



PROGETTO

Valorizzazione della Mandorla di Avola

attraverso l'identificazione
di marcatori di qualità e tipicità
con l'utilizzo di metodiche
innovative



Valorizzazione della Mandorla di Avola

ATI:

Ce.fi.t. s.r.l.
L.C. Laboratori Campisi s.r.l.
Proteogen s.r.l

AZIONE

Programma di iniziativa comunitaria Leader + 2002/2008
PSL "ELORO" – AZIONE 1.3.3. – Azione di potenziamento
della filiera olio, vino, mandorla



Mandorle di avola





Il contesto in cui si sviluppa il progetto di ricerca

Il mandorlo, originario dell'Asia centrale, deve ai Greci la sua diffusione nel bacino del Mediterraneo, tra il V e il VI secolo a.C.

Già nella Magna Grecia, dove colonie di Greci posero le basi di quella che oggi è la cucina italiana, si usavano le mandorle per realizzare ghiotti dolci. In Italia questa pianta viene coltivata principalmente in Sicilia e Puglia. Oggi è uno dei più importanti alimenti della tradizione gastronomica siciliana.

I suoi alberi inebriano la provincia di Siracusa di delicati profumi che emanano i candidi fiori donando uno spettacolo paesaggistico suggestivo e caratteristico.

In provincia di Siracusa la coltivazione delle mandorle è molto antica ed è concentrata principalmente tra Avola e Noto, da dove giungono i frutti più profumati, i più ricchi di grassi, di proteine, di essenze. Il mandorlo coltivato (*Prunus amygdalus*) appartiene alla famiglia delle rosacee, sottofamiglia prunoideae. Il frutto è una drupa ovoidale o allungata con escarpo (mallo) carnoso, verde, a volte sfumato di rosso. Endocarpo (guscio legnoso) di consistenza variabile secondo la varietà.

Il seme (mandorla) è ricoperta da un'epidermide liscia o rugosa di colore oscillante dall'ocra al marrone.

La pianta ha una precoce fioritura che le consente di poter superare agevolmente i periodi estivi di eventuale siccità, e già dai primi del mese di gennaio i suoi rami si ricoprono di fiori.

La diversità biologica mondiale, rappresentata dalla variabilità tra gli organismi viventi, rappresenta una ricchezza di grande valore per motivi di natura ecologica, genetica, sociale, economica, scientifica e culturale.

La diversità tra specie e varietà è importante per l'evoluzione e il mantenimento dei sistemi vitali della biosfera.

La salvaguardia e l'uso sostenibile delle biodiversità sono traguardi irrinunciabili per garantire in futuro i fabbisogni in alimenti, salute ed altre necessità della popolazione mondiale in continua crescita. Il problema della conservazione delle biodiversità è particolarmente sentito nell'agricoltura moderna dove, a causa dei sempre più frequenti incroci per ottenere varietà altamente produttive, le popolazioni locali, evolutesi a fatica durante molti secoli grazie all'azione concomitante dell'uomo e dei fattori contingenti in cui si sviluppavano, sono state abbandonate e corrono giornalmente il rischio di essere definitivamente perse.

Gli obiettivi che hanno guidato questa progressiva selezione genetica sono stati prevalentemente di tipo "quantitativo" piuttosto che "qualitativo".

Se da un lato la tendenza alla diffusione di nuovi prodotti genetici ha consentito una maggiore disponibilità di fonti alimentari in aree economicamente depresse, dall'altro ha determinato una progressiva erosione del più antico patrimonio genetico vegetale che potrebbe rappresentare una fonte preziosa di materie prime in grado di soddisfare molteplici esigenze dell'industria alimentare.

L'utilizzo massiccio di poche specie vegetali a scapito di molte altre, alcune delle quali caratteristiche di ristrette aree geografiche, si è tradotto in un progressivo mutamento ed appiattimento delle abitudini alimentari della popolazione mondiale.

Recentemente, è stata avanzata l'ipotesi che questi cambiamenti del regime alimentare abbiano fortemente contribuito all'aumento, soprattutto in quest'ultimo secolo, dell'incidenza di alcune gravi patologie degenerative quali cancro e malattie cardiovascolari. Da un punto di vista antropologico, all'evoluzione delle produzioni agricole ed ai conseguenti mutamenti in termini di disponibilità di materie prime ad uso alimentare, non è seguito un analogo rapido adattamento biologico dell'uomo nei confronti di una

dieta meno varia e sempre piu' distante da quella originaria.

In relazione ai dati più recenti che indicano l'esistenza di una relazione inversa tra consumo di vegetali e incidenza di patologie degenerative, la salvaguardia di specie autoctone minori appare di estremo interesse in considerazione anche del loro enorme potenziale di "health promoting capacity".

L'incremento delle potenzialità produttive delle nuove accessioni, inoltre, è spesso ottenuto ricorrendo a dosi massicce di pesticidi e fertilizzanti con sviluppi dannosi a carico dell'ambiente e delle stesse produzioni. L'uniformità genetica che contraddistingue le varietà oggi presenti in coltura (in particolare ibridi e specie transgeniche), può portare a grossi rischi per l'economia di un paese.

La Terza Conferenza Tecnica Internazionale sulle Risorse Genetiche Vegetali di Leipzig (1996), ha considerato la diversità biologica in agricoltura il punto più importante all'ordine del giorno. Salvaguardare, quindi, in tutti i modi, ma anche studiare le caratteristiche di tale immenso patrimonio genetico evolutosi sino ai nostri giorni, sono gli imperativi categorici da seguire, specialmente nel mondo vegetale ed animale, in vista anche di una loro valorizzazione.

La conoscenza delle caratteristiche genetiche della maggior parte delle piante ed animali è, infatti, limitatissima.

Si comprende una volta di più, perché è d'obbligo, per non perdere definitivamente patrimoni genetici fondamentali non solo dal punto di vista della storia della terra, ma soprattutto forieri di benefici per l'intero sviluppo sostenibile dell'umanità, una loro repentina ricerca, caratterizzazione e conoscenza del grado di erosione genetica, per approntare i più adeguati piani di salvaguardia.

In questo contesto, pertanto, si inserisce il presente progetto che mira alla valorizzazione delle principali cultivar di mandorlo presente in una area ad altissima vocazione territoriale: la provincia di Siracusa. Pertanto, conservare, caratterizzare e valorizzare il germoplasma autoctono, assume importanza primaria sia per preservare ciò che la natura nel tempo è riuscita a creare in stretto equilibrio con l'ambiente sia per ragioni strettamente commerciali ed economiche. La possibilità infatti di sfruttare la biodiversità non solo ai fini del mercato del fresco, ma anche per ottenere una vasta gamma di ingredienti, semilavorati e prodotti finiti, costituisce un importante fattore di rilancio e potenziamento per il comparto agroalimentare. Come è noto, le aziende del settore hanno individuato nella qualità e segmentazione dell'offerta uno strumento

efficace di sviluppo e competitività.

Ciò è dipeso dalle mutate esigenze del mercato sempre più orientato verso il consumo di prodotti "naturali", non appiattiti su standard organolettici comuni ed aventi proprietà nutrizionali e salutistiche strettamente caratterizzanti.

Quest'ultimo aspetto ha assunto importanza cruciale nella valutazione della qualità degli alimenti. L'approfondimento delle conoscenze scientifiche sul rapporto dieta salute, ha indotto nel consumatore una maggiore consapevolezza e sensibilità nei confronti del proprio benessere e l'esigenza di disporre di alimenti di elevata qualità non solo organolettica ma anche nutrizionale e salutistica.

Si sta assistendo quindi ad un ampliamento della gamma di prodotti disponibili mediante la commercializzazione di produzioni legate alle tradizioni locali ed alla riscoperta di specie e varietà "dimenticate", non più oggetto di coltivazione specializzata ovvero presenti sul territorio in forma sporadica.

Date le supposte premesse, dunque, si rende necessario identificare e caratterizzare le cultivar autoctone di mandorlo di maggior pregio diffuse nella regione Sicilia e, in particolare, nella Provincia di Siracusa, al fine di definire i marker nutrizionali ed organolettici, tra i quali, il contenuto di vitamina E e di amigdalina, l'acidità, l'umidità, il profilo degli acidi grassi.



Materiali e metodi

Individuazione delle cultivar

La prima fase dell'intervento ha previsto l'individuazione delle cultivar e la selezione dei rispettivi areali oggetto della ricerca attraverso l'analisi preliminare della letteratura scientifica esistente, la definizione della numerosità del campione oggetto della ricerca, la predisposizione modulistica necessaria alla registrazione delle specifiche di prodotto identificative dei campioni selezionati. Tale attività è condotta alla scelta di tre cultivar tipiche che hanno, nel contempo, la principale ricaduta in termini commerciali sul territorio oggetto della presente ricerca:

Pizzuta di Avola;
Fascionello;
Romana;

Schede tecniche delle mandorle selezionate

LA MANDORLA "PIZZUTA D'AVOLA"

Nome della cultivar: Pizzuta D'Avola detta anche "Avola Scelta"

Origine e diffusione: Cultivar siciliana, di origine naturale, della provincia di Siracusa (Avola), conosciuta anche come Avola. Diffusa nelle province di Siracusa e Ragusa. Comuni: Avola, Canicattini B., Floridia, Ispica, Noto, Priolo, Rosolini, Siracusa, Solarino.

Caratteri fenologici: Fioritura: epoca di fioritura precocissima e scalare.

Maturazione: media.

Caratteri morfologici

Albero: vigoroso e con portamento espanso.

Frutti in guscio: di forma amigdaloidale molto appiattita, regolare, appuntiti, grandi (mm 44,5 x 26,2 x 16,7) e pesanti (g 7,6).

Gusci: di colore marrone, duri, pesanti (g 5,9).

Semi: amigdaloidi appiattiti, uniformi, grandi (mm 29,3 x 15,6 x 7,1), pesanti (g 1,5), ruvidi, di colore marrone scuro, di ottimo sapore.

Resa in seme commerciale:

Su frutto intero fresco, 7%; su frutto in guscio 21%.

Caratteri bio-agronomici

Comportamento biologico: cultivar autosterile (impollinatori: Fascionello, Romana).

Fruttifica prevalentemente sui dardi a mazzetto.

Semi doppi 5-15%.

Metodiche di lavorazione, stagionatura e conservazione

La tecnica colturale adottata in zona è ancora basata su criteri tradizionali. La raccolta è manuale, agevolata da una scuotitura. Dopo la raccolta, le mandorle vengono private del mallo e fatte asciugare al sole per due, tre giorni.

Caratteristiche qualitative

Seme di dimensioni grandi, dalla forma piattissima, ovoidale e regolare. Perfetta per la confetteria più fine.

Le sue caratteristiche organolettiche e salutistiche sono migliori di quelle di altre cultivar prodotte nel territorio come la *Romana* (varietà dal frutto irregolare), e la *Fascionello*.

Giudizio d'insieme:

La più elegante tra tutte le mandorle, impareggiabile per forma e gusto, grazie anche grazie al clima temperato dal mare e alla catena dei monti Iblei che fermano i venti gelidi di tramontana e di maestrale.

I pasticciere la utilizzano per preparare **deliziosi biscotti, latte di mandorla, torroni** ma anche il bianco mangiare e il marzapane. Tutti dolci che rimandano a mondo arabo e alle origini asiatiche della mandorla.



LA MANDORLA "FASCIONELLO"

Origine: siciliana, naturale e non nota; diffusa in provincia di Siracusa.

Albero: vigoroso, a portamento assurgente; fruttifica prevalentemente sui dardi a mazzetto.

Epoca di fioritura: 1ª metà di febbraio (in Puglia).

Comportamento biologico: autosterile (impollinatori: Pizzuta d'Avola).

Frutto in guscio: amigdaloidale, grande, di colore marrone chiaro, molto duro, pesante.

Resa in sgusciato: 23-25%; semi doppi: 5-10%.

Seme: ellittico, pesante (1,4-1,6 g), ruvido, di colore marrone chiaro, di buon sapore.

Epoca di raccolta: 1ª decade di settembre.

Giudizio d'insieme: varietà caratterizzata dalla produzione di semi di eccellente qualità, destinati principalmente all'industria dei confetti e torroni.



LA MANDORLA “ROMANA”

Origine: naturale e non nota; diffusa in diverse province Siciliane.

Albero: sviluppo medio con chioma folta e dal portamento assurgente, con branche assurgenti e fittamente ramificati e rami penduli orizzontali e qualche volta risalenti. Gli internodi sono brevi e il colore della corteccia è di grigio piuttosto scuro.

Le foglie, di colore verde tameriche sono rade, brevi e strette. I fiori grandi con petali arrotondati, bianchi con venature violacee, sono prevalenti in mazzetti.

Epoca di fioritura: La fioritura è precoce (tra fine Gennaio e 1^a metà di febbraio).

Comportamento biologico: fiori autoincompatibili, vengono fecondati dalle cv. “Pizzuta d’Avola” e “Fascionello”.

Frutto in guscio: I frutti con mallo felpato, di colore verde trasparente e di facile deiscenza sono disposti all’estremità del rametto e maturano ad agosto.

L’endocarpo, molto duro, grosso, amigdaloidale, di colore verde tamerice, con superficie rugosa e con pori piccoli e strie, parte apicale appuntita e mucronata e base troncata, presenta la sutura dorsale leggermente arcuata e saldata e quella ventrale rilevata e qualche volta incavata alla base.

Seme: di forma pressoché triangolare, allungato e piatto, di colore rosso cuoio, rugoso e di resa media. I semi gemellari sono piuttosto frequenti.

Epoca di raccolta: 1^a decade di settembre.

Giudizio d’insieme: varietà caratterizzata dalla produzione di semi di buona qualità, destinati principalmente alla pasticceria.



Definizione degli areali e campionamento

Per la definizione degli areali, in particolare, si è proceduto attraverso l’individuazione delle aree omogenee presenti nel comprensorio oggetto della presente ricerca per mezzo dell’analisi della letteratura scientifica esistente, di consultazione cartografica e consultazione diretta di produttori e commercianti di mandorla di Avola.

In tal modo, sono state definite le microzone di riferimento presso le quali effettuare il campionamento e le aziende produttrici e/o di commercializzazione operanti nelle suddette microzone che utilizzano-commercializzano mandorle provenienti dalle stesse.

Si riportano, di seguito, l’elenco delle microzone individuate e, nelle tre tabelle corrispondenti alle tre

cultivar, la descrizione analitica della composizione del campione che è risultato essere composto da n° 20 campioni di mandorla non sgusciata del peso di Kg 2,5 cadauno provenienti da contrade diverse per ciascuna delle tre cultivar tipiche del comprensorio “Eloro”: *Pizzuta di Avola*; *Fascionello*; *Romana*; per un totale di 60 campioni rappresentativi del comprensorio.



ELENCO DELLE MICROZONE INDIVIDUATE

GRUPPO NORD	
Contrada	Mucia
Contrada	Castelluccio
GRUPPO NOTO CENTRO	
Contrada	Meti
Contrada	Volpiglia
Contrada	Busulumone
Contrada	Gioi
Contrada	Saccolino
GRUPPO NOTO SUD	
Contrada	Cavasecca
Contrada	Renna
Contrada	Zisola
Contrada	Casale
Contrada	Fullo
Contrada	Cavasangiorgio
Contrada	Gisira
Contrada	Bommisca
Contrada	Spaccazza
Contrada	Bufalefi
GRUPPO AVOLA	
Contrada	Mammanelli
Contrada	Petrara
Contrada	Bochini
GRUPPO AUGUSTA	
Contrada	Villasmundo
Contrada	Vignali

PRIMA PARTE DELLA RICERCA

Identificazione di marcatori nutrizionali e salutistici

DEFINIZIONE PARAMETRI IN GRADO DI DEFINIRE LA QUALITÀ NUTRIZIONALE E SALUTISTICA DEL PRODOTTO

Partendo dalla consultazione della letteratura scientifica nazionale ed internazionale riferita alla mandorla, si desume, come patrimonio di conoscenza condivisa, che, in genere la mandorla viene descritta come un alimento ricco di principi nutritivi, tale da individuarlo, spesso come un vero e proprio integratore dietetico naturale.

Essa è comunemente considerata un alimento energetico ed antinfiammatorio.

Comunemente accettato, inoltre, che il consumo di mandorle è utile anche per la ricchezza di calcio (consigliato per la calcificazione delle ossa in gravidanza o in menopausa) oltre che per remineralizzare l'organismo e rinforzare del sistema nervoso grazie al particolare equilibrio tra minerali, vitamine, proteine e grassi. Recentemente, inoltre, l'attenzione della

comunità scientifica si è concentrata sul fatto che le mandorle contengono ottime quantità di grassi monoinsaturi (come quelli dell'olio di oliva), che le rendono utili nella prevenzione dei disturbi al sistema cardio-circolatorio, ma anche di grassi poliinsaturi, anch'essi utili a prevenire l'invecchiamento di cuore ed arterie.

Le mandorle hanno anche ottime quantità di proteine, potassio, ferro, zinco e Vitamina E e contengono, infine, una sostanza, l'amigdalina, al centro di numerosissimi studi scientifici poiché ritenuta essere una utile nella cura del cancro. Basandosi sulla letteratura esistente si è deciso di rilevare parametri di stretta attinenza chimico-nutrizionale in grado di definire la qualità nutrizionale-salutistica del prodotto e sono state definite, inoltre, le metodiche ottimali da attuare.

Alla luce di quanto sopra esposto, i parametri analitici scelti per la definizione della qualità nutrizionale e salutistica dei campioni di mandorla raccolti sono stati i seguenti:

- Vitamina E (mg/kg)
- Amigdalina (mg/kg)
- Contenuto lipidico %
- Profilo degli acidi grassi espresso come % dei seguenti acidi: palmitico, palmitoleico, stearico, oleico, linoleico.
- Umidità %

RISULTATI OTTENUTI

PIZZUTA

Campione	Umidità %	Vitamina E (mg/kg)	Amigdalina (mg/kg)	Contenuto lipidico %	PROFILO DEGLI ACIDI GRASSI				
					Acido oleico C18:1 %	Acido linoleico C18:2 %	Acido palmitico C16:0 %	Acido stearico C18:0 %	Acido palmitoleico C16:1 %
1	3,8	182	96	55,5	66,63	24,20	5,14	2,04	0,55
2	3,6	178	68	57,1	67,22	22,64	6,18	2,10	0,62
3	4,1	254	88	51,4	71,42	18,25	5,65	2,53	0,41
4	3,2	201	84	58,4	69,01	20,99	6,30	1,98	0,72
5	3,1	222	63	48,5	70,14	20,14	5,69	1,66	0,47
6	3,2	238	72	57,7	72,30	17,98	5,19	1,18	0,58
7	3,1	205	70	58,6	69,15	20,23	6,03	2,61	0,55
8	3,6	199	89	55,3	69,32	20,02	6,05	1,95	0,70
9	3,5	197	91	53,2	67,02	21,15	6,02	2,46	0,40
10	4	269	90	57,1	70,65	19,22	6,23	1,65	0,54
11	4,1	291	59	56,4	68,06	21,11	6,78	1,86	0,54
12	2,9	254	66	55,6	70,99	19,12	5,60	2,44	0,55
13	3,5	220	81	58,9	68,36	21,10	6,12	2,08	0,39
14	3,1	185	73	56,4	68,51	20,18	5,89	2,25	0,69
15	3,6	168	72	52,1	69,12	21,02	5,64	1,87	0,52
16	3	254	77	58,0	68,42	20,61	5,15	2,67	0,72
17	3,1	160	69	57,5	67,69	21,61	6,25	2,63	0,73
18	3,3	207	89	53,7	68,35	21,12	5,90	1,28	0,60
19	3,5	212	66	57,2	70,14	19,22	5,38	2,52	0,70
20	3,7	189	94	52,1	70,06	19,08	6,12	2,08	0,51
VALORI MEDI	3,45	214,25	77,85	56,3	69,12	20,45	5,86	2,09	0,57

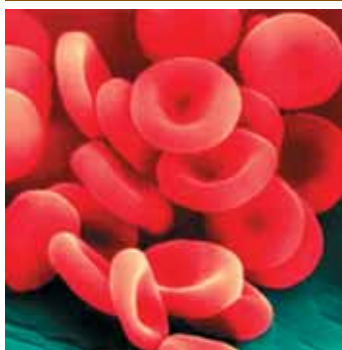
RISULTATI OTTENUTI
FASCIONELLO

Campione	Umidità %	Vitamina E (mg/kg)	Amigdalina (mg/kg)	Contenuto lipidico %	PROFILO DEGLI ACIDI GRASSI				
					Acido oleico C18:1 %	Acido linoleico C18:2 %	Acido palmitico C16:0 %	Acido stearico C18:0 %	Acido palmitoleico C16:1 %
1	4,9	180	91	58,4	71,40	18,36	6,05	2,42	0,51
2	4,2	175	62	53,5	71,09	19,06	6,10	2,09	0,40
3	3,6	259	78	58,5	69,05	20,29	6,13	2,36	0,55
4	4,6	200	72	57,4	69,16	20,35	6,03	2,72	0,56
5	4,1	201	65	54,5	70,87	19,16	5,72	2,54	0,53
6	3,2	180	96	57,7	68,23	21,18	6,77	1,85	0,52
7	3,8	161	87	53,1	69,42	20,61	5,14	2,65	0,69
8	3,9	220	71	55,2	68,35	21,12	5,90	1,28	0,60
9	4,6	187	60	56,9	68,51	20,18	5,89	2,25	0,69
10	4,2	261	58	52	70,14	20,14	5,69	1,66	0,47
11	3,9	251	92	56,4	66,63	24,20	5,14	2,04	0,55
12	3,8	252	76	54,8	70,14	19,22	5,38	2,52	0,54
13	4,4	200	83	55,8	72,30	17,98	5,19	1,18	0,58
14	4,0	181	67	55,1	71,03	18,21	6,23	1,64	0,62
15	3,9	224	69	53,9	70,21	19,81	6,05	2,23	0,70
16	4,1	150	76	53,6	68,55	21,17	6,30	1,98	0,72
17	3,6	179	91	56,5	68,46	21,13	6,13	2,08	0,42
18	3,9	206	86	59,6	69,12	20,92	5,64	1,87	0,52
19	4,5	185	88	56,2	68,62	20,66	6,25	1,98	0,74
20	4,4	182	82	56,9	69,77	20,08	6,18	2,16	0,62
VALORI MEDI	4,08	201,7	77,5	55,8	69,55	20,19	5,89	2,07	0,58

RISULTATI OTTENUTI
ROMANA

Campione	Umidità %	Vitamina E (mg/kg)	Amigdalina (mg/kg)	Contenuto lipidico %	PROFILO DEGLI ACIDI GRASSI				
					Acido oleico C18:1 %	Acido linoleico C18:2 %	Acido palmitico C16:0 %	Acido stearico C18:0 %	Acido palmitoleico C16:1 %
1	4,2	171	76	57,9	68,15	21,23	6,01	2,61	0,52
2	3,9	205	90	58,6	62,69	26,61	5,45	2,53	0,72
3	4,9	214	89	55,5	71,42	19,23	5,66	2,54	0,41
4	5,0	181	82	56,7	66,32	20,05	6,05	1,98	0,70
5	3,9	165	76	54,1	67,30	22,10	6,12	2,01	0,29
6	4,4	261	74	58,9	68,52	20,03	5,87	2,36	0,66
7	4,9	250	99	57,6	69,21	19,00	5,60	2,45	0,57
8	4,8	151	56	58,7	68,36	21,13	5,91	1,29	0,56
9	4,5	248	85	56,5	68,01	19,99	6,31	1,96	0,62
10	4,1	202	91	56,8	65,45	24,01	5,26	2,54	0,52
11	4,6	181	62	54,6	70,08	20,05	6,12	2,08	0,51
12	5,8	242	84	55,9	67,10	22,32	6,03	2,46	0,40,
13	4,9	200	63	56,4	71,32	19,76	5,69	1,28	0,48
14	4,2	162	69	54,5	69,01	20,31	5,65	1,97	0,51
15	4,6	176	84	56,6	66,71	24,30	6,12	2,00	0,50
16	4,8	207	92	56,6	70,03	20,23	5,39	2,23	0,61
17	4,3	141	67	57,8	69,00	21,00	6,78	1,87	0,44
18	4,9	170	73	57,4	69,14	21,14	5,69	1,67	0,48
19	4,7	181	76	56,7	68,22	20,62	6,19	2,10	0,60
20	4,8	221	72	57,2	65,65	19,32	6,23	1,65	0,54
VALORI MEDI	4,61	196,45	78	56,75	68,08	21,12	5,90	2,08	0,51

Commento e significato di risultati ottenuti



Vitamina E

A causa del suo elevato grado di saturazione, la frazione lipidica delle mandorle può subire fenomeni di alterazione (irrancidimento ossidativo) che, attraverso la degradazione degli acidi grassi e lo sviluppo di *off flavour*, rendono l'alimento non più idoneo al consumo.

Un elevato contenuto di vitamine liposolubili è, dunque, sempre auspicabile in quanto, oltre ad accresce il valore nutrizionale dei frutti, ne favorisce la stabilità e quindi la conservabilità.

Sulle cultivar oggetto del presente studio, era dunque significativo indagare la componente vitaminica e, in particolare, il contenuto in tocoferoli con particolare attenzione all'aliquota riferita all'alpha-tocoferolo (vitamina E).

Le concentrazioni più elevate di vitamina E, nella presente ricerca, si sono riscontrate nella cultivar Pizzuta (214,25 mg/kg).

La vitamina E, da un punto di vista nutrizionale, è un importante antiossidante: essa, per esempio, protegge dalla ossidazione/perossidazione i grassi interagendo con l'Ossigeno e con i radicali liberi. Promuove l'utilizzazione della Vitamina A e la sintesi dell'eme (componente essenziale dell'emoglobina, responsabile del trasporto di Ossigeno nel sangue).

È usata come coadiuvante nell'aterosclerosi e nella sterilità maschile (aiuta a mantenere la salute della prostata), ed è un noto antiabortivo.

La carenza di Vitamina E causa fragilità dei globuli rossi e sintomi neurologici, oltre a distrofia muscolare. La Vitamina E, inoltre, gioca un ruolo importante anche nel metabolismo di altri antiossidanti di origine nutrizionale come la Vitamina C.



Frazione lipidica e sua composizione

La frazione lipidica rappresenta la componente principale delle mandorle oggetto della presente ricerca oscillando tra il 55,8% della cultivar Fascionello e il 56,75% della cultivar Romana.

È tale frazione, pertanto, quella più significativa da un punto di vista nutrizionale e calorico.

Per tale ragione, è stato significativo approfondire la conoscenza in merito alla sua composizione.

Di significativa rilevanza il fatto che sono stati registrati tenori elevati di acidi grassi essenziali (acido linoleico, C18:2) e di acidi grassi monoinsaturi (acido oleico, C18:1) il cui ruolo cruciale nella dieta umana è ben noto e studiato da tempo.

La somma delle quantità di acido linoleico e di acido oleico ha raggiunto, infatti, in tutte e tre le cultivar analizzate, una percentuale pari, all'incirca, al 90% del contenuto totale in lipidi.

Il rimanente è costituito principalmente da acido stearico (C16:0), palmitico (C:16:1) e palmitoleico (C:16:1).

Un carattere identificante comune delle tre cultivar, estremamente favorevole da un punto di vista nutrizionale, consiste nell'elevato grado di insaturazione (rapporto acidi grassi insaturi - acidi grassi saturi) con valori generalmente superiore a dieci.

Questo parametro colloca le mandorle appartenenti alle cultivar Pizzuta, Romana e Fascionello, tra gli alimenti la cui composizione in acidi grassi meglio si adatta alle funzioni strutturali che da tali molecole devono essere assolte nell'organismo umano.

L'elevato contenuto in acido oleico, oscillante tra il 69,55 % della cultivar Fascionello e il 68,08% della cultivar Romana, ci consente di accostare le suddette mandorle ad un altro prodotto tipico del comprensorio Eoro e del bacino Mediterraneo in genere: l'olio di oliva che ne contiene, in media, il 75% e le cui caratteristiche salutistiche sono note da anni.

Contenuto in Amigdalina

L'amigdalina è una sostanza, detta anche laevomandelonitrile o Laetrile, contenuta nei semi di mandorle, albicocche e di altri frutti. I primi ad isolarla nel 1830 furono due chimici francesi H.E. Robiquet e A.F. Boutròn-Charlard. Essa è un glucoside cianogenico utilizzato dalla pianta come mezzo di difesa, potendo facilmente subire idrolisi enzimatica con sviluppo di acido cianidrico.

Essa costituisce un componente cruciale non solo nell'influenzare le qualità organolettiche ed il valore commerciale del frutto, ma anche nel determinarne la salubrità.



In fase di conservazione la sua concentrazione decresce bruscamente fin quasi ad annullarsi.

La comunità scientifica ha concentrato, di recente, la sua attenzione su tale molecola in quanto è stata ipotizzata una potenziale attività antineoplastica.

Tale attività è stata suggerita da una presunta e selettiva azione tossica nei confronti delle cellule neoplastiche.

Questa proprietà sarebbe dovuta alla presenza nelle cellule neoplastiche di un enzima che scinde l'amigdalina producendo la formazione di cianuro, a sua volta letale per le stesse cellule tumorali.

Umidità

Il basso tenore in umidità delle cultivar Pizzuta e Fascionello e Romana pari, rispettivamente, a 3,45%, 4,08% e 4,61%, riflette il fatto che nel territorio dell'areale di Avola le mandorle si trovano

ad essere costrette a crescere in condizioni di scarsissima piovosità.

Le pratiche agronomiche in uso nell'areale, inoltre, non prevedono l'applicazione di programmi di irrigazione consentendo, in questo modo, di ottenere tenori di umidità talmente bassi da limitare al minimo la possibilità di incidenza di diversi tipi di parassiti quali il fungo *aspergillus* che, se il tenore di umidità è alto, è in grado di sviluppare e produrre delle tossine cancerogene, le aflatoossine



ELENCO RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI CONSULTATI ED ELABORATI

Agabbio M, Antonio Dore, Maria Giovanna Molinu, Tullio Venditti, "Caratterizzazione Qualitativa di Cultivar Sarde di Mandorlo", *Conferenza Nazionale Ecotipi Vegetali Italiani: una Preziosa Risorsa di Variabilità Genetica*, Roma, 6 - 7 Ottobre 2004.

De Giorgio D., Lamascese N., Palasciano M.A., Lamaj F, "Valutazione produttiva e confronto genotipico di 20 cultivar di mandorlo origine pugliese", *Conferenza Nazionale Ecotipi Vegetali Italiani: una Preziosa Risorsa di Variabilità Genetica*, Roma, 6 - 7 Ottobre 2004.

Dore A., M. G. Molinu, A. Palma, T. Venditti, M. Agabbio, M. Tedde, "Determinazione di Alcuni Parametri di Qualità su Cultivar Sarde di Mandorlo", *Italus Hortus*, 2004, 166-168.

Hyson DA, Schneeman BO, Davis PA. Almonds and almond oil have similar effects on plasma lipids and LDL oxidation in healthy men and women. 2002 Apr;132(4):703-7.

Milazzo S, Ernst E, Lejeune S, Schmidt K. Laetrile treatment for cancer. 2006 Apr 19;(2)

Jaceldo-Siegl K, Sabate J, Rajaram S, Fraser GE. Long-term almond supplementation without advice on food replacement induces favourable nutrient modifications to the habitual diets of free-living individuals. 2004 Sep;92(3):533-40.

Pollegioni P., Bartoli S., Malvolti M.E., Mapelli S., Bertani A., Cannata F., "Caratterizzazione molecolare e morfo-biochimica di ecotipi italiani di *J.regia*", *Conferenza Nazionale Ecotipi Vegetali Italiani: una Preziosa Risorsa di Variabilità Genetica*, Roma, 6 - 7 Ottobre 2004.

Pollegioni P., Bartoli S., Cannata F., Malvolti M. E., "Genetic differentiation of four Italian walnut (*Juglans regia* L.) varieties by Inter Simple Sequence Repeat (ISSR)", *Genetics & Breeding*, 2003, 57: 231-240.

Paffetti D., Vettori C., Giannini R., (2002) "Filogenesi del genere *Castanea* Miller (Fagaceae)", In: *Atti del Convegno Nazionale Castagno 2001* (Ed. Elvio Bellini), F. & F. Parretti Grafiche, Firenze, 2002, 52-55.

Paffetti D., Vettori C., Giannini R., (2003). "Filogenesi e variabilità genetica delle Fagaceae", *IV congresso Società Italiana di Selvicoltura ed Ecologia Forestale (S.I.S.E.F.) "Meridiani Foreste"*, Rifreddo Pignola (PZ), 7-10 Ottobre 2003

Resta P., Chaabane R., Lamaj F., Palasciano, M.A. De Giorgio D., "Reducing uncertainties in the assessment of genetic relationships in almond (*Amygdalus Communis* L.) cultivars from Apulia", *Convegno SIGA 2004*.

SECONDA PARTE DELLA RICERCA

Identificazione di marcatori proteici

Quadro di riferimento

L'attività ha avuto come oggetto la caratterizzazione del profilo proteomico di tre diverse cultivar (Romana, Pizzuta, Fascionella) di mandorla provenienti dall'area di Avola (SR).

A tale scopo sono stati analizzati mediante un approccio proteomico gli estratti proteici delle tre cultivar, forniti da Cefit s.r.l. ed analizzati dal team di ricerca coordinato dal Prof. Salvatore Foti del Dipartimento di Scienze Chimiche dell'Università degli Studi di Catania.



Generalità sulle proteine di riserva delle mandorle

Secondo la classificazione di Osborne (1), le proteine delle piante si classificano in gruppi in relazione alle loro caratteristiche di solubilità. Le proteine solubili in acqua sono classificate come *albumine*, la frazione solubile in soluzioni saline diluite come *globuline*, la frazione solubile in miscela idroalcolica come *prolamine* e la frazione solubile in basi o acidi diluiti come *gluteline*. Oggi viene considerata più valida una classificazione alternativa basata sulla funzione delle proteine o sulle relazioni strutturali ed evolutive. Uno schema di tale classificazione è riportato in Fig. 1.

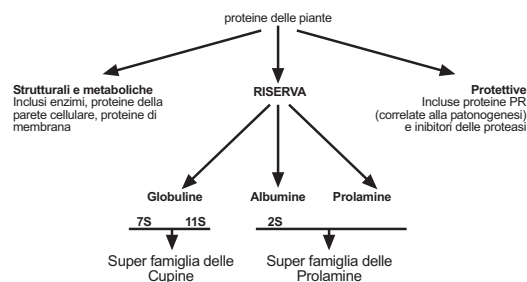


Figura 1. Classificazione delle proteine delle piante.

Secondo la classificazione basata sulla funzione, le proteine vengono divise in proteine *strutturali e metaboliche*, proteine *protettive* e proteine *di riserva*. Le prolamine, albumine e globuline appartengono al gruppo delle proteine di riserva.

Più recentemente, la conoscenza di un numero sempre maggiore di sequenze e di strutture tridimensionali ha permesso di determinare le relazioni evolutive e strutturali tra le proteine di riserva, portando ad una ulteriore classificazione in famiglie e superfamiglie. Secondo questa ulteriore classificazione, le globuline appartengono alla superfamiglia delle *cupine*, mentre le albumine e prolamine appartengono alla superfamiglia delle *prolamine*.

Le globuline costituiscono il gruppo più diffuso di proteine di riserva, essendo presenti sia nelle piante monocotiledoni che in quelle dicotiledoni. Le globuline a loro volta vengono divise in due gruppi sulla base dei loro coefficienti di sedimentazione: le 7S (viciline) e 11S (legumine) (2).

Le viciline (7S globuline) sono proteine trimeriche con Mr di circa 150–200 kDa.

Le subunità sono tenute assieme da legami non covalenti.

La composizione dettagliata delle subunità varia considerevolmente da specie a specie, principalmente a causa delle modifiche post-traslazionali che consistono nella proteolisi e nella glicosilazione.

Per es. le subunità vicilinarie nel pisello sono inizialmente sintetizzate come un gruppo di polipeptidi di Mr di circa 47 kDa e 50 kDa.

Successivamente, processi post-traslazionali di proteolisi e glicosilazione danno luogo a subunità con valori di Mr compresi tra 12,5- e 33-kDa (3-5).

Le legumine (11S globuline) sono le principali proteine di riserva non solo nei legumi ma anche in molte altre dicotiledoni e alcuni cereali.

Le proteine mature con Mr 300–400 kDa sono costituite da sei coppie di subunità ciascuna con Mr complessivo di circa 60 kDa che interagiscono tra di loro attraverso legami non covalenti. Ciascuna di queste coppie di subunità, a sua volta, è costituita da una subunità acida

con Mr di circa 40 kDa e una subunità basica con Mr di circa 20 kDa, legate tra di loro da un legame disolfuro. Ciascuna coppia di subunità è sintetizzata come proteina precursore che è scissa proteoliticamente dopo la formazione del legame disolfuro.

Alternativamente, è possibile che la subunità acida sia ulteriormente scissa in due parti. Le legumine di solito non sono glicosilate.

Una eccezione è rappresentata dal 12S globuline del lupino.

Il mandorlo (*Prunus dulcis*) appartiene alla famiglia delle rosacee, che include anche il melo, il pero, il pesco, il pruno ed il lampone.

Nel corso degli studi sulle proteine dei semi delle piante, Osborne e Campbell isolarono la proteina principale di riserva della mandorla, che per le sue caratteristiche di solubilità dimostrava di appartenere alla classe delle globuline (6).

Studi successivi di diversi Autori hanno dimostrato che le proteine delle mandorla sono estremamente solubili in solventi acquosi e che la composizione proteica è dominata da una singola proteina di riserva a cui è stata data la denominazione di amandina o semplicemente proteina principale della mandorla (almond major protein, AMP) (7-12).

Questa proteina appartiene alla famiglia delle legumine. Si tratta infatti di una proteina esamerica con Mr di circa 400 kDa, nella quale le sei unità componenti interagiscono attraverso legami non covalenti ed ognuna delle sei unità è costituita da due subunità con Mr di circa 40 e 21 kDa collegate tra di loro da un legame disolfuro.

La proteina ha un coefficiente di sedimentazione di 11-14S e non è glicosilata.

Sono stati isolati e sequenziati due cloni di cDNA delle mandorla che hanno mostrato di corrispondere a due proteine di riserva denominate prunina-1 e prunina-2 (13).

La prunina-1 è una proteina costituita da 551 amminoacidi con Mr di 61.0.

La prunina-2 è una proteina costituita da 504 amminoacidi con Mr di 55.9 kDa.

Le regioni delle proteine mature della prunina-1 e 2 mostrano una omologia di sequenza del 63 %.

Le subunità della prunina-1 e 2 costituiscono le subunità dell'amandina.

Un altro gruppo di proteine abbondanti della mandorla è costituito dalle oleosine.

Queste proteine hanno un ruolo strutturale e potrebbero avere anche un ruolo funzionale (14).

Risultati ottenuti

È stato indagato, mediante un approccio proteomico, il profilo proteico di tre cultivar di mandorla (Romana, Pizzuta e Fascionella) provenienti dall'area di Avola (SR).

A tale scopo gli estratti proteici delle tre cultivar sono stati separati su gel di poliacrilammide al 12% in condizioni denaturanti.

L'immagine del gel, processata mediante il software Progenesis, ha mostrato che le tre cultivar presentano un profilo proteico analogo sia qualitativo che quantitativo.

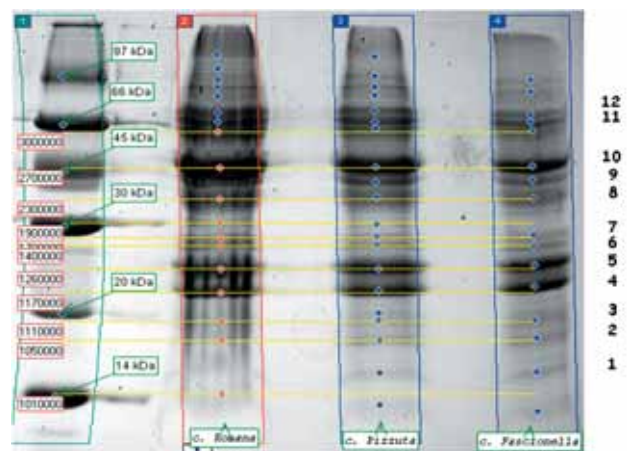


Figura 2. Gel monodimensionale

L'identificazione delle proteine presenti nelle bande del gel elettroforetico pertanto è stata eseguita su uno solo dei tre campioni (estratto di Fascionella).

Dal gel corrispondente a questa varietà sono state escisse dodici bande che sono state sottoposte a decolorazione e digestione in-gel mediante tripsina. La miscela di peptidi triptici è stata analizzata mediante spettrometria di massa MALDI e gli spettri ottenuti utilizzati per l'identificazione, mediante ricerca bioinformatica, dei componenti proteici presenti nelle bande.

Tale procedura ha portato all'individuazione delle proteine contenute nelle principali bande analizzate (Fig. 2). In particolare, le sei bande più intense sono risultate attribuibili alle pro-proteine prunina-1 (banda 12) e prunina-2 (banda 11), alle catene acide della prunina-1 (banda 10) e prunina-2 (banda 9) e alle catene basiche della prunina-1 (banda 5) e prunina-2 (banda 4).

L'analisi dettagliata degli spettri MALDI dei digeriti ha inoltre mostrato che in alcune di queste bande, come

in altre bande minori analizzate, si ha una co-migrazione di diverse proteine.

In Fig. 3 è riportato lo spettro di massa MALDI-TOF dei peptidi triptici ottenuti dalla digestione enzimatica della banda 12.

I valori di m/z dei segnali presenti nello spettro di massa, inseriti nel server MASCOT, hanno permesso di accertare che essi corrispondono a peptidi delle regioni sia acida (21-367) che basica (368-551) della prunina-1 di *Prunus dulcis* (NCBI nr General Index 460806).

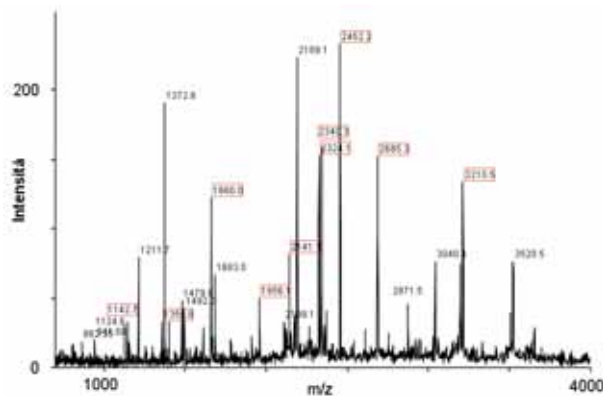


Figura 3. Spettro di massa MALDI-TOF dei peptidi triptici presenti nella banda 12 (cv Fascionella). I peptidi indicati in rosso permettono di identificare la prunina-1.

```

1 MAKAFVFSLC LLLVFNGLA ARQSQLSPQN QCQLNQLQAR EPDNRIQAEA
51 GQIETWNFQ GDFQCAGVAA SRITIQRNGI HLPYSYSHAPQ LIYIVQGRGV
101 LGAVTSGCPE TFEESSQSSQ QGRQQEQEQE RQQQQQEQG RQQQQQEQG
151 EROGROGRQ QQEEGRQEQ QGQGRPQ QQFRQLDRH OKTRRIREGD
201 VVAIPAGVAY WSYNDGDQEL VAVNLFHVSS DHNQLDQNPV KFYLAGHPEN
251 EFHQGGSQP RQQEQGRPG QHQPFGRPR QQQEQGNNGN VFSGFNTQLL
301 AQALNVNEET ARNLQGNND RNOIQVRGH LDFVQPPRGR QEREHEERQQ
351 EQLQERQQQ GEQLMANGLE ETFCSLRLKE HIGHPERADI FSPRAGRIST
401 LNSHNLPILR FLRLSAERGF FYRNGIYSPH MNVNAHSVYV VIRGNARVQV
451 VNENGDAILD QEVQGGQLFI VPQNHGVIQQ AGNQGFEYFA FKTEENAFIN
501 TLAGRTSFLR ALPDEVLANA YQISRQARQ LKYNRQETIA LSSSQRRRAV
551 V

```

Start - End	Observed	Mr(expt)	Mr(calc)	ppm	Miss	Sequence
23 - 40	2141.0904	2140.0931	2140.0443	19	0	R.QSQLSPQNCQLNQLQAR.E
78 - 98	2340.3291	2339.3218	2339.2386	36	0	R.HGLHLPYSYSHAPQLIYIVQGR.G
99 - 123	2685.3141	2684.3088	2684.2137	35	0	R.GVLGAVTSGCPEPTFEESSQSSQGR.Q
160 - 185	3210.5104	3209.5031	3209.5059	-1	1	R.QQEEGRQEQQQGGRPQQQQQR.Q
241 - 261	2452.2139	2451.2066	2451.1567	20	1	R.KFYLAGHPENEFHQGGSQPR.Q
242 - 261	2324.1474	2323.1401	2323.0618	34	0	K.FYLAGHPENEFHQGGSQPR.Q
329 - 338	1142.6947	1141.6874	1141.5880	87	0	R.GHLDVQPPR.G
329 - 340	1355.8224	1354.8151	1354.7106	77	1	R.GHLDVQPPRGR.Q
378 - 394	1956.1267	1955.1194	1955.0224	50	2	R.LKYNRQETIAYQISR.A
511 - 525	1659.9819	1658.9746	1658.8627	67	0	R.ALPDEVLANAYQISR.E

Figura 4. Sequenza aminoacidica della Prunina-1. In rosso sono colorati i peptidi triptici che hanno permesso l'identificazione proteica della banda 12 (cv Fascionella).

I peptidi identificati sono indicati in rosso in Fig. 4.

Nello spettro di massa MALDI sono inoltre presenti dei segnali intensi che non sono stati attribuiti. Tali segnali a m/z 1211.7, 1479.9, 1492.0, 1683.0, 2189.1, 3040.4 e 3520.5 potrebbero essere originati da sostituzioni aminoacidiche nella catena polipeptidica.

Elaborazioni corrispondenti sono state ottenute per tutte le bande individuate in figura

I risultati ottenuti hanno consentito una caratterizzazione preliminare del profilo proteico delle tre varietà studiate, mettendo in evidenza una sostanziale analogia di composizione proteica tra le tre cultivar indagate.

Tali risultati aprono la strada ad una caratterizzazione più completa del profilo proteico di queste varietà si può procedere con uno studio più approfondito che comporta, tra l'altro, il frazionamento degli estratti proteici mediante elettroforesi bidimensionale ed analisi HPLC/nESI-MSMS per la determinazione della sequenza dei peptidi corrispondenti a segnali non assegnati.

ELENCO RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI CONSULTATI ED ELABORATI

- 1) T.B. Osborne: *The Vegetable Proteins*, 2nd edn. Longmans, Green and Co., London (1924), pag. 154.
- 2) R. Casey: Distribution and some properties of seed globulins. In: *Seed Proteins*, P.R. Shewry & R. Casey (eds), Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp 159-169.
- 3) J.A. Gatehouse, R.R.D. Croy, D. Boulter: The synthesis and structure of Pea Storage Proteins. *CCR Crit. Rev. Plant Sci.*, 1, 287-314 (1984).
- 4) R. Casey, C. Domoney, N. Ellis: Legume Storage Proteins and their genes. In: *Oxford Surveys of Plant Molecular and Cell biology*, Vol. 3, B.L. Mifflin, ed (Oxford: Oxford University Press), pp. 1-95 (1986).
- 5) R. Casey, C. Domoney, A.M. Smith: Biochemistry and Molecular Biology of Seed Products. In: *Peas: Genetics, Molecular Biology and Biotechnology*, R. Casey and D.R. Davies (eds), Wallingford, UK: CAB International, pp. 121-164 (1993).
- 6) T.B. Osborne, G.F. Campbell: Conglutin and vitellin, *J. Am. Chem. Soc.*, 18, 609-623 (1896).
- 7) A. Polson: Investigation on the diffusion constants of proteins, *Kolloid*, 87, 149-181 (1939).
- 8) P. Putzeys, J. Rondelet-Minet, M.J. Rutgeerts: Molecular weights and stability ranges of plant globulins. IV. Homogeneity of amandin, *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 45, 1145-1151 (1963).
- 9) S.K. Sathe: Solubilization, electrophoretic characterization and in vitro digestibility of almond (*Prunus amygdalus*) proteins, *J. Food Biochem.*, 16, 249-264 (1993).
- 10) D.J. Steenkamp, F.J.: The moscoheterogeneity of amandin, *J. S. Afr. Chem. Inst.*, 20, 81-91 (1967).
- 11) T. Svedberg, B. Sjögren: The molecular weight of amandin and excelsin, *J. Am. Chem. Soc.*, 52, 279-287 (1930).
- 12) W.J. Wolf, S.K. Sathe: Ultracentrifugal and polyacrylamide gel electrophoretic studies of extractability and stability of almond meal proteins, *J. Sci. Food Agric.*, 78, 511-521 (1998).
- 13) J. Garcia-Mas, R. Messeguer, P. Arus, P. Puigdomenech: Molecular characterization of cDNAs corresponding to genes expressed during almond (*Prunus amygdalus* Batsch) seed development, *Plant Mol. Biol.*, 27, 205-210 (1995).
- 14) V.B. Vance, A.H.C. Huang: The major protein from lipid bodies of maize, *J. Bio. Chem.*, 262, 11275-11279 (1987).







Valorizzazione della **Mandorla** di Avola

attraverso l'identificazione
di marcatori di qualità
e tipicità

con l'utilizzo di metodiche
innovative