owens C.M. (2013c) Comparison of hematologic and serologic profiles of broiler birds with normal and severe degrees of white striping in breast fillets, In: *Poultry Science*, 92, 339-345.

Kuttappan V.A., Shiva Prasad H.L., Shaw D.P., Valentine B.A., Hargis B.M., Hargis F.D., McKee S.R., Owens C.M. (2013b) Pathological changes associated with white striping in broiler breast muscles, In: *Poultry Science*, 92, 331-338.

Ladikos D., Lougovois V. (1990) Lipid oxidation in muscle food: a review, In: *Food Chemistry*, 35, 295-314.

Levine R.L., Garland D., Oliver C.N., Amici A., Climent I., Lenz A., Ahn B., Shaltiel S., Stadtman E.R. (1990) Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins, In: *Methods Enzymol*, 186, 464-478.

Lin J., Zhang S.M., Cook N.C.R., Lee I.M., Buring J.E. (2004) Dietary fat and fatty acids and risk of colorectal cancer in women, In: *American Journal of Epidemiology*, 160 (10), 1011-1022.

López-Ferrer S., Baucells M.D., Barroeta A.C., Grashorn M.A. (1999) N-3 enrichment of chicken meat using fish oil: Alternative substitution with rapeseed and linseed oils, In: *Poultry Science*, 78, 356-365.

Lorenzi M., Mudalal, S., Cavani, C., Petracchi, M. (2014) Incidence of white striping under commercial conditions in medium and heavy broiler chickens in Italy, In: *Journal Applied Poultry Research*, 23, 754-758.

Lund M.N., Heinonen M., Baron C.P., Estévez M. (2011) Protein oxidation in muscle foods-A review, In: *Molecular Nutrition & Food Research*, 55, 83-95.

MacRae V.E, Mahon, M., Gilpin, S., Sandercock, D.A., Mitchell, M.A. (2006) Skeletal muscle fibre growth and growth associated myopathy in the domestic chicken (*Gallus domesticus*), In: *British Poultry Science*, 47, 264-272.

Mahon M. (1999) Muscle abnormalities: morphological aspects. In: Richardson, R.I. & Mead, G.C. (Eds) *Poultry Meat Science*, 25, 19-64.

Mallia J.G., Barbut S., Vaillancourt J.P., Martin S.W., McEwen S.A. (2000a) Roaster breast meat condemned for cyanosis: A dark firm dry-like condition? In: *Poultry Science*, 79, 908-912.

Mallia J.G., Hunter B., Vaillancourt J.P., Irwin R., Muckle C.A., Martin S.W., McEwen S.A. (2000b) Bacteriological and histological profile of turkeys condemned for cyanosis, In: *Poultry Science*, 79, 1194-1199.

Mercier Y., Gatellier P., Viau M., Remignon H, Renerre M. (1998) Effect of dietary fat and vitamin E on colour stability and on lipid and protein oxidation in turkey meat during storage, In: *Meat Science* 48, 301-318.

Miller D.K., Gomez-Basauri J.V., Smith V.L., Kanner J., Miller D.D. (1994) Dietary iron in swine rations affects non heme iron and TBARS in pork skeletal muscles, In: *Journal of Food Science*, 59, 751-756.

Min B., Ahn D.U. (2005) Mechanism of lipid peroxidation in meat and meat products – A review, In: *Food Science and Biotechnology*, 14, 152-163.

Mitchell M.A. (1999) Muscle abnormalities: pathophysiological mechanisms, In: Richardson, R.I. & Mead, G.C. (Eds) *Poultry Meat Science* pp. 65-98.

Mudalal S., Babini E., Cavani C., Petracchi M. (2014) Quantity and functionality of protein fractions in chicken breast fillets affected by white striping, In: *Poultry Science*, 93, 2108-2116.

Mudalal S., Lorenzi M., Soglia F., Cavani C., Petracchi M. (2015) Implications of white striping and wooden breast abnormalities on quality traits of raw and marinated chicken meat, In: *Animal*, 9, 728-734.

Petracchi M., Bianchi M., Mudalal S., Cavani, C. (2013a) Functional ingredients for poultry meat products, In: *Trends in Food Science & Technology*, 33, 27-39.

Petracchi M., Mudalal S., Babini, E., Cavani, C. (2014) Effect of white striping on chemical composition and nutritional value of chicken breast meat, In: *Italian Journal of Animal Science*, 13, 179-183.

Petracci M., Mudalal S., Bonfiglio A., Cavani, C. (2013b) Occurrence of white striping under commercial conditions and its impact on breast meat quality in broiler chickens, In: *Poultry Science*, 92, 1670-1675.

Petracci M., Mudalal S., Soglia F., Cavani, C. (2015a) Meat quality in fast-growing broiler chickens, In: *World's Poultry Science Journal*, 71, 363-374.

Petracci M., Zambonelli P., Soglia F., Zappaterra M., Mazzoni M., Sirri F., Cavani C. (2015b) First results on chemical, technological, histological and genomic analysis of white striping and wooden breast myopathies affecting broiler *Pectoralis major* muscle, In: *Poultry Science*, 94 (E-suppl. 1) pp. 168.

Picard B., Lefaucheur L., Berri C., Duclos M.J. (2002) Muscle fibre ontogenesis in farm animal species, In: *Reproduction Nutrition Development*, 42, 415-431.

Pisulewski (2005) Nutritional potential for improving meat quality in poultry, In: *Animal Science Papers and Reports*, 23, 303-315.

Poureslami R., Reas K., Turchini G.M., Huyghebaert G., De Smet S. (2010) Effect of diet, sex and age on fatty acid metabolism in broiler chickens: n-3 and n-6 PUFA, In: *British Journal of Nutrition*, 104, 189-197.

Qi K.K., Chen J.L., Zhao G.P., Zheng M.Q., Wen J. (2010) Effect of dietary ω 6/ ω 3 on growth performance, carcass traits, meat quality and fatty acid profiles of Beijing-you chicken, In: *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 64, 474-485.

Rhee K.S., Anderson L.M., Sams A.R. (1996) Lipid oxidation potential of beef, chicken and pork, In: *Journal of Food Science*, 61, 8-12.

Rozbicka-Wieczorek A.J., Szarpak E., Brzóska F., liwi ski B., Kowalczyk J., Czauderna M. (2012) Dietary lycopenes, selenium compounds and fish oil affect the profile of fatty acids and oxidative stress in chicken breast muscle, In: *Journal of Animal and Feed Sciences*, 21, 705-724.

Sandercock D.A., Mitchell M.A. (2003) Myopathy in broiler chickens: A role for Ca^{2+} -activated phospholipase A_2 , In: *Poultry Science*, 82, 1307-1312.

Sanz M., Flores A., Perez de Ayala P., Lopez-Bote C.J. (1999) Higher lipid accumulation in broilers fed on saturated fats than in those fed on unsaturated fats, In: *Poultry Science*, 40, 95-101.

Scaife J.R., Moyo J., Galbraith H., Michie W., Campbell V. (1994) Effect of different dietary supplemental fats and oils on the tissue fatty acid composition and growth of female broilers, In: *Poultry Science*, 35, 107-118.

Scheuermann G.N., Bilgili, S.F., Tuzun, S., Mulvaney, D.R. (2004) Comparison of chicken genotypes: Myofiber number in pectoralis muscle and myostatin ontogeny, In: *Poultry Science*, 83, 1404-1412.

Schreurs F.J.G. (2000) Post-mortem changes in chicken muscle, In: *World's Poultry Science Journal*, 56, 319-346.

Sihvo H.K., Immonen, K., Puolanne, E. (2014) Myodegeneration with fibrosis and regeneration in the pectoralis major muscle of broilers, In: *Veterinary Pathology*, 51, 619-623.

Sirri F., Castellini C., Bianchi M., Petracci M., Meluzzi A., Franchini A. (2011) Effect of fast-, medium- and slow-growing strains on meat quality of chickens reared under the organic farming method, In: *Animal*, 5, 312-319.

Sirri F., Tallarico N., Meluzzi A., Franchini A. (2003) Fatty acid composition and productive traits of broiler fed diets containing conjugated linoleic acid, In: *Poultry Science*, 82, 1356-1361.

Smith S.B., Smith D.R., Lunt D.K. (2004) Chemical and physical characteristics of meat/Adipose Tissue, In: Jensen W.K., Carrick D., Dikeman M. (Ed.) *Encyclopedia of meat sciences*. Oxford, UK: Elsevier Ltd. pp. 225-238.

Soglia F., Mudalal S., Babini E., Di Nunzio M., Mazzoni M., Sirri F., Cavani C., Petracci M. (2015) Histology, composition and quality traits of chicken *Pectoralis major* muscle affected by wooden breast abnormality, In: *Poultry Science*, doi: <http://dx.doi.org/10.3382/ps/pev353>

Soglia F., Petracci M., Ertbjerg P. (2016) Novel DNPH-based method for determination of protein carbonylation in muscle and meat, In: *Food Chemistry*, 197, 160-165.

Tijare V., Yang F., Kuttappan V., Alvarado C., Coon C., Owens C. (2015) Meat Quality of Broiler Breast Fillets with White Striping and Woody Breast Muscle Myopathies, In: *Poultry Science*, Submitted on 24-Sep-2015.

Tuazon M.A., Henderson G.C. (2012) Fatty acid profile of skeletal muscle phospholipid is altered in mdx mice and is predictive of disease markers, In: *Metabolism*, 61, 801-811.

Velleman S.G., Clark D.L. (2015) Histopathological and myogenic gene expression changes associated with wooden breast in broiler breast muscles, In: *Avian Disease*, 59, 410-418.

Webb E.C., O'Neill H.A. (2008) The animal fat paradox and meat quality, In: *Meat Science*, 80, 28-36.

Wood J.D., Enser M., Fisher A.V., Nute G.R., Richardson R.I., Sheard P.R. (1999) Manipulating meat quality and composition, In: *Proceedings of the Nutrition Society*, 58, 363-370.

Zdu czyk Z., Gruzauskas R., Semaskeite A., Juskievicz J., Raceviciute A., Wróblewska M. (2011) Fatty acid profile of breast muscle of broiler chickens fed diets with different levels of selenium and vitamin C, In: *Archiv für Geflügelkunde*, 75, 264-267.

Zdu czyk Z., Jankowski J. (2013) Poultry meat as functional food: modification of the fatty acid profile – a review, In: *Annals of Animal Science*, 13(3), 463-480.

Zelenka J., Schneiderova D., Mrkvicova E., Dolezal P. (2008) The effect of dietary linseed oils with different fatty acids pattern on the content of fatty acids in chicken meat, In: *Veterinarni Medicina*, 53, 77-85.

Zimmermann F.C., Fallavena L.C.B., Salle C.T.P., Moraes H.L.S., Soncini R.A., Barreta M.H., Nascimento V.P. (2012) Downgrading of heavy broiler chicken carcasses due to myodegeneration of the *Anterior latissimus dorsi*: pathologic and epidemiologic studies, In: *Avian Diseases*, 56, 418-421.