

La presente deliberazione viene affissa il

15 NOV. 2004

IMMEDIATA ESECUTIVITÀ

all'Albo Pretorio per rimanervi 15 giorni

PROVINCIA di BENEVENTO

Deliberazione della Giunta Provinciale di Benevento n. 583 del 15 NOV. 2004

Oggetto: PROGETTO DI RICERCA "CARATTERIZZAZIONE DI ALIMENTI TRADIZIONALI" - DEL CONSDABI - PROVVEDIMENTI.

L'anno duemilaquattro, il giorno CINQUE del mese di NOVEMBRE presso la Rocca dei Rettori si è riunita la Giunta Provinciale con l'intervento dei Signori:

1) On.le Carmine NARDONE	- Presidente	_____
2) rag. Giovanni MASTROCINQUE	- Vice Presidente	<u>ASSENTE</u>
3) rag. Alfonso CIERVO	- Assessore	_____
4) ing. Pompilio FORGIONE	- Assessore	<u>ASSENTE</u>
5) Dott. Pasquale GRIMALDI	- Assessore	_____
6) Dott. Giorgio Carlo NISTA	- Assessore	_____
7) Dr. Carlo PETRIELLA	- Assessore	_____
8) Dr. Rosario SPATAFORA	- Assessore	<u>ASSENTE</u>
9) geom. Carmine VALENTINO	- Assessore	_____

IL VICE SEGRETARIO GENERALE

(Dott. Sergio MUJOLLO)

Con la partecipazione del ^{v.} Segretario Generale Dott. Gianclaudio IANNELLA
L'ASSESSORE PROPONENTE


LA GIUNTA

Presa visione della proposta del Settore Edilizia e Patrimonio, qui di seguito descritta:

PREMESSO CHE la Provincia di Benevento:

- in base agli Indirizzi di Governo approvati con delibera del Consiglio Provinciale n. 69 del 16 giugno 2003, ai fini del conseguimento dell'eccellenza e della valorizzazione delle qualità territoriali originali, è particolarmente impegnata nell'innovazione e nella ricerca scientifica;
- infatti, ha attivato, autonomamente o in cooperazione con altri Soggetti istituzionali pubblici e/o privati, con Centri di ricerca italiani ed esteri, alcuni progetti ad elevato valore aggiunto nei settori della qualità e della sicurezza alimentare per il conseguimento del benessere del consumatore, della tutela dell'ambiente e del territorio, delle nuove tecnologie, della sanità;

- ha finanziato, in particolare, il Centro di genomica e di proteomica per affermare la qualità degli alimenti, riferita ormai al rapporto alimentazione/salute e sostenibilità globale, capace di individuare ogni prodotto come: "buono" o "non buono" rispetto alla salute del consumatore;

VISTA la nota prot. n. 694/04 Pos. 002.1.6 del 15/10/2004 del ConSDABI (Consorzio per la Sperimentazione, Divulgazione e Applicazione di Biotecnologie Innovative), con la quale viene evidenziato che il centro di ricerca, al fine di contribuire, attraverso l'ottimizzazione dell'uso della risorsa genetica autoctona, specialmente antica, alla ridefinizione della scala dei valori della qualità con riferimento al rapporto "alimentazione – salute – sostenibilità", ha interesse ad avviare un importante progetto di ricerca relativo alla "caratterizzazione di alimenti tradizionali";

Tenuto conto che:

- il suddetto progetto di ricerca è basato sullo studio della risorsa genetica autoctona, specialmente antica, che assume un ruolo sempre più importante come fattore di produzione ai fini di uno sviluppo socio- economico sostenibile;
- le finalità del progetto sono indirizzate alla tutela del consumatore in termini di sicurezza alimentare, tema questo che, in uno con gli strumenti per garantirla, è ormai al centro degli interessi della collettività e della filiera agro-alimentare;

VISTA l'articolazione e gli obiettivi del progetto di ricerca, sinteticamente riportata nella richiamata nota del ConSDABI del 15/10/2004, e le attività previste con un approccio genomico e proteomico, su soggetti di suino "casertana", allevati presso l'Azienda Sperimentale del ConSDABI sita in Circello, e sui "focci sanniti" dagli stessi provenienti, che di seguito si riportano:

- (a) stima della variabilità genetica *intra* – popolazione e studio dei polimorfismi a carico di *loci* sedi di geni codificanti, quale base per la diversificazione '*nutrizionale*' ed '*extranutrizionale*';
- (b) individuazione negli alimenti di '*molecole bioattive*' e studio dei fattori genetici e ambientali che ne influenzano il contenuto nella materia prima e nei prodotti derivati;
- (c) valutazione delle proprietà '*nutrizionali*' ed '*extranutrizionali*' sulla "*materia prima da trasformare*", dal momento che sono la quantità e la qualità delle molecole contenute in un alimento all'atto dell'ingestione a influenzare il '*benessere dell'uomo*';
- (d) caratterizzazione dell'intera filiera produttiva al fine di evidenziare le inscindibili relazioni tra tecnica di allevamento, benessere animale, qualità del prodotto e salute umana, con l'intento di formulare proposte supportate da dati oggettivi, per la definizione della '*qualità totale*'; quest'ultima intesa quale risultato della '*somma delle qualità*' delle varie fasi del processo che inizia dal momento produttivo e giunge a quello dell'ingestione; la '*qualità totale*' non può prescindere dal '*benessere animale*'.

Tenuto conto altresì che il ConSDABI può ben considerarsi un vero e proprio Polo Multifunzionale nella ricerca avanzata ed innovativa, dalle diversificate funzioni orientate a identificare, con approccio sistemico, itinerari tendenti a riconferire importanza e dignità alle autoctonie (segnatamente alla biodiversità autoctona antica) e conducenti al raggiungimento di un dinamico stato di benessere dell'uomo quale componente del territorio, nell'ottica di uno sviluppo sostenibile;

VISTA la richiesta formulata a questo Ente, con la richiamata nota del 15/10/2004, di voler sostenere l'iniziativa con un contributo, di € 60.000,00, sui costi richiesti per la realizzazione del progetto di ricerca, non completamente sopportabili dal ConSDABI, avuto riguardo ai tempi necessari, stimati in almeno 6 mesi, alle adeguate e specifiche professionalità da utilizzare, ai materiali speciali di consumo per tutte le analisi di laboratorio da effettuare, all'assistenza nell'utilizzo di attrezzature e apparecchiature scientifiche, oltre ad ulteriori oneri richiesti per pervenire a risultati ottimali della ricerca;

RITENUTO che l'iniziativa è coerente con gli indirizzi ed obiettivi strategici di questo Ente;

RAVVISATA pertanto l'opportunità di sostenere l'iniziativa attraverso il finanziamento del succitato progetto di ricerca del ConSDABI, nei limiti dell'importo di € 60.000,00 disponibile sul capitolo n. 15921/3 del Bilancio 2004;

RITENUTO altresì doversi regolamentare le modalità ed i tempi di erogazione del finanziamento, correlandoli alla consegna a questo Ente di specifici rapporti tecnici sui risultati intermedi ottenuti nel corso della ricerca, attraverso specifica convenzione;

- per tutte le motivazioni sopraesposte si propone:

- 1) di approvare la spesa di € 60.000,00 quale contributo alla spesa per il progetto di ricerca da attuarsi da parte del ConSDABI (Consorzio per la Sperimentazione, Divulgazione e Applicazione di Biotecnologie Innovative) avente per oggetto la "CARATTERIZZAZIONE DI ALIMENTI TRADIZIONALI", secondo le specifiche tecniche riportate nella nota prot. n. 694/04 Pos. 002.1.6 del 15/10/2004 del ConSDABI, che si allega;
- 2) di far gravare la spesa di € 60.000,00 sul cap. n. 15921/3 del Bil. 2004;
- 3) di onerare il Dirigente del Settore, di tutti i consequenziali adempimenti, ivi inclusa la predisposizione dello schema di convenzione regolante i rapporti tra questo Ente ed il ConSDABI, ed in particolare tempi e modalità di erogazione del contributo;

RITENUTO doversi provvedere all'approvazione della sopra riportata proposta:

Esprime parere favorevole circa la regolarità tecnica della proposta.

Li _____

Il Dirigente S.E.P.
(dott. ing. Valentino Melillo)



Esprime parere favorevole circa la regolarità contabile della proposta,

Li _____

UFFICIO IMPEGNI
REGISTRAZIONE IMPEGNO CONTABILE
CAP. 15921/3
PROG. N. 2582/04

Il Dirigente del Settore FINANZE
E CONTROLLO ECONOMICO
202 (dr. Sergio Muollo)

LA GIUNTA

Su relazione dell'Assessore al ramo
A voti unanimi

DELIBERA

- la premessa è parte integrante e sostanziale del presente dispositivo;
- di approvare la spesa di € 60.000,00 quale contributo alla spesa per il progetto di ricerca da attuarsi da parte del ConSDABI (Consorzio per la Sperimentazione, Divulgazione e Applicazione di Biotecniche Innovative) avente per oggetto la "CARATTERIZZAZIONE DI ALIMENTI TRADIZIONALI", secondo le specifiche tecniche riportate nella nota prot. n. 694/04 Pos. 002.1.6 del 15/10/2004 del ConSDABI, che si allega;
- di far gravare la spesa di € 60.000,00 sul cap. n. 15921/3 del Bil. 2004;
- di onerare il Dirigente del Settore, di tutti i consequenziali adempimenti, ivi inclusa la predisposizione dello schema di convenzione regolante i rapporti tra questo Ente ed il ConSDABI, ed in particolare tempi e modalità di erogazione del contributo;
- di dare al presente atto immediata esecutività.

IL VICE SEGRETARIO GENERALE
Verbale letto, confermato e sottoscritto
(Dr. Gianclaudio IANNELLA)

IL PRESIDENTE
(On.le Carmine NARDONE)

N. 104 Registro Pubblicazione

Si certifica che la presente deliberazione è stata affissa all'Albo in data odierna, per rimanervi per 15 giorni consecutivi a norma dell'art. 124 del T.U. - D.Lgs.vo 18.08.2000, n. 267.

BENEVENTO 15 NOV. 2004

IL MESSO
Wol

IL SEGRETARIO GENERALE
(Dott. Gianclaudio IANNELLA)

La sujestata deliberazione è stata affissa all'Albo Pretorio in data 15 NOV. 2004 e contestualmente comunicata ai Capigruppo ai sensi dell'art. 125 del T.U. - D.Lgs.vo 18.08.2000, n. 267.

SI ATTESTA che la presente deliberazione è divenuta esecutiva a norma dell'art. 124 del T.U. - D.Lgs.vo 18.08.2000, n. 267 e avverso la stessa non sono stati sollevati rilievi nei termini di legge.

Il 1 DIC. 2004
IL RESPONSABILE DELL'UFFICIO

IL SEGRETARIO GENERALE
(F.to Dott. Gianclaudio IANNELLA)

Si certifica che la presente deliberazione è divenuta esecutiva ai sensi del T.U. - D.Lgs.vo 18.08.2000, n. 267 il giorno 1 DIC. 2004.

- Dichiarata immediatamente eseguibile (art. 134, comma 4, D.Lgs.vo 18.08.2000, n. 267)
- Decorsi 10 giorni dalla sua pubblicazione (art. 134, comma 3, D.Lgs.vo 18.08.2000, n. 267)
- E' stata revocata con atto n. _____ del _____.

BENEVENTO, li 1 DIC. 2004

IL SEGRETARIO GENERALE
(Dott. Gianclaudio IANNELLA)

Copia per
SETTORE SEP
SETTORE Finanze e c.c.
SETTORE _____

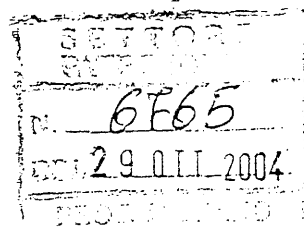
- Revisori dei Conti
- Nucleo di Valutazione

Conferenza Capigruppo

il 7218 prot. n. Es. 7683
il 7611/Es prot. n. 2.12.04
il _____ prot. n. _____
il _____ prot. n. _____

Dest. Edilizia Settore

ConSDABI



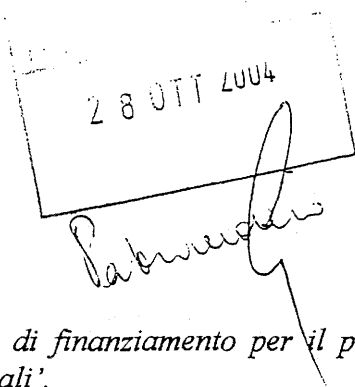
CONSORZIO PER LA SPERIMENTAZIONE, DIVULGAZIONE E APPLICAZIONE DI BIOTECNICHE INNOVATIVE
Soci: Associazione Italiana Allevatori, Comune di Circello, CCLAA di Benevento, Provincia di Benevento e Associazione Nazionale Allevatori Frisone Italiana
Promosso da: Ministero delle Politiche Agricole e Forestali

CENTRO DI RICERCA SULLE RISORSE GENETICHE ANIMALI DI INTERESSE ZOOTECNICO - CENTRO PRODUZIONE SPERMA ED EMBRIONI
CENTRO DI GENOMICA E DI PROTEOMICA PER LA QUALITÀ E PER L'ECCELLENZA ALIMENTARE

National Focal Point Italiano - FAO
Global Strategy for the Management of Farm Animal Genetic Resources

Ing. Melillo
Villè

Prot. n. 694/04
Pos. 002.1.6



Benevento, 15/10/04

Al Presidente della Provincia di Benevento
On.le Carmine Nardone
Piazza Castello
82100 BENEVENTO

Oggetto: richiesta di finanziamento per il progetto di ricerca relativo alla caratterizzazione di alimenti 'tradizionali'.

1. Premessa

Il Consorzio di Sperimentazione, Divulgazione e Applicazione di Biotecnologie Innovative (ConSDABI) è sede di:

- National Focal Point Italiano della FAO (NFP.I.-FAO), per la tutela del germoplasma animale in via di estinzione nell'ambito del *Global Strategy for the Management of Farm Animal Genetic Resources*;
- Centro di Genomica e di Proteomica per la Qualità e per l'Eccellenza Alimentare;
- Centro di Ricerca sulle Risorse Genetiche Animali di Interesse Zootecnico;
- Centro di Produzione Sperma ed Embrioni.

Il ConSDABI NFP.I.-FAO può essere considerato un vero e proprio *Polo Multifunzionale* dalle diversificate funzioni orientate a identificare, con approccio *sistemico*, itinerari tendenti a riconferire importanza e dignità alle *autoctonie* (segnatamente alla *biodiversità autoctona antica*) e conducenti al raggiungimento di un dinamico stato di *benessere* dell'uomo quale componente del territorio nell'ottica di uno sviluppo sostenibile.

Nello svolgimento della sua attività il ConSDABI NFP.I.-FAO ha allacciato rapporti di collaborazione sempre più stretti con la Provincia di Benevento, dallo scorso anno socio del Consorzio, attraverso l'attuazione di convenzioni e protocolli d'intesa, in particolare:

1. il 21 gennaio 2003 è stato siglato un accordo di programma tra la Provincia di Benevento e il ConSDABI NFP.I. - FAO per la costituzione del Centro di Genomica e di Proteomica per la Qualità e per l'Eccellenza Alimentare, per l'effettuazione, principalmente, di analisi specifiche tendenti a individuare eventuali marcatori molecolari da utilizzare come parametri di qualità, salubrità, tipicità e tracciabilità dei prodotti di origine animale;
2. il 13 febbraio 2003 è stato siglato un protocollo d'intesa tra la Provincia di Benevento, l'Università degli Studi del Sannio, il Parco Scientifico e Tecnologico di Salerno e delle aree interne della Campania, il ConSDABI NFP.I. - FAO e il Saint Hyacinthe Technopole di Montreal, per organizzare e stilare un programma tecnico-finanziario per la realizzazione di un progetto di cooperazione nell'area della formazione, della ricerca biotecnologica e della sicurezza agroalimentare, e in quella di trasferimento tecnologico e della commercializzazione;

Il futuro del passato è nel futuro,
il futuro del presente è nel passato e
il futuro del futuro è nel presente.

J. Mehtalle



Tel.: (+39) 0824 334300
Telefax: (+39) 0824 334046
E-mail: consdabi@consdabi.org
Internet: <http://www.consdabi.org>

3. il 21 aprile 2004 è stato siglato un protocollo d'intesa tra la Provincia di Benevento, l'Associazione Centro studi "Uomo e Ambiente" (CSUA) e il ConSDABI *NFP.I.* - FAO, al fine di attuare una collaborazione culturale da concretizzare attraverso lo sviluppo e il pieno utilizzo dei mezzi di comunicazione del CSUA, costituiti dalla Rivista "Ambiente, Risorse, Salute" e dal sito web "scienzeegoverno.org";
4. il 13 maggio 2004 è stato siglato un protocollo d'intesa tra la Provincia di Benevento, l'Azienda Ospedaliera "G. Rummo" e il ConSDABI *NFP.I.* - FAO per la realizzazione di un Centro di eccellenza dedicato all'identificazione precoce delle mutazioni genetiche causali per le malattie mendeliane o di suscettibilità per le malattie multifattoriali.

La Provincia di Benevento ha fornito il ConSDABI *NFP.I.*- FAO delle apparecchiature necessarie all'avvio delle attività di ricerca nei settori di Genomica e di Proteomica. Il programma di ricerca, inteso come sistema integrato Proteomica - Genomica, ha come obiettivo la caratterizzazione qualitativa e nutrizionale della carne di TGA, che può essere raggiunta attraverso un'analisi quanti-qualitativa della frazione proteica, che permette di identificare molecole funzionali per la salute dell'uomo e attraverso la tecnica del DNA *microarray* per uno studio comparativo e simultaneo dell'espressione di migliaia di geni in diversi tessuti.

Il ConSDABI *NFP.I.* - FAO, al fine di contribuire, attraverso l'ottimizzazione dell'uso della risorsa genetica autoctona specialmente antica, alla ridefinizione della scala dei valori della qualità con riferimento al rapporto '*alimentazione-salute-sostenibilità*', ha interesse ad avviare un importante progetto di ricerca che si articola nelle seguenti attività:

- (a) stima della variabilità genetica *intra*-popolazione e studio dei polimorfismi a carico di *loci* sedi di geni codificanti, quale base per la diversificazione '*nutrizionale*' ed '*extranutrizionale*';
- (b) individuazione negli alimenti di '*molecole bioattive*' e studio dei fattori genetici e ambientali che ne influenzano il contenuto nella materia prima e nei prodotti derivati;
- (c) valutazione delle proprietà '*nutrizionali*' ed '*extranutrizionali*' sulla '*materia prima da trasformare*' dal momento che sono la quantità e la qualità delle molecole contenute in un alimento all'atto dell'ingestione a influenzare il '*benessere dell'uomo*';
- (d) caratterizzazione dell'intera filiera produttiva al fine di evidenziare le inscindibili relazioni tra tecnica di allevamento, benessere animale, qualità del prodotto e salute umana, con l'intento di formulare proposte supportate da dati oggettivi, per la definizione della '*qualità totale*'; quest'ultima intesa quale risultato della '*somma delle qualità*' delle varie fasi del processo che inizia dal momento produttivo e giunge a quello dell'ingestione; la '*qualità totale*' non può prescindere dal '*benessere animale*'.

La risorsa genetica autoctona, specialmente antica, assume un ruolo sempre più importante come fattore di produzione ai fini di uno sviluppo socio-economico sostenibile; i TGA e i TGAA rappresentano una fonte insostituibile di prodotti '*tradizionali tipizzati etichettati*' (PTTE) caratterizzati da elevate '*specificità organolettiche, nutrizionali ed extranutrizionali*. Ai fini della tutela di un PTTE è sempre più auspicabile una politica agro-alimentare in grado di rafforzare il legame '*prodotto - TGA (o TGAA) di provenienza*' e, entro quest'ultimo, il legame '*prodotto - individuo di provenienza*' attraverso l'individuazione di '*marcatori*' utili per garantire il consumatore in termini di sicurezza alimentare.

Il tema della sicurezza alimentare e degli strumenti per garantirla sono ormai da tempo al centro del dibattito sia politico sia degli operatori della filiera agro-alimentare e in tale contesto sono stati ben definiti i concetti di '*tracciabilità*' e di '*rintracciabilità*' di filiera. Con il termine di '*tracciabilità*' si intende il processo informativo che segue il prodotto da monte a valle della filiera produttiva; mentre per '*rintracciabilità*' si intende il processo informativo che dal prodotto alimentare da ingerire risale al tipo genetico dell'animale; pertanto, i due concetti sono da considerarsi non analoghi, ma complementari.



La problematica della rintracciabilità sopra riportata sarà affrontata attraverso l'approccio genomico e proteomico.

2. Genomica

2.1. Introduzione

La genomica si occupa della caratterizzazione molecolare del genoma, ove per genoma si intende il patrimonio ereditario di un individuo. In particolare, la genomica strutturale riguarda la caratterizzazione molecolare e la localizzazione dei geni (geni intesi come 'unità di trascrizione' in RNA) sui cromosomi ('*mappa genomica*'). La genomica funzionale riguarda lo studio dei profili di espressione e di interazione genica all'interno del genoma considerato nel suo complesso.

Lo sviluppo delle tecniche di analisi del DNA ha permesso un notevole progresso nel settore della genomica animale, mettendo a disposizione marcatori genetici [microsatelliti, ovvero brevi ripetizioni nucleotidiche disposte in *tandem* (STR, *Short Tandem Repeats*) e polimorfismi del singolo nucleotide (SNP, *Single Nucleotide Polimorphisms*)] per definire, attraverso un '*test genetico di identità*', per ciascun soggetto, una '*carta molecolare d'identità*' o '*impronta genetica*' (DNA *fingerprinting*), che permetta di seguire il destino dell'animale lungo l'intera filiera produttiva. Infatti, attraverso l'identificazione del genotipo ai *loci* microsatellitari sul prodotto finito è possibile risalire al soggetto produttore previamente tipizzato per gli stessi *loci*: verificare la corrispondenza '*animale-prodotto*', cioè i due genotipi debbono essere necessariamente identici. In questo modo sarà possibile effettuare controlli che possono essere gestiti dalle associazioni dei consumatori e dalle associazioni dei produttori, offrendo una garanzia di origine del PTTE.

2.2. Obiettivi

Obiettivo specifico del presente progetto è quello di elaborare uno strumento sicuro, rapido e trasparente di rintracciabilità del PTTE ottenuto dal TGAA 'Casertana', basato sull'identificazione del singolo capo mediante l'analisi del DNA. In particolare, al fine di garantire il consumatore circa la possibilità di verificare a quale animale appartiene un PTTE si propone la messa a punto di un metodo di rintracciabilità basato sull'analisi e sul confronto del genotipo a *loci* microsatellitari effettuati sul DNA estratto dal soggetto in vita e dal campione *test* prelevato dall'animale *post-mortem* (carne fresca o prodotto stagionato).

2.3. Materiale e metodi

Saranno presi in considerazione 12 soggetti appartenenti al TGAA suino 'Casertana' non imparentati tra loro.

Analisi ante mortem. Gli animali oggetto di studio vengono identificati in allevamento mediante marca auricolare, o meglio, mediante *microchips*; da ogni soggetto saranno prelevati sangue o pelo.

L'estrazione del DNA dai suddetti campioni sarà effettuata con la metodica classica (Sambrook *et al.*, 1989) oppure con *kit* commerciali. L'analisi del genotipo ai *loci* microsatellitari prevede l'amplificazione del DNA mediante reazione a catena della polimerasi (PCR, *polymerase chain reaction*) e nella successiva lettura dei risultati ottenuti mediante sequenziatore automatico.

I risultati ottenuti dell'analisi del genotipo a 30 *loci* microsatellitari saranno archiviati in una scheda identificativa (*database*) dell'animale per il successivo confronto con il campione da sottoporre al '*test di identità*'.

Analisi post mortem. Il campione *test* per l'analisi *post mortem* può essere rappresentato da carne fresca o da un suo derivato; dai suddetti campioni viene estratto il DNA per la determinazione del genotipo agli stessi *loci* microsatellitari presi in considerazione per l'analisi *ante mortem*; i genotipi ottenuti vengono confrontati con quelli archiviati nel *database* per la verifica dell'identità molecolare.



Per poter effettuare questo tipo di analisi saranno utilizzate le seguenti attrezzature presenti in laboratorio:

- a. **Robot (Biomek 2000):** stazione di lavoro robotizzata per l'estrazione degli acidi nucleici (DNA e RNA)
- b. **termocicizzatore per la reazione a catena della polimerasi** per l'amplificazione del DNA ai *loci* microsatellitari
- c. **sequenziatore automatico di DNA** per la determinazione del genotipo a *loci* microsatellitari
- d. **Typhoon:** scanner utilizzato per l'acquisizione e l'analisi quali-quantitativa di immagini provenienti da:
 - (i) gel di agarosio (elettroforesi monodimensionale per il controllo quanti/qualitativo di: DNA estratto, PCR e digestioni con enzimi di restrizione)
 - (ii) gel 2D (elettroforesi bidimensionale su gel di poliacrilamide, utilizzato per la separazione delle proteine)
 - (iii) vetrini ottenuti con la tecnica del DNA *microarray* per analisi di espressione genica

3. Proteomica

3.1. Introduzione

La proteomica è la scienza che consente di identificare, isolare, classificare le proteine e le relative isoforme espresse da ciascuna cellula di un organismo, in un determinato momento del proprio ciclo vitale.

La proteomica si rivela insostituibile per caratterizzare le specificità alimentari di un determinato territorio. Essa fornisce infatti un notevole contributo per l'ottimizzazione dei processi di trasformazione della materia prima di origine animale, per la tutela dell'unicità del prodotto e per la garanzia della salubrità dello stesso. Attraverso la proteomica è possibile ottenere vere e proprie impronte (*fingerprinting*) di mappe bidimensionali polipeptidiche dei '*Prodotti Tradizionali Tipizzati Etichettati*' che vengono registrate come immagini in banche dati; tali immagini possono essere utilizzate nelle analisi di tracciabilità, come termine di confronto per la verifica della presenza di alcuni parametri di tipicità e di salubrità nel prodotto in esame. Le eventuali discordanze tra la mappa del prodotto in esame e quella presente in banca dati possono essere indici di:

fattori che riguardano la qualità e tipicità del prodotto:

- (a) prodotto di imitazione
- (b) condizioni diverse di maturazione della materia prima trasformata
- (c) provenienza, in quanto legato alle tradizioni tecnologiche di un territorio o di un area geografica

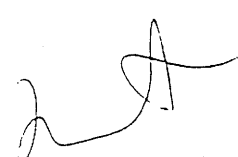
e fattori che riguardano la salubrità del prodotto:

- (a) fermentazioni anomale dovute ad inquinamento batterico non desiderato o patogeno

Le proteine della carne, possono essere suddivise approssimativamente in:

- (a) proteine sarcoplasmatiche
- (b) proteine miofibrillari
- (c) proteine dello stroma

Le prime sono quelle solubili in acqua o in soluzioni saline diluite; le seconde sono quelle solubili in soluzioni saline concentrate; le terze sono quelle insolubili in acqua e in soluzioni saline concentrate.



Le principali proteine della carne sono riportate nel seguente schema:

PROTEINE DELLA CARNE

Proteine sarcoplasmatiche (solubili in acqua)	32,5%
Enzimi citoplasmatici, mitocondriali, ecc...	30,0%
Mioglobina	1,5%
Emoglobina	0,5%
Citocromi, flavoproteine	0,5%
Proteine miofibrillari (solubili in soluzioni saline concentrate)	51,5%
Miosina	27,0%
Actina	11%
Tropomiosina	4,3%
Troponine	4,3%
Altre	4,9%
Proteine dello stroma (insolubili)	
Collagene	8,0%
Elastina	0,5%
Altre	7,5%

In particolare verranno studiate le proteine miofibrillari e quelle sarcoplasmatiche.

La maturazione dei salumi inizia con la conversione del muscolo in carne. In questa fase gli enzimi citoplasmatici, le calpaine, attaccano le miofibrille iniziando la proteolisi dalla zona M e Z. Ciò permette la disgregazione della fibra che perde la sua rigidità: si può immaginare una corda tesa che viene tagliata. Le calpaine generalmente vengono inattivate dopo circa 3-5 giorni sia per effetto degli inibitori (*calpestatine*) sia per effetto dell'abbassamento del pH intorno a 5. Quando il pH del muscolo raggiunge questo valore, si rompono le membrane lisosomiali e fuoriescono le catepsine che continuano la proteolisi agendo sulle proteine miofibrillari, in particolare sulla miosina e sull'actina, rendendo le carni più tenere e producendo piccoli peptidi e amminoacidi che concorrono alla formazione del gusto della carne.

Il seguente schema riporta i sapori noti e associati a ogni singolo amminoacido:

AMMINOACIDI	SAPORI
Asp (Asparagina)	Saporito
Thr (Treonina)	Dolce
Ser (Serina)	Dolce
Glu (Glutammato)	Saporito
Pro (Prolina)	Acro-dolce
Gly (Glicina)	Dolce
Ala (Alanina)	Dolce
Val (Valina)	Amaro
Met (Metionina)	Amaro
Ile (Isoleucina)	Amaro
Leu (Leucina)	Amaro
Tyr (Tirosina)	Amaro
Phe (Fenilalanina)	Amaro
His (Istidina)	Amaro
Lys (Lisina)	Dolce/Amaro
Arg (Arginina)	Amaro
Tau (Taurina), Orn (Ornitina)	Salato/Brodo
Cys (Cisteina)	Amaro



Nei salumi a pezzo anatomico intero questo tipo di proteolisi continua per tutta la stagionatura, ma rallenta nel tempo. Dalla letteratura consultata si è osservato che, nei prosciutti, le proteine miofibrillari vengono idrolizzate per prima e solo dopo 10÷12 mesi si osserva una proteolisi delle proteine sarcoplasmatiche. Questo evento biologico si spiega considerando che le catepsine hanno come substrato elettivo le proteine miofibrillari.

3.2. Obiettivi

Obiettivo specifico è l'analisi delle proteine coinvolte nei processi di proteolisi e nello sviluppo sensoriale dei prodotti stagionati al fine di individuare marcatori biochimici, che, unitamente agli altri parametri tradizionali di qualità (fisici, chimico-fisici, microbiologici, fisiologici e chimici) consentono sia di ottimizzare i processi di conservazione che di contribuire alla definizione delle caratteristiche "nutrizionali", "extranutrizionali" nonché all'individuazione di un PTTE.

3.3. Materiale e metodi

Saranno analizzati campioni di 'Fiocco' ottenuti dalla macellazione di 12 soggetti suini del TGAA 'Casertana' al fine di avere una quantità di dati tale da permettere una caratterizzazione proteomica dettagliata degli stessi. Il 'Fiocco' è un prodotto tipico sannita ottenuto dalla coscia di suino e, in particolare, è composto dai muscoli: Sm (*Semimembranosus*), Gb (*gluteobiceps*), e St (*Semitendinosus*) presenti per circa il 70%, il 60% e il 95% rispettivamente. Questi muscoli costituiscono la parte più importante del prosciutto e ne rappresentano circa il 38% in peso.

Per tutti i campioni, prelevati nella stessa fase di stagionatura, saranno eseguite tre replicazioni. Inoltre, si effettuerà una caratterizzazione delle proteine non riconosciute dalla banca dati e questo sarà possibile mediante sequenza di alcuni peptidi.

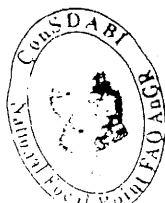
L'elaborazione dei risultati porterà alla valutazione delle:

- (a) proprietà "nutrizionali" e "extranutrizionali" della componente proteica
- (b) migliori condizioni di produzione del prodotto, in particolare quelle di maturazione
- (c) costruzione di una banca dati proteomica per il 'Fiocco'.

Le analisi riguarderanno l'estrazione dai suddetti campioni delle proteine sarcoplasmatiche e miofibrillari che saranno frazionate a seconda della loro differente solubilità e poi separate con il gel elettroforetico bidimensionale (2-DGE) che permette di discriminare tutte le proteine presenti. Esso produce una mappa di proteine visualizzate sotto forma di macchiette (*spots*) e rappresenta una vera e propria impronta digitale del campione analizzato. Queste mappe, dopo essere state acquisite sotto forma di immagine per mezzo di uno scanner, verranno comparate fra di loro mediante *analisi di immagine* (sovrapposizione delle immagini relative alle diverse mappe bidimensionali). Il confronto tra le immagini delle repliche relative allo stesso soggetto consentirà la verifica della corretta esecuzione della tecnica elettroforetica; mentre quello effettuato tra le immagini relative a soggetti diversi permetterà di determinare con certezza quali proteine (*spots*) compaiono o scompaiono, o sono quantitativamente diverse, e di definire le coordinate delle stesse (pI, PM). Una volta individuati gli *spots* di maggiore interesse, questi saranno tagliati dal gel e sottoposti all'azione della tripsina *in situ*. La miscela triptica eluita dal gel sarà analizzata con l'ausilio della spettrometria di massa mediante l'utilizzo di uno spettrometro di massa Ettan MALDI-TOF/prospectrometer, e il riconoscimento della proteina intera sarà effettuato tramite confronto con i triptici delle proteine disponibili in banca dati.

Per poter effettuare questo tipo di analisi saranno utilizzate le seguenti attrezzature presenti in laboratorio:

- a. Immobiline Dry Strip Reswelling Tray: dispositivo impiegato per caricare il campione.



2 A 6

- b. Ettan IPGphor II: dispositivo impiegato per la separazione elettroforetica nella prima dimensione.
- c. Sistema per la preparazione del gel di poliacrilamide costituito da: Hoefer DALT Gradient Maker - Masterflex L/S - EttanTM Dalt twelve System.
- d. Sistema per elettroforesi su gel di poliacrilamide costituito da: EttanTM Dalt twelve System Power Supply and Control Unit - EttanTM Dalt twelve System - Separation Unit.
- e. Image Scanner e Software Image 2Dplatinum: scanner per l'acquisizione del gel e software l'analisi del gel acquisito.
- f. Ettan Maldit TOF: spettrometro di massa che consente di individuare le proteine in base alla loro rapporto massa/cari

Cronogramma di attuazione

VOCE	ANNO					
	2004	2005				
	DICEMBRE	GENNAIO	FEBBRAIO	MARZO	APRILE	MAGGIO
ANALISI PROTEOMICA, N ⁽¹⁾	7		5			-
ANALISI GENOMICA, N ⁽¹⁾	-		-			12

⁽¹⁾ il numero si riferisce ai soggetti che saranno presi in esame.

Cronogramma finanziario

COSTO	ANNO					
	2004	2005				
	DICEMBRE	GENNAIO	FEBBRAIO	MARZO	APRILE	MAGGIO
PRODOTTO (FIOCCO)	€ 7.000,00		€ 5.000,00			-
ANALISI PROTEOMICA	€ 53.000,00		€ 35.000,00			-
ANALISI GENOMICA	-		-		€ 20.000,00	
TOTALE	€ 60.000,00		€ 40.000,00		€ 20.000,00	

Per la realizzazione del suddetto progetto di ricerca, i cui tempi di attuazione sono stimati in mesi 6 (sei), occorrono adeguate professionalità, materiali di consumo per tutte le analisi di laboratorio, assistenza nell'utilizzo di attrezzature e apparecchiature scientifiche, oltre a ulteriori oneri richiesti per pervenire a risultati ottimali della ricerca, i cui costi non sono completamente supportabili da questo Consorzio. A tal fine si richiede alla S.V., quale rappresentante di un Ente che ha sempre dimostrato attenzione e sensibilità per la ricerca scientifica nel nostro territorio valorizzando, oltretutto, professionalità sannite, di voler sostenere l'iniziativa con un contributo non inferiore a € 60.000,00, che sarà concesso previa stipula di un'apposita convenzione.

In attesa di un benevolo riscontro, si porgono distinti saluti.

Il Presidente
prof. Donato Matassino



Donato Matassino
7