

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI NAPOLI
“FEDERICO II”

FACOLTÀ DI AGRARIA –PORTICI

DIPARTIMENTO DI SCIENZE ZOOTECNICHE E ISPEZIONE DEGLI ALIMENTI

DOTTORATO DI RICERCA IN
PRODUZIONE E SANITÀ DEGLI ALIMENTI DI ORIGINE ANIMALE
XIX CICLO – 2003/2006

TESI DI DOTTORATO

VALUTAZIONE DELL’EFFETTO DEL SISTEMA CALPAINA/CALPASTATINA
SULL’INTENERIMENTO DELLA CARNE DI BOVINO PODOLICO DURANTE
LA FASE DI FROLLATURA

TUTOR

Ch.mo Prof.
Antonio Crasto

CORRELATORE

Dr Salvatore Velotto

COORDINATORE

CH.MA PROF
MARIA LUISA CORTESI

CANDIDATO

DR. TOMMASO STASI

Indice

| | |
|---|-----------|
| Parte Generale..... | 4 |
| Le tendenze generali del comparto carne | 5 |
| Economia del settore bovino da carne..... | 6 |
| Italia terra di bovini..... | 10 |
| Influenze sui prodotti carnei | 10 |
| Macellazione | 11 |
| Caratteri Sanitari delle carni Bovine | 14 |
| Razze Bovine italiane da Carne | 16 |
| <i>Chianina</i> | <i>16</i> |
| <i>Piemontese.....</i> | <i>17</i> |
| <i>Marchigiana</i> | <i>17</i> |
| <i>Maremmana.....</i> | <i>17</i> |
| <i>Podolica.....</i> | <i>18</i> |
| <i>Romagnola.....</i> | <i>18</i> |
| Carne di qualità: fattore per la salute umana | 19 |
| Sicurezza della carne Bovina ed importanza del filtro animale..... | 20 |
| Dal controllo di prodotto a quello di processo..... | 20 |
| Produzione di carne sicura e di qualità..... | 21 |
| Qualità della carne bovina | 22 |
| Energia della carne Bovina | 24 |
| Caratteri nutrizionali della carne bovina | 26 |
| <i>Frazione lipidica</i> | <i>27</i> |
| <i>Frazione proteica</i> | <i>28</i> |
| <i>Frazione vitaminica.....</i> | <i>28</i> |
| <i>Frazione minerale</i> | <i>29</i> |
| Carne bovina Alimento protettivo..... | 29 |
| Carne e protezione alimentare..... | 29 |
| Carne ed inter - supplementazione tra aminoacidi..... | 30 |
| Carne e ferro | 31 |
| Carne e colesterolo..... | 33 |
| La carne magra di bovino alimento anticolesterolo..... | 34 |
| Carne bovina e immunità | 36 |
| Acido linoleico coniugato (ALC) della carne..... | 37 |
| Carne bovina e comportamento (psicodietetica) | 39 |
| Psicodietetica | 40 |

| | |
|--|-----------|
| <i>Un futuro pieno di passato</i> | 41 |
| Pregiudizi e luoghi comuni | 44 |
| <i>La bistecca agli antibiotici</i> | 45 |
| <i>Carni estrogenate</i> | 45 |
| <i>La carne d'oggi</i> | 45 |
| <i>La bistecca transgenica</i> | 46 |
| <i>Mangiamo troppa carne</i> | 46 |
| <i>Le tossine della paura</i> | 47 |
| <i>Intossicazione da carne</i> | 47 |
| <i>La carne cancerogena</i> | 48 |
| <i>Il benessere animale</i> | 49 |
| Le strutture aziendali | 49 |
| L'alimentazione dei bovini da carne | 50 |
| <i>Criteri di scelta della razza Bovina</i> | 53 |
| <i>Parte Sperimentale</i> | 54 |
| <i>Scopo del Lavoro</i> | 55 |
| <i>Sistema Calpaina/Calpastatina</i> | 58 |
| Aspetti strutturali e funzionali del sistema proteolitico (Calpaina/Calpastatina) | 58 |
| <i>Famiglia delle calpaine</i> | 58 |
| Struttura delle Calpaine ubiquitarie | 58 |
| Calpastatina: inibitore endogeno della Calpaina | 60 |
| <i>Generalità e struttura</i> | 60 |
| <i>Materiali e metodi</i> | 62 |
| <i>Risultati</i> | 66 |
| <i>gruppo A</i> | 66 |
| <i>μ-calpaina</i> | 66 |
| <i>β-actina</i> | 67 |
| <i>calpastatina</i> | 68 |
| <i>p94</i> | 69 |
| <i>gruppo B</i> | 71 |
| <i>μ-calpaina</i> | 71 |
| <i>p94</i> | 71 |
| <i>β-actina</i> | 72 |
| <i>Calpastatina</i> | 73 |
| <i>Discussione e Conclusioni</i> | 76 |
| <i>Bibliografia</i> | 79 |

Parte Generale

Le tendenze generali del comparto carne

Nel panorama agroalimentare italiano il comparto zootecnico da carne riveste un ruolo centrale rappresentando il 65% del valore della produzione ai prezzi di base dell'insieme degli allevamenti, il 23% del comparto primario e poco meno del 25% del valore totale dell'industria agroalimentare (ISMEA 2004).

La fase produttiva e distributiva della filiera impegna un numero considerevole di operatori.

I dati indicano, infatti, circa 676 mila aziende d'allevamento, 3 mila impianti di macellazione, 4 mila stabilimenti di lavorazione delle carni, 13 mila punti vendita della distribuzione moderna e circa 40 mila macellerie. Nel 2004, inoltre, il comparto carni con circa 372,3 Mil. di € assorbe il 14,5% del valore della produzione agricola ai prezzi di base (ISTAT 2004). Le motivazioni di tale riduzione vanno ricercate nelle dinamiche socio economiche verificatesi nel settore zootecnico, nella situazione congiunturale regionale e nazionale e nelle varie crisi ed epidemie che hanno notevolmente condizionato le dinamiche mercantili.

Tali situazioni, pur essendo settoriali, carne bovina piuttosto che latte bovino, sono differenti solo in merito a dinamiche e cause, mentre sempre comuni sono gli effetti poiché si ha sempre una riduzione del margine economico delle aziende e maggiori difficoltà alla produzione. In alcuni casi, tuttavia, il condizionamento è stato tanto notevole da rendere necessario policy di intervento straordinario, verso il tentativo di risolvere o attutire gli impatti e gli effetti altrimenti catastrofici, come nel caso del comparto bovino da carne con la crisi BSE, il settore ovino con la blue tongue o l'influenza aviaria per l'avicolo. Continuando, differenziazioni sostanziali sono rinvenibili nelle dinamiche tra i diversi comparti della filiera della produzione e commercializzazione delle carni.

In definitiva, una diversificazione delle opportunità di riqualificazione e valorizzazione della zootecnia da carne sembrerebbe auspicabile.

In linea con le tendenze di molte aree centro europee, il comparto nazionale conferma il paradosso secondo cui nonostante un ritmo del consumo delle carni ancora sufficiente a garantire in parte sostenibilità nel reddito del comparto, gli

allevatori trovano serie difficoltà nella commercializzazione degli animali allevati o nel recuperare quote di valore aggiunto lungo le fasi a valle della catena produttiva.

Economia del settore bovino da carne

La redditività dell'allevamento del bovino da carne ha subito nel corso dell'ultimo triennio un'importante evoluzione su cui hanno avuto un ruolo determinante due componenti, da un lato la dinamica del differenziale dei prezzi bovino adulto e ristallo e dall'altro l'applicazione di Agenda 2000 (Boatto e Rossetto, 2003). Per quanto riguarda i prezzi dei capi in allevamento, ad una fase fortemente negativa legata alla crisi dei consumi ha fatto riscontro una congiuntura più favorevole con bassi prezzi dei ristalli e prezzi relativamente interessanti del bovino adulto che si è andata progressivamente attenuando. In particolare, il mercato del bovino da carne nel corso degli ultimi anni è stato interessato da profonde modificazioni determinate soprattutto dalla ricomparsa della BSE a partire dall'ottobre 2000. Gli effetti dell'epizoozia oltre che influenzare i consumi e le macellazioni, hanno mutato, infatti, i rapporti di forza lungo la filiera con rilevanti conseguenze a carico dell'allevamento bovino da carne nazionale (Boatto e Rossetto, 2002).

La mandria bovina comunitaria ha subito nel primo triennio del 2000 una riduzione dell'1,2% con una perdita pari a circa 970 mila capi. Le stime relative all'anno 2003 indicano una ulteriore riduzione del patrimonio bovino di oltre il 2% pari a 1 milione e 670 mila capi. Su questo risultato hanno influito sia il calo dei capi dovuto alla BSE, sia l'evoluzione regressiva del patrimonio bovino da latte.

Per quanto riguarda l'Italia la consistenza di capi bovini appare piuttosto stabile, attestandosi intorno ai 7,4 milioni di capi. Solo nel 2003, in linea con le tendenze comunitarie, si stima una lieve contrazione della mandria di circa 140 mila unità attribuibile in larga misura alla riduzione del numero di vacche da latte (Pieri, 2003). La seconda crisi BSE, la cui fase acuta si è concentrata nel corso del 2000-2001, ha manifestato i suoi influssi negativi sugli allevamenti non tanto sul numero

di capi presenti in stalla, quanto piuttosto sul livello delle macellazioni (Istat, 2002). A livello comunitario, si è infatti osservata una riduzione dei capi macellati; le stime per il 2003 indicano una ulteriore battuta di arresto con valori leggermente inferiori rispetto alla situazione precedente la crisi. All'interno di questo scenario, il nostro Paese appare uno fra i più penalizzati, sia per l'intensità con cui si è manifestata la crisi, sia per gli effetti che ha determinato sulla struttura del settore nel complesso. A differenza dell'andamento comunitario, non si è infatti verificata una ripresa significativa delle macellazioni. Le stime riferite al 2003 non modificano sostanzialmente la situazione rispetto all'anno precedente, confermando l'assenza di una ripresa delle macellazioni in Italia che sembra così accusare in modo persistente la decurtazione produttiva indotta dalla BSE (Istat, 2003). Fra i principali Paesi produttori di carne nell'UE, la Francia ha evidenziato invece un andamento più favorevole dal punto di vista delle macellazioni. Il livello minimo raggiunto in questo Paese è stato registrato nel corso del 2000, anno in cui sono comparsi i primi casi. Già nel 2001 il numero dei capi macellati ha manifestato una lieve ripresa raggiungendo e superando nel 2002 le macellazioni registrate nel 1999. Le stime per il 2003 indicano per la Francia un rallentamento della produzione di carne bovina che si dovrebbe attestare su livelli del tutto simili a quelli del 1999. Anche i consumi di carne bovina hanno manifestato in Europa un grave shock nel corso della crisi con una contrazione che ha raggiunto l'11,6% nel 2001 assestandosi poi intorno al 4% nel 2002 rispetto ai livelli del 1999. Per contro, in risposta al calo degli acquisti di carne bovina si osserva una forte ripresa delle altre tipologie di carni con una predilezione a livello comunitario della carne avicola, che nel 2002 mantiene livelli di consumo superiori del 4% rispetto al 1999 (OFIVAL, 2003). Rispetto alle tendenze comunitarie, l'Italia presenta delle peculiarità nell'andamento dei consumi di carne bovina; in particolare è rilevabile una maggiore volatilità dei consumi italiani che nella primavera 2001 evidenzia una diminuzione del 50%. Solo nel settembre 2002 i consumi raggiungono nuovamente livelli che possono essere considerati normali in riferimento alla situazione precedente la crisi.

Le perturbazioni del mercato determinate dalla crisi sanitaria hanno influito sull'andamento delle quotazioni, sia del bovino adulto che dei ristalli; in particolare i

prezzi alla produzione hanno risentito direttamente dell'andamento perturbato del mercato con una flessione nel periodo acuto della crisi della BSE ed una successiva ripresa significativa. Nel corso dei primi nove mesi del 2003 si osserva un ulteriore recupero dell'1,2% rispetto allo stesso periodo del 2002. Nei Paesi importatori netti, fra cui anche l'Italia, i prezzi alla produzione della carne bovina hanno registrato una buona crescita recuperando completamente, nel 2002, la perdita subita nell'anno precedente. In particolare l'Italia nonostante il grave arretramento subito nel 2001 (-14% rispetto al 1999) riesce a recuperare già all'inizio del 2002 la perdita subita registrando nel 2002 un livello medio dei prezzi di solo 2,2% inferiori al 1999. In Francia invece la ripresa dei prezzi appare molto più contenuta con un incremento di solo 2,8% dal 2001 al 2002, che consolida un arretramento dal 1999 del 11,3%.

Per quanto riguarda il mercato degli animali vivi esso è rappresentato, nella parte più interessante, dallo scambio di animali vivi con un peso superiore ai 300 kg nei quali il rapporto fra Francia e Italia costituisce oltre il 60%. Il rapporto fra i prezzi di acquisto dei ristalli e il prezzo di vendita dei bovini adulti rappresenta un elemento determinante per la redditività della zootecnia da carne nazionale (OFIVAL, 2003).

Per quanto attiene l'altra componente che ha direttamente influito sull'economicità delle imprese, ossia l'applicazione di Agenda 2000, nonostante la maggiore disponibilità di risorse finanziarie a favore del settore i benefici economici ottenuti dalle aziende sono stati molto contenuti per la scarsa utilizzazione dei premi. Secondo i dati più recenti (Ismea, 2003), durante il triennio 2000-02 sono stati utilizzati solo il 72% del premio vacche nutrici, l'84,4% bovini maschi e il 55,2% premi alla macellazione capi adulti, 24,3% premio alla macellazione dei vitelli e 79,9% dell'enveloppe.

Negli altri Paesi comunitari invece il livello di utilizzazione del plafond disponibili è stato nettamente superiore ed in molti casi prossimo al pieno utilizzo. Secondo gli operatori del settore, diversi fattori possono ritenersi responsabili del minor livello di utilizzo delle risorse riscontrato nel nostro Paese. Innanzitutto il ritardo della pubblica amministrazione nell'implementare le procedure di pagamento

e nell'avvio dei sistemi di controllo (Boatto, 2002); secondariamente, la minore disponibilità di capi avviati alla macellazione in seguito alla BSE; in terzo luogo l'inerzia del sistema nel recepire i nuovi indirizzi introdotti con Agenda 2000. Nonostante le difficoltà del mercato proprie del periodo acuto dell'epizoozia e le inefficienze burocratiche, le imprese sono riuscite a raggiungere livelli di redditività prossimi a quelli della metà degli anni novanta, attestandosi su valori competitivi con le altre produzioni agricole. In particolare considerando l'allevamento del vitellone pesante anche senza il ricorso ai pagamenti comunitari, la redditività si è mantenuta in area positiva sia pur di poco, fatta eccezione per il periodo BSE.

Italia terra di bovini

Superata la paura della mucca pazza, la carne bovina ritorna sulle tavole degli italiani. Un ritorno annunciato e sicuro, in quanto la carne bovina fa parte della tradizione alimentare italiana. L'idea di un'Italia esclusivamente o prevalentemente vegetariana, del pane e della pasta, degli agrumi e dei pomodori, non risponde ad una realtà odierna e neppure del più lontano passato.

Gli stessi nomi d'Italia e di Roma sono strettamente legati all'allevamento degli animali.

La denominazione d'Italia, deriva da (v) Italia o terra dei vitelli.

È anche significativo che nell'antica Roma vi era il fico ruminale, presso il lupercale, dove la lupa avrebbe allattato Romolo e Remo. Roma e ruminale sono denominazioni collegate a rumina o rumia, dea dell'allattamento (rumia era la mammella) e dalla stessa parola traggono il loro nome i ruminanti (bovini, pecore e capre) di cui le terre italiche erano ricche.

I bovini erano animali da lavoro, le pecore davano la lana ed un poco di latte e le capre solo latte. I veri animali da carne erano i maiali. Una triade, che troviamo nel gran sacrificio romano del suovetaurilia, e cioè di un maiale, una pecora ed un toro.

Influenze sui prodotti carnei

Non poche caratteristiche della carne sono influenzate dalle condizioni in cui l'animale viene portato alla macellazione. Già la tradizione diceva che una buona carne deriva da un animale macellato dolcemente e senza stress. Se un animale arriva al macello dopo un viaggio più o meno lungo ed è affaticato produrrà carni strapazzate di cattiva qualità che dipende soprattutto dalla scarsità di zuccheri (glicogeno), alla quale consegue una cattiva frollatura. Questi animali debbono quindi essere fatti riposare in modo che possano riprendere le loro condizioni

normali e venire macellati in perfette condizioni fisiche. Per questo nei macelli sono presenti delle stalle di sosta per gli animali che hanno fatto lunghi viaggi.

Le carni strapazzate non sono provocate da fantomatiche tossine della paura od ormoni del terrore, di cui è stata evocata la presenza. Precise ricerche hanno dimostrato che gli animali che entrano per la prima volta in un luogo nuovo, e quindi anche nel macello, possono avere un certo aumento della adrenalina (un ormone che svolge la attività in pochi secondi e che comunque non e' attivo per via orale) o di cortisolo, un altro ormone assolutamente naturale e già normalmente presente nelle carni. E' invece ben dimostrato che gli animali stressati hanno muscoli con scarso o niente zucchero (glicogeno) necessario per una buona frollatura delle carni, che quindi saranno inevitabilmente dure. E' quello che avviene per la selvaggina catturata dopo una corsa più o meno lunga, per cui le carni di questi animali necessitano di una lunga e profonda frollatura, sopportano mezzi di conservazione più o meno traumatizzanti come il congelamento lento, sono indicate per cotture lente e prolungate, spesso precedute da trattamenti con vino o aceto.

Tutto il sistema di macellazione, dall'arrivo degli animali al macello, allo stordimento e macellazione, fino alle operazioni che seguono, sono importantissime non soltanto per gli aspetti igienici, ma anche per la qualità della carne. Per questo esiste una legislazione nazionale, comunitaria e mondiale precisa che indica quali sono le caratteristiche dei macelli e come debbono essere eseguite le operazioni di macellazione. A questo riguardo non sono inoltre estranee concezioni religiose ed anche in Italia è ammessa la macellazione rituale seguendo le procedure previste dai musulmani e dagli israeliti per fornire le carni agli osservanti di tali religioni.

Macellazione

Nelle prime 24-48 ore dopo la macellazione dell'animale avviene la frollatura. In linea di massima il tempo di frollatura è tanto minore quanto più alta è la temperatura, ma in quest'ultima condizione vi sono maggiori rischi di contaminazioni microbiche, per cui la frollatura a temperatura relativamente elevata necessita di impianti e condizioni operative di alta igiene. Un esempio di frollatura può essere il

raffreddamento della carcassa tra 0 e +3 gradi centigradi per 1-2 giorni, seguito dal taglio in mezzene o quarti mantenuti per 10-12 giorni tra +2 e +3 gradi ed infine portando per circa 24 ore a +5 - +7 prima del taglio finale e la vendita. Esistono ovviamente modelli di frollatura diversi, in rapporto anche al tipo di animale.

Durante la frollatura ed in rapporto ad una temperatura adatta si svolgono processi importantissimi per la tenerezza e l'aroma della carne. Il fenomeno ancora vitale piu' importante riguarda lo zucchero (glicogeno) che viene bruciato e trasformato in acido lattico.

Con la frollatura le proteine del connettive (in particolare collagene ed elastina) non si modificano sostanzialmente, al contrario delle proteine della cellula muscolare. Anche per azione dell'acido lattico derivato dalla fermentazione del glicogeno, nel muscolo si liberano degli enzimi che iniziano a digerirlo. Da questa pre-digestione dipende in buona parte la tenerezza della carne, ma anche il suo aroma. Infatti si producono molecole di idrogeno solforato, ammoniaca, acetone, acetaldeide, diacetile che, sia pure in minime quantità, contribuiscono ad attribuire il sapore tipico alla carne.

La tenerezza risulta dai cambiamenti cui va incontro la struttura muscolare, anche se a monte e' in buona parte determinata da proprietà intrinseche del muscolo come il tipo di tessitura. La tenerezza e' una caratteristica non facile da oggettivizzare ed è il risultato di numerosi fattori come:

- quantità e qualità del tessuto connettivo
- composizione della carne, tipo di muscolo, quantità di proteine presenti
- quantità ed infiltrazione di grasso
- diametro delle fibre muscolari.

Nonostante non sia molto influenzato dalla frollatura, il tessuto connettivo del muscolo e' molto importante per la tenerezza della carne; strettamente correlato alla tenerezza e' il collagene, non tanto per la quantità nel muscolo, quanto per la sua qualità.

Nell'animale in crescita il collagene subisce un rinnovamento rapido, che diminuisce progressivamente con l'età. Con la maturità dell'animale le fibre del

collagene dimostrano una maggiore forza meccanica che determina una maggiore durezza della carne. Inoltre le fibre connettivali dell'animale maturo comprimono maggiormente le cellule muscolari, con una maggiore espulsione di fluidi ed un conseguente indurimento della carne.

La misurazione della tenerezza della carne può venire eseguita in diversi modi, ma essenziale è il giudizio finale del consumatore.

Per assicurare alla carne la tenerezza desiderata, oltre alla scelta dell'animale - un vitello da' una carne evidentemente più tenera di un manzo, in rapporto anche al tipo di connettivo e soprattutto di collagene - è essenziale che dopo la macellazione siano accuratamente seguiti:

temperatura di conservazione

velocità di raffreddamento

acidità finale.

Uno sbaglio di frollatura può dare carne dura anche da un vitello, mentre una buona frollatura fornisce carni tenere anche da animali maturi e persino anziani.

L'intenerimento della carne può anche essere aumentato con i seguenti interventi artificiali.

Sospensione delle carcasse o mezzene, che provoca uno stiramento muscolare benefico per la tenerezza. Questo metodo è più efficace su alcuni muscoli che su altri.

Stimolazione elettrica delle carcasse, che accelera la fermentazione del glicogeno e quindi una rapida acidificazione e la liberazione degli enzimi necessari per la frollatura.

Utilizzo di enzimi proteolitici, come tripsina pancreatica, papaina, ficina, bromelina; si tratta di un sistema non completamente privo di inconvenienti e quindi non utilizzato nella pratica italiana.

I caratteri organolettici delle carni possono essere riassunti come segue.

COLORE = Dipende in gran parte dal contenuto del muscolo in mioglobina e varia con la specie, età, attività muscolare, tipo di alimentazione, sesso, ecc.

ODORE = La carne di ogni specie animale ha un odore caratteristico bene apprezzabile dopo un certo tempo dalla macellazione. Oltre che dalla alimentazione

e' influenzato anche dal sesso. Determinati alimenti possono fornire aromi graditi od odori sgraditi.

SAPORE = Anche il sapore è caratteristico di ogni specie animale e delle condizioni di allevamento. Le carni di animali di montagna dove sono presenti foraggi aromatiche, sono più gustose. Una buona quota di sapore deriva dai grassi, per cui una carne magra avrà sempre un sapore più tenue di quello di una carne anche mediamente grassa.

GRASSO DI INFILTRAZIONE = Dipende dalla specie, ma soprattutto dalla età e delle tecniche di alimentazione e di allevamento.

ASPETTO DELLA SUPERFICIE DI SEZIONE = Nella superficie di sezione della carne si apprezza soprattutto la grana che può essere:

finissima - vitello, agnello, capretto, suini

fine - vitellone, manzo, equini

grossolana - bue, vacca, toro, pecora, capra

CONSISTENZA = Le carni dei giovani sono meno consistenti e più tenere degli adulti, più o meno dure ed a volte tigliese. Il grasso, ma soprattutto una buona frollatura è indispensabile per avere una carne tenera e saporita.

Caratteri Sanitari delle carni Bovine

Nel lontano passato la carne bovina era scarsa e fornita dai vitelli od al massimo dai buoi grassi; quella degli animali da lavoro o delle vacche, animali più meno anziani, era inoltre di limitata qualità gastronomica e destinata a cotture prolungate (lessi, stracotti, ecc.). In tempi relativamente recenti la produzione di carne bovina si e' sviluppata con il vitellone o manzo da carne di adatte razze, adeguati sistemi di allevamento ed alimentazione, che forniscono una carne adatta anche cotture rapide (griglia, ecc.).

Le eccedenze produttive di taluni alimenti, ad esempio latte bovino, ha portato all'allevamento di vitelli con derivati del latte. Il successo della carne bovina si ha soprattutto dove esistono ampi pascoli, sui quali l'allevamento bovino e' tra i più

redditizi. Questo allevamento si e' inoltre giovato della buona resistenza della carne bovina matura al congelamento, il che ne ha favorito la commercializzazione anche a distanza. Recentemente le carni bovine stanno subendo la concorrenza di quelle suine ed avicole, in un confronto che superano bene, in particolare le carni bovine magre.

TIPI DI CARNI. Sotto l'aspetto alimentare i bovini offrono molti diversi tipi di carni, prodotte da animali di razze diverse ed allevati in varie condizioni. In modo schematico e da un punto di vista nutrizionale bisogna distinguere i seguenti animali, ognuno con carni dotate di particolari caratteristiche.

VITELLO, animale giovane e soprattutto con una digestione monogastrica, con carne tendenzialmente magra, di colorito roseo e grasso bianco, talora con sfumature rosee, quindi carne bianca e con una composizione che risente abbastanza della dieta, costituita prevalentemente da latte o suoi derivati e/o sostituti.

VITELLONE O MANZO, animale di maggiore eta', con una digestione ruminale, allevato al pascolo od alimentato con foraggi freschi od insilati. Ha una carne di colore rosso-rosa intenso oppure rosso ed e' quindi una carne almeno tendenzialmente rossa, con diverso livello di ingrassamento ed una composizione che da un punto di vista qualitativo risente in parte della dieta, ma soprattutto della razza o di taluni trattamenti. Ad esempio con la castrazione (ora di scarso uso in Italia) si aumenta il grasso di deposito e di infiltrazione nel muscolo. Quest'ultimo grasso, a seconda della sua quantita' determina la prezzemolatura o la marezzatura del muscolo.

SCOTTONA o giovane femmina gravida che, per il suo stato ormonale naturale molto abbondante di estrogeni e progesterone, ha un buon sviluppo muscolare ed una elevata tenerezza.

MASCHI ADULTI. Nel BUE più o meno grasso, ora in disuso. Una volta era ottenuto anche da animali recuperati dal lavoro. Nel TORO ed analogamente nella vacca la carne ha un colorito rosso scuro, più intenso nei maschi interi e meno nelle femmine e nei castrati. Il grasso, di consistenza dura, ha sempre un colore tendente al giallo più o meno carico.

VACCA ha una carne simile agli altri bovini adulti che viene destinata soprattutto alla trasformazione, sia di prodotti freschi (ad esempio carni macinate) che più o meno stagionati

ASPETTI NUTRIZIONALI. Le carni bovine offrono una certa varietà di composizioni, in rapporto alla età e stato di ingrassamento dell'animale. Nei quarti posteriori degli animali magri e giovani (vitello e vitellone) il contenuto in grasso e' estremamente ridotto e dell'ordine di quello che si riscontra in altre carni magre. Negli animali più maturi invece la percentuale di grasso tende ad aumentare, ma le loro carni si prestano anche a preparazioni culinarie durante le quali il grasso si riduce.

ASPETTI SANITARI. Gran parte delle carni di vitello e vitellone sono odiernamente prodotte in grandi allevamenti e quindi sotto stretto controllo pubblico, al quale sempre più si affianca un autocontrollo che, in particolare nelle carni garantite, da' un elevatissimo livello di sicurezza. Nei bovini a ruminazione (vitelloni, ecc.) non e' da sottovalutare la funzione protettiva del filtro ruminale nei riguardi degli inquinanti ambientali. I sistemi di allevamento mettono inoltre al riparo dai rischi infettivi e soprattutto parassitari, che invece sono ancora possibile in piccoli e antiquati allevamenti, anche se questi rischi erano e sono totalmente controllati con la cottura. Comunque nei bovini da macello e quindi sottoposti alle visite regolamentari non sussistono apprezzabili rischi sanitari, anche per chi consuma la carne poco cotta od anche cruda.

Razze Bovine italiane da Carne

Chianina

Razza antichissima è allevata in Italia da più di 22 secoli. Autoctona di una fertile pianura dell'Italia Centrale, la Val di Chiana, situata tra la Toscana e l'Umbria, dalla quale ha preso il nome, diffondendosi poi in tutte le province dell'Italia Centrale. Le province in cui è maggiormente rappresentata sono quelle di Arezzo,

Siena, Terni, Rieti, Viterbo e Pisa. Nel secondo dopoguerra, varca gli oceani per raggiungere il Sud America, l'Australia, il Canada, gli Stati Uniti.

E' la più celebre razza da carne bovina italiana, di alta taglia e di lento accrescimento.

Piemontese

E' un'altra celebre razza bovina italiana da carne, soprattutto con la varietà della "doppia coscia" e del vitello "sanato" (castrato) e del bue grasso.

L'area di diffusione di questa razza è limitato ad alcune province del Piemonte e della Liguria (Torino, Cuneo, Alessandria, Asti, Savona), ma la razza è stata diffusa anche all'estero, soprattutto nell'America Latina.

Marchigiana

Dalla regione delle Marche la razza si è diffusa in tutta l'Italia centrale (Marche e Abruzzi), raggiungendo anche regioni del meridione. Dagli anni '70 la Marchigiana è stata esportata in vari paesi, tra i quali Stati Uniti, Canada, Brasile, Argentina, Gran Bretagna, Australia. Attualmente i Paesi del Nord Europa stanno scoprendo le potenzialità della razza, che sembra trovare il favore degli allevatori soprattutto in Olanda.

Maremmana

Attualmente la razza è distribuita nella province di Grosseto, Viterbo, Roma, Terni, Latina, Pisa, Livorno e Arezzo. L'interesse attorno alla razza è andato accentuandosi recentemente, non solo da parte di alcuni allevatori del Meridione d'Italia, ma anche da parte di operatori stranieri, in particolare spagnoli e centro americani, che vedono nella Maremmana il mezzo ideale per la valorizzazione di ambienti particolarmente difficili.

Podolica

La razza Podolica si è diffusa in un areale che comprende prevalentemente le aree interne dell'Italia meridionale peninsulare, (Abruzzo, Basilicata, Calabria, Campania, Molise e Puglia) ed in passato , alcune zone del basso Veneto. Consistenza di 100.000 capi dei quali 25.000 iscritti al Libro Genealogico Nazionale dell'ANABIC, responsabile dello sviluppo e della selezione della razza.

Romagnola

La razza Romagnola ha origini antichissime, derivando dal "bos Taurus macroceros" (uro dalle grandi corna), bovino che ha avuto la sua culla nelle steppe dell'Europa centro-orientale, originando diverse razze simili per costituzione, tipo, mantello, forma della testa e degli altri. Nel IV sec. d.C. le orde barbariche dei Goti guidate da Aginulfo giunsero in Italia con tutti i loro beni, bovini compresi. Una parte di queste popolazioni si insediò nelle fertili terre della Romagna e dai loro bovini ebbe origine la razza Romagnola.

Diffusasi nelle attuali province di Forlì, Ravenna, Bologna, Ferrara e Pesaro, questa razza ha trovato un ambiente favorevole, ricco di foraggi, con un buon clima. Per secoli l'attitudine principale di questa razza fu quella dinamica, per adempiere alla quale, su quelle terre forti e tenaci, occorreva un bovino con anteriore ben sviluppato, struttura solida, arti brevi e robusti. La meccanizzazione e la evoluzione delle tecniche colturali fecero sì che, soprattutto nella seconda metà del XVIII sec., la razza subisse una selezione più indirizzata alla produzione della carne, attitudine incrementata nel tempo e resa elettiva nel bovino romagnolo attuale.

Le caratteristiche morfologiche e funzionali di razza specializzata per la produzione di carne, unitamente ai trascorsi dinamici che ne garantiscono una grande robustezza, hanno posto la Romagnola all'attenzione di allevatori stranieri e, a partire dagli anni '70, la razza è stata introdotta in vari Paesi esteri quali Gran Bretagna, Irlanda, Canada, Stati Uniti, Nuova Zelanda, Australia, Argentina, Messico.

L'equilibrio tra caratteri da carne e caratteri di allevamento, unitamente ad una estrema resistenza in condizioni ambientali difficili ed alla comprovata qualità delle sue carni, organoelettivamente superiori, collocano la Romagnola nel novero delle migliori razze bovine da carne esistenti.

Carne di qualità: fattore per la salute umana

Secondo l'antropologo Marvin Harris (1985) la carne, in tutte le sue amplissime diversificazioni, è Buona da Mangiare. Inoltre lo stesso autore afferma che meno dell'1 per cento della popolazione mondiale si astiene volontariamente da qualsiasi cibo di origine animale, e che meno della decima parte di questo 1 per cento può considerarsi genuinamente e strettamente vegetariano. Il fatto che meno dello 0,1% della popolazione umana sia vegetariana dimostra che l'uomo ha bisogno di carne.

La “fame di carne” è di tipo biologico e di tipo culturale.

Al soddisfacimento della fame di carne un ruolo importante ha, soprattutto nella nostra cultura, la carne bovina.

Il bovino, assieme ad altri grandi ruminanti, in molte culture tra le quali la nostra era in testa alle specie animali che l'uomo ha desiderato e desidera mangiare. Lo testimonia ad esempio il fatto che il simbolo della sua testa è stato scelto per identificare la prima lettera dell'alfabeto. Aleph, da cui alfa, è il termine che identificava l'animale.

Recentemente, a causa della paura, ormai superata della BSE (malattia della mucca pazza) i consumi di carne bovina sono stati sopravvanzati da quelli di carne suina che, tuttavia è mangiata prevalentemente conservata (salumi).

Se si esaminano i consumi di carne fresca, quella bovina è ancora in testa.

Se la carne bovina è buona da mangiare e richiesta dalla nostra cultura, non significa che le idee, ma soprattutto le richieste dei consumatori sul tipo e soprattutto sulla qualità della carne siano rimaste immutate. Anzi, con il passare dei millenni e dei secoli queste si sono modificate, perché influenzate dagli stili di vita umani, ma soprattutto da condizioni antropologiche alle quali, recentemente, si sono associate

condizioni di tipo salutistico e nutrizionale, nel senso più ampio della parola, ma anche culinario, gastronomico, ecc.

In particolare vi è stata una evoluzione delle caratteristiche di qualità che il consumatore richiede alla carne bovina.

Sicurezza della carne Bovina ed importanza del filtro animale

Pur mantenendo le loro caratteristiche di naturalità, gli allevamenti animali sono stati oggi sviluppati riducendo al minimo la competizione alimentare con l'uomo, mentre i sistemi di allevamento sono stati resi sempre più compatibili con il benessere degli animali e l'ambiente.

Di pari passo gli allevamenti sono stati oggetto di una intensa e vasta ricerca che ha riguardato sia la SICUREZZA sia la QUALITA' della carne e che ha fornito risultati particolarmente interessanti, se non rivoluzionari, come ad esempio la scoperta di una attività anticolesterolica della carne magra.

Per SICUREZZA della carne bisogna intendere la assenza di concentrazioni significative di componenti nocive o comunque indesiderate, di tipo infettivo, parassitario, chimico e radioattivo. La sicurezza é una conditio sine qua non che fa della carne un alimento.

Dal controllo di prodotto a quello di processo

Sia per la sanità che per la qualità, l'elevato numero di caratteri da controllare limita la efficacia dei controlli di prodotto al momento della commercializzazione. La sicurezza e la qualità oggi devono invece essere totali, quindi progettate e controllate durante tutta la filiera produttiva attraverso un controllo di processo.

Analogamente ad altri settori che producono merci di pregio (ad esempio orologeria, elettronica, automobilistica), anche nella produzione della carne si sono costituite precise filiere produttive nelle quali al tempo stesso si progetta, si attua e si controlla la produzione di carne sicura e di qualità, in un concetto di qualità totale.

Soltanto il controllo di processo garantisce la qualità totale (sanitaria e qualitativa) della carne, richiesta dal consumatore e permette di produrre la carne in modo ottimale.

Una accurata progettazione di tutta la filiera produttiva, finalizzata alla produzione di qualità in condizioni di assoluta sicurezza, è accompagnata da una completa registrazione delle operazioni produttive. Con opportuni controlli nei punti critici della filiera produttiva, anche secondo il moderno sistema H.A.C.C.P. e della tracciabilità e rintracciabilità, si possono correggere, quasi in tempo reale, eventuali deviazioni dal programma e soprattutto continuamente adeguare il sistema produttivo alle esigenze di sicurezza e di qualità richieste dal consumatore, come dalle autorità sanitarie nazionali e sovranazionali.

Produzione di carne sicura e di qualità

La QUALITA' TOTALE della carne viene oggi prodotta con sistemi naturali ed in particolare i seguenti.

GENETICA opportuna (razze animali specializzate da carne);

ALIMENTI di alta qualità e controllati;

PROGRAMMI ALIMENTARI e TECNICHE DI ALIMENTAZIONI adeguati alla genetica, ma soprattutto al tipo di carne che si desidera, oggi soprattutto magra;

TECNOLOGIE DI ALLEVAMENTO corrette per ottenere carni di alto livello igienico, con il rispetto del benessere degli animali;

PROGRAMMI DI PREVENZIONE ed eventualmente di TERAPIA sicure per l'animale, gli operatori, l'ambiente, ma soprattutto compatibili con la SICUREZZA e la QUALITA' delle carni.

TRASPORTO degli animali, METODI DI MACELLAZIONE, SISTEMI DI MATURAZIONE (FROLLATURA) DELLE CARNI e CIRCUITI DI DISTRIBUZIONE tali da evitare contaminazioni o danneggiamenti delle caratteristiche igieniche e qualitative della carne, ma soprattutto atti a sviluppare e conservare le caratteristiche nutrizionali, dietetiche, culinarie e gastronomiche richieste dal consumatore.

Una molto restrittiva legislazione nazionale ed europea, più severa di altre vigenti in paesi industrializzati, regola in Italia l'uso di farmaci o molecole. Frequenti e molto precisi controlli, sia privati (autocontrollo) che pubblici, sono attuati per evitare loro usi impropri o vietati.

Qualità della carne bovina

La carne bovina possiede un elevato numero di caratteristiche, tra loro interconnesse e ciascuna importante per la determinazione della sua qualità. Questa, inoltre, oggi deve essere intesa come QUALITA' GLOBALE, riguardante cioè la maggior parte possibile di caratteristiche della carne.

La QUALITA' GLOBALE é infatti la presenza, nell'alimento carne, di una serie di caratteristiche che soddisfano le attese espresse od inesprese del consumatore e rendono la carne adatta ai diversi usi ai quali é destinata.

La qualità é la presenza, nell'alimento carne, di una serie di caratteristiche che soddisfano le attese espresse od inesprese del consumatore e rendono la carne adatta ai diversi usi ai quali é destinata. Il consumatore oggi vuole che le carni rispondano alle sue esigenze nutrizionali, dietetiche, culinarie e gastronomiche e che siano apportatrici di salute.

Per questo il consumatore moderno chiede:

carni sane e sicure, anche verso una sempre più vasta gamma di entità solo potenzialmente rischiose od ipotizzate tali;

carni magre, con alto valore nutrizionale;

carni con basso livello energetico ed adatte al suo stile di vita;

carni non solo come alimento protettivo, ma anche come apportatrici di salute;

carni tenere e con caratteristiche costanti, adatte agli attuali stili di alimentazione (cucina);

carni saporite e succulente con elevati valori gastronomici.

Il consumatore oggi vuole che le carni rispondano alle sue esigenze nutrizionali, dietetiche, culinarie e gastronomiche e che siano apportatrici di salute.

E' opportuno ricordare le seguenti principali aree nelle quali si esplica la QUALITA' TOTALE delle carni bovine fresche, quale è percepita e quindi richiesta dal consumatore.

Sanità, intesa soprattutto come assenza di caratteristiche rischiose per la salute del consumatore e soprattutto di concentrazioni significative di componenti nocive o comunque indesiderate, di tipo infettivo, parassitario, chimico e radioattivo.

La Sanità deve essere comunque intesa come un Prerequisito Indispensabile degli Alimenti od una *conditio sine* qua non che fa della carne un alimento. Infatti, se manca la sanità, la derrata non é un alimento. In proposito ed oltre a tutti i controlli di prodotto e di filiera produttiva, bisogna precisare che le carni bovine derivano da animali ruminanti, dotati di un Complesso Pregastrico nel quale avvengono particolari fermentazioni. Queste svolgono una efficace funzione di filtro verso inquinanti e componenti indesiderati di tipo ambientale ed al tempo stesso assicurano agli animali condizioni di naturalità che si riflettono sulle loro carni.

Nutrizionalità, che una volta era soprattutto di tipo energetico (carne grassa), mentre oggi si è attenti soprattutto a quella di tipo plastico (carne magra e con alto valore nutrizionale), dipendente dalla composizione bromatologica dell'alimento.

Salubrità, intesa come presenza di caratteristiche favorevoli alla salute del consumatore (ad es. aminoacidi essenziali, vitamine, minerali sotto forma organica, taluni acidi grassi essenziali, ecc.).

Protezione da squilibri nutrizionali e quindi funzione equilibratrice della dieta.

Attività salutari, di tipo non convenzionale (od extranutrizionale) di diverso tipo, ma soprattutto di tipo dietetico (anticolesterolico), neuro-ormonale, pro-immunitario ed anche psicodietetico.

Da non trascurare inoltre la importanza delle seguenti, ulteriori caratteristiche.

Caratteri organolettici e psico-sensoriali (sapore ed aroma, colore, consistenza, struttura e tessitura, corrispondenza a modelli tradizionali, ecc.). Oggi sono richieste carni bovine tenere e con caratteristiche costanti, adatte agli attuali stili di alimentazione (cucina), ma anche carni saporite e succulente con elevati valori gastronomici.

Naturalità delle carni bovine. Nell'allevamento dei bovini, pur mantenendo elevate caratteristiche di naturalità, sfruttando le fermentazioni ruminali si è ridotto al minimo la competizione alimentare con l'uomo, mentre i sistemi di allevamento sono stati resi sempre più compatibili con l'ambiente. Di pari passo è possibile sviluppare allevamenti che rispettino il benessere degli animali.

Caratteri tecnologici favorevoli, riferiti sia ai processi industriali (ridotto calo del peso durante la frollatura, resistenza all'irrancidimento ed alle variazioni di colore, ecc.) che a quelli casalinghi e gastronomici (retrazione durante la cottura della carne, ecc.).

Sicurezza del prodotto intesa come probabilità di non corrispondenza e relative conseguenze, ad esempio la percentuale di scarti o prodotti non conformi durante la produzione.

Economicità per il consumatore, in un Rapporto Qualità/Prezzo, ma anche per quel che riguarda anche i costi (sia del fornitore che del committente) dipendenti dai fattori sopraindicati, in relazione anche a quelli derivanti dalle non conformità del prodotto.

Nel quadro ora tracciato, nella presente esposizione e dando per scontato tutto quanto riguarda la sanità e la sicurezza della carne bovina, conditio sine qua non bisogna considerare gli attuali aspetti riguardanti il ruolo della carne bovina come apportatrice di energia, fattore di nutrizionalità, alimento protettivo e soprattutto le sue funzioni salutari di tipo dietetico, neuro-ormonale, pro-immunitario e psico-dietetico.

Energia della carne Bovina

Da quando l'uomo ha incominciato a cacciare gli animali, in particolare i grandi ruminanti, tra i quali i progenitori degli attuali bovini, ha sempre preferito le carni grasse, arrivando perfino a rifiutare le carni magre. In proposito un interessante studio antropologico è stato eseguito da Marvin Harris (1985) sulla "fame di carne" che, nella maggior parte dei casi, era "fame di carne grassa", mentre quella magra era

poco apprezzata, se non rifiutata. Da qui anche i miti alimentari del vitello grasso o delle sagre del bue grasso. La preferenza dei consumatori, anzi la loro esigenza di nutrirsi con carni grasse, era totalmente giustificata, se correlata alla necessità che l'uomo nel passato aveva di una alimentazione altamente energetica, per lo stile di vita allora vigente: intenso movimento, lavoro fisico spesso effettuato in ambienti freddi, ecc.

Di pari passo una più o meno elevata quantità di acidi grassi insaturi ed anche di colesterolo nella dieta, a parte il fatto che non era nota e quindi non sollevava problemi psicologici, non provocava inconvenienti, soprattutto perché correlata allo stile di vita di una volta. Vi era infatti una forte attività muscolare, il bisogno di bruciare grassi per la termoregolazione, la vita media era breve ed inoltre nella dieta vi era una sostenuta quantità di fibra alimentare (in generale oltre i 50 grammi al giorno) che come è noto ha una attività anticolesterolica. Per queste finalità inoltre erano particolarmente indicati i grassi di infiltrazione e di deposito, ricchi di acidi grassi saturi.

Nel buon tempo passato la carne grassa era quindi una carne di qualità, in quanto il grasso era richiesto, e giustamente, dal consumatore.

Gli attuali stili di vita, prevalentemente sedentaria e con una longevità media progressivamente crescente, richiedono una dieta con minori quantità di energia e soprattutto con una riduzione nella quantità di grasso, che oggi non deve fornire più del 30% della energia giornaliera. Con un fabbisogno energetico giornaliero di 2500 Kcalorie, i grassi non devono fornire più di 750 Kcalorie, quindi non devono essere più di 80 grammi.

Oggi la carne di bovino magra può contenere il 3% di grasso. E' facile costatare che l'apporto energetico del grasso della carne è trascurabile e quindi perfettamente compatibile con stili di vita sedentaria. Anche carni mediamente grasse, ad esempio con il 10 % circa di grasso, sono ancora perfettamente compatibili con i moderni stili di vita mediamente attiva.

Le carni magre di bovino, come sono oggi prodotte, hanno inoltre grassi strutturali (invisibili a occhio nudo e parte delle membrane delle cellule muscolari)

ricchi di acidi grassi insaturi, dotati come vedremo più avanti di particolari caratteristiche dietetiche.

Attualmente sono di qualità le carni bovine magre, in quanto rispondono alle esigenze nutrizionali (soprattutto energetiche) del consumatore.

Caratteri nutrizionali della carne bovina

Oggi alle carni in generale, ma soprattutto a quelle bovine, vengono richieste caratteristiche particolari di elevata nutrizionalità, con limitati apporti energetici e con caratteristiche tali da farle ritenere apportatrici di salute.

Per nutrizionalità oggi bisogna intendere la somma delle caratteristiche positive di un alimento, con un contenuto di energia adeguato allo stile di vita e quindi, di norma, ridotto. Se si vuole utilizzare una formula applicata alla carne e quindi non considerando gli idrati di carbonio e la fibra, questa potrebbe essere la seguente.

Nutrizionalità uguale alla somma delle proteine digeribili, più vitamine, più oligoelementi biodisponibili, più grassi strutturali, divisa per i grassi di infiltrazione e di deposito.

Secondo questo orientamento le carni magre, con il normale contenuto in grassi strutturali costitutivi delle membrane cellulari e con limitate quantità di grassi di infiltrazione, oggi giustamente preferite dal consumatore, hanno una elevata nutrizionalità, non sempre adeguatamente conosciuta non soltanto dal grande pubblico dei consumatori, ma anche dei medici, nutrizionisti, ecc.

Le carni magre di bovino sono state recentemente oggetto di particolari ricerche che hanno in particolare dimostrato le seguenti peculiari caratteristiche relative alla frazione lipidica, proteica, vitaminica e minerale. Diverse di queste caratteristiche sconfinano in attività che oggi sono considerate di tipo extranutrizionale e che nel loro complesso sono apportatrici di salute.

Frazione lipidica

Nella carne bovina, anche magra, deve essere presente una certa quantità di lipidi. Questi sono indispensabili per gli aspetti gastronomici (tenerezza e soprattutto sapidità: infatti da questi, durante la frollatura derivano gli aromi ed i sapori che fanno buona la carne). Altrettanto importanti sono le loro caratteristiche nutrizionali. In linea di massima non si deve scendere sotto il 3% di grassi.

Ricordando che nella carne magra i grassi sono in gran parte di tipo strutturale e presenti nella membrana delle cellule muscolari, bisogna precisare quanto segue.

I tre grammi circa di grassi strutturali della carne magra contengono circa 1,650 grammi di acidi grassi, in maggioranza costituiti da acido oleico, palmitico, stearico e linoleico (in totale circa 1,400 grammi e circa l'84 % del totale)

L'acido stearico contenuto nel grasso bovino é nell'uomo trasformato nel prezioso e dietetico acido oleico.

L'acido linoleico coniugato contenuto nella carne bovina, anche magra, ha proprietà anticancerogene, antiossidanti e di protezione metabolica, oltre che immunostimolanti.

Nella carne magra di bovino i lipidi strutturali, prevalentemente di membrana, sono ricchi di composti polari, dotati di particolari caratteristiche metaboliche.

Nelle carni magre di bovino sono presenti elevati quantitativi di fosfolipidi, costituiti in prevalenza da fosfatidilcolina.

La carne di bovino magra contiene limitate quantità di colesterolo (mg 60 per etto).

Il rapporto fosfolipidi/colesterolo nel muscolo magro di bovino é di circa 14/1, particolarmente favorevole per la produzione di colesterolo HDL e quindi “buono”.

Recenti indagini attribuiscono alla carne bovina magra, ed in particolare alla frazione lipidica polare una attività ipocolesterolizzante (diminuzione del colesterolo nel sangue).

Frazione proteica

Nella carne bovina magra e di animali relativamente giovani le proteine derivano limitatamente dai tessuti connettivi ed in massima parte dai sincizi cellulari muscolari. In base a questo si deve ricordare quanto segue.

La carne bovina é ricca di aminoacidi essenziali, ma soprattutto di aminoacidi dotati di attività extranutrizionali: arginina e triptofano.

Arginina – Ha un'attività stimolante la produzione dell'ormone della crescita (Somatotropo). Quest'attività giustifica il rapporto tra consumi di carne e l'aumento della statura delle popolazioni umane che hanno incrementato la percentuale di carne nella loro dieta.

Triptofano – Ha un'attività' stimolante la produzione di serotonina. Questa attività giustifica l'azione saziante e tranquillante della carne, anche negli onnivori nei quali la carne è un componente naturale, come avviene per la specie umana.

Nella carne bovina ed in particolare nella frazione derivata dai nuclei delle cellule muscolari sono presenti dei nucleotidi, rappresentati dalle purine, ai quali oggi si attribuisce una importante azione favorente l'immunità e quindi le difese contro le infezioni.

Frazione vitaminica

Diverse sono le vitamine presenti nella carne bovina, in particolare la Vitamina E (Alfa-tocoferolo), le Vitamine B 1 e B 2, la Vitamina PP e soprattutto la Vitamina B 12 e l'Acido Folico con attività positive sulle sintesi proteiche e quindi anche con azione antianemica.

La Vitamina B 12 è inoltre tipica negli alimenti carnei e non è presente nei vegetali.

Nella carne bovina magra e di qualità sono presenti significative quantità di composti antiossidanti naturali, in gran parte collegati alla Vitamina E, che assicura anche un buon mantenimento del colore rosso.

Frazione minerale

Nella carne bovina sono presenti diversi oligoelementi o micro-minerali, ma soprattutto Ferro, Rame, Zinco, Cromo e Selenio. Questi oligoelementi nella carne sono presenti sotto una forma organica, che assicura una buona biodisponibilità ed al tempo stesso una elevatissima tollerabilità. Ne derivano elevate azioni bio-metaboliche.

Ne consegue una ottima attività nutrizionale, che non si riscontra assolutamente per gli stessi elementi contenuti nei vegetali e tanto meno aggiunti alla alimentazione sotto forma inorganica.

Carne bovina Alimento protettivo

La carne, come ogni altro cibo o bevanda, non è un alimento completo. Ogni tipo di carne, particolarmente in rapporto alla percentuale di grasso, ha inoltre particolari indicazioni in riferimento ai diversi stili di vita e soprattutto in relazione al fabbisogno energetico, come sopra indicato.

In dipendenza della utilizzazione delle peculiari caratteristiche nutrizionali della carne, questa ha una serie di importanti, e per certi aspetti insostituibili caratteristiche dietetiche. Queste ultime riguardano diversi aspetti e soprattutto bisogna ritenere la carne un alimento protettivo perché elemento di integrazione ed equilibrio della dieta, anche attraverso la inter-supplementazione degli aminoacidi e l'assorbimento del ferro vegetale.

Carne e protezione alimentare

Una dieta, soprattutto se molto variata, come è giusto che sia, non può mai essere perfetta, ma soltanto approssimata. Questa approssimazione non comporta di norma rischi o pericoli per due ordini di fattori.

L'organismo ha degli importanti meccanismi di auto-regolazione. Importante è l'auto-regolazione nella ingestione del cibo attraverso le sensazioni di fame e di

sazietà. Altrettanto importanti sono le fame specifiche che ad esempio giustificano la fame di carne dettagliatamente studiata nell'uomo da alcuni antropologi, come il già citato Marvin Harris (1985).

Altrettanto importanti meccanismi protettivi derivano dalla presenza, nella alimentazione, di cibi come la carne, con elevata e diversificata nutrizionalità. Questa permette di colmare eventuali lacune o carenze della dieta nel suo insieme. In particolare la carne, come quella bovina, possiede spiccate attività di questo genere e fornisce un'efficace protezione da errori nella nutrizione proteica e nella prevenzione di carenze di talune vitamine, a cominciare dalla B 12, e di taluni oligoelementi minerali (Ferro, Zinco e probabilmente Cromo).

A cavallo tra i meccanismi protettivi endogeni ed esogeni (o alimentari) vi è la accertata attività saziante della carne, oggi ritenuta in buona parte dipendere dal suo contenuto in triptofano, un aminoacido che induce la produzione di serotonina, come sarà oltre esaminato.

La carne bovina quindi è un alimento protettivo, in quanto interviene in modo efficace nella integrazione ed equilibratura della dieta. Quest'attività si sviluppa in modo particolare anche nei riguardi della inter-supplementazione degli aminoacidi e nell'assorbimento del ferro.

Carne ed inter - supplementazione tra aminoacidi

E' ampiamente noto che le proteine sono costituite da aminoacidi, che ogni proteina ha il suo caratteristico spettro aminoacidico e che per una nutrizione ottimale sarebbe opportuno fornire all'organismo gli aminoacidi nello stesso rapporto quali-quantitativo di cui ha bisogno per il suo metabolismo e soprattutto per la costruzione delle sue proteine (azione plastica). Da qui la ricerca e soprattutto la applicazione di fornire, agli animali in allevamento, una dieta che contenga la proteina ideale per il loro fabbisogno.

La proteina ideale, bisogna precisare, viene ottenuta con una adeguata miscelazione di alimenti diversi, eventualmente con opportune integrazioni di singoli

aminoacidi. E' al tempo stesso noto che se si fornisce una alimentazione sbilanciata per i singoli aminoacidi, il suo valore proteico dipende dall'aminoacido essenziale presente in minore quantità (aminoacido limitante) e che gli aminoacidi presenti in eccesso vengono bruciati, dando luogo ad uno spreco proteico, ma anche ad un maggiore impegno metabolico. E' quest'ultimo il caso che si verifica con alimentazioni a base di proteine vegetali.

L'associazione della carne con vegetali, siano essi cereali, leguminose che verdure, porta ad una dieta umana nella quale vi è una inter-supplementazione tra gli aminoacidi dei diversi alimenti, con la possibilità di avvicinarsi alla proteina ideale e soprattutto di ridurre un eccessivo apporto proteico, soprattutto vegetale, che comporta un elevato impegno metabolico.

Carne e ferro

Da tempo è nota l'importanza del ferro, ma solo recentemente si sono andate ampliando le conoscenze relative non soltanto alla fisiologia della carenza di ferro, ma anche alle conseguenze patologiche organiche e comportamentali. Sempre più diffuse ed importanti sono infatti oggi da ritenere le carenze marginali di ferro e soprattutto i riflessi che vi sono sulla salute umana. Pertanto aumenta l'interesse per un efficace controllo delle carenze, non soltanto cliniche, ma soprattutto subcliniche. Queste ultime, almeno in Italia, sembrano interessare circa il 20% della popolazione femminile.

Il ferro necessario viene introdotto nell'organismo con la dieta, attraverso meccanismi di assorbimento che sono sufficientemente noti. Oggi è tuttavia sempre più evidente la importanza che ha, per l'assorbimento del ferro, la forma sotto la quale è presente nell'alimento. Il ferro (di tipo eminico) contenuto negli alimenti di origine animale è molto più assorbibile di quello non eminico presente negli alimenti vegetali. Per questo, il semplice contenuto in ferro dei singoli alimenti non deve trarre in inganno, a causa della molto diversa disponibilità alimentare del metallo. A questo proposito oggi è ben evidente quanto segue.

1. Nei vegetali vi sono quantità di ferro discrete, ma scarsamente utilizzabili, con una bassa quantità finale. Ad esempio nei semi di leguminose secchi (ad es. farina di soia) sono contenuti 80-90 mg di ferro per Kg, con un assorbimento però soltanto di circa il 7% (circa 7-8 milligrammi). In molti altri alimenti vegetali non solo la quantità di ferro presente è molto inferiore (nel mais ad esempio 5 mg/Kg), ma è anche estremamente bassa la percentuale di assorbimento, non raramente dell'ordine dell'1,5-3 % del ferro presente. Ad esempio la quantità di mais assorbito da un kilogrammo di mais è di circa 75 microgrammi.
2. Negli alimenti carnei la quantità di ferro non è soltanto più elevata, ma lo è anche la percentuale di assorbimento, che può arrivare ed anche superare il 20%
3. Analogamente ai prodotti carnei si comporta il latte nel quale le limitate quantità di ferro (circa 50 microgrammi per litro, nel latte di vacca), sono tuttavia assorbite in elevata percentuale, anche perché legate alla Lattoferrina
4. Molto bassa è la percentuale d'assorbimento del ferro dai suoi sali organici. In linea di massima questa va di pari passo con la loro solubilità ed igroscopicità
5. La composizione della dieta determina inoltre la quantità di ferro assorbita e sono state identificate condizioni che facilitano od ostacolano l'assorbimento del ferro. Ad esempio facilitano l'assorbimento del ferro la Vitamina C, ma soprattutto la presenza di alimenti carnei. Ostacolano l'assorbimento del ferro la fibra, i tannini, le fitine ed i fosfati presenti in molti vegetali
6. Numerose condizioni organiche infine interferiscono sull'assorbimento del ferro. Questo è incrementato da una perfetta funzionalità gastrica e da una carenza organica. Ogni patologia gastro-intestinale diminuisce l'assorbimento del ferro.

La carne non solo contiene elevate quantità di ferro, ma questo è sotto forma organica e pertanto con un assorbimento ed utilizzazione elevata, diversamente del ferro contenuto nei vegetali e di quello di composti inorganici. Recenti indagini indicano che in una dieta mista, con contemporanea presenza di carne e vegetali, la prima aumenta l'assorbimento anche del ferro contenuto nei vegetali.

Ne consegue che la presenza di carne nella dieta è un valido, se non indispensabile contributo per controllare le carenze di ferro marginali che, come vedremo oltre, hanno una notevole importanza sulla immunità ed il comportamento.

Carne e colesterolo

La questione colesterolo sta rapidamente cambiando soprattutto per il ruolo della alimentazione.

La ricerca scientifica, infatti, dopo aver determinato la quantità di colesterolo nei diversi cibi e le sue modificazioni durante i processi di cottura, sta individuando nei diversi alimenti delle interessanti attività anti-colesterolo e tra questi vi è anche la carne di bovino magra. Una parte di queste nuove conoscenze deriva dalle ricerche che sono state eseguite per ottenere uova e carni con basse quantità di colesterolo.

E' noto che l'organismo umano ogni giorno ha bisogno di una certa quantità di colesterolo, che per le persone adulte viene stimata in circa 2.500 milligrammi. Tuttavia il fabbisogno di colesterolo è variabile e, ad esempio, aumenta durante l'accrescimento e con l'attività fisica.

Nelle persone sane vi sono precisi meccanismi di adeguamento ai bisogni e di controllo. Il colesterolo è quindi presente nel sangue anche di persone che sono strettamente vegetariane e ne introducono molto poco. Inoltre, se nella alimentazione vi è molto colesterolo, ogni persona sana ne fabbrica poco e solo nella misura per coprire le sue necessità. All'opposto, una persona sana ne produce molto se la alimentazione è povera di colesterolo. Questi meccanismi di controllo dipendono anche dalla genetica e possono quindi giustificare particolari situazioni familiari.

Oggi si ritiene che la dieta sia molto importante per quanto riguarda la quantità di grassi, che determinano i trigliceridi del sangue, e molto meno per il colesterolo.

Se questo è elevato nel sangue, bisogna ritenere che vi sia uno sregolamento del metabolismo e che dev'essere curato con farmaci specifici.

Come norma prudenziale, si é stimato che il colesterolo presente nell'alimentazione non dovrebbe superare i trecento milligrammi, lasciando fare all'organismo per la restante quantità necessaria. Tuttavia, in una persona sana questo quantitativo può essere anche largamente superato senza danni, in quanto vi sono i già citati meccanismi di controllo e perché in una dieta equilibrata e corretta dovrebbero essere presenti alimenti che naturalmente sono dotati di attività anticolesterolo, come la carne di bovino magra.

Per la citata esistenza di meccanismi di autoregolazione del colesterolo nel sangue e di alimenti anticolesterolo non bisogna stupirsi se molte persone od intere popolazioni stanno benissimo anche con quantità alimentari di colesterolo molto superiori a quelle ritenute regolari. In taluni casi si é anche parlato di paradossi.

Ad esempio vi é il paradosso francese di una popolazione che ha una dieta con quantitativi di colesterolo medio-alti, mentre la media di colesterolo nel sangue si mantiene normale. I francesi sono buoni mangiatori di carne di bovino e di vino rosso, che contenendo il resveratrolo ha un'azione anticolestreolo.

La carne magra di bovino alimento anticolesterolo

Ricercando le origini di paradossi alimentari, oltre ai citati meccanismi di regolazione del colesterolo, si é potuto stabilire quanto segue.

1 - Non tutto il colesterolo presente nella dieta viene utilizzato, in quanto alcuni alimenti ne ostacolano l'assorbimento (attività anticolesterolo indiretta).

2 - Alcuni alimenti hanno delle attività anticolesterolo dirette. Tra questi alimenti vi é anche la carne bovina magra.

Pertanto, più che il colesterolo presente in questo o quell'alimento é importante la dieta nel suo insieme e cioè come questa é costituita e se contiene anche alimenti con attività anticolesterolo diretta od indiretta.

Recentemente, inoltre, vi sono state ricerche che stanno cambiando le nostre idee sul ruolo dei grassi.

Si riteneva, e fino ad oggi ancora molti ritengono, che gli acidi grassi saturi siano cattivi e quelli insaturi buoni. Una distinzione comunque che aveva diverse eccezioni, la più importante quella dell'acido stearico (satturo e quindi cattivo) che nell'organismo umano viene trasformato in acido oleico (insatturo e pertanto buono). Pertanto i grassi presenti nella carne bovina magra, prevalentemente insaturi ed in quanto lo stearico viene trasformato in oleico, non sono quindi da ritenere cattivi e controindicati, ma anzi sono favorevoli per una buona nutrizione.

Le ricerche, eseguite presso il Dipartimento di Biochimica e Biofisica della Facoltà di Nutrizione della Stazione Sperimentale d'Agricoltura del Texas (U.S.A.), e guidate da Barbara C. O'Brien, tendono a fare un'altra distinzione, secondo la quale gli acidi grassi vengono distinti in polari e non - polari.

Gli acidi grassi polari e quindi facilmente solubili e metabolizzabili sono buoni ed abbassano il colesterolo. Gli acidi grassi polari si trovano soprattutto nelle cellule, in particolare nella loro membrana, e sono una caratteristica delle carni magre, in particolari della carne bovina magra.

Gli acidi grassi non – polari, invece, soprattutto se di tipo saturato, tendono ad innalzare il colesterolo. Gli acidi grassi non polari sono concentrati soprattutto nei grassi di deposito, ad esempio nel sego bovino, che soprattutto oggi viene eliminato dalla nutrizione umana e destinato soltanto ad usi industriali.

A causa del diverso contenuto in acidi grassi polari o non - polari vi sono delle diete che, indipendentemente dal loro contenuto in colesterolo, non provocano un suo innalzamento nel sangue, anzi lo abbassano, o lo innalzano con le consecutive cattive conseguenze.

Per questo, la carne bovina magra, oggi assume un rilevante ruolo di alimento anticolesterolo, che tuttavia deve essere adeguatamente utilizzato attraverso una dieta equilibrata e quindi corretta, con una giusta quantità di energia, fibra alimentare, ecc.

In proposito, e per quanto riguarda la carne bovina, è opportuno che quest'ultima sia di tipo magro.

Nelle carni magre ed in particolare in quelle bovine sono contenuti i benefici acidi grassi polari, oltre che le lecitine ed i fosfolipidi che hanno potenti attività anticolesterolo. Sono invece da evitare o ridurre l'uso di grassi di deposito, quali il sego bovino, che contiene acidi grassi non - polari.

Nella dieta dovrebbe anche esistere una elevata quantità di lecitine e composti analoghi, che portano alla produzione di colesterolo HDL e quindi favorevole. In una dieta equilibrata le lecitine dovrebbero avere un rapporto di almeno 10:1 con il colesterolo. Nella carne bovina magra questo rapporto è ancora più favorevole ed è di circa 14:1

La già citata ricercatrice Barbara C. O'Brien ha dimostrato che gli acidi grassi polari contenuti nella carne bovina magra hanno una significativa attività anticolesterolica.

In una dieta che tenga conto anche della colesterolemia, la carne magra deve essere consumata almeno a giorni alterni o, meglio, cinque volte alla settimana, ogni volta almeno un etto di cibo effettivamente mangiato.

Non si può tuttavia dimenticare che la efficacia di una qualsiasi dieta, soprattutto nei riguardi del colesterolo, dipende dalla quantità totale di grassi e da un corretto equilibrio con l'età, lo stile di vita (attività fisica!) e, non da ultimo, anche dal patrimonio genetico di ogni individuo. La dieta corretta per un giovane in accrescimento che fa una sostenuta attività fisica, deve essere diversa da quella di un anziano che svolge una vita sedentaria. Le persone infine che hanno problemi di salute e soprattutto malattie metaboliche devono avere una dieta adeguata, che soltanto il medico può esattamente indicare.

Carne bovina e immunità

Che tra la alimentazione e la difesa contro la malattie vi sia uno stretto legame é certo, ma non é ben chiaro come questo si svolga. Al più é chiaro che si tratta di un legame molto complesso e che coinvolge numerose componenti. Una volta si dava un particolare peso alle vitamine ed anzi una, la vitamina C, era stata denominata

vitamina antinfettiva: non che fosse falso, ma la sua azione contro le malattie infettive non é molto elevata e soprattutto riguarda soltanto una parte di queste. In modo analogo, si é rilevata la importanza per una buona immunità della quota proteica alimentare ed in particolare di taluni aminoacidi, ad esempio la metionina, e dei grassi presenti nella dieta, tra i quali soprattutto alcuni acidi grassi, come il linoleico. Da un certo periodo di tempo si é costatata anche la notevole importanza che nella difesa contro le malattie infettive hanno taluni minerali e tra questi si é stabilito un ruolo di primo piano del Ferro, dello Zinco e del Cromo.

Sempre più complesse associazioni di vitamine, aminoacidi, acidi grassi e minerali vengono proposti per stimolare le risposte immunitarie antinfettive, ma i risultati non sono ancora completamente soddisfacenti. Una risposta viene dalla recente scoperta del ruolo che hanno, per la difesa immunitaria, dell'acido linoleico coniugato (noto anche come ALC), dei nucleotidi, oltre che del ferro, dello zinco e del cromo alimentari, tutti fattori presenti nella carne bovina.

Nell'uomo il rapporto positivo tra la presenza della carne nella alimentazione e la difesa contro le malattie, in particolare quelle infettive, sia pure nebulosamente era stata vista da tempo. In tempi a noi relativamente più vicini si era accertata la relazione tra una buona alimentazione, comprendente anche la carne, ed una migliore difesa contro la tubercolosi. Più recentemente si sono avuti risultati che hanno chiarito in modo più soddisfacente i rapporti positivi tra la presenza della carne in una alimentazione corretta ed equilibrata e le difese antinfettive.

Acido linoleico coniugato (ALC) della carne

Recenti ricerche hanno dimostrato che quando il Sistema Immunitario viene stimolato da una infezione od anche da una semplice vaccinazione, vi sono modificazioni del metabolismo (febbre, riduzione dell'appetito, perdita di proteine e soprattutto di quelle muscolari) che fanno calare di peso, mentre nei bambini e nei giovani vi é anche una riduzione dell'accrescimento corporeo. Una delle cause che negli ultimi cinquanta anni, nei paesi sviluppati, ha indotto un aumento della statura media della popolazione senza dubbio é stata la riduzione degli attacchi infettivi,

associata però ad una alimentazione capace di contrastare gli sfavorevoli effetti metabolici conseguenti alla stimolazione del sistema immunitario.

Studi eseguiti presso il College of Agricultural & Life Sciences della Università del Wisconsin-Madison (USA), dimostrano l'importanza dell'acido linoleico coniugato (ALC), un acido grasso contenuto in particolare nella carne bovina, nella prevenzione del calo di peso da infezioni e da stimolazione del sistema immunitario.

L'ALC era noto per le sue attività anticancerogene e le sue proprietà antiossidanti. La recente scoperta che l'ALC ha una azione di protezione metabolica in caso di infezioni, vaccinazioni e stimolazione del sistema immunitario non solo è sorprendente, ma permette importanti applicazioni al tempo stesso efficaci e sicure, non solo terapeutiche, ma anche preventive. Infatti, la somministrazione dell'ALC non modifica la risposta immunitaria, ma anzi la aumenta.

Per meglio valutare la importanza delle azioni dell'ALC bisogna ricordare che la stimolazione del sistema immunitario non è un evento raro od occasionale, ma molto frequente, al di fuori delle citate vaccinazioni e delle malattie infettive più o meno gravi. Tutti e continuamente siamo aggrediti da microrganismi trasmessi da altre persone od ambientali, oppure da molecole alimentari che stimolano il sistema immunitario. Anzi, se stiamo in buona salute, è perché il nostro sistema immunitario risponde continuamente agli attacchi esterni.

Fino ad ora, in caso di infezioni ci si limitava a dare una alimentazione leggera e nutriente, al più integrata da vitamine con dirette od indirette attività antinfettive od immunostimolanti, come le vitamine C, A ed E. Ora, invece, con l'ALC, senza dover ricorrere a medicinali particolari, si può effettuare un'alimentazione mirata che ovviamente si associa a quella generica sopra citata.

L'ALC è un composto naturale, molto diffuso negli alimenti prodotti dai ruminanti come il latte ed i latticini e la carne bovina. In quantità minori presenti nella carne di maiale e di polli. Le quantità di ALC necessarie per ottenere gli effetti desiderati sono dell'ordine di pochi grammi al giorno, una quantità che può essere

ottenuta con una dieta che contenga buone quantità di carne di bovina. Le stesse quantità esercitano anche una buona azione antiossidante ed anticancro.

Uno dei più interessanti usi dell'ALC riguarda la malnutrizione dei bambini.

Le odierne conoscenze sull'ALC rivalutano completamente la importanza della carne bovina nella alimentazione umana, in particolare nei bambini e giovani, come negli anziani, per la sua attività appetitogena, ricostituente in corso di infezioni, oltre che preventiva dei tumori ed antiossidante.

Le recenti conoscenze sull'ALC permettono di rivalutare una pratica ricostituente tradizionale, quella del buon brodo di carne bovina. Una volta, questo alimento, ottenuto con immissione della carne fredda e non salata e portata lentamente a bollore, in modo da ottenere la fuoriuscita delle frazioni solubili e tra queste anche dell'ALC, era una componente essenziale della alimentazione degli ammalati.

Fino ad ora si riteneva che l'attività appetitogena e ricostituente del brodo fosse dovuta all'azione gastrotonica dei peptoni. Oggi, invece, in particolare per il brodo mediamente grasso, è da considerare il suo apporto in ALC. Ovviamente, questa caratteristica è scarsa per il brodo di carni diverse da quelle bovine ed è assente nei brodi "artificiali" e vegetali.

L'aumento di consumo di carni, soprattutto bovine, provoca un aumento della statura media di una popolazione umana anche per l'apporto d'ALC, oltre che dell'aminoacido arginina. Un fenomeno, quello dell'aumento della statura media, che si è osservato in modo estremamente evidente anche in Italia.

Per le sue caratteristiche di antiossidante naturale si pensa di utilizzare l'ALC anche come conservante di alimenti carnei, in luogo di antiossidanti di sintesi.

Carne bovina e comportamento (psicodietetica)

Comportamento e dieta sono oggi collegati nella Psicodietetica. Un antico proverbio cinese dice che "l'inizio della saggezza è nel chiamare le cose con il loro giusto nome". Con il termine di psicodietetica indicano i rapporti che esistono tra la alimentazione (dieta) e la psiche, anche nelle manifestazioni di comportamenti.

Psicodietetica

Per lungo tempo si è ritenuto che il Sistema Nervoso Centrale (SNC) ed il cervello in particolare, pur avendo un diritto di prelievo di ossigeno e glucosio e risentendo di squilibri ionici e di pH del sangue, non avessero particolari esigenze alimentari. Si concludeva pertanto che, almeno in condizioni normali, il funzionamento del SNC fosse largamente, se non totalmente indipendente dalla alimentazione.

Oggi si è però accertato che l'alimentazione e soprattutto la qualità delle proteine (quindi particolarmente importante è la carne), gli equilibri alimentari e nutrizionali", nonché la modalità d'introduzione degli alimenti (numero e ritmo dei pasti, ecc.) possono influenzare il SNC ed il sistema ormonale, anche al di fuori delle caratteristiche plastiche ed energetiche degli alimenti.

Nell'ambito di quanto ora considerato da un punto di vista generale, è utile accennare ad alcuni aspetti comportamentali nei quali si sono viste importanti partecipazioni nutrizionali ed in particolare la aggressività ed il controllo della fame.

Un futuro pieno di passato

Le particolari caratteristiche nutrizionali della carne bovina magra si associano ad importanti attività di tipo extranutrizionale. In particolare è sono la sottolineare:

1. azioni positive sul metabolismo e soprattutto la attività anticolesterolica
2. positiva modulazione immunitaria
3. gradite influenze sul comportamento, anche in ambito di psicodietetica.

La carne di bovino magra non è soltanto un alimento protettivo come la si considerava nel passato, ma oggi deve essere considerata un alimento portatore di salute.

Nella carne di bovina magra si riscontra una spiccata convergenza delle richieste di tipo nutrizionale con quelle di tipo culinario-gastronomico.

La carne è l'alimento di origine animale per antonomasia e per il quale si nutrono i maggiori timori, anche in una posizione di amore ed odio che viene a volta vissuta come un conflitto.

Per carne, in senso stretto, si intende il muscolo degli animali: carne bovina, suina, di pollo ed anche di pesce. In senso lato talvolta si comprendono anche i visceri (meglio definiti come frattaglie), il grasso ed anche le trasformazioni, ad iniziare dai salumi.

Sotto l'aspetto della sicurezza, che qui maggiormente interessa, è indubbio che bisogna partire degli animali che producono le carni di cui ci alimentiamo.

Soprattutto oggi la sicurezza delle carni è un problema di filiera e non soltanto di prodotto. Un concetto questo che va qui ribadito e precisato, dopo aver ricordato come siano cambiate le nostre esigenze di sicurezza delle carni.

Un tempo la quantità di carne a disposizione della popolazione italiana era poca. All'inizio del secolo i consumi lordi, contenenti anche ossa, grasso, ecc., erano attorno ai 16 chilogrammi annui (ora siamo ad oltre 80) e spesso le carni erano di ricupero: mentre il bue grasso ed il vitello erano per pochi, si mangiavano anche animali vecchi ed ammalati o che avevano subito incidenti. Le carni di disgrazia erano anche denominate di "bassa macelleria".

Alla situazione tutt'altro che idilliaca, per gran parte della popolazione ed ora accennata, si poneva rimedio, per quanto riguardava la sicurezza, cuocendo e ricuocendo tutto: bolliti, stracotti, intingoli, ecc. Il calore prolungato e ripetuto distruggeva tutti i batteri, virus e parassiti presenti nelle carni e metteva al riparo da infezioni di origine alimentare.

E per i rischi di inquinamento o contaminazione chimica o ambientale che non sono controllate dalla cottura, come ci si comportava? Non si faceva niente, per il semplice fatto che non si conoscevano od al riguardo si avevano idee diverse dalle attuali.

Oggi, invece, si esige, ed abbiamo, non soltanto una sicurezza di prodotto e cioè della carne in sé, ma anche di filiera e cioè di come viene prodotta la carne stessa. La sicurezza della carne deriva cioè da come gli animali sono allevati, nutriti, protetti da malattie ed infezioni, curati con medicinali, trasportati al macello, sezionati e lavorati, fino a quando le carni arrivano alla macelleria e poi in cucina e da qui al piatto del consumatore. Esiste quindi una stretta rete di sorveglianza e di controlli di come gli animali sono allevati e nutriti, dei farmaci usati, e via via fino al banco di vendita delle carni e delle cucine collettive (ovviamente non di quelle familiari...).

Un sistema, quello ora tratteggiato, che ha portato la sicurezza delle carni ad un altissimo livello, ma che, per i controlli che vengono eseguiti, ha anche individuato talune situazioni negative e quindi, in modo quasi paradossale, ha fatto sorgere paure, peraltro in generale ingiustificate, quando non strumentalizzate a fini diversi, anche ideologici e politici, che arrivano a vere e proprie diffamazioni.

Tipico è il caso degli ormoni che soprattutto in Italia, lo si è già detto, sono vietati e tenuti sotto strettissimo controllo, sia con la sorveglianza degli allevamenti che, e qui viene il punto delicato, con una serie di controlli analitici. Nel 1998 in Italia, secondo dati forniti dal Ministero della Sanità e già citati, sono stati eseguiti 16.075 analisi per la ricerca di sostanze ormonali nei bovini, suini, polli e altri uccelli, selvaggina, particolarmente incentrati sui bovini (15.016 campioni). Solo nei bovini 25 esami (0,16%) sono risultati positivi, ma per sostanze ormonali naturali. E'

infatti da ricordare che gli ormoni sono una componente normale degli animali, come dell'uomo, e che gli ormoni naturali non sono comunque assorbibili dall'apparato digerente.

I dati, ora riportati come esempio, sono assolutamente tranquillizzanti, ma possono venire mal interpretati, non tenendo conto che nelle carni esistono, anzi debbono esistere, ormoni "naturali".

Un'altra frequente strumentalizzazione è quella di sfruttare soltanto i risultati "positivi" che vi sono di tanto in tanto, gridando allo scandalo, dimenticando che, sotto un certo punto di vista, sono "necessari", in quanto indicatori dell'efficienza del sistema di controllo.

I risultati positivi, che devono venire adeguatamente divulgati e non nascosti, sono estremamente importanti per indicare che sulla sicurezza alimentare, e delle carni in particolare, non si abbassa la guardia, ma non si deve dimenticare che nella massima parte dei casi, un risultato positivo non costituisce un diretto e significativo rischio per la salute pubblica, per la semplice ragione che un eventuale rischio non solo è una questione di dose, ma anche di reiterazione delle dosi stesse nel tempo.

Nell'ambito della sicurezza delle carni non bisogna sottovalutare il recente e sempre più diffuso passaggio dalle "carni anonime" alle "carni firmate" e cioè quelle carni che vengono vendute con l'indicazione del produttore che, ovviamente, si assume anche la responsabilità non solo della loro qualità, ma anche della loro sicurezza, in un sistema di "autocontrollo".

Un tempo la filiera di produzione della carne era corta e sotto diretto controllo. Quando ogni famiglia di contadini allevava, macellava e mangiava il proprio maiale, ne conosceva vita, morte e miracoli (non conoscendo ad esempio i rischi di infezioni latenti o di parassitosi!!). Il macellaio che sceglieva al mercato il manzo, lo seguiva al macello e ne lavorava le carni, agli occhi dell'acquirente era anche garante della qualità e della sicurezza.

Oggi la filiera di produzione delle carni è lunga e complessa, ma si sono formate e sviluppate strutture di controllo interne (autocontrollo) che sono già completamente operanti per certi settori, come l'avicolo e del maiale pesante, e sono in fase di completamento per altri settori, come quello delle carni bovine, anche per

rispondere a normative dell'Unione Europea sulla totale tracciabilità delle carni (possibilità di risalire, dalla bistecca all'allevamento del manzo ed alla sua alimentazione).

Lungo la filiera ed in ambito di autocontrollo vengono eseguiti interventi nei punti di maggiore importanza o "punti critici", in ambito del sistema noto come HCCP, sempre più usato, tanto da divenire una norma. Una filiera produttiva ben strutturale e con un proprio autocontrollo è inoltre la migliore condizione per attuare controlli ufficiali da parte dell'ente pubblico. Facendo un esempio, quanto migliore è il sistema di contabilità di un'azienda, tanto più semplici ed efficaci sono i controlli della finanza ed è anche per questo che sono necessari libri contabili ufficiali.

Il moderno sistema di produzione delle carni assicura non solo quantità, ma anche sicurezza, che non è soltanto di prodotto, ma soprattutto di sistema.

Pregiudizi e luoghi comuni

Da quando è divenuta abbondante, attorno alla carne si sono sviluppate delle paure, a volte divenute vere e proprie leggende metropolitane, favorite anche dalla diffusa ignoranza, da parte della maggioranza dei cittadini, circa le pratiche agricole e l'allevamento degli animali. Talvolta si è anche associata una inconscia paura dell'ignoto e soprattutto del nuovo.

Le paure sulla carne oggi possono essere tranquillamente ridimensionate ed in gran parte sfatate, come le leggende metropolitane, che derivano da fraintendimenti od eccessive semplificazioni di problemi spesso complessi, da una impropria ricerca scandalistica o dalla diffusione di notizie imprecise, quando non vi è il preciso intendimento di criminalizzare un alimento, la carne, anche a vantaggio di altri. Questo per motivi ideologici, interessi di mercato od uno scandalismo alimentare, verso il quale sogliono indulgere alcuni giornali.

La bistecca agli antibiotici

Come è già stato chiarito, gli antibiotici ed altri farmaci vengono usati nella cura degli animali ammalati: perché lasciarli morire di malattia? Veterinari ed allevatori che curano gli animali cercano di usare la minima quantità possibile di antibiotici e farmaci, che hanno un costo sensibile e non sono regalati da nessun ente statale. Quando un animale è curato con antibiotici o farmaci non può essere macellato e si lascia passare un certo periodo di tempo, durante il quale l'animale elimina completamente il farmaco ed ogni suo residuo, per cui le carni tornano ad essere "pulite". L'assenza di significative quantità di antibiotici e farmaci nelle carni è accuratamente controllata dalle autorità pubbliche. Le carni prodotte da grandi complessi agro-industriali (carne di marca o vendute con un marchio) sono inoltre auto-controllate dai produttori, fortemente interessate a non incorrere in incidenti e quindi in scandali che comunque andrebbero a ledere la propria immagine.

Carni estrogenate

La questione degli ormoni è complessa. Il non uso e quindi anche la completa assenza di composti vietati o comunque non autorizzati nelle carni è accuratamente controllata dalle autorità pubbliche. Le carni prodotte da grandi complessi agro-industriali (carne di marca o vendute con un marchio) sono inoltre auto-controllate dai produttori, come sopra ricordato. Il fatto che su centinaia di migliaia di indagini, di tanto in tanto vi sia qualche caso, anche soltanto sospetto, è la migliore prova della efficacia dei controlli.

La carne d'oggi

Il termine di allevamento intensivo dovrebbe essere sostituito con quello di allevamento specializzato. L'elevata efficienza degli allevamenti specializzati deriva da una adeguata genetica degli animali, una corretta alimentazione, un buon sistema di allevamento che comprende anche un elevato livello del benessere e della salute animale. Da un punto di vista nutrizionale le carni oggi prodotte negli allevamenti specializzati non sono sostanzialmente diverse, ma migliori e cioè più adatte al

consumatore di quelle di una volta, proprio perché meno grasse. In modo analogo è per gli aspetti sanitari. Per quanto riguarda l'aspetto gastronomico ogni tipo di carne è adatto ad un certo tipo di cucina e per la preparazione di una determinata ricetta o piatto.

La bistecca transgenica

Fino a che le biotecnologie erano lontane erano viste nei loro aspetti positive, ma quando si avvicinano sollevano dubbi e perplessità, se non paure più o meno strumentalizzate. La leggenda metropolitana di maiali e mucche transgeniche non ha una base reale e se domani questo potrà avvenire, molto difficilmente lo sarà per gli animali alimentari. Se non esiste una bistecca biotecnologica od un latte alimentare biotecnologico, esistono invece sistemi di diagnosi e di produzione di farmaci che sfruttano biotecnologie, analogamente a quanto è avvenuto per la produzione della insulina usata nell'uomo.

Mangiamo troppa carne

Ogni italiano, si dice, mangia in media oltre ottanta chilogrammi di carne per anno: una affermazione basata sui dati forniti dall'Istituto Italiano di Statistica (ISTAT) e quindi veri, ma al tempo stesso errati. L'errore sta nel non precisare che l'ISTAT considera come carne quello che esce dal macello e quindi le mezzene di bovini, suini ed altri ruminati, cavalli, pollame ecc., comprendendo ossa, tendini, grasso e per i maiali anche la pelle, ecc. Il muscolo e cioè la carne vera e propria è soltanto una parte e neanche la maggiore. In realtà, come confermano anche le indagini riguardanti gli effettivi consumi di carne degli italiani, questi non superano i 100 grammi per giorno e più probabilmente si aggirano sugli 80 grammi giornalieri, fornendo in media da 20 a 16 grammi di proteine, una quantità al limite minimo per una corretta ed equilibrata nutrizione. Gli italiani quindi non mangiano troppa carne, anzi vi è ancora il rischio che almeno una parte di coloro che abitano in Italia ne mangi poca.

Le tossine della paura

Di tanto in tanto si sente parlare di gli animali che quando vengono portati al macello hanno paura, per cui le loro carni conterebbero non meglio precisate tossine della paura. Se al riguardo ci si riferisce ad ormoni quali la adrenalina od i glicocorticoidi, che aumentano nello stress, si deve precisare che possono essere presenti, ma in quantità talmente basse da essere assolutamente trascurabili; inoltre tali ormoni non sono assorbiti dall'intestino. Oggi le pratiche della macellazione sono inoltre regolate da precise norme che riguardano la eliminazione di ogni inutile sofferenza, che prevedono lo stordimento od una narcosi (con gas od altri metodi) preventiva. Le fantastiche tossine della paura o dello stress, non si sa che cosa siano e comunque hanno tutte le caratteristiche immaginifiche, ma non vere, delle leggende metropolitane.

Intossicazione da carne

A più riprese è stato affermato che la carne intossica e che nell'intestino produce non meglio precisati veleni, portando quasi come una prova la stitichezza che può comparire mangiando troppa carne. I supposti od immaginati veleni della carne sarebbero poi particolarmente dannosi per il rene ed il fegato. La situazione vera è che la carne non è un alimento completo e deve essere inserita in una alimentazione equilibrata, accanto ad idrati di carbonio (soprattutto amidi complessi), ma soprattutto fibra alimentare, che nella alimentazione umana dovrebbe essere presente nella quantità di 25, meglio 35 grammi giornalieri. Una dieta squilibrata e soprattutto carente di fibra, più che l'abbondanza di carne di per sé, può causare stitichezza con sfavorevoli conseguenze sul fegato e rene. In giusta quantità ed in una dieta equilibrata la carne apporta aminoacidi e principi nutrizionali (ad iniziare dal ferro e dalla Vitamina B 12) non solo favorevoli, ma necessari al fegato ed al rene.

La carne cancerogena

La strana idea che la carne possa essere cancerogena nasce dalla osservazione che nei popoli che hanno una alimentazione molto abbondante di carne, vi è anche una maggiore incidenza di tumori, soprattutto al grosso intestino. Non si considera la dieta nel suo insieme e soprattutto che la maggiore incidenza dei tumori intestinali si correla con una anomala scarsità di fibra alimentare.

La tradizione, ma anche gli stili alimentari prevalenti che non hanno abbandonato la carne, anzi la privilegiano, confermano l'importanza della carne, opportunamente utilizzata, per una buona nutrizione e la salute del consumatore.

Il benessere animale

Tra gli studiosi della materia non c'è accordo su cosa debba intendersi per benessere animale. Il concetto appare ancora in evoluzione come si può capire dalle definizioni dei primi anni 80, secondo cui l'animale doveva godere di adeguato comfort (fisico, ambientale, termico) per poter manifestare l'assenza di malattie ed un comportamento soddisfacente consono alle esigenze naturali della specie. Il concetto ha subito una evoluzione negli anni 90 cominciando a definire cinque gradi di libertà:

1. dalla sete, dalla fame, dalla malnutrizione
2. dal disagio
3. dal dolore e dalle malattie
4. di esprimere le caratteristiche comportamentali della propria specie
5. dalla paura e dall'angoscia (FAWC: Farm Animal Welfare Council del Regno Unito, 1993).

Come appare facilmente alcune condizioni sono facili da rispettare quali il corretto apporto di alimenti e bevande, la prevenzione e la cura di alcune malattie, di traumi mentre altri sono tipiche della specie considerata o sono difficili da misurare (quali la percentuale di tempo trascorsa al pascolo oppure il grado di paura provato nei confronti di un agente esterno).

Dovere dell'allevatore biologico sarà quello di garantire per ogni specie allevata le condizioni minime di benessere dettate dalla costruzione di ambienti idonei e proporzionati al numero di capi, disponibilità di alimenti e acqua, gestione appropriata del microclima e delle operazioni quotidiane e saltuarie.

Le strutture aziendali

La stabulazione dei bovini deve rispondere alle esigenze comportamentali e deve offrire una superficie adeguata per dormire, nutrirsi e spostarsi, oltre a fornire adeguata illuminazione.

Le stalle fisse (in deroga sino al 2010) o libere devono possedere un'adeguata insolazione, aerazione e riscaldamento per favorire la circolazione dell'aria, mantenere bassi i livelli di polvere e garantire livelli non nocivi di umidità relativa e concentrazione di gas.

Le aree di riposo all'interno dei locali di stabulazione devono essere confortevoli, di facile pulizia e poste su pavimento compatto. Ai bovini andrà sempre garantita una lettiera ampia, asciutta e ricoperta di paglia o di altri materiali vegetali.

I fabbricati, i recinti, le attrezzature e gli utensili devono essere puliti e disinfettati per evitare la contaminazione e la proliferazione di organismi patogeni. Le feci, le urine e i residui di alimenti devono essere rimossi con la necessaria frequenza, al fine di limitare gli odori ed evitare di attirare insetti o roditori.

Tutti i bovini devono sempre avere accesso al pascolo in modo continuativo e i pascoli e le aree di esercizio all'aria aperta devono inoltre offrire in funzione delle condizioni climatiche un riparo sufficiente dalla pioggia, dal vento, dal sole e dal caldo eccessivo.

Solo l'ultima fase dell'allevamento dei bovini da carne (finissaggio) può avvenire in stalla. I locali che saranno adibiti a tale compito dovranno essere sufficientemente spaziosi per consentire una libertà di movimento commisurata alle esigenze comportamentali.

I vitelli non dovranno essere allevati in box individuali ad eccezione del primo mese di vita.

L'alimentazione dei bovini da carne

L'alimentazione del bovino da carne in zootecnia biologica possiede delle differenze molto accentuate dalle metodiche di razionamento tradizionale utilizzate in zootecnia convenzionale.

Queste differenze sono sostanziali non tanto per i fabbisogni nutritivi ma piuttosto per la risposta alle razioni di accrescimento e finissaggio che si devono attuare nel rispetto del rapporto 60/40 foraggi/concentrati.

Nelle razze da carne più diffuse in Puglia il finissaggio viene effettuato a pesi elevati e diventa perciò difficile gestire una razione che abbia solo il 40% di alimenti concentrati.

Se a questa difficoltà si associa la deambulazione nettamente superiore negli allevamenti biologici gli incrementi in peso sono nettamente inferiori per le razze da carne specializzate.

Inoltre per i vitelli da ristallo gli obblighi di provenienza da allevamenti biologici e l'età massima di acquisto (subito dopo lo svezzamento e solo in caso di prima costituzione del patrimonio) se provenienti da allevamenti convenzionali determinano una minore scelta del tipo genetico allevato che nell'allevamento del bovino da carne è spesso uno dei principali fattori di economicità dell'azienda.

La produzione di carne bovina biologica in azienda può derivare esclusivamente da:

vitelli svezzati al pascolo e successivamente allevati in stalla (razze tipiche da carne o loro incroci) vitelli maschi di razze da latte, svezzati naturalmente e allevati in stalla.

In entrambi i casi i vitelli non possono rimanere in stalla per un periodo superiore ai tre mesi o per una massimo di un quinto della loro vita.

Le differenze sostanziali di alimentazione nei due casi esposti sono legate al tipo di svezzamento utilizzato e al tipo genetico che gli animali rappresentano.

Se lo svezzamento avviene con latte materno, come è in uso nelle razze da carne, l'accrescimento del vitello dipenderà dal modo in cui viene alimentata la fattrice con un'adeguata conduzione della fase finale della gravidanza e per la quantità di latte prodotta durante la lattazione.

La fase terminale dell'accrescimento in entrambi i casi rappresenterà l'aspetto più difficile per il rispetto del rapporto 60/40 tra foraggi e concentrati.

I forti incrementi giornalieri (tipici dell'ultimo periodo di crescita degli allevamenti convenzionali) dovranno essere realizzati nelle prime fasi di

accrescimento, immediatamente successivi allo svezzamento e la scelta del tipo genetico da allevare dovrà essere orientata verso animali in grado di realizzare dei forti incrementi ponderali (come le razze bianche da carne italiane o gli incroci di razze cosmopolite italiane con razze da carne estere, come Blue Belga, Charollaise, etc).

Criteria di scelta della razza Bovina

La diversificazione regionale delle caratteristiche climatiche e della conseguente produzione foraggiera sia spontanea che coltivata condiziona molto la scelta della razza in funzione della sua risposta produttiva.

La zootecnia sarà più “facile” qualora si orienti la scelta delle razze da allevare verso ecotipi locali o razze rustiche in grado di sfruttare al meglio un sistema di allevamento estensivo a basso costo e con utilizzazione di aree di pascolo naturali.

Un ulteriore parametro di individuazione della vocazionalità risulterà la destinazione del prodotto zootecnico. Se esso risulta legato a produzioni tipiche sarà più interessante propendere la propria scelta verso razze locali in quanto più vicine ad un’immagine di prodotto di nicchia in cui il biologico si inserisce facilmente.

| <i>Razze italiane specializzate da carne</i> | <i>Caratteristiche fisico-morfologiche</i> |
|---|---|
| Podolica | Di eccezionale rusticità, si adatta a tutti gli ambienti più difficili e ha una notevole facilità al parto con una produzione discreta di latte che assicura notevoli accrescimenti ai vitelli. se incrociata con razze da carne aumenta la resa alla macellazione e la qualità della carne |
| Marchigiana | Eccellente rusticità , forte sviluppo delle masse muscolari e ottima resa alla macellazione. Ha forti incrementi in peso giornalieri e precocità. |
| Romagnola | Buona rusticità che si estrinseca in particolare nella buona resistenza al freddo e all’umido. Ha una buona resa alla macellazione specie per i quarti posteriori e randa attitudine al parto. E’ una buona produttrice di latte e ha rese al macello elevate. |
| <i>Razze italiane a duplice attitudine</i> | <i>Caratteristiche fisico-morfologiche</i> |
| Pezzata rossa italiana | Razza rustica a duplice attitudine potenziabile in base agli orientamenti della selezione genetica. Utile nella linea vacca – vitello ha una buona produzione lattifera e carnea. Si adatta bene in terreni difficili, ma non impervi. |

Parte Sperimentale

Scopo del Lavoro

La “*Tenerezza*” è probabilmente la caratteristica organolettica più importante della carne ed è il risultato di una serie di processi interattivi che includono (Ouali, 1992):

L'azione sinergica di Calpaine e Catepsine (proteasi lisosomiali);

L'alta variabile suscettibilità delle miofibrille alla proteolisi;

Il grande aumento di pressione osmotica che può indurre un rilascio delle proteine contrattili dalle miofibrille.

Il meccanismo d'intenerimento della carne durante la conservazione delle carcasse a temperatura di refrigerazione (0-4 gradi), non è ancora del tutto chiaro, ma evidenze sperimentali suggeriscono che un ruolo importante è svolto dalla proteolisi delle proteine miofibrillari e delle proteine associate.

Le Catepsine lisosomiali erano considerate, fino agli anni '70, le principali responsabili dell'aumento di tenerezza *post mortem* nelle carni fino a quando si scoprì un nuovo sistema proteolitico il cui elemento principale era la “*Calpaina*”.

Sebbene gli esatti meccanismi non sono stati ancora del tutto chiariti, universalmente è accettato che la scissione delle proteine miofibrillari ad opera di proteasi endogene (quali le Calpaine) è almeno parzialmente, responsabile dell'aumento di tenerezza *post mortem*.

Recentemente l'attenzione dei ricercatori si è focalizzata sulla possibilità di utilizzare il sistema Calpaina-Calpastatina per migliorare la tenerezza delle carni.

Una delle possibilità potrebbe essere selezionare la Calpastatina in funzione dell'attività. Tale sostanza infatti è geneticamente e positivamente correlata con la forza di taglio (Wulf *et al.*, 1996) da cui, una minore età e una più bassa attività della Calpastatina determinano una maggiore tenerezza in alcuni tagli provenienti da bovini da carne. Inoltre, l'attività della Calpastatina *post-rigor*, è inversamente proporzionale all'intenerimento *post-mortem*, il che spiegherebbe, ad esempio, l'enorme variazione della tenerezza della carne bovina (circa 40%).

Inoltre, Whipple *et al.* (1990), Wheeler *et al.* (1990), e Shackelford *et al.* (1991) hanno rivelato che la più elevata attività della Calpastatina nel *Bos Indicus*, rispetto al *Bos Taurus*, sarebbe la principale causa per la minore tenerezza della lombata osservata nel primo.

Ouali e Talmant (1990) suggeriscono che l'attività Calpastatina/ μ -Calpaina sia un buon indicatore dell'attività potenziale proteolitica del muscolo e proprio perché la Calpastatina è un inibitore endogeno della μ -Calpaina, un basso rapporto indica una maggiore attività potenziale proteolitica del muscolo che si traduce in un maggiore intenerimento *post mortem*.

Anche altri ricercatori (Ouali, 1992 e Roncales *et al.*, 1995) affermano che il rapporto m-Calpaina/Calpastatina potrebbe determinare il grado di tenerezza, e successivamente Steen *et al.* (1997) su bovini da carne hanno rilevato una correlazione significativa ($P < 0.01$) tra m-Calpaina/Calpastatina a 1 giorno *post mortem* e la forza di taglio valutata 8 giorni *post mortem*.

Inoltre, Hortos *et al.* (1994) hanno suggerito che l'indice di frammentazione miofibrillare (MFI) e la proteolisi indotta dalle Calpaine, fattori chiave nella valutazione della tenerezza della carne, potrebbero essere impiegati addirittura come parametri utili per distinguere carni suine Normali da carni PSE.

Non tutti i ricercatori, però, sono stati d'accordo sul ruolo e sull'importanza dei due sistemi Calpaina e Catepsine nel processo d'intenerimento delle carni.

Alcuni sostengono che il sistema delle Calpaine sia l'unico capace di promuovere i cambiamenti *post mortem* che portano all'intenerimento delle carni (Koohmarie, 1992, 1996), altri postulano un'azione sinergica delle proteasi lisosomiali e delle Calpaine (Etherington, 1987; Ouali, 1992).

I principali dubbi sul ruolo delle Calpaine provengono da tali considerazioni:

La μ -Calpaina è inattivata così rapidamente che non può giustificare l'intenerimento al di là delle 24-48 ore *post mortem*;

Come potrebbe la μ -Calpaina essere ancora attiva quando il contenuto muscolare di Calpastatina è circa il doppio della μ -Calpaina?

Alla prima domanda Koohmarie (1996) risponde che con i metodi sensibili (caseina marcata) è stato possibile rilevare un'espressiva attività della μ -Calpaina anche dopo 14 giorni a quattro gradi (dal 5% al 10%). Poiché autolisi e inattivazione della μ -Calpaina sono processi intermolecolari, non andranno a completamento, e quindi la μ -Calpaina manterrà parzialmente la sua attività anche dopo ampia autolisi. Inoltre, a differenza della μ -Calpaina l'autolisi della m-Calpaina è un processo intramolecolare e, pertanto, una vasta autolisi risulterà in una completa inattivazione della m-Calpaina.

Riguardo all'eccesso di Calpastatina nel muscolo, il rapporto Calpastatina/ μ -Calpaina è stato 4:1 nel bovino, 2,5:1 nell'agnello e 1,5:1 nel maiale, ma tali dati si riferiscono alla possibilità della Calpastatina di inibire sia la μ -Calpaina che la m-Calpaina, pertanto il reale rapporto dovrebbe essere dimezzato (2:1, 1,25:1; 0,75:1 rispettivamente).

Alla luce di ciò è evidente che l'eccesso di Calpastatina non è poi così elevato come potrebbe sembrare ad una prima osservazione.

Obiettivo dello studio è stato valutare l'attività di tale sistema enzimatico attraverso analisi biochimiche (espressione e attività della μ -calpaina, della p-94, della calpastatina e della β -actina) immediatamente dopo il sacrificio degli animali e la variazione del sistema nel corso della frollatura di su diversi muscoli di Bovino Podolico:

1. testa (*masseter*)
2. collo (*brachiocephalicus*)
3. cintura e dell'arto toracici (*supraspinatus*)
4. torace (*diaphragma*)
5. addome (*rectus abdominis*) (*psoas minor*) (*psoas major*)

al fine di identificare a quali tempi di frollatura si verificano cambi significativi a livello strutturale dovuti ai processi di proteolisi intervenuti sui tagli scelti.

Sistema Calpaina/Calpastatina

Aspetti strutturali e funzionali del sistema proteolitico (Calpaina/Calpastatina)

Famiglia delle calpaine

Le “*Calpaine*” sono state caratterizzate come una grande famiglia di proteasi tioliche, cisteiniche, citoplasmatiche Ca^{2+} -dipendenti presenti in diversi tipi di cellule animali.

1. Sono coinvolte in varie funzioni fisiologiche quali:
2. traduzione di segnali cellulari;
3. cicli cellulari;
4. apoptosi;
5. attività proteolitica.

Sulla base della loro distribuzione, le *Calpaine* sono state classificate in due gruppi:

1. *Ubiquitarie*;
2. *Tessuto-specifiche*.

Le *Calpaine Ubiquitarie* sono state trovate in tutti i tessuti e sulla base di una differente richiesta di Ca^{2+} sono state ulteriormente suddivise in:

1. μ - *calpaine* q. tà micromolari di Ca^{2+} (5-50 μM)
2. m- *calpaine* q. tà millimolari di Ca^{2+} (0.2 – 0.6 mM)

Le *Calpaine Tessuto specifiche* sono state ritrovate solo in specifici tessuti e il loro significato metabolico è ancora oggetto di studio:

Muscoli scheletrici : *n-calp-1*
Stomaco : *n-calp-2, n-calp- 2'*

Struttura delle Calpaine ubiquitarie

La famiglia delle *Calpaine Ubiquitarie*, μ - e m-calpaina, è costituita da due subunità denominate in base al loro peso molecolare, “*Grande subunità*” (di massa molecolare 80 KDa) e “*Piccola subunità*” (di massa molecolare di 28 KDa) e nella forma natale è presente sottoforma di eterodimero (Ohno S. *et al.*, 1986; Suzuki K., 1990; Deluca *et al.*, 1993; Smith *et al.*, 2001; Emori Y. *et al.*, 1986).

La piccola subunità (28 KDa), è identica nelle due specie di Calpaine, ed è espressa da un singolo gene (Ohno S., 1990).

È costituita da due domini: DOMINIO V e VI.

DOMINIO V: è situato nella zona dell’N-terminale formato da 101 residui aminoacidici (1-101). Di questi, 40 sono Gly, 5 sono Pro, 30 sono aminoacidi idrofobi e 26 sono aminoacidi polari carichi. La sua composizione e struttura fa pensare che questo dominio sia implicato nella formazione di legami con altre molecole.

DOMINIO VI: è costituito da 167 residui (101-268) e si trova nella zona C-terminale. La struttura cristallografica (Blanchard H. *et al.*, 1997; LIN G-D *et al.*, 1997) del dominio VI ha evidenziato che questo dominio è composto da cinque motivi strutturali del tipo EF-hand indicati con Ef-1’, Ef-2’, Ef-3’, Ef-4’, Ef-5’ e di cui i primi quattro legano il calcio e il quinto è coinvolto nella formazione dell’interfaccia dell’eterodimero.

La Grande subunità, presenta qualche differenza tra le varie specie di Calpaine ed è espressa da geni differenti (Ohno S. *et al.*, 1990; Suzuki K. *et al.*, 1990). La struttura cristallografica a raggi X (Hosfield CM. *et al.*, 1999; Strobl S. *et al.*, 2000) ha indicato che questa subunità è composta da sei domini, di cui quattro sono i “*domini propriamente detti*” [I, II, III e IV] e gli altri due sono piccole sequenze aminoacidiche. In particolare, una è una sequenza corta (1-18) che precede il dominio I e l’altra è una sequenza aminoacidica corta chiamata “*Dominio Linker*” perché funge da legante tra i domini III/IV.

DOMINIO I: è costituito dai residui aminoacidici che vanno da 1-80 ed è situato nella zona N-terminale Ha forma α -elica ed è coinvolto nel processo di attivazione della proteasi.

DOMINIO II: è costituito dai residui aminoacidici che vanno da 81-320. ed è denominato “*Dominio Catalitico*” in quanto contiene la triade catalitica formata dai tre residui Cys-His-Asn nelle posizioni 115-105, 272-262, 296 –286 rispettivamente per μ - e m-calpaina. È costituito da due subdomini, IIa e IIb, che legano il calcio (Moldoveanu T. *et al.* 2002). Il dominio IIa contiene la Cys mentre il dominio IIb contiene la coppia Hs-Asn e durante l’attivazione si avvicinano per interagire e costituire la triade catalitica.

DOMINIO III: è costituito dai residui aminoacidici che vanno da 321-560 e oltre a collegare i domini che legano il calcio al dominio catalitico (dominio II), contiene anche specifici ligandi per i fosfolipidi (Tompa P. *et al.*, 2001).

DOMINIO IV: E’ situato nella zona C-terminale e contiene cinque motivi strutturali EF-hand (Ef-1, Ef-2, Ef-3, Ef-4 e Ef-5), di cui i primi quattro legano il calcio e il quinto partecipa nel legame con la piccola subunità per formare l’interfaccia dell’eterodimero analogamente al dominio VI (Strobl S. *et al.*, 2000).

Calpastatina: inibitore endogeno della Calpaina

Generalità e struttura

La “*Calpastatina*” è l’unico inibitore endogeno specifico per la Calpaina ed è distribuita, insieme ad essa, nella frazione intracellulare non lisosomiale. In presenza di Ca^{2+} , la Calpastatina si associa alla Calpaina e inibisce la sua attività proteolitica. È stato riportato che una mole di Calpastatina inibisce circa 3-8 moli di Calpaina (Imajoh *et al.*, 1987 b).

Molti studi su animali, specialmente il manzo, hanno tentato di determinare il ruolo fisiologico della Calpastatina nella tenerezza, così come i componenti genetici del gene della Calpastatina (Killefer and Koohmaraie, 1994).

I livelli della Calpastatina variano considerevolmente fra la specie, le razze (Shackelford *et al.*, 1994) ed i muscoli (Geesink and Koohmaraie, 1999). Nella carne esiste un rapporto inverso fra attività di Calpastatina e tenerezza (Koohmaraie, 1994).

Al livello strutturale, la Calpastatina di bovino è una proteina inibitoria di cinque-domini (figura 2,1) di peso molecolare di 76 kDa (Killefer e Koohmaraie, 1994) e di 786 residui aminoacidici. Inoltre, è presente in tutti i tessuti nella quale si esprimono le Calpaine e nel muscolo scheletrico.

La Calpastatina è espressa ad un livello più elevato delle Calpaine.

Dei cinque domini, quello N-terminale detto “*Dominio Leader*” è composto da due subdomini XL e L e gli altri quattro sono indicati con i simboli che vanno da I-IV. Il dominio leader N-terminale (L) non sembra avere alcun'attività inibitoria sulle Calpaine (Emori *et al.*, 1997), ma può partecipare all'ottimizzazione o alla localizzazione intracellulare, mentre gli altri domini (I-IV) sono altamente omologhi e sono ciascuno indipendentemente capaci di inibire le Calpaine (Emori *et al.*, 1987; Cong ed altri, 1998).

I domini inibitori della Calpastatina contengono tre regioni altamente conservate, A, B e C, di cui la A e la C legano la Calpaina in modo rigorosamente Ca^{2+} -dipendente ma non hanno attività inibitoria, mentre la regione B inibisce le Calpaine. Cong *et al.*, (1998) inoltre hanno trovato che la rimozione del dominio XI-e/o del dominio L ha svolto un ruolo regolatore alterando i modelli di fosforilazione sulla proteina. Hanno inoltre segnalato che i promotori alternativi nella Calpastatina di bovino hanno condotto alla generazione di isoforme differenti della proteina che differiscono nella zona N-terminale. Le differenze nelle sequenze dell’N-terminale dedotte hanno provocato una differente distribuzione intracellulare e una minore efficienza delle interazioni di Calpaina-Calpastatina (Takano *et al.*, 1999).

Le variazioni alleliche potenziali nel gene della Calpastatina potrebbero influenzare l'attività della Calpastatina e quindi contribuire alla variazione nella tenerezza della carne.

L'esistenza di specie a differente peso molecolare è dovuta all'eterogeneità della regione 3' non tradotta. Infatti, le varie isoforme della Calpastatina derivano da modificazioni post-traduzionali dello stesso prodotto di traduzione primaria dell'mRNA. Per esempio, la Calpastatina epatica di ratto perde 79 residui aminoacidici della regione N-terminale dal prodotto di traduzione iniziale.

Dal momento che le due specie molecolari hanno un'antigenicità comune, sono indistinguibili eccetto che per la loro stechiometria d'inibizione.

Materiali e metodi

La sperimentazione è stata condotta su campioni di muscolo Bovino Podolico dell'età di 12 mesi e del peso di 340 ± 10 Kg allevati per sette mesi allo stato brado e per cinque mesi in uno stato di semi libertà.

I tessuti prelevati da diverse regioni anatomiche (Fig 1)

1. testa (*masseter*)
2. collo (*brachiocephalicus*),
3. cintura e dell'arto toracici (*supraspinatus*),
4. torace (*diaphragma*)
5. addome (*rectus abdominis*) (*psoas minor*) (*psoas major*)

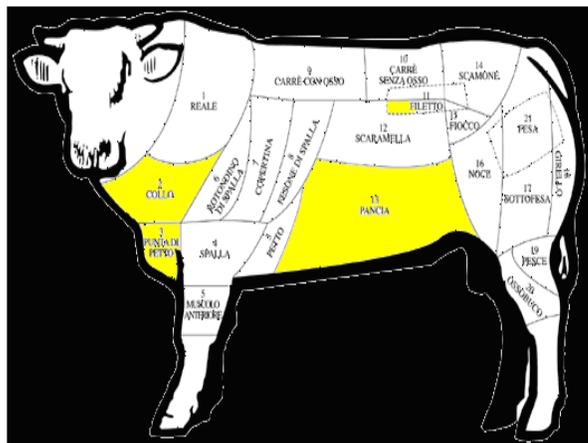


Figura 1. Regioni anatomiche campionate

I campioni di muscolo provenienti da animali del peso di 380 ± 10 Kg sono stati divisi in due differenti gruppi in funzione dell'interesse anatomico - commerciale secondo il seguente schema:

gruppo A

- ✓ a) *masseter*, b) *brachiocephalicus*, c) *rectus abdominis*, d) *supraspinatus*, e) *psoas minor* e f) *diaphragma*, a tempo 0 (per la valutazione dell'espressione e dell'attività enzimatica)

gruppo B

- ✓ *psoas minor* e *psoas major* a tempo 0, 7 e 15 giorni dalla morte degli animali per la valutazione dell'espressione e della variazione dell'attività enzimatica del sistema enzimatico.

Al momento del prelievo i campioni sono stati congelati in azoto liquido (-196) e conservati a -80°C fino alle successive analisi.

Western Blot

Per l'estrazione proteica, 300 mg di tessuto sono stati omogeneizzati in 0,9 mL di buffer di estrazione "postrigor" (100mM Tris base, 10mM EDTA, 0,05% MCE (2-mercaptoetanol), usando un Polytron (Brinkman Instruments, Westbury, NY) settato a velocità 6 a 3 intervalli di 15s ognuno intervallati da periodi di raffreddamento di 15s.

Successivamente i campioni sono stati centrifugati a 8.800 giri per 30 min.

Il sovrnatante (contenente le proteine solubili) è stato raccolto e il contenuto proteico di ogni campione è stato determinato utilizzando il metodo Bradford (1976).

I campioni sono stati diluiti con tampone costituito da (125 mM tris base, 4% SDS, 0,5%MCE, 0,04% blue di bromofenolo, 20% glicerolo (wt/vol), pH 6.8) e riscaldati per 10min a 100° C per favorire la denaturazione delle proteine.

L'SDS-PAGE è stata effettuata secondo il metodo Laemmli (1970) utilizzando il 10% di gel separatore costituito (37.5:1 di acrilammide/bis N,N-metilene-bis-acrilammide) ed il 4% di stacking gels (37.5:1).

Per l'analisi della μ -calpaina, della calpaina p-94, della β -actina e della calpastatina sono stati utilizzati 50 μ g di sovrnatante e i gel sono stati corsi a 200V per 135 min prima di essere trasferiti su una membrana di nitrocellulosa (Immobilion-P Millipore Corporation, Bedford, MA) per 2,5h a 200mA.

Le membrane sono state bloccate con il 5% di siero albumina bovina (BSA) in TBS (10mM di Tris, 150mM di NaCl, pH 7.4,) per 1h a temperatura ambiente.

Gli anticorpi primario e secondario sono stati diluiti in TBS/BSA e incubati per 1h a temperatura ambiente.

Le membrane sono state quindi lavate per 3 volte (5 min per lavaggio) con TBS (10 mM di Tris, 150 mM di NaCl, pH 7.4) e TBS/T (10mM di Tris a pH 7.4, 150mM di NaCl, 0.5% Triton X-100).

Le membrane sono state dapprima ibridizzate con gli anticorpi primari diluiti 1:1000 (rabbit-anti- μ -calpain, rabbit-anti-p94 e mouse-anti-calpastatin) e 1:500 (mouse-anti- β -actin).

Infine le membrane erano incubate per 45 minuti a temperatura ambiente con gli anticorpi secondari legati alla perossidasi (diluizione 1:3000).

La reazione è stata rilevata con il sistema ECL (Perkin Elmer).

I risultati ottenuti sono stati analizzati con il sistema di analisi quantitative delle immagini *Pdquest* (BioRad, laboratories).

Valutazione dell'attività enzimatica

Per valutare l'attività enzimatica, indice della attività proteolitica delle proteasi endogene, i campioni sono stati congelati in azoto liquido e conservati a -80°C. Per l'estrazione proteica, 300mg di tessuto sono stati omogeneizzati in 0,9 mL di buffer di estrazione "postrigor" usando un Polytron (Brinkman Instruments, Westbury, NY).

In seguito, i campioni sono stati centrifugati a 8800 g per 30 min, il sovranatante (contenente le proteine solubili) è stato raccolto e utilizzando il metodo Bradford (1976), è stato determinato il contenuto proteico. Gli estratti proteici sono stati immuno-precipitati con un anticorpo anti- μ -calpaina a 4°C. Il giorno dopo sono stati lavati con il buffer di lisi ed è stato effettuato il saggio nel seguente modo:

il tampone Calpain-Glo™ congelato e la luciferina liofilizzata sono stati stabilizzati a temperatura ambiente prima dell'uso;

la luciferina è stata ricostituita in bottiglia con l'aggiunta di un appropriato volume del tampone Calpain-Glo™ (10ml).

il substrato Suc-LLVY-Glo™ è stato scongelato e stabilizzato a temperatura ambiente prima dell'uso;

il reagente Calpain-Glo™ è stato preparato aggiungendo il substrato Suc-LLVY-Glo™ al reagente contenente la luciferina risospesa;

sono stati aggiunti 100µl del substrato Suc-LLVY-Glo™ a 10ml del reagente contenente la luciferina. Il tutto è stato miscelato per ottenere omogeneità;

successivamente la soluzione è stata incubata per 30 min a temperatura ambiente e poi sono stati aggiunti 20µl di 1M CaCl₂ a 10 ml del reagente Calpain-Glo™ per attivare la calpaina;

Infine, si è proceduto alla lettura al luminometro che da un segnale luminoso proporzionale all'attività della calpaina presente.

Risultati

gruppo A

μ-calpain

Dall'analisi dei risultati ottenuti, è stato possibile stabilire come l'espressione della grande sub-unità (80 KDa) e della piccola sub-unità (30 KDa) della μ -calpain risulti essere bassa nel *m. masseter* mentre risulta essere più elevata in tutti gli altri muscoli studiati (*m. brachiocephalicus*, *m. supraspinatus*, *m. rectus abdominis*, *m. psoas minor* e *m. diaphragma*).

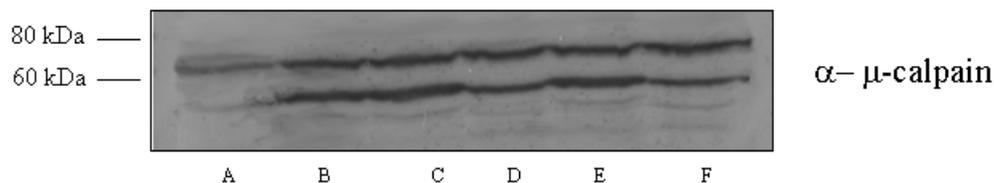


Figura 1. Analisi western blot (gel 10%) a tempo zero *post-mortem* dei prodotti di digestione della μ -calpain. Le bande corrispondono alla frazione sopranatante proveniente da sei muscoli di bovino (A *masseter* B *brachiocephalicus* C *rectus abdominis* D *supraspinatus* E *psoas minor* F *diaphragma*).

L'attività enzimatica, espressione della reale azione delle proteasi studiate e in particolar modo della μ -calpain, risulta essere del 30% nel *m. masseter* mentre è più elevata in tutti gli altri muscoli oggetto di studio.

In particolare, nei muscoli più importanti da un punto di vista commerciale l'attività enzimatica è massima già a tempo 0:

- ✓ del 100% nel muscolo *brachiocephalicus*
- ✓ del 96% nel muscolo *supraspinatus*,
- ✓ del 99% nel muscolo *rectus abdominis*
- ✓ del 95% per il muscolo *psoas minor*
- ✓ del 64% per il muscolo *diaphragma*

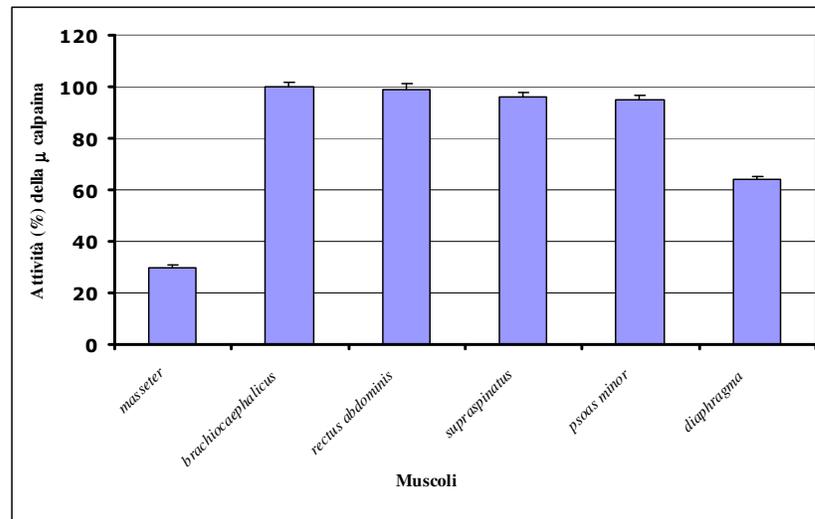


grafico 1

β -actina

L'espressione della β -actina si mostra più alta nel *m. masseter* e *diaphragma* mentre risulta più bassa in tutti gli altri muscoli studiati (Fig. 2).

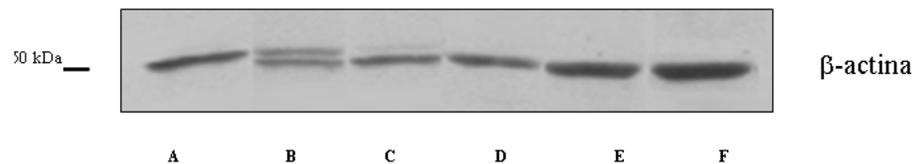


Figura 2 analisi western blot (gel 10%) a tempo zero *post-mortem* di prodotti di digestione di β -actina. Le bande corrispondono alla frazione sopranatante proveniente da sei muscoli di bovino (A *masseter* B *brachiocephalicus* C *rectus abdominis* D *supraspinatus* E *psoas minor* F *diaphragma*).

L'attività enzimatica della β -actina, è del 60% nel *m. masseter* e del 100% nel *m. diaphragma* mentre è più bassa in tutti gli altri muscoli studiati in particolare è:

- del 30% nel muscolo *brachiocephalicus*
- del 43% nel muscolo *rectus abdominis*
- del 47% nel muscolo *supraspinatus*
- del 66% per il muscolo *psoas minor*

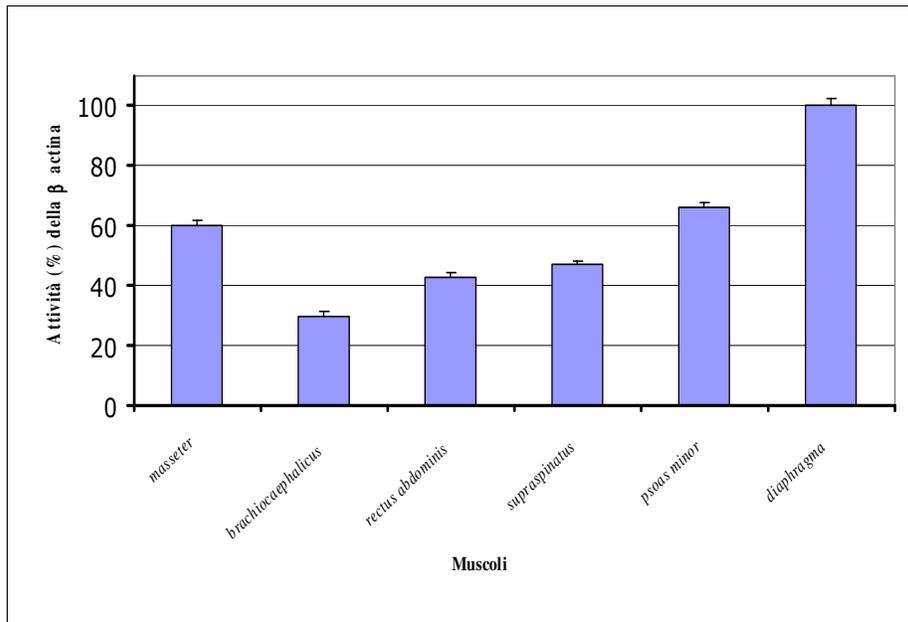


grafico 2

calpastatina

L'espressione della calpastatina è notevole solo per il muscolo *brachiocephalicus*.

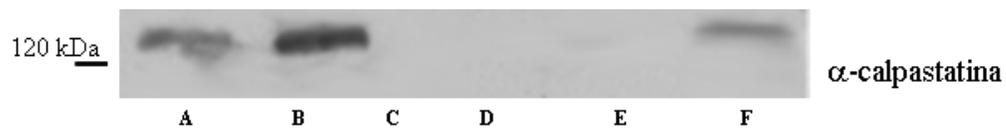


Figura 3. analisi western blot (gel 10%) a tempo zero *post-mortem* di prodotti di digestione di calpastatina. Le bande corrispondono alla frazione sopranatante proveniente da sei muscoli di bovino (A *masseter* B *brachiocephalicus* C *rectus abdominis* D *supraspinatus* E *psoas minor* F *diaphragma*).

L'attività enzimatica della calpastatina (Grafico 3) risulta essere del 20% nel muscolo *supraspinatus*, del 20% nel muscolo *rectus abdominis*, del 20% nel muscolo *psoas minor*, del 100% nel muscolo *brachiocephalicus*, del 47% nel muscolo *masseter* e del 50% nel muscolo *diaphragma*, ciò inversamente proporzionale alla μ -calpaina.

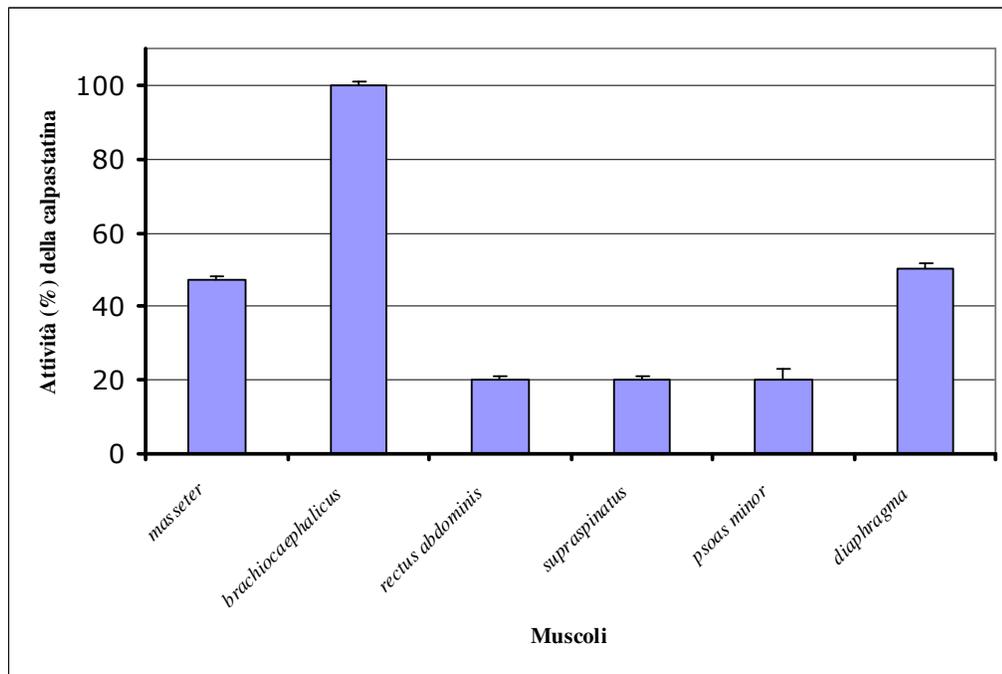


grafico 3

p94

L'espressione della calpaina p94 muscolo specifica, calcio indipendente, caratterizzata da un'estesa e rapida autolisi è fortemente elevata nel *m. brachiocephalicus*, *m. rectus abdominis* e *m. supraspinatus*. La sua espressione è mediamente bassa nel *m. masseter*, *m. diaphragma* e *m. psoas minor* (Fig. 5).

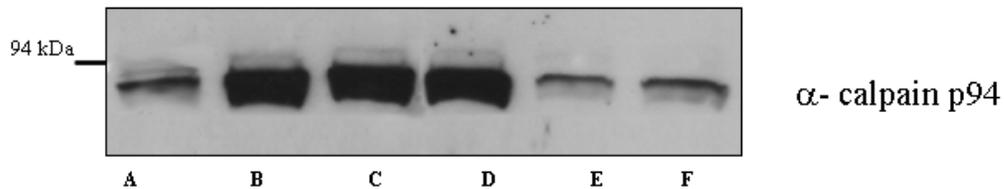


Figura 4. analisi western blot (gel 10%) a tempo zero *post-mortem* di prodotti di digestione di calpaina p94 Le bande corrispondono alla frazione sopranatante proveniente da sei muscoli di bovino (A *masseter* B *brachiocephalicus* C *rectus abdominis* D *supraspinatus* E *psaos minor* F *diaphragma*).

L'attività della calpaina p94 risulta essere elevata nel *m. brachiocephalicus*, *m. rectus abdominis* e *m. supraspinatus* mentre è mediamente bassa negli altri muscoli oggetto di studio (Grafico 4).

La p94, da quanto osservato, si mostra con un andamento indipendente rispetto alle altre proteasi studiate e dovrebbe giocare un ruolo non fondamentale nella frollatura delle carni.

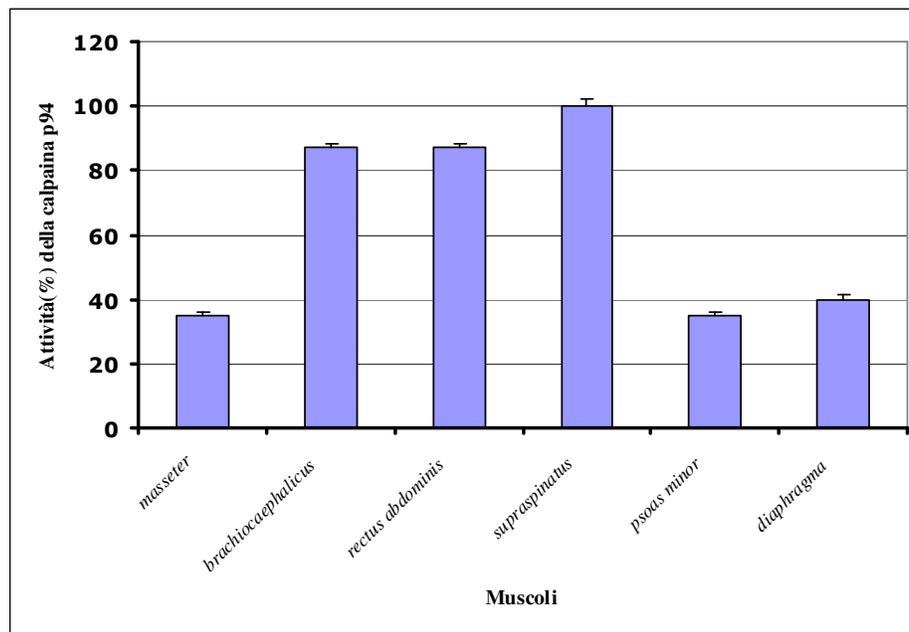


grafico 4

gruppo B

μ-calpaina

Durante il periodo considerato nel muscolo *Psoas major* si osserva un graduale declino dell'intensità di espressione della banda da 80 kDa della μ -calpaina ed un aumento dell'espressione della banda 60 kDa probabilmente dovuto alla degradazione della proteina stessa (Fig. 5).

Una conversione simile si osserva anche nel muscolo *Psoas minor* (Fig. 6)

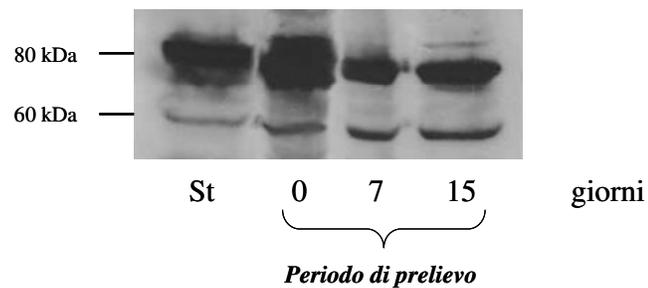


Figura 5. Analisi western blot (gel 10%) di prodotti di digestione della μ -calpaina. Le bande corrispondono alla frazione sopranatante proveniente dal muscolo Psoas major di bovino dopo 0, 7 e 15 giorni di incubazione *post-mortem*.

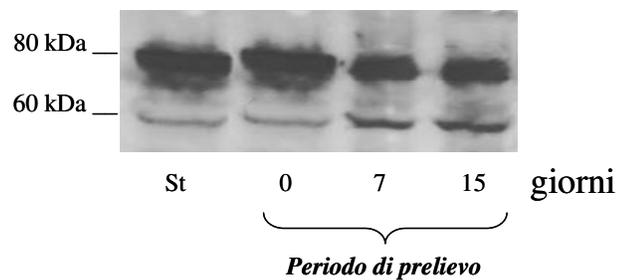


Figura 6. Analisi western blot (gel 10%) di prodotti di digestione della μ -calpaina. Le bande corrispondono alla frazione sopranatante proveniente dal muscolo Psoas minor di bovino dopo 0, 7 e 15 giorni di incubazione *post-mortem*.

p94

Durante il periodo considerato la p94 non subisce alcuna modificazione dell'intensità di espressione in entrambi i muscoli oggetto di studio (Fig 7 e 8).

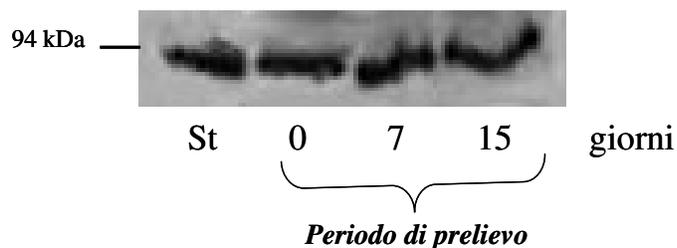


Figura 7. Analisi western blot (gel 10%) di prodotti di digestione della p94. Le bande corrispondono alla frazione sopranatante proveniente dal muscolo Psoas major di bovino dopo 0, 7 e 15 giorni di incubazione *post-mortem*.

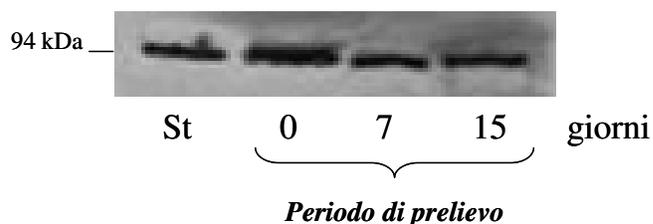


Figura 8. Analisi western blot (gel 10%) di prodotti di digestione della p94. Le bande corrispondono alla frazione sopranatante proveniente dal muscolo Psoas minor di bovino dopo 0, 7 e 15 giorni di incubazione *post-mortem*.

β -actina

Durante il periodo considerato nel muscolo Psoas major si osserva una netta diminuzione dell'intensità di espressione della β -actina (Fig. 9) mentre nel muscolo Psoas Minor si osserva una lieve diminuzione di tale proteina (Fig. 10).

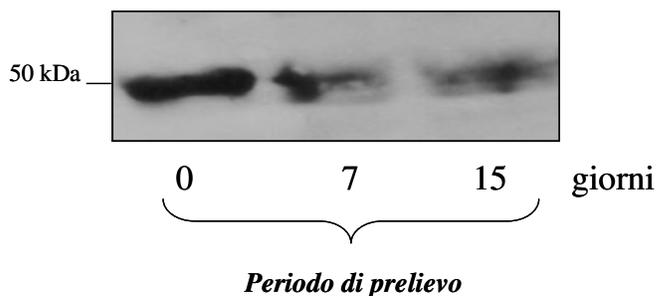


Figura 9. Analisi western blot (gel 10%) di prodotti di digestione della β -actina. Le bande corrispondono alla frazione sopranatante proveniente dal muscolo *Psoas major* di bovino dopo 0, 7 e 15 giorni di incubazione *post-mortem*.

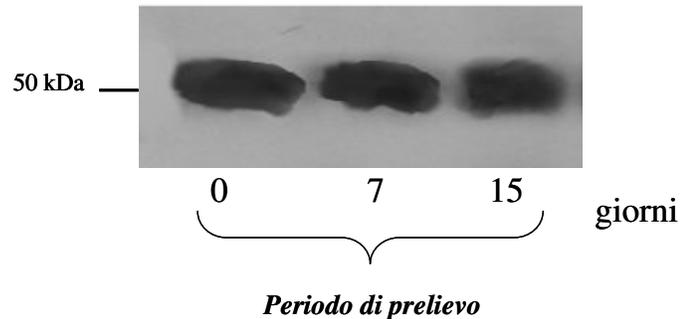


Figura 10. Analisi western blot (gel 10%) di prodotti di digestione della β -actina. Le bande corrispondono alla frazione sopranatante proveniente dal muscolo Psoas minor di bovino dopo 0, 7 e 15 giorni di incubazione *post-mortem*.

Calpastatina

Nel muscolo Psoas major a 15 giorni post-mortem la calpastatina scompare totalmente (Fig. 11) mentre nel muscolo Psoas Minor si osserva una lieve diminuzione nell'espressione di tale proteina (Fig. 12).

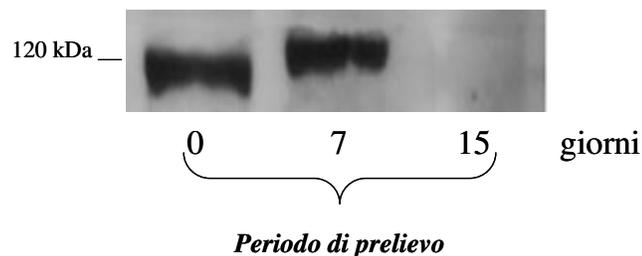


Figura 11. Analisi western blot (gel 10%) di prodotti di digestione della calpastatina. Le bande corrispondono alla frazione sopranatante proveniente dal muscolo Psoas major di bovino dopo 0, 7 e 15 giorni di incubazione *post-mortem*.

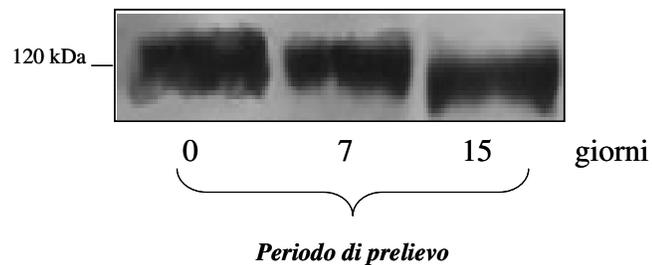


Figura 12. Analisi western blot (gel 10%) di prodotti di digestione della calpastatina. Le bande corrispondono alla frazione sopranatante proveniente dal muscolo Psoas minor di bovino dopo 0, 7 e 15 giorni di incubazione *post-mortem*.

Dall' analisi al bioluminometro è stato possibile osservare che:

- la μ -calpaina nel muscolo Psoas major presenta una moderata attività a tempo zero (45%) che risulterà massima a 7 giorni (100%) per poi decrescere a 15 giorni *post-mortem* (85%). Un andamento simile si è potuto notare anche nel muscolo Psoas minor
- la p94 presenta attività costante (100%) durante l'intervallo di tempo considerato ed in entrambi i muscoli.
- la β -actina nel muscolo Psoas major presenta massima attività a tempo zero (100%) per poi decrescere al 76% di attività a 7 giorni fino a raggiungere il 35% di attività a 15 giorni *post-mortem*. Un andamento simile si potuto osservare anche nel muscolo Psoas minor (100% di attività a tempo zero, 93% a 7 giorni e 84% a 15 giorni *post mortem*).
- la calpastatina nel muscolo Psoas major presenta massima attività a tempo zero (100%) per poi decrescere al 70% di attività a 7 giorni fino a risultare assente a 15 giorni *post-mortem*. Un decremento seppure lieve della calpastatina si potuto osservare anche nel muscolo Psoas minor (100% di attività a tempo zero, % a 88 giorni e 74% a 15 giorni *post mortem* (Grafici 5 e 6).

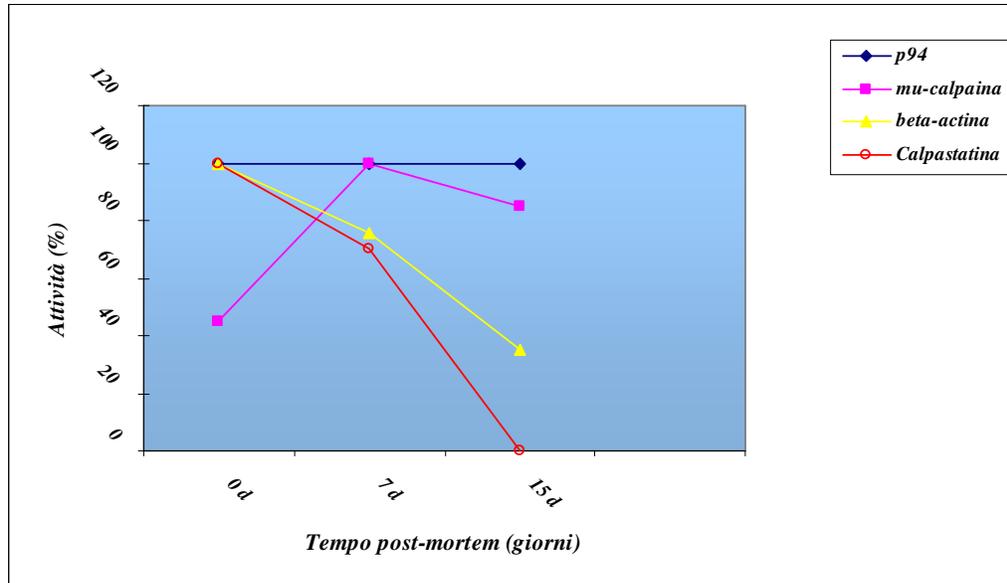


Grafico 5.

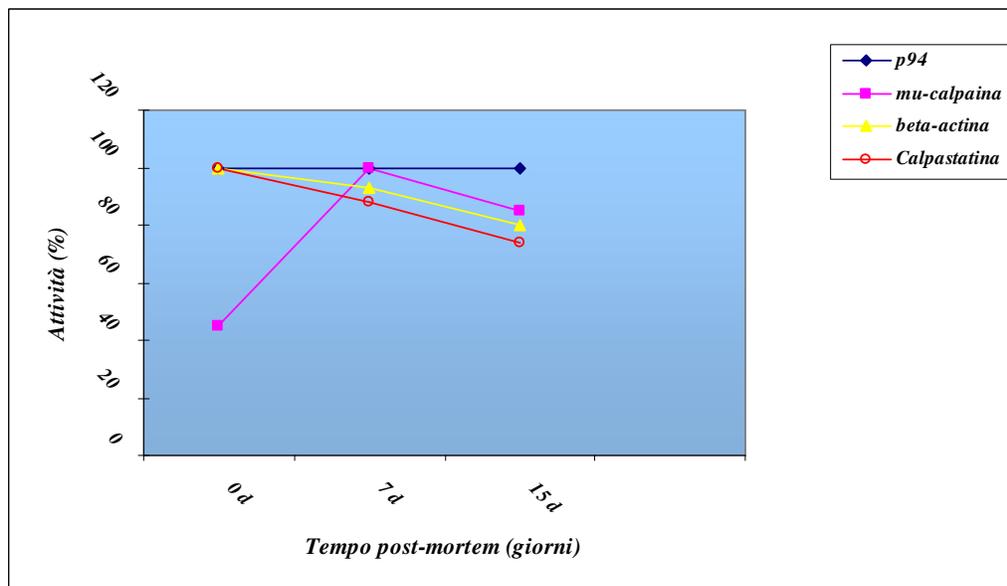


Grafico 6

Discussione e Conclusioni

Conoscere i cambiamenti chimico - fisici (temperatura, pH, pressione osmotica, forza ionica, attività enzimatica delle calpaine e delle calpastatine, l'indice di frammentazione delle miofibrille) che si verificano durante la conservazione delle carni subito dopo la macellazione e come queste variazioni influenzano l'espressione delle calpaine potrebbe essere un valido metodo sia per mettere a punto un sistema di classificazione delle carni basato sul grado di tenerezza sia per ottimizzare il processo di intenerimento stesso.

Il nostro studio in accordo con Ouali, 1992; ha confermato la presenza del sistema calpaina/calpastatina in tutti i muscoli di bovino podolico analizzati.

In particolare dall'analisi dei risultati ottenuti si è potuta valutare l'espressione della μ -calpaina, della calpaina p94, della calpastatina e della β -actina durante la fase di frollatura e quindi il loro coinvolgimento nei processi di intenerimento in accordo (Koochmaraie et al., 1987).

In accordo con i dati di Claeys et al. abbiamo ipotizzato che nei muscoli oggetto di studio, un declino più rapido del pH, insieme ad una maggiore concentrazione di Ca^{2+} , comporta non solo un incremento dell'autolisi della μ -calpain ma anche una più rapida attivazione della stessa, in base ai risultati ottenuti ed in accordo Koochmaraie et al. (1992), ciò conduce alla degradazione delle proteine miofibrillari tra cui la β -actina.

In accordo con Boehm *et al.* (1998) inoltre è stato possibile rilevare il rapporto di inversa proporzionalità tra la calpastatina (inibitore endogeno della calpaina) e la calpaina stessa durante i periodi in cui le calpaine sono attive.

Dall'analisi dei dati è stato possibile anche definire l'inversa correlazione tra la β -actina e la μ -calpaina quindi la responsabilità della proteolisi dell'actina da parte delle calpaine in accordo Koochmaraie (1992).

L'espressione e/o l'attività enzimatica più o meno intensa delle proteine nei muscoli oggetto di studio potrebbe anche dipendere dalle funzioni che essi svolgono.

Infatti i muscoli *masseter* e *diaphragma*, potente muscolo masticatore il primo e inspiratore il secondo hanno presentato una maggiore espressione della β -actina e una minore espressione della μ -calpaina probabilmente a causa di una minore azione della calpaina e ad un successivo processo proteolitico meno intenso.

Al contrario, negli altri muscoli considerati l'espressione della β -actina a tempo zero risulta essere minore rispetto a quella della μ -calpaina in quanto tali muscoli sono coinvolti in una minore attività di contrazione rispetto ai precedenti.

La calpastatina, inibitore endogeno della calpaina può essere definita, in accordo con Belsito *et al*, 2004, un deceleratore delle proteasi, infatti la sua espressione risulta più elevata nei muscoli *brachiocephalicus*, *masseter* e *diaphragma*.

I risultati ottenuti, in accordo con Melody *et al.*, (2004) suggeriscono inoltre, che la differenza di tenerezza tra diversi muscoli può essere in parte dovuta al livello di attivazione/disattivazione della μ -calpaina, di conseguenza, la diminuzione di variazione di questi tratti potrebbe condurre ad una produzione di carne più uniforme dal punto di vista qualitativo.

I nostri risultati confermano l'ipotesi che i tempi di attivazione/disattivazione del sistema calpaina/calpastatina potrebbero incidere sui tempi di frollatura dei tagli di carne oggetto di studio, in quanto la μ -calpaina presenta attività massima già a tempo zero nel muscolo *psaos minor*, identificato come filetto dal punto di vista commerciale, mentre presenta attività minima nel muscolo diaframma e nel *masseter*, che necessiterebbero, di conseguenza, di tempi di frollatura più lunghi.

La calpastatina nel muscolo *Psoas major* presenta massima attività a tempo zero per poi decrescere fino a risultare assente a 15 giorni *post-mortem* mentre nel muscolo *Psoas minor* tale proteina pur presentando un decremento a 15 giorni *post-mortem* è in parte ancora attiva.

Tale risultato conferma lo studio di Koohmaraie *et al.*, (1996) i quali affermarono che i livelli di calpastatina variano sia tra le specie che tra differenti muscoli.

La calpaina p94 a differenza delle altre proteasi presenta un'attività ed un'espressione costante nell'intervallo di tempo considerato avvalorando l'ipotesi che tale proteina non dovrebbe essere coinvolta nel processo di intenerimento.

In conclusione questo studio dimostra che nell'ambito della stessa specie, regioni anatomiche diverse presentano tempi di attivazione e disattivazione del sistema calpaina/calpastatina con conseguenti tempi di frollatura.

Ciò suggerisce che una riduzione della variabilità dell'azione enzimatica di tale sistema potrebbe condurre ad una produzione di carne più uniforme dal punto di vista qualitativo.

Bibliografia

BOATTO V.

Scenari evolutivi nel comparto bovino da carne in “L’impatto dell’Ocm carne sull’allevamento bovino dopo la crisi Bse” a cura di C. Giacomini, Franco Angeli, Milano. 2002

BOATTO V., ROSSETTO L.

Il costo di produzione, in “Il mercato delle carni bovine: Rapporto 2002”, Franco Angeli, Milano, 2002

BLANCHARD H., GROCHULSKI P., LI Y., ARTHUR JSC., DAVIS PL., ELCE JS., AND CYGLER M.

Structure of a calpain Ca²⁺-binding domain reveals a novel EF-hand and Ca²⁺-induced conformational changes. *Nature Struct Biol* **4**, 532–538, 1997.

BOEHM ML, KENDALL TL, THOMPSON VF, AND GOLL DE.

Changes in the Calpains and Calpastatin During Postmortem Storage of Bovine Muscle. *J. Anim. Sci* 76:2415–2434, 1998.

CLAEYS, E., S. DE SMET, D. DEMEYER, R. GEERS, AND N. BUYS.

Effect of rate of pH decline on muscle enzyme activities in two pig lines. *Meat Sci.* **57** : 257–263, 2001.

CONG M., THOMPSON VF., GOLL DE., AND ANTIN P.

The bovine calpastatin gene promoter and a new N-terminal region of the protein are targets for Camp dependent protein kinase activity. *J Biol Chem* **273**, 660–666, 1998.

DE LUCA CI., DAVIES PL., SAMIS JA., AND ELCE JS.

Molecular cloning and bacterial expression of cDNA for rat calpain II 80-kDa subunit. *Biochim Biophys Acta* **1216**, 81–93, 1993

EMORI Y., KAWASAKI H., IMAKOH S., IMAHORI K., AND SUZUKA K.

Endogenous inhibitor for calcium-dependent cysteine protease contains four internal repeats that could be responsible for its multiple reactive sites. *Proc Natl Acad Sci USA* **84**, 3590-3594, 1997.

ETHERINGTON D. J., TAYLOR M. A. J. AND DRANSFIELD E.

Conditioning of meat from different species, relationship between tenderising and the levels of Cathepsin B, Cathepsin L, Calpain I, Calpain II and β -glucuronidase. *Meat Science* **20**, 1-18, 1987.

GEESINK GH. AND KOOHMARAIE M.

Effect of calpastatin on degradation of myofibrillar proteins by u-calpain under post-mortem conditions. *J Anim Sci* **77**, 2685-2692, 1999.

HORTOS M., GIL, M. AND SARRAGA C.

Effect of calpain and cathepsin activities on myofibrils from porcine longissimus muscle during conditioning of normal and exudative meat. *Sciences des aliments*, **14**, 50, 1994.

HOSFIELD CM, ELCE JS, DAVIES PL, AND JIA CRYSTAL Z.

Structure of calpain reveals the structural basis for Ca^{2+} -dependent protease activity and novel mode of enzyme activation. *EMBO J* **18**: 6880-6889, 1999.

IMAJOH S, KAWASAKI H, AND SUZUKI K.

The COOH-terminal E-F hand structure of calcium-activated neutral protease (CANP) is important for the association of subunits and resulting proteolytic activity. *J Biochem* **101** : 447-452, 1987.

ISMEA (2003) *Comunicati stampa on-line*, sito internet: www.ismea.it

ISTAT (2002), *5° Censimento generale dell'agricoltura 2000*, www.istat.it

ISTAT (2003), *Dati on-line*, www.istat.it

KOOHMARAIE M, SEIDEMAN SC, SCHOLLMAYER JE, DUTSON TR, AND CROUSE JD.

Effect of post-mortem storage on Ca^{++} -dependent proteases, their inhibitor and myofibril fragmentation. *Meat Sci.* **19**: 187-196, 1987

KOOHMARAIE M.

The role of Ca^{2+} -dependent protease (calpains) in post-mortem proteolysis and meat tenderness. *Biochimie*, **74**, 239-245, 1992.

KOOHMARIE M.

Muscle proteinases and meat aging. *Meat Science* **36**, 93-104, 1994.

KOOHMARIE M.

Biochemical factors regulating the toughening and tenderization process of meat. *Meat. Sci.* **43**, 193-201, 1996.

LIN G-D, CHATTOPADHYAY D, MAKI M, WANG KKW, CARSON M, JIN L, YUEN P, TAKANO E, HATANAKA M, DELUCAS LJ, AND NARAYANA SVL.

Crystal structure of a calcium bound domain VI of calpain at 1.9 angstrom resolution and its role in enzyme assembly. *Nature Struct Biol* **4**: 539-547, 1997.

OFIVAL (2003), *Pubblicazioni on-line* (www.ofival.fr)

OHNO S., TOBITA M., AND SUZUKI K.

Gene structure of calcium-dependent protease retains the ancestral organization of the calcium-binding protein gene. *FEBS Lett* **194**: 249-252, 1986.

OHNO S, EMORI Y, AND SUZUKI S.

Nucleotide sequence of a cDNA coding for the small subunit of human calcium-dependent protease. *Nucleic Acids Res* **14**: 5559, 1986.

OHNO S, MINOSHIMA S, KUDOH J, FUKUYAMA R, SHIMUZU Y, OHMI IMAJOH S, SHIMIZU N, AND SUZUKI K.

Four genes for the calpain family locate on four distinct human chromosomes. *Cytogenet Cell Genet* **33**: 225-229, 1990.

OUALI A, AND TALMANT A.

calpains and calpastatin distribution in bovine, porcine and ovine skeletal muscles. *Meat Sci.* **28**, 331, 1990.

OUALI A.

proteolytic and physiochemical mechanism involved in meat texture development. *Biochimie*, **74**, 251, 1992.

PIERI R.

Il Mercato delle Carne Bovina: Rapporto 2003, Ismea-Osservatorio Latte, Franco Angeli, Milano, 2003.

STEEN D., CLAEYS E., UYTTERHAEGEN L., DE SMET S., AND DEMEYER D.

Early *post mortem* conditions and the calpain/calpastatin system in relation to tenderness of double-muscle beef. *Meat Sci.* **45**, 307. 1997

ROSSETTO L., BOATTO V.

Effetti della Bse sul mercato della carne bovina in "L'impatto dell'Ocm carne sull'allevamento bovino dopo la crisi Bse" a cura di C. Giacomini, Franco Angeli, Milano, 2002.

ROSSETTO L., BOATTO V.

“I Costi di Produzione” in “Il Mercato delle Carne Bovina - Rapporto 2003” a cura di Ismea-Osservatorio Latte, Franco Angeli, Milano, pp. 55-68, 2003.

STROBL S., FERNANDEZ-CATALAN C., BRAUN M., HUBER R., MASUMOTO H., NAKAGAWA K., IRIE A., SORIMACHI H., BOURENKOW G., BARTUNIK H., SUZUKI K., AND BODE W.

The crystal structure of calcium-free human m-calpain suggests an electrostatic switch mechanism for activation by calcium. *Proc Natl Acad Sci USA* **97**, 588–592. 2000.

SMITH TPL. AND ROHRER GA.

Rapid communication: linkage mapping of the porcine micromolar calcium-activated neutral protease 1 (μ -calpain) gene on SSC2. *J Anim Sci* **79**, 554–555, 2001.

SHACKELFORD, S. D., KOOHMARAIE M., CUNDIFF L. V., GREGORY K. E., ROHRER G.A. AND SAVELL J.W.

Heritabilities and phenotypic and genetic correlations for bovine post rigor Calpastatin activity, intramuscular fat content, Warner Bratzler Shear Force, retail product yield and growth rate. *J. Anim. Sci.*, **72**, 857-863, 1994.

SHACKELFORD, S. D., KOOHMARAIE, G., MILLER, J. D., CROUSE, J. D. AND REAGAN, O.

An evaluation of tenderness of the longissimus muscle of Angus by Hereford versus Brahman crossbred heifers. *J. Anim: Sci*, **69**, 171, 1991.

SUZUKI K.

the structure of the calpains and the calpain gene. In: *Intracellular Calcium-Dependent Proteolysis*, edited by Mellgren RL and Murachi t. boca Raton, FL: CRC, 1990.

TAKANO J., KAWAMURA T., MURASE M., HITOMI K., AND MAKI M.

Structure of mouse calpastatin isoforms: implications of species-common and species-specific alternative splicing. *Biochem Biophys Res Commun* **260**, 339–345, 1999.

TOMPA P., EMORI Y., SORIMACHI H., SUZUKI K., AND FRIEDRICH P.

Domain III of calpain is a Ca²⁺-regulated phospholipid-binding domain. *Biochem Biophys Res Commun* **280**, 1333–1339, 2001.

WHIPPLE, G. M., KOOHMARIE, M.E., DIKEMAN, M. E., COUSE, J. D., HUNT, M. C., KLEMM., R. D.

Evaluation of attributes that affect longissimus muscle tenderness in *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle. *J. Anim. Sci.*, **68**, 2716, 1990.

WHEELER, T. L. AND SAVELL, JW.

J. Animal. Sci., **68**, 4206, 1990.

WULF, J. D., TATUM, J. D., GRENN, R. D., MORGAN, J. B., GOLDEN, B. L., SMITH, G. C.

Genetic influences on beef longissimus palatability in charolais and limousin sired steers and heifers. *J. Anim. Sci.*, **74**, 2394, 1996.