

## **Titolo del Progetto**

### **SICARBEN - Sistemi innovativi di confezionamento per carne bufalina di elevata qualità nutrizionale**

#### **Soggetti Attuatori**

- **Laboratoria srl**
- **Dipartimento di Medicina Veterinaria e Produzioni Animali Università degli Studi di Napoli Federico II**

*Obiettivo del progetto è quello di valutare l'influenza della dieta somministrata agli animali sulle caratteristiche dietetico-nutrizionali delle carni. A tal scopo saranno effettuate le seguenti attività:*  
- formulazione di piani alimentari per i vitelloni che, sulla base dei risultati delle valutazioni in vitro, prevedano l'impiego di alimenti tra loro complementari per caratteristiche di fermentazione;

- valutazione dell'influenza del rapporto F/C della dieta sull'espressione genica della SCD;
- determinazione della composizione chimica e del profilo acidico dei grassi su campioni di Longissimus dorsi e di grasso sottocutaneo dei due gruppi;
- valutazione dell'influenza del rapporto F/C della dieta sulle caratteristiche anatomico-funzionali dell'apparato digerente;
- caratterizzazione del microbioma ruminale di bufali alimentati con diverso rapporto F/C al fine di constatare le modifiche che si verificano in termini di diversità della comunità batterica con prevalenza di alcuni ceppi rispetto ad altri;
- indagare gli effetti del consumo di carne bufalina ottenuta da animali alimentati con diverso rapporto foraggio:concentrato su parametri del metabolismo lipidico associati ad aumento del rischio di malattie cardiovascolari;
- analisi dell'espressione dei principali geni coinvolti nell'insorgenza dei processi di infiammazione, nella sindrome metabolica e nell'insorgenza di tumori.

Il progetto si propone di sviluppare sistemi innovativi di preparazione e confezionamento della carne bufalina, di elevata qualità nutrizionale, ottenuta da animali alimentati con differenti piani di razionamento. La carne bufalina verrà prodotta da animali sottoposti a piani di razionamento caratterizzati da diverso rapporto foraggio:concentrato. Successivamente verranno valutate tecnologie innovative di packaging e/o di processing sia su carni derivanti da animali alimentati in condizioni standard che su carni derivanti da animali alimentati con piani di razionamento differenziati. Il processo di industrializzazione prevederà la produzione di un processo/prodotto innovativo a base di prodotti carni bufalini e vegetali in pezzi. In particolare, il progetto si articolerà nelle seguenti attività:

- Influenza del rapporto foraggio:concentrato (F/C) sulle performances produttive produttive, sulle caratteristiche dietetico-nutrizionali (profilo acidico, CLA) delle carni e sulle caratteristiche morfofunzionali e microbiologiche dell'apparato digerente.
- Individuazione del sistema di packaging idoneo per la conservabilità del prodotto fresco carne di bufalo;
- individuazione e implementazione di innovative mild-technologies per il processing degli scarti di carne di bufala e dell'azienda ortofrutticola;
- Costruzione di un sistema integrato di monitoraggio, analisi e controllo a supporto della gestione ottimale della produzione e pianificazione e gestione dell'intero sistema produttivo.
- Indagare gli effetti del consumo di carne bufalina ottenuta da animali alimentati con diverso rapporto F/C su parametri del metabolismo lipidico associati ad aumento del rischio di malattie cardiovascolari.

- Valutare l'effetto del consumo di carne bufalina ottenuta con diverso rapporto F/C sull'espressione di geni che sono coinvolti nell'insorgenza della sindrome metabolica e nelle malattie neoplastiche e su tutti i parametri ematochimici associati ad alterazioni metaboliche.

L'azienda, grazie alle competenze acquisite, sarà responsabile delle fasi necessarie per la progettazione, la realizzazione e la messa in opera di impianti di produzione per l'azienda agro-alimentare, ed in particolare:

- *messa a punto di tecnologie di packaging e processing per preservare le caratteristiche funzionali del prodotto fresco e trasformato.* Allo scopo di preservare le caratteristiche organolettiche e funzionali e di prolungare la shelf-life del prodotto carne di bufalo, risulta necessario stabilire la tipologia di confezionamento ideale del prodotto fresco e trasformato. I prodotti carnei sono prodotti altamente deperibili e necessitano di conservazione particolari ed accurate. Per la carne bufalina la conservazione è difficile perché oltre la rapida degradazione dei prodotti carnei in genere, presenta, per l'alto contenuto in ferro, un imbrunimento molto rapido. Si procederà ad adottare semplici tecnologie per l'ammorbidimento della carne mediante refrigerazione o congelamento e successivamente a scegliere il packaging che meglio impatta sulla texture del prodotto (i.e. sottovuoto).
- *studio dei sistemi di confezionamento di prodotti carnei bufalini, conservati da soli o in associazione con prodotti vegetali.* Il nuovo prodotto che si intende realizzare è composto da carne di bufalo (derivata da scarti di produzione del settore carneo fresco) e verdura fresca in pezzi (ortaggi di seconda scelta, ossia con peso non conforme allo standard o che presentano difettosità). Il prodotto verrà processato mediante un'innovativa tecnologia *mild* quale la cottura *sous-vide*. Il packaging che si intende adottare sarà composto da vaschette preformate idonee al sottovuoto. Il prodotto *ready to use* può essere destinato sia al mercato fresco che a quello surgelato.
- valutazione della shelflife dei prodotti conservati. Una volta stabilite e messe a punto le tecnologie di processing e packaging per il prodotto fresco e trasformato, si provvederà ad effettuare test di shelf-life su prodotti carnei derivati da animali allevati in modo standard e in maniera differenziata. A tempi scadenzati verranno analizzati i profili microbiologici e merceologici dei prodotti oggetto di ricerca.

L'organismo di ricerca si occuperà di:

- *Valutare le caratteristiche qualitative dei foraggi mediante tecniche in vitro.* Allo scopo di ridurre la presenza di concentrati nella razione senza penalizzare le performance di accrescimento degli animali, risulta necessario disporre di foraggi ad elevato valore nutritivo. Per la stima di quest'ultimo, presso il Dipartimento viene impiegata da più di un decennio e con ottimi risultati la tecnica di produzione cumulativa di gas in vitro (GPT). Il sistema prevede l'uso di un trasduttore di pressione per misurare il gas dello spazio di testa in bottiglie da siero sigillate nelle quali è stato incubato il substrato da testare con liquido ruminale opportunamente diluito. La pressione ed il volume di gas sono registrati ad intervalli regolari, circa 3-4 ore nelle prime 24, e poi meno frequentemente fino al termine dell'incubazione che si protrae fino per 120 o 144 ore; il gas è rimosso dopo ogni lettura. Il profilo del gas cumulativo dipende dalla cinetica del processo fermentativo dei singoli alimenti. Per valutare in maniera obiettiva e confrontare le cinetiche di produzione di gas dei diversi alimenti, risulta necessario disporre di un opportuno modello matematico che descrive le quantità cumulative di gas prodotte ai vari tempi di incubazione. Al fine di valutare la cinetica di più fasi nella curva di produzione del gas fine, si utilizzerà l'equazione sigmoidale proposta da Groot et al. (1996, An. Feed Sci. and Techn., 64:77-89). La GPT, quindi, fornisce per ciascun alimento informazioni di tipo statico (fermentescibilità della sostanza organica, produzione potenziale di gas) e cinetico (tempo necessario a produrre una quantità di gas pari a 1/2 di quella potenziale). Inoltre, utilizzando i parametri della curva è possibile stimare la velocità di produzione del gas a ciascun tempo di incubazione nonché la velocità massima. È così possibile avere informazioni molto dettagliate sull'entità e sulla cinetica di degradazione del substrato incubato. Infine, la determinazione della produzione totale di acidi grassi volatili e delle loro concentrazioni molari, permette una valutazione più approfondita del processo fermentativo, nonché un corretto confronto delle quantità di gas prodotte dai vari substrati.
- *Espressione genica dei bio-marker* Per valutare l'influenza del rapporto foraggio:concentrato della dieta sull'espressione genica della SCD su ciascun soggetto, ad inizio prova e alla macellazione, saranno prelevati campioni di tessuto adiposo sui quale verranno effettuate: estrazione dell'RNA

totale, trascrizione inversa dell'mRNA (cDNA), Real-Time PCR. Parallelamente, un subset di campioni di RNA verrà utilizzato per un esperimento di analisi globale dell'espressione genica, utilizzando il GeneChip Bovine Genome Array (Affymetrix, [http://www.affymetrix.com/products\\_services/arrays/specific/bovine.affx](http://www.affymetrix.com/products_services/arrays/specific/bovine.affx)), che offre l'opportunità di studiare 23.000 trascritti in contemporanea. Questo esperimento verrà condotto con il Chip sviluppato in bovino e prevederà perciò un'ibridazione eterologa con RNA di bufalo. L'interpretazione dei dati di ibridazione con approcci di bioinformatica classici o specificamente sviluppati per ibridazioni eterologhe consentirà potenzialmente di avere una visione globale dello stato di espressione genica negli animali sottoposti ai diversi regimi alimentari.

- *Caratteristiche dietetico-nutrizionali della carne* Dopo la macellazione, da ciascuna mezzena destra sarà prelevato un taglio campione corrispondente alla X costa. In particolare il campione verrà separato a livello dei margini craniali della X e XI costa all'altezza del terzo dorsale della prima, così da comprendere il corrispondente tratto della citata costa nonché il corpo della X emivertebra, parte di quello dell'XI, parte dei processi spinosi dell'VIII, IX e X vertebra nonché porzioni dei muscoli lungo spinoso, trasverso spinoso, lungo costale, dentato dorsale caudale, sovracostale e Longissimus dorsi. Una volta rilevati i margini dell'area del Longissimus dorsi sulla sezione craniale, se ne calcolerà la superficie mediante programma Autocad 2000. Una porzione di Longissimus dorsi prelevata posteriormente al taglio campione sarà utilizzata, previa omogeneizzazione, per determinare la composizione chimica. Su campioni di Longissimus dorsi e di grasso sottocutaneo, ottenuti dal taglio campione sarà determinata, mediante gascromatografo, la composizione acidica dei grassi previa estrazione e successiva metilazione modificata da Chouinard et al. (1999, J Dairy Sci, 81, 223). Gli esteri metilici degli acidi grassi saranno quantificati usando un gas cromatografo delle serie FOCUS, fornito di detector a ionizzazione di fiamma (ThermoElectron Corporation) attraverso una colonna capillare (CP-SIL 88 fusedsilicacapillarycolumn, 100 m x 0.25 mm di diametro interno con 0.2- $\mu$ m di spessore del film; Varian).

La standardizzazione delle prove in laboratorio ed in sito sui sistemi di packaging rappresenta un passaggio di primaria importanza per accrescere le conoscenze e le competenze acquisite nel settore di riferimento al fine di poter mettere in atto processi innovativi. La soluzione tecnologica che si intende industrializzare consta di un prodotto carneo o di un prodotto misto (carne bufalina e ortaggi) con caratteristiche dietetico nutrizionali idonee all'alimentazione di soggetti predisposti a malattie cardiovascolari (in sovrappeso e obesi). Ciò si può ottenere mediante:

- Identificazione del packaging idoneo per preservare le caratteristiche merceologiche del prodotto fresco: il sottovuoto;
- identificazione della materia prima da utilizzare: scarti di produzione del settore carneo fresco e ortaggi di seconda scelta, ossia con peso non conforme allo standard o che presentano difettosità
- identificazione delle mildtechnologies applicabili per contenere la perdita delle caratteristiche nutrizionali ed organolettiche delle materie utilizzate: la cottura a vapore, la tecnologia sous-vide.

Il mercato di riferimento sarà quello dell'allevamento e produzione di carne bufalina che offre possibilità di sviluppo puntando su carni ad elevato contenuto nutrizionale con un sistema garantito della qualità prodotta. In tale ottica infatti, il sistema innovativo da realizzare permetterà di soddisfare contemporaneamente le esigenze di coloro che sono attenti sia ad una dieta caratterizzata da indici favorevoli alla salute sia di coloro che preferiscono acquistare prodotti di garantiti e controllati in ogni fase della produzione.

Il sistema innovativo di produzione e conservazione della carne bufalina incrementerà in modo esponenziale la domanda. Le ragioni di tale stima, in controtendenza con i dati del settore, dipendono da alcune considerazioni fondamentali. Il nuovo processo porterà alla produzione di una carne ad alto contenuto nutrizionale che contribuirà a soddisfare le esigenze di coloro che sono particolarmente attenti ad una dieta volta alla prevenzione e cura di malattie di natura alimentare e non solo. In secondo luogo verranno soddisfatte le esigenze di coloro che preferiscono acquistare prodotti garantiti e controllati in ogni fase della produzione dato che il nuovo processo sarà contraddistinto da elevati controlli volti all'ottenimento e conservazione di una carne bufalina con particolari caratteristiche