



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO  
FACOLTÀ DI SCIENZE AGRARIE E ALIMENTARI

CORSO DI LAUREA IN  
VALORIZZAZIONE E TUTELA DELL'AMBIENTE E  
DEL TERRITORIO MONTANO

**Caratterizzazione fitochimica e nutrizionale di una  
landrace camuna di *Cyclanthera pedata***

**Relatore:** Dott.sa Gigliola Borgonovo

**Correlatore:** Dott. Marco Zuccolo

**Elaborato finale di:** Dolci Alessandro

**Matricola n°** 926948

Anno accademico: 2020/2021



*Ai miei genitori Angelo e Cristina,  
a mio fratello Davide e a mia sorella Ilaria,  
agli zii Paola e Andrea,  
a zia Caterina*



## INDICE

<b>ABSTRACT</b>	<b>1</b>
<b>1. INTRODUZIONE</b>	<b>3</b>
- 1.1 La Caigua: caratteristiche botaniche e coltivazione	3
- 1.2 Distribuzione geografica	6
- 1.3 Utilizzo alimentare e medicinale	6
- 1.4 Composizione fitochimica	9
- 1.4.1 Flavonoidi	9
- 1.4.2 Glicosidi triterpenici	11
- 1.5 Cultivar di Caigua camuna	14
<b>2. SCOPO</b>	<b>17</b>
<b>3. MATERIALI E METODI</b>	<b>19</b>
- 3.1 Allestimento dei campi sperimentali e campionamento del materiale vegetale	19
- 3.2 Analisi fitochimiche	20
- 3.2.1 Preparazione degli estratti etanolici	21
- 3.2.2 Contenuto di fenoli totali	21
- 3.2.3 Contenuto di flavoni e flavonoli totali	22
- 3.2.4 Contenuto di flavanoni e diidroflavonoli	22
- 3.2.5 Contenuto di saponine totali	23
- 3.2.6 Contenuto percentuale di acidi caffeilchinici	24
- 3.3 Analisi nutrizionali di frutti e semi	24
- 3.3.1 Contenuto totale di ceneri	24
- 3.3.2 Contenuto di azoto totale	24
- 3.3.3 Contenuto di zuccheri totali	24

- 3.3.4	Contenuto di lipidi totali	25
<b>4.</b>	<b>RISULTATI</b>	<b>26</b>
- 4.1	Analisi fitochimica dei frutti e dei semi	26
- 4.2	Analisi nutrizionale dei frutti e dei semi	32
- 4.3	Analisi fitochimica di foglie e germogli	36
<b>5.</b>	<b>DISCUSSIONE DEI RISULTATI</b>	<b>38</b>
<b>6.</b>	<b>CONCLUSIONI</b>	<b>46</b>
<b>7.</b>	<b>BIBLIOGRAFIA</b>	<b>48</b>
<b>8.</b>	<b>SITOGRAFIA</b>	<b>54</b>
<b>9.</b>	<b>RINGRAZIAMENTI</b>	<b>55</b>



## ABSTRACT

Il presente elaborato ha come scopo quello di caratterizzare dal punto di vista fitochimico e nutrizionale una cultivar camuna di *Cyclanthera pedata* (L., Schrad) e di confrontarla con una varietà commerciale sudamericana coltivata in Valcamonica e con una cultivar commerciale importata dal Perù. Tale pianta è originaria del Sudamerica, laddove viene utilizzata comunemente in campo alimentare ed erboristico. In Europa invece è l'utilizzo erboristico ad essere prevalente, e la pianta si usa per preparare integratori alimentari o altri prodotti salutistici per via delle proprietà medicinali che le sono attribuite dalla tradizione, in particolare la capacità di abbassare il livello di colesterolo nel sangue. Per l'uso erboristico viene generalmente utilizzato il frutto di Caigua importato come materiale vegetale essiccato dal Sudamerica. La cultivar camuna è invece è poco nota ed il presente lavoro si prefigge come scopo l'esecuzione di una serie di analisi per valutare in via preliminare le potenzialità di sostituzione delle cultivar commerciali con quella camuna. Per il confronto sono state analizzate varie parti della pianta: il frutto maturo, quello acerbo, i semi, le foglie e i germogli; della cultivar commerciale importata dal Perù si sono analizzati solo frutto maturo e semi. Dal punto di vista fitochimico si sono indagati i fenoli totali, i flavoni e flavonoli, i flavanoni e diidroflavonoli, le saponine e il contenuto totale di acidi caffeilchinici, quest'ultimo utilizzato come parametro di qualità per valutare i lotti di Caigua dall'azienda erboristica. Dal punto di vista nutrizionale invece si sono determinati gli zuccheri totali, i lipidi totali, il contenuto di azoto totale e le ceneri. In queste ultime analisi non sono stati inclusi germogli e foglie, in quanto meno utilizzati in campo alimentare ma potenzialmente più interessanti per l'uso in campo erboristico. Per quanto riguarda il contenuto di flavonoidi e altri composti fenolici, la varietà camuna di Caigua è risultata quantitativamente paragonabile alle varietà commerciali sudamericane, sia coltivate in situ sia di importazione. Il frutto maturo della cultivar camuna poi ha dimostrato valori inferiori di saponine rispetto a quelli della cultivar sudamericana e di importazione: molti di questi composti conferiscono un sapore amaro e sono anti-nutrienti, per questo potrebbe essere stata effettuata una selezione che ha generato frutti con migliori caratteristiche organolettiche, e dunque più adatti all'utilizzo alimentare rispetto alle altre varietà. Il dosaggio degli acidi caffeilchinici sui frutti maturi ha rivelato che la Caigua coltivata in Valcamonica fornisce una materia prima che avrebbe i requisiti di qualità, almeno per quanto riguarda il contenuto di principi attivi, per la preparazione di estratti, integratori alimentari o altri prodotti salutistici.

In definitiva, la cultivar camuna coltivata in situ, considerati i risultati ottenuti nei diversi dosaggi, valutati anche in luce della maggiore produttività mostrata, sembra, almeno in via preliminare, una valida alternativa per l'utilizzo in campo erboristico alla Caigua commerciale importata.

## 1. INTRODUZIONE

### 1.1 La Caigua: caratteristiche botaniche e coltivazione

*Cyclanthera pedata* (L., Schrad.), chiamata comunemente Caigua, è una pianta erbacea annuale appartenente alla famiglia delle Cucurbitacee, la stessa di cui fanno parte zuccina, zucca, melone, anguria o cetriolo. Di seguito, in tabella 1, è riportata la sua tassonomia filogenetica:

DOMINIO	Eukaryota
REGNO	Plantae
DIVISIONE	Magnoliophyta
CLASSE	Magnoliopsida
ORDINE	Cucurbitales
FAMIGLIA	Cucurbitaceae
GENERE	<i>Cyclanthera</i>
SPECIE	<i>C. pedata</i>

Tabella 1: tassonomia filogenetica della Caigua

La Caigua è una pianta con portamento rampicante, che può raggiungere altezze fino a 4-5 metri. Viene solitamente coltivata con l'ausilio di reti, su cui aggrappa mediante viticci prensili. Le foglie hanno dimensioni comprese tra 6 e 14 cm, sono palmate e fortemente lobate, glabre e di colore verde pallido, composte da 5-7 foglioline ellittiche (Figura 1).



Figura 1: foglie della Caigua

È una specie monoica, ovvero lo stesso individuo produce sia fiori maschili che femminili, che solitamente maturano in tempi diversi per evitare l'autofecondazione. I fiori sono gialli, piccoli e dal profumo delicato, localizzati all'ascella delle foglie (Figura 2). L'impollinazione è di tipo entomofila.



*Figura 2: fiori della Caigua*

Il frutto è un pepo irregolarmente ovoidale indeiscente, attenuato all'apice e con dimensioni comprese tra 5-15 cm di lunghezza e 2,5-8 cm di diametro. La superficie è liscia o con spine molli, di colore verde-giallastro (Figura 3).



*Figura 3: frutti della Caigua*

Il frutto ha consistenza morbida al tatto e presenta all'interno un mesocarpo bianco e spugnoso. A maturazione è quasi completamente cavo e contiene 8-12 semi neri (Figura 4), sub-oblungi, appiattiti, di dimensioni pari a 10-12×7-8 mm, crestati e con margine dentato (Acta Plantarum, 2020).



*Figura 4: frutti e semi di Caigua*

Curiosamente, nella regione andina sono conosciute tre varietà di Caigua, chiamate “Criolla”, “Serrana” e “Italiana”, quest’ultima è caratterizzata dalla produzione di frutti più piccoli (Arroyo, 1957). La Caigua si adatta facilmente al freddo e alle temperature estive, inoltre è in grado di completare normalmente il suo ciclo vegetativo anche in giornate brevi, con meno di dodici ore di luce. La temperatura è un fattore importante per la sua coltivazione: per una crescita ottimale dovrebbe variare tra i 17 e i 28°C, mentre per la germinazione dei semi sono necessari 25-30°C (Contreras et al., 2014). Viene seminata in primavera al limitare degli orti, dove viene fatta arrampicare su ringhiere, recinzioni e muri a secco (Rossi et al., 2019). L’ambiente di coltivazione dovrebbe essere caldo, con esposizione soleggiata e al riparo da eccessivo vento. Oltre alla possibilità di farla arrampicare su reti c’è anche quella di allevarla strisciante, un po’ come la zucca, lasciandola espandere sul terreno circostante. Nelle regioni peruviane i frutti vengono raccolti in giugno-luglio e la durata della raccolta oscilla tra i 45 e i 60 giorni (Añez et al, 2009); importante che il frutto non abbia iniziato già a ingiallire ma che sia di colore verde intenso.

## 1.2 Distribuzione geografica

La Caigua è una pianta originaria del Sudamerica, laddove veniva e viene coltivata come fonte alimentare e per le sue proprietà medicinali; può essere trovata nella catena delle Ande in condizioni spontanee o sub spontanee (Fernandes et al., 2005), dalla Bolivia al Panama e nella regione montuosa dell'America centrale e del Messico (United States National Herbarium, 2010). Attualmente la Caigua è coltivata in varie parti del mondo, dove è stata introdotta, come Africa, Cina, Nepal ed Europa. In Europa le prime informazioni sulla Caigua possono essere fatte risalire al XVIII secolo. Infatti, nel 1714 Fevillée denominò questa specie come *Mormodicafructu striato laevi* (nomenclatura plurinomiale prelinneana) e Linneo, in seguito, la chiamò *Mormodicapomis striatis*, sottolineando che la specie ha frutti striati ed è proveniente dal Perù (Klien et al., 1989). In Italia la presenza di questa specie è stata attestata in Lombardia ed è stata inserita in un elenco di cultivar locali erbacee coltivate in particolare nelle zone di montagna, con metodi di coltivazione tradizionali (Giupponi et al. 2020). La Caigua ha mostrato in generale un buon adattamento al clima delle vallate alpine ed è coltivata specialmente in Valcamonica (Brescia) e in Valsassina (Como), dove viene chiamata "Ciuenlai" (Bissanti, 2020), nome di etimologia non nota, forse facente riferimento all'esoticismo del frutto o alla forma "codata", oppure "Milione" o "Milioncino", probabilmente in riferimento alla grande produttività della pianta. In Valcamonica la presenza della Caigua è testimoniata da almeno tre generazioni, dal 1960 circa (Lara Domini, 2018; Rossi et al. 2019).

## 1.3 Utilizzo alimentare e medicinale

I frutti della Caigua sono commestibili sia maturi che acerbi e possono essere consumati sia cotti che crudi. I frutti maturi, previa eliminazione dei semi, sono di solito cotti e farciti, fritti oppure marinati come i cetriolini. È comune prepararli ripieni, tanto che le popolazioni andine chiamano la Caigua "*Pepino de ellena*", ovvero "*Peperone da fare ripieno*". I frutti giovani e immaturi hanno invece un sapore simile al cetriolo e alla fava, vengono quindi utilizzati nelle insalate (assieme ai giovani germogli e alle giovani foglie) o conservati sotto aceto (Matonti, 2016).

È interessante a questo punto osservare la composizione nutrizionale della Caigua; a tale scopo Reyes et. al (2017) riportano la composizione in 100 g di peso fresco (Tabella 2):

COMPONENTE	COMPOSIZIONE IN 100 g DI PESO FRESCO
Acqua (g)	95
Proteine (g)	0,5
Grassi totali (g)	0,2
Carboidrati totali (g) di cui:	3,3
Fibra (g)	1,6
<b>Vitamine:</b>	
Vitamina C (mg)	11,4
Vitamina A (mg)	9
Tiamina (mg)	0,02
Riboflavina (mg)	0,02
<b>Minerali:</b>	
Calcio (mg)	34
Fosforo (mg)	43
Ferro (mg)	0,9
Energia (kcal)	15

*Tabella 2: composizione in 100 g di peso fresco*

Dalla tabella è possibile osservare come il frutto sia molto ricco d'acqua e povero in grassi. I costituenti principali risultano i carboidrati e la fibra, mentre tra i micronutrienti si possono osservare buoni valori di vitamina C, calcio e fosforo. Un'ulteriore indagine sul profilo nutrizionale dei frutti di Caigua è stata riportata da Rivas (2013). In questo lavoro sono stati valutati i profili fitochimici e nutrizionali dei frutti freschi di Caigua e della farina ottenuta dai frutti liofilizzati per valutare la loro idoneità per l'utilizzo nella preparazione di alimenti funzionali. In particolare, è risultato che i frutti di freschi sono caratterizzati da un elevato contenuto di vitamina C e composti fenolici, mentre la farina ha mostrato un elevato contenuto di potassio ed un basso contenuto di sodio. Inoltre, sia il frutto fresco che la farina presentano ridotti contenuti di calorie e di zuccheri, che associati con gli alti livelli di micronutrienti e metaboliti secondari potenzialmente attivi li rendono interessanti per la preparazione di alimenti funzionali o altri preparati nutraceutici.

Unitamente all'uso alimentare, la Caigua vede un ampio utilizzo come rimedio erboristico nella tradizione popolare. Il succo ottenuto dai frutti viene consigliato per abbassare i livelli di colesterolo ematici, regolarizzare la pressione sanguigna e per trattare l'arteriosclerosi o altri problemi circolatori. Le foglie e i frutti bolliti in olio d'oliva vengono indicati per l'uso esterno come antinfiammatorio, mentre i semi essiccati e in polvere vengono utilizzati in dosi di 1 g come rimedio per i parassiti intestinali. Infine, si segnala anche l'utilizzo delle foglie - considerate ipoglicemiche - e consigliate sotto forma di decotto nei casi di diabete (Antih et al., 2016).

In Europa l'uso alimentare non è quello prevalente e la Caigua trova maggiore interesse per le sue proprietà medicinali (Matonti, 2016) che sono oggetto di studio da più di tre decenni. Nel 1994 Gonzales et. al. scrivono un articolo intitolato: "Studio degli effetti della Caigua disidratata (Cicladina) sul profilo lipidico di adulti di mezza età a Lima"; Cinque anni dopo, l'Università peruviana Cayetano Heredia - sempre grazie ad autori come Gonzales G.F. e Gonez C. - pubblica un altro articolo sulla pianta: "Profilo lipidico in donne post-menopausa: effetti delle Caigua (*Cyclanthera pedata*)". La conclusione di quest'ultimo articolo riconosce come i trattamenti con la Caigua abbiano invertito la dislipidemia nelle donne in post menopausa: la proprietà medicinale più nota della pianta infatti, secondo diversi autori, è il miglioramento del metabolismo dei carboidrati e del colesterolo (Gonzales et al, 1995; Ranilla et al., 2010, Figerio et al., 2021). Altre proprietà interessanti e spesso citate riguarderebbero la regolarizzazione della pressione arteriosa (Favola, 2017), il miglioramento della funzionalità digestiva, il benessere e il trofismo delle mucose, il drenaggio dei liquidi corporei in eccesso e la funzionalità delle vie urinarie. Per questo motivo in Italia i frutti secchi e le foglie sono inclusi nell'elenco dell'allegato 1 del decreto ministeriale del 10 agosto 2018, che indica le piante ammesse per l'uso erboristico e la preparazione di estratti o altri prodotti per la salute. Della Caigua viene indicato l'uso erboristico come droga essiccata nella preparazione di forme di dosaggio solide (compresse o capsule), per la sua trasformazione in estratti e nella preparazione di integratori alimentari o altri prodotti salutistici o nutraceutici.

Per questo motivo oggi è possibile trovare in commercio numerosi prodotti erboristici a base di Caigua, sostanzialmente sotto forma di capsule o di compresse. Nelle capsule il costituente principale è l'estratto di Caigua e il prodotto è consigliato per il metabolismo dei carboidrati, del colesterolo e per regolarizzare la pressione arteriosa (erbavita.com). Nelle compresse invece è possibile trovare sia la Caigua da sola, in particolare il frutto senza semi (efarma.com), sia in miscela con altri vegetali, per esempio il riso rosso fermentato (angelica.it) o il carciofo (*Cynara scolymus*, L.) e il fieno greco (*Trigonella foenum-graecum*, L.). In quest'ultimo ambito uno studio recente (Frigerio et al., 2021) ha dimostrato come l'utilizzo combinato di estratti di Caigua, carciofo e fieno greco sia utile nella prevenzione e nel trattamento dell'ipercolesterolemia, rappresentando una promettente alternativa alle attuali terapie come la somministrazione di statine e della monacolina K.

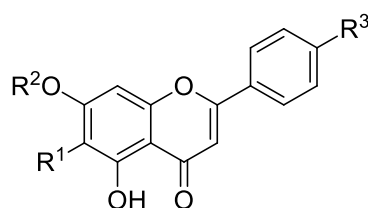
## 1.4 Composizione fitochimica

I frutti della Caigua sono l'organo vegetale più utilizzato in ambito erboristico e di conseguenza sono, per quanto riguarda il contenuto di metaboliti secondari, la parte più ampiamente investigata (Monigatti et al., 2013). Le attività biologiche per le quali viene utilizzata questa pianta in ambito erboristico sono attribuite al notevole contenuto di metaboliti secondari che comprendono composti fenolici, flavonoidi, cumarine, tannini, terpeni e altri composti minoritari (Macchia et al., 2009).

### 1.4.1 *Flavonoidi*

I frutti della Caigua sono stati valutati per il loro contenuto di flavonoidi e la relativa capacità antiossidante. Gli antiossidanti naturali sono elementi dietetici responsabili di effetti protettivi contro il rischio di molti processi fisiologici e patologici come il cancro, l'invecchiamento e le malattie cardiovascolari (Montoro et al., 2001). I flavonoidi sono una classe di polifenoli con proprietà antiossidanti e diversi studi hanno dimostrato che un elevato apporto di flavonoidi si correla con una riduzione del rischio di sviluppare malattie cardiovascolari e altre patologie (Sanz et al., 1994).

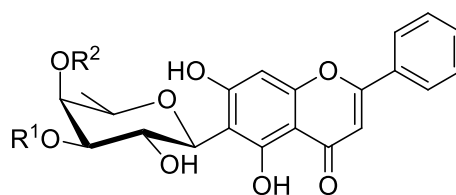
Nel 2001, Montoro et al. hanno condotto un lavoro di isolamento e caratterizzazione su estratti ottenuti dai frutti di Caigua che ha portato all'isolamento di sei glicosidi flavonici (**1-6**) (Figura 5). Tra questi, quattro (**1-4**) sono risultati nuovi composti, descritti per la prima volta con questo lavoro, mentre i rimanenti due sono stati identificati come isovitexina (**5**) e crisina-6-C-glucopiranoside (**6**). Questi composti sono stati valutati per la loro capacità antiossidante. In particolare, è stato valutato il loro potere antiossidante nei confronti dell'autossidazione dell'acido linolenico, usata come modello per valutare l'effetto protettivo sulla perossidazione dei lipidi nelle membrane. Da questo test è emerso che tutti i composti isolati posseggono attività antiossidante e, tra questi, i composti **1**, **4** e **5** sono risultati i più attivi con un potere antiossidante solo leggermente inferiore al butilidrossitoluene usato come antiossidante standard di riferimento (Montoro et al., 2001).



	<b>R<sup>1</sup></b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>R<sup>3</sup></b>	
<b>1</b>			H	Crisina 7-O-β-D-glucopiranosil-6-C-fucopiranoside
<b>2</b>		H	H	Crisina 6-C-fucopiranoside
<b>3</b>		H	OH	Apigenina 6-C-fucopiranoside
<b>4</b>	H		H	Crisina 7-O-β-D-glucopiranosil-(1□4)-α-L-ramnopiranoside
<b>5</b>		H	H	Crisina 6-C-β-D-glucopiranoside
<b>6</b>		H	OH	Isovitexina

*Figura 5: Strutture dei glicosidi flavonoidici isolati dal frutto*

I glicosidi flavonici isolati da Montoro et al. rappresentano i costituenti principali del frutto e di conseguenza sono stati proposti, dallo stesso gruppo di ricerca, come possibili composti “marker” per la valutazione del profilo fitochimico e la standardizzazione dei frutti di Caigua e dei prodotti derivati. A questo scopo, è stata sviluppata una metodica di cromatografia liquida ad alta prestazione accoppiata a spettrometria di massa (HPLC/MS) che ha permesso la quantificazione del contenuto di flavonoidi negli estratti. Con queste tecniche sono stati identificati cinque ulteriori flavonoidi, tra cui quattro nuovi composti presenti come costituenti minori nei frutti. La metodica HPLC/MS sviluppata ha dimostrato buone performance sia in termini di sensibilità che di specificità, fornendo allo stesso tempo informazioni utili per l’identificazione dei flavonoidi in miscele complesse come gli estratti vegetali grezzi. Inoltre, questa metodica potrebbe rappresentare uno strumento per la quantificazione dei composti marker nel controllo di qualità sia dei frutti di Caigua che dei prodotti ottenuti da questi (Carbone et al., 2004).



	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	
<b>7</b>	-COCH <sub>2</sub> COOH	H	Crisina 3-malonil-6-C-fucopyranoside
<b>8</b>	H	-COCH <sub>2</sub> COOH	Crisina 3-malonil-6-C-fucopyranoside

Figura 6: Malonil derivati della crisina-6-C-fucopyranoside

Nonostante i frutti siano l'organo vegetale più studiato, anche le foglie sono state oggetto di indagine fitochimica. In particolare, in un lavoro di Montoro et al. (2005) è stata effettuata una comparazione qualitativa e quantitativa del contenuto di flavonoidi di foglie e frutti liofilizzati. Da questo lavoro è emerso che nelle foglie i principali flavonoidi presenti sono 6-C-fucopyranosidi della crisina e dell'apigenina, con crisina-6-C-fucopyranoside e due suoi esteri malonici come costituenti principali. I frutti presentano un profilo differente dalle foglie, con crisina-7-O-glucopyranosil-6-C-fucopyranoside e crisina-6-C-fucopyranoside come costituenti maggioritari. In questo lavoro sono stati inoltre isolati e descritti per la prima volta due esteri malonici della crisina-6-C-fucopyranoside (**7,8**) (Figura 6), contenuti nel frutto come costituenti minoritari. Particolare enfasi viene data dagli autori relativamente al fatto che questi composti sarebbero caratteristici di questa specie, di conseguenza potenzialmente importanti per la caratterizzazione fitochimica e per il controllo di qualità della Caigua (Montoro et al., 2005).

#### 1.4.2 Glicosidi triterpenici

Oltre che per il contenuto di flavonoidi i frutti sono stati investigati anche per il contenuto di derivati triterpenici. In particolare, De Tommasi e collaboratori (1999) riportano l'identificazione e l'isolamento di nove composti appartenenti alla classe delle saponine triterpeniche in estratti metanolici del frutto essiccato di Caigua. Di queste saponine, sei (**9-**

13) (Figura 7) sono risultate nuovi composti naturali, descritti per la prima volta con questo lavoro.

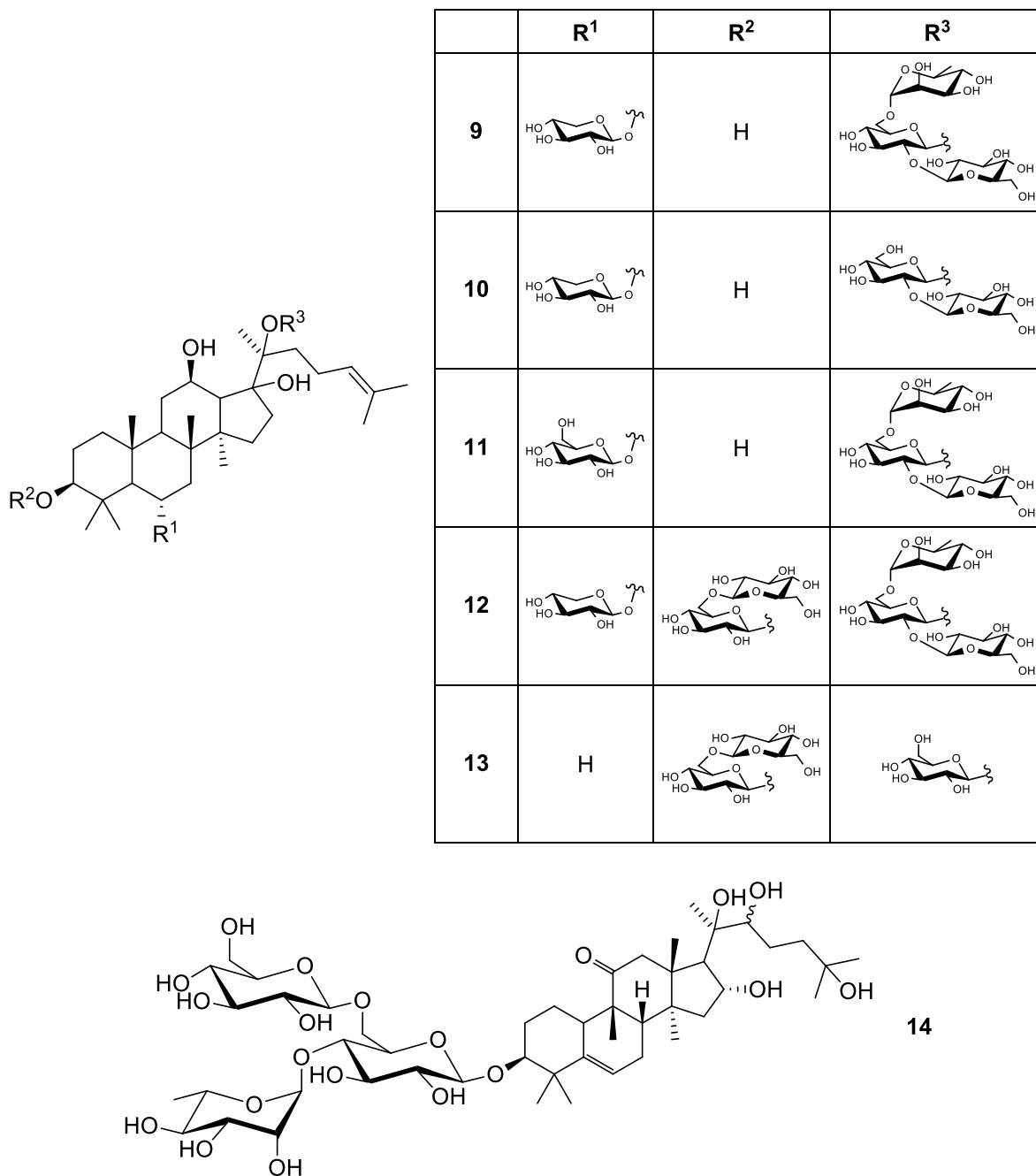


Figura 7: Strutture delle saponine isolate dal frutto

Le saponine sono un gruppo di composti naturali che risulta essere particolarmente diffuso nel regno vegetale. Caratteristica comune a tutte le saponine, da cui deriva il nome di questa classe di composti, è la capacità di formare una schiuma persistente, simile a quella del

sapone, quando sono agitate in soluzione acquosa. Le saponine triterpeniche sono un gruppo di glicosidi triterpenici appartenente alla classe delle saponine e caratterizzato da un'elevata diversità strutturale, con più di cento differenti scheletri carboniosi identificati da varie fonti naturali (El Aziz et al., 2019). Oltre che da un'ampia diversità strutturale, le saponine sono caratterizzate anche da un vasto numero di attività biologiche: dolcezza e amarezza (Grenby, 1991; Kitagava, 2002; Heng et al., 2006), proprietà schiumogene ed emulsionanti (Price et al., 1987), farmacologiche e medicinali (Attele et al., 1999). Tra queste è inclusa la capacità di ridurre i livelli ematici di colesterolo nel modello animale (Oboh and Omofoma, 2008). Per questo motivo, le saponine hanno trovato ampie applicazioni nelle bevande e nella pasticceria, così come nei cosmetici (Prince et al., 1987; Petit et al., 1995; Uematsu et al., 2000) e un notevole interesse per l'uso in campo farmaceutico (Sparg et al., 2004).

La distribuzione di glicosidi triterpenici varia notevolmente nei diversi organi della pianta e la presenza di questi composti non è esclusiva dei frutti. La presenza di glicosidi triterpenici è stata accertata anche nei semi (De Tommasi et al., 1996). In questo studio sono stati isolati sette glicosidi delle cucurbitacine (**15-21**), di cui sei (**15-17, 19-21**) sono risultati nuovi composti naturali (Figura 8). Le cucurbitacine e i loro glicosidi sono note per esprimere un'ampia gamma di attività biologiche diverse e, per questo motivo, potrebbero giustificare, almeno in parte, il largo utilizzo di piante della famiglia delle Cucurbitaceae nelle medicine popolari delle regioni tropicali e subtropicali. (De Tommasi et al., 1996). Alcune cucurbitacine hanno dimostrato di avere effetti antinfiammatori ed analgesici, ma anche citotossici (Chen et al., 2005). La presenza di cucurbitacine è stata riportata frequentemente nei frutti della famiglia delle Cucurbitaceae e le variazioni nelle quantità contenute da diverse cultivar è uno dei criteri per la selezione dei frutti in quanto questi composti sono caratterizzati dal possedere un sapore amaro. Dei composti isolati dai semi di Caigua, cinque di questi appartengono al gruppo delle 29-norcucurbitacine (**15-19**). Questi composti sono generalmente poco diffusi e la loro presenza in contemporanea alle cucurbitacine potrebbe essere la conferma che quest'ultime sono i precursori biogenetici delle 29-norcucurbitacine, delucidando in questo modo l'origine biosintetica di tali composti (De Tommasi et al., 1996).

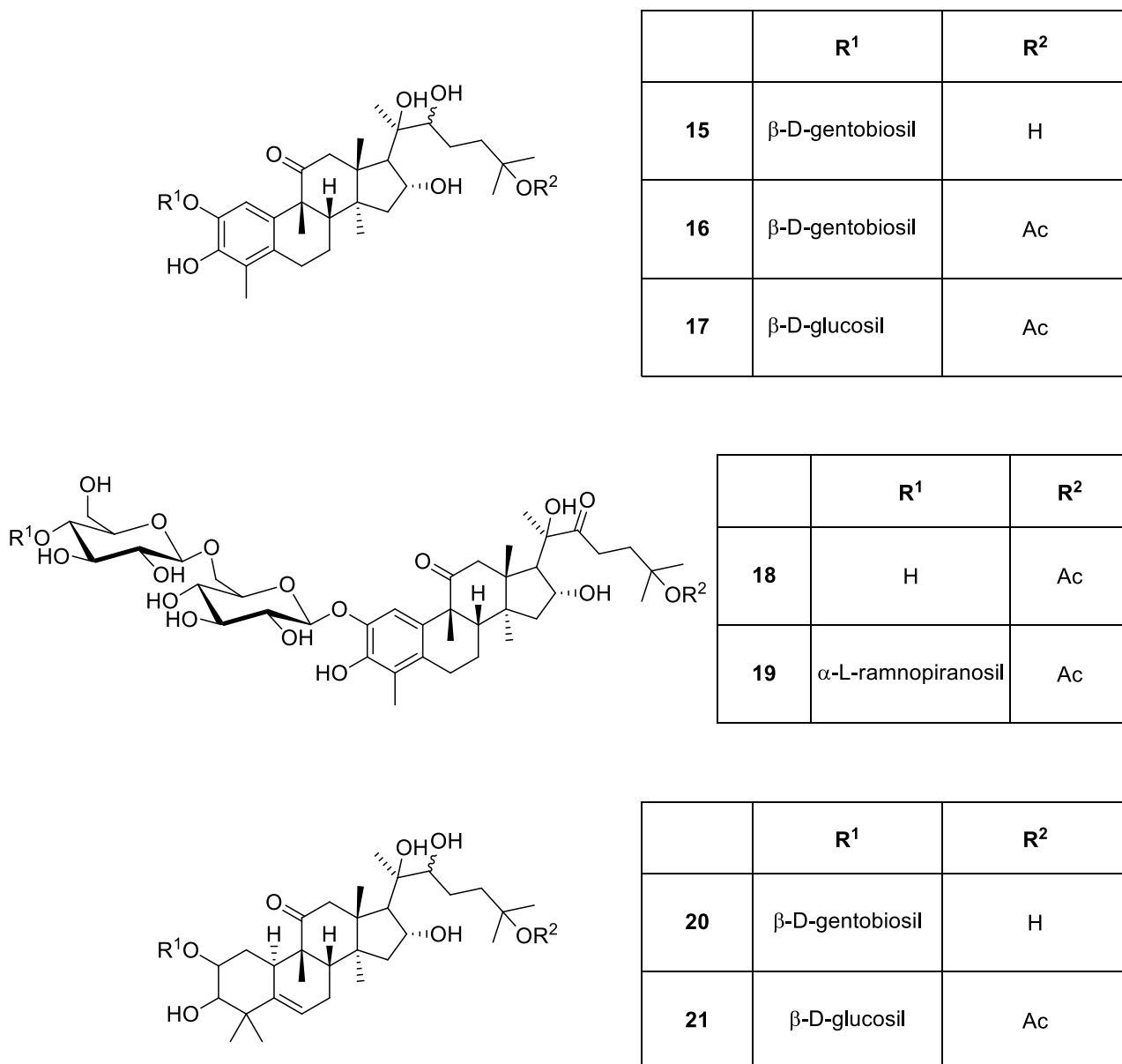


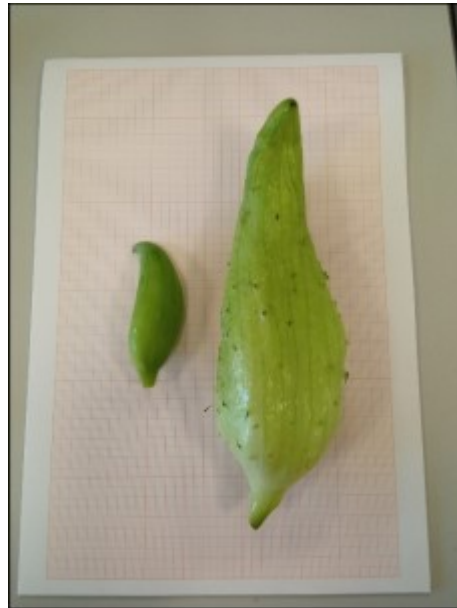
Figura 8: Strutture delle cucurbitacine isolate dai semi

### 1.5 Cultivar di *Caigua camuna*

Dato l'interesse in ambito alimentare ed erboristico/medicinale della *Caigua* è necessaria una distinzione tra *Caigua* sudamericana, quella più diffusa dal punto di vista commerciale, e *Caigua camuna*, la varietà oggetto di studio in questo elaborato.

Da un lavoro precedente (Bassani, 2022) avente come scopo lo studio della possibilità di coltivazione della *Caigua* in Valcamonica e la caratterizzazione agronomica della cultivar *camuna*, si è osservato che quest'ultima presenta caratteristiche morfologiche, agronomiche e

produttive differenti rispetto alla cultivar commerciale sudamericana. In particolare, sono state osservate notevoli differenze nella forma e dimensione dei frutti. La Caigua camuna produce frutti con una dimensione media di  $9 \times 3,5$  cm, lisci o con spine molli lungo tutto il corpo del frutto. Sono di colore verde chiaro e contengono all'interno dai 6 agli 8 semi. I frutti della cultivar sudamericana hanno dimensioni medie circa doppie rispetto alla cultivar camuna (Figura 9), con una maggiore rugosità superficiale ed un colore verde pallido con striature più scure.



*Figura 9: confronto dimensioni tra frutto camuno (sx) e sudamericano (dx)*

Come i frutti della cultivar camuna, al loro interno possiedono un tessuto spugnoso biancastro e 7-8 semi. Sono state osservate differenze tra le due cultivar anche nel numero di frutti prodotto, con la cultivar camuna che ha prodotto in media circa 21 frutti per pianta, mentre la cultivar sudamericana ha prodotti in media solo 2 frutti per pianta. In media, la cultivar sudamericana ha prodotti frutti con un peso pari a 97 g, mentre la cultivar camuna frutti di circa 9,8 g. Nonostante la cultivar sudamericana abbia prodotto frutti con un peso di circa dieci volte maggiore rispetto alla cultivar camuna, la cultivar camuna è risultata, dal punto di vista della produzione totale, più produttiva rispetto alla cultivar sudamericana, suggerendo un maggiore adattamento alle condizioni ambientali della valle. (Bassani, 2022).

Nonostante la Caigua sudamericana sia stata caratterizzata da un punto di vista nutrizionale (Rivas et al., 2013) e fitochimico (De Tommasi et al., 1996; De Tommasi et al., 1999; Montoro et al., 2001; Carbone et al., 2004; Montoro et al., 2005), le conoscenze in questi ambiti sulla cultivar camuna sono praticamente assenti. Ad oggi, essendo poco nota la varietà

italiana di Caigua, nelle aziende erboristiche italiane viene utilizzata quasi esclusivamente Caigua di importazione proveniente dal Sudamerica (comunicazione personale da azienda erboristica privata). La cultivar camuna, coltivata *in loco*, potrebbe essere un'alternativa come materia prima, con la possibilità di creare filiere di coltivazione di questa cultivar e di conseguenza generare ricadute economiche e sociali a vantaggio dei territori marginali montani. Tuttavia, data la scarsità di informazioni, è necessario un lavoro di caratterizzazione fitochimica e nutrizionale per valutarne l'idoneità e le potenzialità ad essere sfruttata come materia prima erboristica.

## 2. SCOPO DEL LAVORO

Il presente lavoro ha come obiettivo indagare le caratteristiche nutrizionali e fitochimiche del frutto di una cultivar di Caigua (*Cyclanthera pedata*) coltivata in Valcamonica ed effettuare un confronto con quelle di una cultivar sudamericana coltivata nelle stesse zone e con quelle di frutto essiccato di una Caigua commerciale peruviana di importazione venduta per uso erboristico.

Le analisi sono volte ad effettuare una valutazione preliminare sulle potenzialità di utilizzo come materia in campo erboristico del frutto della cultivar camuna per la preparazione di estratti, integratori alimentari o altri prodotti salutistici e nutraceutici in sostituzione al frutto delle varietà commerciali coltivate e importate dal Sudamerica. La possibilità di utilizzo della cultivar camuna in campo erboristico potrebbe permettere la creazione filiere di coltivazione e trasformazione, generando di conseguenza ricadute economiche e sociali a vantaggio dei territori marginali montani.

Le analisi fitochimiche e nutrizionali sono state effettuate sui frutti a diverso stadio di maturazione e sui semi. Dal punto di vista dell'analisi nutrizionale è stato definito un profilo nutrizionale preliminare misurando il contenuto delle principali classi di nutrienti. In particolare, è stato determinato il contenuto totale di zuccheri semplici e di lipidi, il contenuto di proteine determinate come azoto totale e delle ceneri totali come indice del contenuto di minerali. Dal punto di vista fitochimico sono state quantificate le principali classi di metaboliti secondari che caratterizzano il frutto della Caigua. In particolare, sono stati determinati il contenuto di flavonoidi (distinguendo il contenuto di flavoni e flavonoli e il contenuto di flavanoni e diidroflavonoli) e il contenuto di saponine. Sono stati inoltre valutati il contenuto di fenoli totali e il titolo di acidi caffeilchinici. Quest'ultimo è stato considerato in quanto rappresenta il principale parametro per la valutazione del contenuto di metaboliti secondari usato dall'industria erboristica nella valutazione della qualità dei lotti frutto essiccato.

Nonostante il frutto sia la parte più utilizzata, sia per il consumo alimentare che nella medicina tradizionale, anche le foglie e il germoglio sono sfruttati come alimento o come rimedio erboristico. In particolare, le foglie sono incluse nell'elenco dell'allegato 1 del decreto ministeriale del 10 agosto 2018, che regola le piante ammesse per l'uso erboristico, di conseguenza risultano interessanti come potenziale materia prima erboristica per la preparazione di estratti o altri prodotti salutistici, anche in virtù della grande biomassa aerea che la pianta produce rispetto ai frutti. Per questo motivo, l'analisi è stata condotta anche su foglie e germogli delle cultivar camuna e sudamericana allo scopo di stabilire il

profilo fitochimico, permettere un confronto tra le due cultivar e con i rispettivi frutti ed effettuare una valutazione preliminare circa le potenzialità delle parti aeree come materia prima erboristica.

### 3. MATERIALI E METODI

#### 3.1 Allestimento dei campi sperimentali e campionamento del materiale vegetale

Nel disegno sperimentale sono state incluse due cultivar di Caigua. La cultivar italiana (codice identificativo C1-C5) è stata ottenuta a partire da semi raccolti da una agricoltrice custode che la coltiva da circa 50 anni nel comune di Esine (Valle Camonica, Brescia), la quale ha riferito di aver ricevuto i semi dalla generazione precedente (suocero). La cultivar commerciale (codice identificativo S1-S5) invece è stata coltivata da semi acquistati da <https://www.rarepalmseeds.com/cyclanthera-pedata>. L'identità genetica sia dei semi commerciali che autoctoni è stata verificata mediante tecniche di DNA barcoding dal centro FEM2-Ambiente dell'Università Milano-Bicocca, ed è stato confermato che la varietà della Valle Camonica appartiene alla specie *C. pedata* (L.) Schrad.

Nell'analisi è stato incluso anche un campione di frutto essiccato e relativi semi di Caigua peruviana (codice identificativo I1-I2) importata e acquistata da [www.herbaPeru.pl](http://www.herbaPeru.pl).

Di seguito, in tabella 1, sono riassunti i codici utilizzati relativi all'origine della pianta e alla parte vegetale considerata:

<b>C</b>	Cultivar italiana camuna
<b>S</b>	Cultivar commerciale sudamericana
<b>I</b>	Caigua peruviana importata

<b>1</b>	Frutto maturo
<b>2</b>	Semi
<b>3</b>	Frutto acerbo
<b>4</b>	Foglie
<b>5</b>	Germoglio

Tabella 3: codici identificativi dei campioni

I campi sperimentali sono stati allestiti in Valle Camonica, nel comune di Esine, e sono stati coltivati nell'anno 2021. La zona appartiene al bioclina oceanico temperato (Rivas-Martinez e Rivas-Saenz, 2009) e ha una piovosità di 1100 mm all'anno concentrata prevalentemente in primavera e in autunno. La temperatura media annuale è di circa 8,9°C; le temperature minime si verificano nei mesi invernali (fonte dati: Centro Meteo Lombardo).

I frutti sono stati raccolti manualmente e la produzione è stata registrata da fine agosto a settembre, anche se le piante hanno continuato a produrre fino ai primi di novembre, pur con

andamento decrescente e diverse gelate. Frutti, foglie e germogli sono stati raccolti lungo diversi punti dei campi. Il materiale vegetale raccolto è stato poi essiccato in stufa ventilata per 36 ore (germogli e foglie) o 48 ore (frutti) a 70 °C. I frutti maturi sono stati divisi in quarti, i semi sono stati rimossi ed essiccati separatamente, mentre i frutti immaturi sono stati divisi in quarti ed essiccati senza rimuovere i semi e la polpa. Il grado di maturazione è stato valutato usando come criterio il completo distacco dei semi dalla polpa: se ciò avveniva il frutto è stato classificato come maturo, mentre se i semi erano ancora di colore chiaro e non staccati dalla polpa il frutto è stato considerato immaturo.

Il materiale vegetale essiccato è stato conservato in un barattolo di vetro sigillato e tenuto al buio a temperatura ambiente prima delle analisi. I campioni per l'analisi sono stati polverizzati utilizzando un mulino vibrazionale MM400 (frequenza 30 Hz, tempo 1 minuto), quindi utilizzati immediatamente.

### **3.2 Analisi fitochimiche**

Tutti i reagenti e solventi utilizzati durante gli esperimenti avevano un grado di purezza analitico, mentre l'acqua utilizzata aveva grado di purezza HPLC. Tutti i solventi e i reagenti sono stati acquistati da Merck (Milano, Italia) e utilizzati senza ulteriore purificazione.

La soluzione di 2,4-DNPH usata nel saggio dei flavanoni e diidroflavonoli è stata preparata come descritto da Rivas et al. (2013) sciogliendo 1 g di 2,4-DNPH in 2 ml di acido solforico concentrato. La miscela risultante è stata diluita con metanolo ad un volume finale di 100 ml.

La soluzione satura di acetato di piombo e l'acido acetico diluito per il dosaggio degli acidi caffeilchinici sono stati preparati secondo la Farmacopea Ufficiale della Repubblica Italiana XII Edizione. La soluzione satura di acetato di piombo è stata preparata sciogliendo 51,7 g di acetato di piombo (II) triidrato in 100 ml di acqua priva di anidride carbonica. L'acido acetico diluito è stato preparato diluendo 12 g di acido acetico glaciale in acqua fino ad un volume di 100 ml.

#### **3.2.1 Preparazione degli estratti etanolici**

Gli estratti etanolici sono stati preparati adattando la procedura riportata da Tan (Tan et al., 2014). In breve, un campione esattamente pesato (circa 1 g) di materiale vegetale polverizzato è stato trasferito in una Falcon, sospeso in 20 ml di etanolo al 70% (v/v) e agitato a temperatura ambiente per 48 ore. Successivamente, il supernatante è stato raccolto mediante centrifugazione a 4000 rpm per 5 minuti. Il residuo solido è stato lavato con 5 ml di etanolo al 70% e il surnatante raccolto per centrifugazione è stato unito al precedente. Questa operazione

viene ripetuta per altre due volte. Il solvente è stato rimosso mediante evaporatore rotante a 50°C. Il residuo è stato sciolto con etanolo al 70% portando ad un volume finale di 5 ml. La soluzione ottenuta è stata centrifugata a 4000 rpm per 15 minuti e conservata a -20°C prima delle analisi.

### **3.2.2** *Contenuto di fenoli totali*

Il contenuto di fenoli totali è stato determinato come descritto da Rivas et al. (2013) utilizzando il metodo di Folin-Ciocalteu. In breve, 0,1 ml di estratto alcolico sono stati diluiti con 6 ml di acqua in una provetta da centrifuga a fondo conico. Gli estratti delle foglie e dei germogli (I4,5 e C4,5) sono stati diluiti 1:10 con etanolo al 70% prima dell'analisi.

Alla soluzione risultante sono stati aggiunti 0,5 ml di reagente 2N di Folin-Ciocalteu e la miscela è stata mescolata e poi lasciata incubare per 2 minuti. Successivamente sono stati aggiunti 1,5 ml di una soluzione di carbonato di sodio al 20% (p/v) seguiti da 2 ml di acqua. La soluzione risultante è stata miscelata e incubata per due ore al buio a temperatura ambiente.

L'assorbanza è stata misurata a 760 nm contro un bianco preparato utilizzando 0,1 ml di etanolo al 70%. La retta di calibrazione è stata costruita utilizzando soluzioni di acido gallico con concentrazioni comprese tra 125 e 900 mg/l. Il contenuto fenolico totale è stato espresso come milligrammi di acido gallico equivalenti (mg GAE) per grammo di peso secco.

Le letture sono state eseguite su uno spettrofotometro Varian Cary 50 scan Agilent 5301.

### **3.2.3** *Contenuto di flavoni e flavonoli totali*

Il contenuto di flavoni e flavonoli è stato determinato come descritto da Rivas et al. (2013) utilizzando il metodo del cloruro di alluminio. Brevemente, 0,5 ml di estratto alcolico sono stati miscelati con un volume uguale di una soluzione di cloruro di alluminio esaidrato al 2% (p/v) in etanolo. Gli estratti delle foglie e dei germogli (I4,5 e C4,5) sono stati diluiti 1:1000 con etanolo al 70% prima dell'analisi.

La soluzione risultante è stata incubata per 60 minuti al buio a temperatura ambiente e l'assorbanza è stata misurata a 420 nm contro un bianco preparato utilizzando 0,5 ml di etanolo al 70%. La retta di calibrazione è stata costruita utilizzando soluzioni di quercetina con concentrazioni comprese tra 5 e 25 mg/l. Il contenuto totale di flavoni e flavonoli è stato espresso come milligrammi di quercetina equivalenti (mg QE) per grammo di peso secco.

### **3.2.4** *Contenuti di flavanoni e diidroflavonoli totali*

Il contenuto di flavanoni e diidroflavonoli è stato determinato come riportato da Rivas et al. (2013) utilizzando il metodo della 2,4-dinitrofenilidrazina (2,4-DNPH). In breve, un'aliquota dell'estratto alcolico con un volume compreso tra 0,02 ml e 0,05 ml è stata diluita con etanolo assoluto ad un volume finale di 0,25 ml. Quindi sono stati aggiunti 0,5 ml di soluzione 2,4-DNPH e la miscela risultante è stata incubata a 50°C per 50 minuti. Successivamente, la miscela è stata lasciata raffreddare a temperatura ambiente e 0,3 ml della soluzione risultante sono stati miscelati con 0,7 ml di idrossido di potassio al 10% (p/v) in metanolo. La sospensione risultante è stata centrifugata a 1500 rpm per 10 minuti e 0,25 ml del surnatante sono stati diluiti con metanolo fino a un volume finale di 1,5 ml.

L'assorbanza è stata misurata a 492 nm contro un bianco preparato utilizzando etanolo al 70%. La retta di calibrazione è stata costruita utilizzando soluzioni di naringenina con concentrazioni comprese tra 250 e 2000 mg/l. Il contenuto totale di flavanoni e diidroflavonoli è stato espresso come milligrammi di naringenina equivalenti (mg NGE) per grammo di peso secco.

### **3.2.5** *Contenuto di saponine totali*

Il contenuto di saponine totali è stato determinato come riportato da Tan et al. (2014) utilizzando il metodo della vanillina/acido solforico. In breve, 0,1 ml dell'estratto alcolico sono stati diluiti con etanolo al 70% fino a un volume di 1 ml. Successivamente, 0,3 ml della soluzione risultante sono stati miscelati con 0,3 ml di soluzione di vanillina all'8% (p/v) in etanolo e 3 ml di acido solforico al 72% (v/v). La soluzione risultante è stata miscelata e incubata a 60°C per 15 minuti, poi raffreddata in acqua e ghiaccio per 10 minuti.

L'assorbanza è stata misurata a 560 nm contro un bianco preparato utilizzando etanolo al 70%. La retta di calibrazione è stata costruita utilizzando soluzioni di ginsenoside RG<sub>1</sub> con concentrazioni comprese tra 30 e 450 mg/l. Il contenuto totale di saponine è stato espresso in milligrammi di ginsenoside RG<sub>1</sub> equivalenti (mg GSE) per grammo di peso secco. Il ginsenoside RG<sub>1</sub> (22427-39-0) è stato utilizzato come standard a causa dell'elevata somiglianza strutturale con le saponine isolate dal frutto di *C. pedata* da De Tommasi (De Tommasi et al., 1999).

### **3.2.6** *Contenuto percentuale di acidi caffeilchinici*

Il contenuto totale di acidi caffeilchinici è stato determinato adattando il procedimento descritto nella monografia dell'estratto secco di carciofo della XII Edizione della Farmacopea

Ufficiale della Repubblica Italiana. In breve, un campione esattamente pesato (circa 5 g) di materiale vegetale polverizzato è stato estratto con 40 ml di etanolo al 75% (v/v), scaldando a ricadere su bagnomaria a 70°C per 15 minuti. Successivamente, la sospensione è stata raffreddata a temperatura ambiente e il surnatante è stato raccolto per decantazione. Il residuo solido è stato estratto esaurientemente ripetendo le stesse operazioni tre volte con 15 ml di etanolo al 75%. Gli estratti alcolici raccolti sono stati riuniti e il solvente rimosso su evaporatore rotante a 50°C.

Il residuo semisolido risultante è stato dissolto in acqua, portando ad un volume finale di 40 ml. La soluzione risultante è stata riscaldata a ebollizione e, a caldo, sono stati aggiunti 2 ml di soluzione acquosa satura di acetato di piombo. Si centrifuga a 4000 rpm per 5 minuti, si elimina il surnatante e si lava il precipitato con 5 ml di acqua.

Il precipitato è stato dissolto con 70 ml di acido acetico diluito e la soluzione risultante è stata riscaldata fino all'ebollizione. La soluzione ottenuta è stata filtrata a caldo e al filtrato sono stati aggiunti 2 ml di una soluzione di acido solforico (200 ml/l). La sospensione risultante è stata lasciata raffreddare fino a temperatura ambiente e centrifugata a 4000 rpm per 5 minuti.

Il surnatante limpido è stato trasferito in un matraccio tarato da 100 ml e il precipitato è stato risospeso con 5 ml di acido acetico diluito e centrifugato nuovamente. I surnatanti riuniti sono stati portati a volume con acido acetico diluito. 2 ml della soluzione risultante sono stati trasferiti in un matraccio tarato da 50 ml e portati a volume con metanolo. Si misura l'assorbanza della soluzione risultante a 325 nm contro un bianco preparato diluendo 2 ml di acido acetico diluito con metanolo fino a un volume finale di 50 ml.

Il contenuto percentuale di acidi caffeilchinici (CCQA) espresso come acido clorogenico si calcola utilizzando la seguente equazione:

$$CCQA = \frac{A \times 2500}{485 \times dw}$$

dove A è l'assorbanza della soluzione di metanolo, 485 è il coefficiente di estinzione dell'acido clorogenico e dw è il peso secco del materiale vegetale polverizzato in grammi.

### **3.3 Analisi nutrizionale dei frutti e dei semi**

#### **3.3.1** *Contenuto totale di ceneri*

Il contenuto totale di ceneri è stato determinato secondo il metodo AACC n. 08-01.01. Brevemente, un campione esattamente pesato (circa 0.100 g) di materiale vegetale polverizzato è stato trasferito in un crogiolo precedentemente riscaldato in muffola a 600°C per 24 ore, lasciato raffreddare in essiccatore fino a temperatura ambiente e tarato. Si brucia il campione su piastra a 300°C fino a cessazione dello sviluppo di fumo, avendo cura che il campione bruci senza fiamma. Si trasferisce il crogiolo in muffola a 600°C e si calcina fino a peso costante. Si raffredda in essiccatore e si pesa. I risultati sono stati espressi come percentuale sul peso secco.

#### **3.3.2** *Contenuto di azoto totale*

Il contenuto di azoto totale è stato determinato come descritto da Rivas et al. (2013) secondo il metodo Kjeldahl. In breve, un campione esattamente pesato (circa 1 g) di materiale vegetale è stato trasferito in un tubo per la mineralizzazione. Sono state aggiunte due compresse di catalizzatore (contenenti 3,5 g di solfato di potassio e 0,1 g di solfato di rame pentaidrato) e 13 ml di acido solforico concentrato. Si agita leggermente e si procede alla digestione a 420°C per 60 minuti. Terminata la digestione, si lascia raffreddare e si aggiungono 75 ml di acqua al campione. Il tubo è stato inserito nell'unità di distillazione e sono stati aggiunti 50 ml di idrossido di sodio al 32% (p/p). Il campione è stato distillato per 4 minuti, raccogliendo il distillato in una beuta contenente 30 ml di una soluzione di acido borico al 4% (p/p), a cui è stata aggiunta la miscela di indicatori prevista dal metodo (verde di bromocresolo e rosso metile). Al termine della distillazione, la soluzione di acido borico è stata titolata con una soluzione di acido cloridrico 0,2 N. Il contenuto di proteine grezze è stato calcolato come % N x 6,25.

Per la determinazione del contenuto di azoto totale è stato utilizzato un analizzatore Kjeldahl VELP Scientifica dotato di digestore DK6 con unità per il controllo dei fumi e distillatore Kjeldahl UDK 129

#### **3.3.3** *Contenuto di zuccheri totali*

Il contenuto di zuccheri è stato determinato secondo la procedura riportata da Dubois (Dubois et al., 1956). In breve, un'aliquota degli estratti alcolici dei frutti maturi, immaturi e dei semi è stata diluita con acqua per ottenere 2 ml totali di soluzione con un rapporto di diluizione compreso tra 1:200 e 1:400. Alla soluzione ottenuta sono stati aggiunti 0,050 ml di una

soluzione di fenolo all'80% (p/p) in acqua. Successivamente, sono stati aggiunti rapidamente 5 ml di acido solforico concentrato, orientando il getto direttamente verso il centro e non lungo le pareti allo scopo di garantire una buona miscelazione della soluzione. La soluzione è stata lasciata riposare per 10 minuti a temperatura ambiente, quindi agitata e incubata per 15 minuti a bagnomaria a 30°C. L'assorbanza è stata misurata a 490 nm contro un bianco preparato utilizzando etanolo al 70%. La retta di calibrazione è stata costruita utilizzando soluzioni di glucosio con concentrazioni comprese tra 5 e 60 mg/l. Il contenuto di zuccheri totali è stato espresso come mg di glucosio equivalenti per grammo di peso secco.

### **3.3.4** *Contenuto di lipidi totali*

Il contenuto lipidico totale è stato determinato adattando il metodo migliorato di Bligh e Dyer sviluppato da Mubarak (Mubarak et al., 2016). In breve, un campione esattamente pesato (0,5 g) di materiale vegetale polverizzato è stato sospeso con 1 ml di metanolo e 0,5 ml di cloroformio, poi sonicato per 5 minuti in un bagno d'acqua ghiacciato utilizzando un bagno a ultrasuoni DigitalUltrasonicCleaner MH020S. Successivamente, la sospensione è stata mantenuta 18 ore a temperatura ambiente, poi agitata per 2 minuti; sono stati poi aggiunti 0,5 ml di cloroformio e la sospensione è stata vigorosamente mescolata per 1 minuto. Quindi, sono stati aggiunti 0,5 ml di acqua e la sospensione è stata nuovamente agitata per 2 minuti. La miscela risultante è stata centrifugata a 4000 rpm per 10 minuti e lo strato organico inferiore è stato trasferito in una vial di vetro a fondo piatto precedentemente tarata. Al campione è stato aggiunto 1 ml di cloroformio e le operazioni sono state ripetute una seconda volta, unendo la fase organica inferiore a quella precedentemente raccolta. Il solvente è stato lasciato evaporare in stufa a 80°C fino a peso costante. Il contenuto lipidico totale è stato espresso come percentuale sul peso secco.

## 4. RISULTATI

Nel seguente capitolo sono riportati i risultati ottenuti dalle analisi fitochimiche e nutrizionali condotte su frutti e semi delle tre diverse cultivar: camuna (codice **C**), sudamericana (codice **S**) e commerciale importata (codice **I**). Per ogni cultivar le analisi sono state condotte sui frutti acerbi (campioni **C3** e **S3**), frutti maturi (campioni **C1**, **S1** e **I1**) e sui semi (**C2**, **S2** e **I2**). Sono riportati inoltre i risultati delle analisi fitochimiche condotte su foglie e germoglio della cultivar camuna (campioni **C4** e **C5**) e sudamericana (campioni **S4** e **S5**).

### 4.1 Analisi fitochimica dei frutti e dei semi

In Tabella 4 sono riportati i risultati ottenuti dalle analisi fitochimiche delle tre diverse cultivar. Tutte le analisi sono state eseguite in triplicato e i risultati espressi sul peso secco.

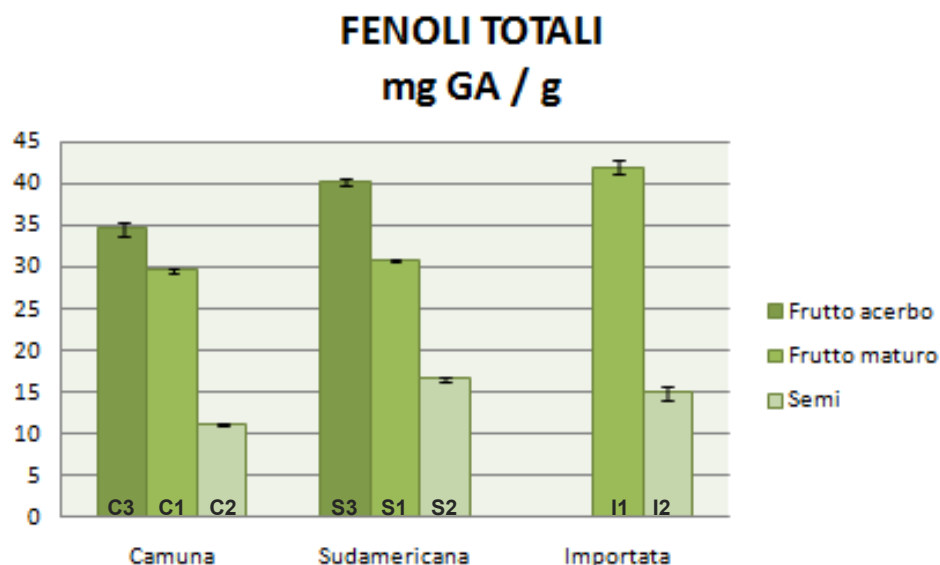
	Codice	Campione	Fenoli totali mg GA/g	Flavoni e flavonoli mg QUE/g	Flavanoni e diidroflavonoli mg NRG/g	Saponine mg GS-Rg1/g	Cont caffeilchinici %
CAMUNA	C3	frutto acerbo	34,60 ± 1,74	8,10 ± 0,40	14,76 ± 0,29	14,19 ± 0,84	0,208 ± 0,012
	C1	frutto maturo	29,66 ± 0,63	9,09 ± 0,35	6,54 ± 0,22	7,21 ± 0,2	0,64 ± 0,045
	C2	seme	11,15 ± 0,09	2,70 ± 0,07	4,11 ± 0,25	9,13 ± 0,46	0,0821 ± 0,013
SUDAMERICANA	S3	frutto acerbo	40,33 ± 0,82	12,05 ± 0,19	22,46 ± 0,73	16,69 ± 1,04	0,272 ± 0,016
	S1	frutto maturo	30,91 ± 2,33	7,96 ± 0,49	22,61 ± 0,34	18,55 ± 1,08	0,151 ± 0,007
	S2	seme	16,59 ± 0,458	3,78 ± 0,008	4,49 ± 0,48	7,91 ± 1,02	0,151 ± 0,031
COMMERCIALE	I1	frutto maturo	42,02 ± 1,54	10,22 ± 0,39	21,76 ± 0,21	19,48 ± 0,74	0,535 ± 0,011
	I2	seme	14,99 ± 1,67	2,91 ± 0,06	4,28 ± 0,34	9,01 ± 0,44	0,107 ± 0,01

Tabella 4: analisi fitochimica dei frutti e dei semi di Caigua

I risultati del dosaggio del contenuto di fenoli totali, espressi come milligrammi di acido gallico equivalenti per grammo di peso secco (mg GA/g), per i diversi campioni sono riportati in Figura 10.

I valori più alti sono stati misurati per il frutto maturo della Caigua commerciale importata (campioni **I1**), con una media pari a  $42.02 \pm 1.54$  mg GA/g. I campioni **C1** e **S1**, corrispondenti rispettivamente al frutto maturo della cultivar camuna e sudamericana, presentano valori inferiori a quelli misurati per la Caigua di importazione, ma tra loro comparabili (Tabella 4). Si osserva una moderata diminuzione del contenuto di fenoli totali associata con la maturazione del frutto; infatti, i frutti acerbi delle cultivar camuna e sudamericana (campioni **C3** e **S3**) presentano valori più elevati rispetto ai corrispondenti frutti maturi (si confronti **C3** vs **C1** e **S3** vs **S1**, Tabella 4). I semi presentano un contenuto di fenoli

totali significativamente minore rispetto al frutto. In particolare, i campioni **S2** e **I3** mostrano valori comparabili, mentre il campione **C2** presenta i valori più bassi con una media pari a  $11.15 \pm 0.09$  mg GA/g.



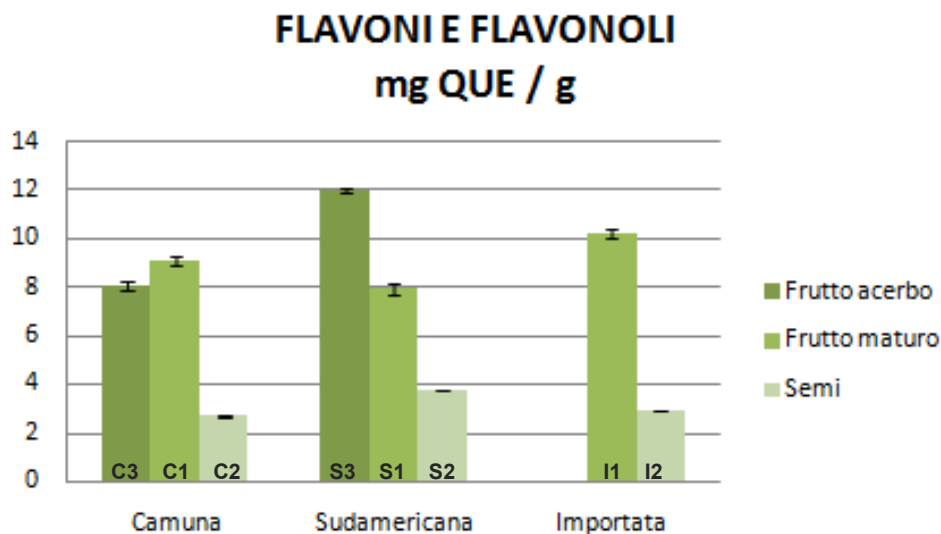
*Figura 10: contenuto di fenoli totali nei frutti e nei semi espressi come milligrammi di acido gallico equivalenti per grammo di peso secco*

Per valutare il contenuto di composti appartenenti alla classe dei flavonoidi sono stati misurati il contenuto di flavoni e flavonoli totali, misurato con il metodo del cloruro di alluminio e il contenuto di flavanoni e diidroflavonoli totali, misurato con il metodo della 2,4-dinitrofenilidrazina.

I risultati del dosaggio del contenuto di flavoni e flavonoli totali, espressi come milligrammi di quercetina equivalenti per grammo di peso secco (mg QUE/g), per i diversi campioni sono riportati in Figura 11.

Dall'analisi dei dati si evince che i frutti maturi di tutte e tre le cultivar (**C1**, **S1** e **I1**) presentano contenuti di flavoni e flavonoli comparabili (Tabella 4). Relativamente ai frutti acerbi, si osserva che la cultivar sudamericana risulta essere leggermente più ricca di flavoni e flavonoli rispetto alla cultivar camuna, con i campioni **S3** che mostrano una media pari a  $12.05 \pm 0.19$  mg QUE/g contro gli  $8.10 \pm 0.40$  mg QUE/g dei campioni **C3**. Si osserva inoltre una variazione del contenuto in relazione alla maturazione con un leggero incremento nei frutti della cultivar camuna (si confronti **C3**vs**C1**, Tabella 4) e, all'opposto, una diminuzione marcata nei frutti della cultivar sudamericana (si confronti **S3**vs**S1**, Tabella 4). Relativamente ai semi, non si osservano differenze di rilievo tra i campioni delle diverse cultivar, che in tutti

i casi mostrano un contenuto di flavoni e flavonoli inferiore rispetto ai corrispettivi frutti (Tabella 4).



*Figura 11: contenuto di flavoni e flavonoli totali nei frutti e nei semi espressi come milligrammi di quercetina equivalenti per grammo di peso secco*

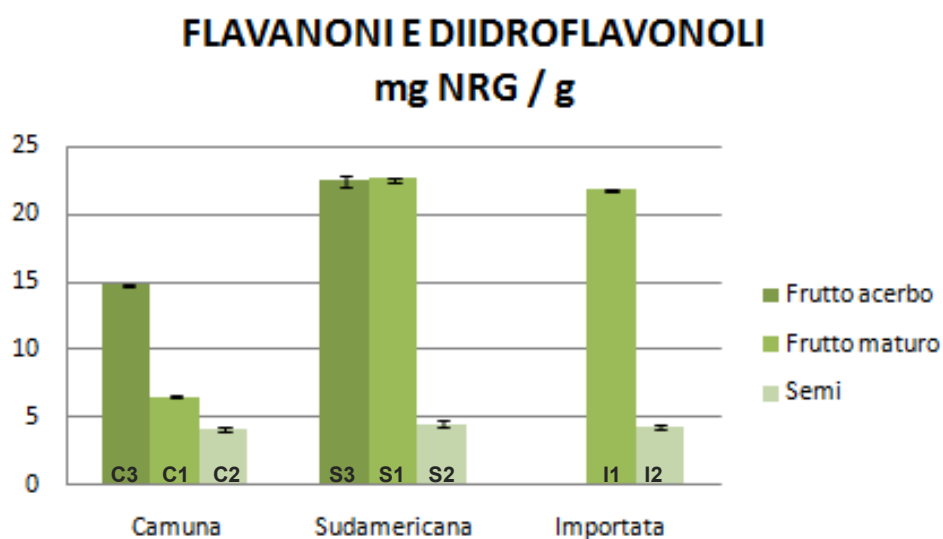
In Figura 12 sono riportati i risultati del dosaggio del contenuto di flavanoni e diidroflavonoli totali, espressi come milligrammi di naringenina equivalenti per grammo di peso secco (mg NRG/g).

Per i frutti maturi è possibile osservare che i campioni di cultivar sudamericana e di importazione **S1** e **I1** presentano contenuti di flavanoni e diidroflavonoli comparabili (Tabella 4) e marcatamente superiori rispetto ai campioni **C3** della cultivar camuna, che con un valore medio pari a  $6.54 \pm 0.22$  mg NRG/g risulta essere superiori solo ai campioni dei semi (Tabella 4). Differenze significative si osservano anche per i frutti acerbi **C3** e **S3**, con questi ultimi che presentano un contenuto nettamente più elevato (Tabella 4). Si osserva inoltre una significativa diminuzione correlata con la maturazione nella cultivar camuna (si confronti **C3**vs**C1**, Tabella 4), mentre non si osservano variazioni di rilievo del contenuto nei frutti della cultivar sudamericana, che presentano valori molto simili indipendentemente dal grado di maturazione (si confronti **S3**vs**S1**, Tabella 4).

I risultati del dosaggio del contenuto di saponine totali, espressi come milligrammi di ginsenoside Rg<sub>1</sub> equivalenti per grammo di peso secco (mg GS-Rg<sub>1</sub>/g), per i diversi campioni sono riportati in Figura 13.

Dall'analisi dei dati si osserva che i frutti della cultivar sudamericana e commerciale **S1** e **I1** importata presentano un contenuto simile di saponine (Tabella 4) che risulta essere

significativamente più alto ai campioni di frutto maturo della cultivar camuna **C1**, che con un valore medio pari a  $7.21 \pm 0.2$  mg GS-Rg<sub>1</sub>/g presentano i valori più bassi misurati in questa analisi.



*Figura 12: contenuto di flavanoni e diidroflavonoli totali nei frutti e nei semi espressi come milligrammi di naringenina equivalenti per grammo di peso secco*

Relativamente ai frutti acerbi, la cultivar camuna e sudamericana presentano valori comparabili; inoltre, si osserva una diminuzione significativa correlata con la maturazione per la cultivar camuna (si confronti **C3**vs**C1**, Tabella 4), mentre per la cultivar sudamericana si osserva un leggero incremento del contenuto con la maturazione (si confronti **S3**vs**S1**, Tabella 4). Riguardo ai semi, per la cultivar camuna e commerciale importata sono stati misurati valori comparabili (si confronti **C2**vs**I2**, Tabella 4), mentre i campioni della cultivar sudamericana **S2** mostrano valori più bassi.

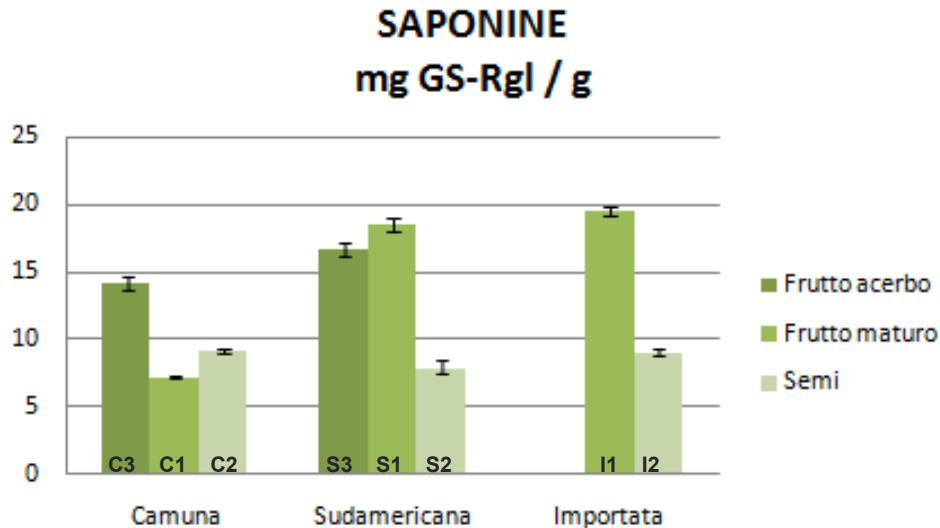


Figura 13: contenuto di saponine totali nei frutti e nei semi espressi come milligrammi di ginsenoside Rg<sub>1</sub> equivalenti per grammo di peso secco

In Figura 14 sono riportati i risultati del dosaggio del contenuto di acidi caffeilchinici totali, espressi come percentuale di acido clorogenico sul peso secco.

Per i frutti maturi è possibile osservare che i campioni **C1**, con un valore medio pari a  $0.64 \pm 0.045$  %, presentano un contenuto maggiore rispetto alla cultivar commerciale importata **I1**, che presenta un valore medio pari a  $0.535 \pm 0.011$  %. Una differenza ancora più marcata può essere osservata se si comparano i campioni **C1** con i campioni **S1** della cultivar sudamericana. Questi ultimi infatti presentano un valore medio pari a  $0.15 \pm 0.007$  % significativamente inferiore rispetto a quelli misurati per le altre cultivar. Nonostante le differenze osservate tra le diverse cultivar, tutti i campioni di frutto maturo presentano valori superiori allo 0.10 % che viene considerato un requisito minimo di qualità per l'utilizzo del frutto in campo erboristico (comunicazione personale da azienda erboristica privata). I campioni di frutti acerbi **C3** e **S3** presentano valori del contenuto di acidi caffeilchinici comparabili (Tabella 3). Si osserva anche una tendenza opposta in termini di variazione del contenuto in relazione alla maturazione. In particolare, si osserva un marcato incremento con la maturazione per i frutti della cultivar camuna (si confronti **C3**vs**C1**, Tabella 4), mentre all'opposto si osserva una diminuzione per la cultivar sudamericana (si confronti **S3**vs**S1**, Tabella 4). I semi delle tre cultivar presentano un contenuto di acidi caffeilchinici differente con la cultivar sudamericana che presenta i valori più alti, mentre quella camuna presenta il contenuto inferiore, con valori pari a circa la metà di quelli misurati per la cultivar sudamericana (Tabella 4).

## % ACIDI CAFFEILCHINICI

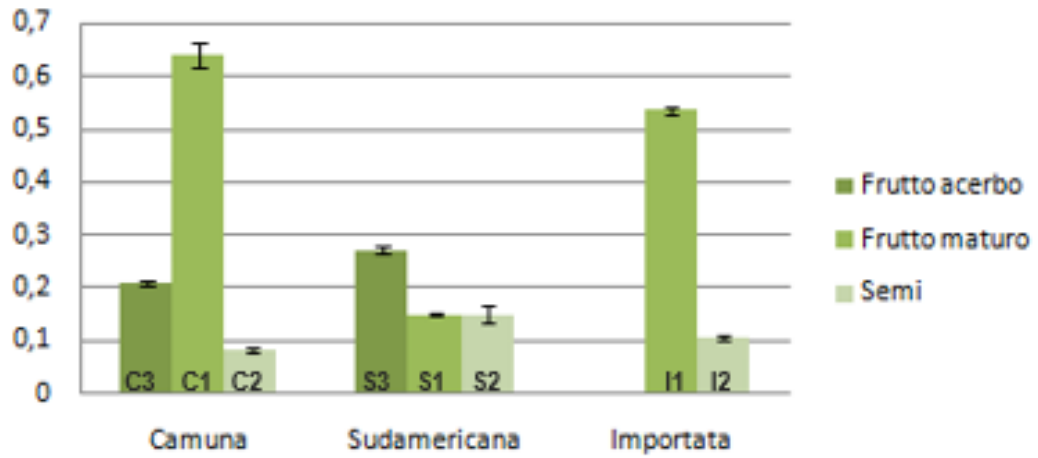


Figura 14: contenuto di acidi caffeilchinici totali nei frutti e nei semi espressi come percentuale di acido clorogenico su peso secco

## 4.2 Analisi nutrizionale dei frutti e dei semi

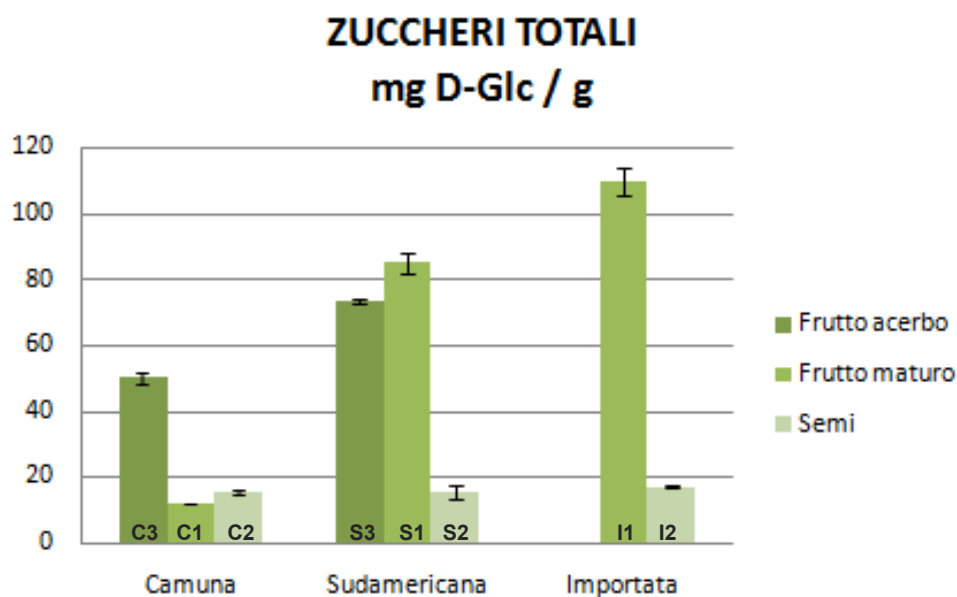
In Tabella 5 sono riportati i risultati ottenuti dalle analisi nutrizionali condotte sui frutti e sui semi delle tre diverse cultivar.

Tutte le analisi sono state eseguite in triplicato e i risultati espressi sul peso secco.

	Codice	Campione	Zuccheri totali mg D-Glc/g	Lipidi totali %	Azoto totale / proteine prot/100g	Ceneri % ss
CAMUNA	C3	frutto acerbo	50,01 ± 3,97	8,64 ± 0,014	1,26 ± 0,04	0,66 ± 0,01
	C1	frutto maturo	11,93 ± 0,55	2,03 ± 0,003	0,90 ± 0,03	1,20 ± 0,02
	C2	seme	15,32 ± 1,73	23,49 ± 0,033	1,03 ± 0,00	0,20 ± 0,01
SUDAMERICANA	S3	frutto acerbo	73,43 ± 1,11	3,40 ± 0,003	0,76 ± 0,00	0,70 ± 0,02
	S1	frutto maturo	84,81 ± 6,60	2,42 ± 0,002	0,67 ± 0,02	0,96 ± 0,06
	S2	seme	15,38 ± 3,548	16,16 ± 0,013	1,00 ± 0,03	0,16 ± 0,03
COMMERCIALE	I1	frutto maturo	109,81 ± 8,38	2,38 ± 0,002	0,87 ± 0,03	0,75 ± 0,02
	I2	seme	17,08 ± 0,68	15,25 ± 0,008	0,99 ± 0,00	0,17 ± 0,00

Tabella 5: analisi nutrizionale dei frutti e dei semi di Caigua

In Figura 15 sono riportati i risultati della determinazione del contenuto di zuccheri totali espressi come milligrammi di D-glucosio equivalenti per grammo di peso secco (mg D-Glc/g). Dall'analisi dei dati si può osservare che il frutto maturo della Caigua commerciale importata (**I1**), con un valore medio pari a  $109.81 \pm 8.38$  mg D-Glc/g, presentano il maggiore contenuto di zuccheri, seguito dal frutto maturo della cultivar sudamericana (**S1**) con  $84.81 \pm 6.60$  mg D-Glc/g. Questi valori risultano essere significativamente più alti rispetto a quelli misurati per il frutto della cultivar camuna, che con un valore medio di  $11.93 \pm 0.55$  mg D-Glc/g presenta il più basso contenuto di zuccheri totali di tutti i campioni sottoposti all'analisi. Differenze nel contenuto di zuccheri sono osservabili anche confrontando il frutto acerbo delle cultivar camuna e sudamericana, con quest'ultima che presenta il contenuto più elevato (si confronti **C3**vs**S3**, Tabella 5). Si osserva inoltre la diminuzione significativa del contenuto di zuccheri correlata alla maturazione nella cultivar camuna, mentre, al contrario, per la cultivar sudamericana si osserva un leggero aumento (si confronti **C3**vs**C1** e **S3**vs**S1** Tabella 5). Per quanto riguarda i semi, tutte le cultivar presentano un simile contenuto di zuccheri (Tabella 5).



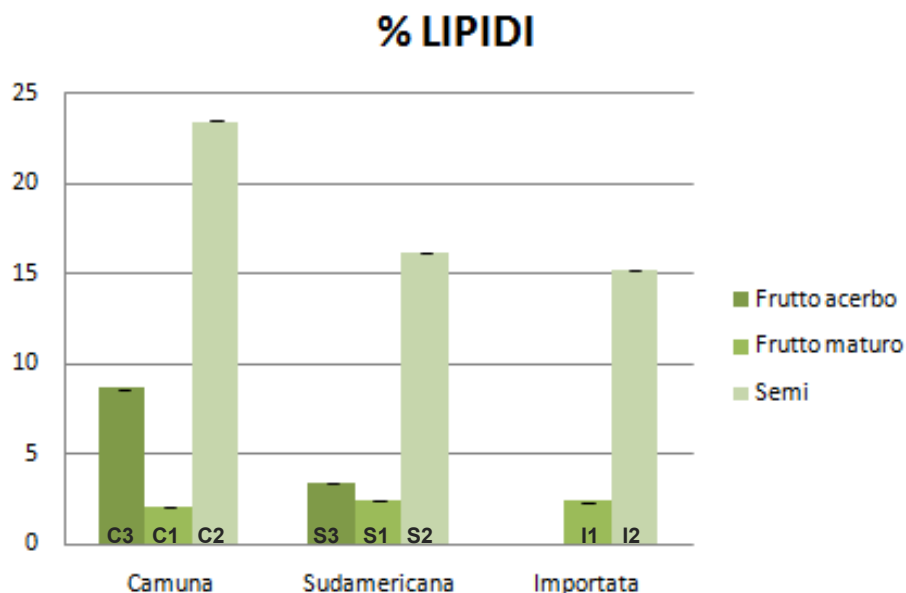
*Figura 15: contenuto di zuccheri totali nei frutti e nei semi espressi come milligrammi di glucosio equivalenti per grammo di peso secco*

I risultati della determinazione del contenuto di lipidi totali, espressi come percentuale sul peso secco, mostrano che i frutti maturi di tutte e tre le cultivar presentano un basso contenuto di lipidi e sono tra loro comparabili (Tabella 5). Differenze maggiori sono invece osservabili per i frutti acerbi, con la cultivar camuna che risulta più ricca in lipidi rispetto a quella sudamericana (si confronti **C3**vs**S3**, Tabella 5). In entrambe le cultivar si osserva una diminuzione del contenuto correlato con la maturazione del frutto, sebbene la differenza risulti essere più marcata nel caso della cultivar camuna (si confronti **C3**vs**C1** e **S3**vs**S1**, Tabella 5). I semi di tutte e tre le cultivar presentano un contenuto di lipidi significativamente maggiore rispetto ai frutti. Inoltre, si osserva che i semi della cultivar sudamericana e della Caigua commerciale importata presentano un contenuto comparabile (Tabella 5), mentre i semi della cultivar camuna, con un valore medio pari a  $23.49 \pm 0.033$  %, presentano il contenuto di lipidi più alto di tutti i campioni sottoposti all'analisi.

In Figura 17 sono riportati i risultati della determinazione del contenuto di azoto totale espresso come proteine grezze su 100 g di peso secco e determinati mediante la metodica di Kjeldahl. Dall'analisi dei dati si osserva che il frutto maturo della cultivar camuna (**C1**) presenta un contenuto di azoto totale simile a quello della commerciale importata (**I1**), mentre la cultivar sudamericana (**S1**) presenta un contenuto inferiore (Tabella 5). Differenze significative nel contenuto si osservano anche confrontando i frutti acerbi della cultivar

camuna e sudamericana (si confronti **C3**vs**S3**, Tabella 4), mentre per i semi delle tre cultivar non si osservano differenze significative (Tabella 5).

In Figura 18 sono riportati i valori ottenuti nella determinazione del contenuto di ceneri totale espressi come percentuale sul peso secco.



*Figura 16: contenuto di lipidi totali nei frutti e nei semi espresso come percentuale sul peso secco*

Dall'analisi dei dati si osserva che il frutto maturo della cultivar camuna (**C1**) presenta il più alto contenuto di minerali, seguito dal frutto maturo della cultivar sudamericana (**S1**) e poi da quello della Caigua commerciale di importazione (Tabella 5).

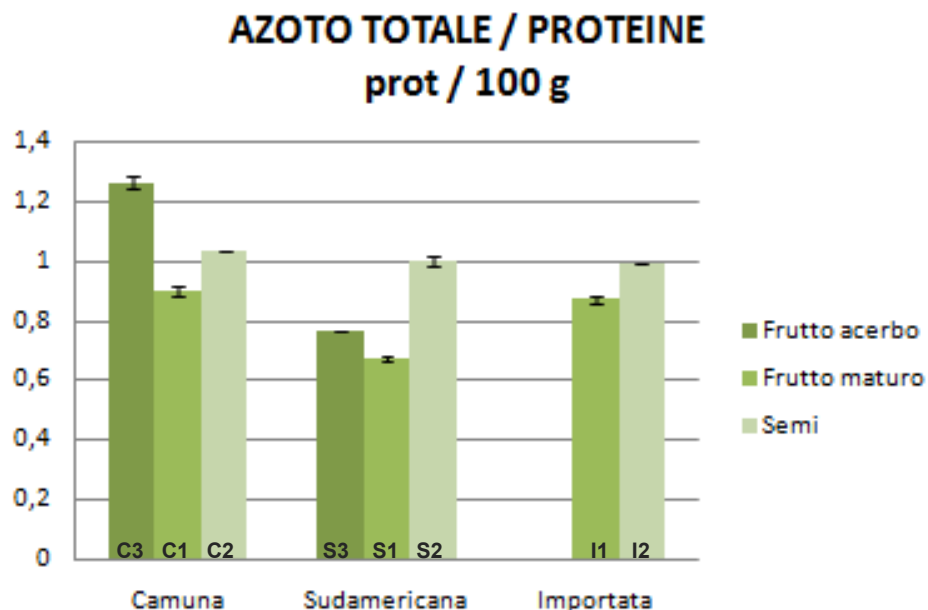


Figura 17: contenuto di azoto totale nei frutti e nei semi espresso come proteine grezze su 100 g di peso secco

Non si osservano differenze significative confrontando tra loro i frutti acerbi delle cultivar camuna e sudamericana (C3 e S3) e i semi delle tre varietà (C2, S2 e I2) (Tabella 5). In generale, si osserva un aumento del contenuto di ceneri correlato con la maturazione del frutto (si confronti C3vsC1 e S3vsS1, Tabella 5).

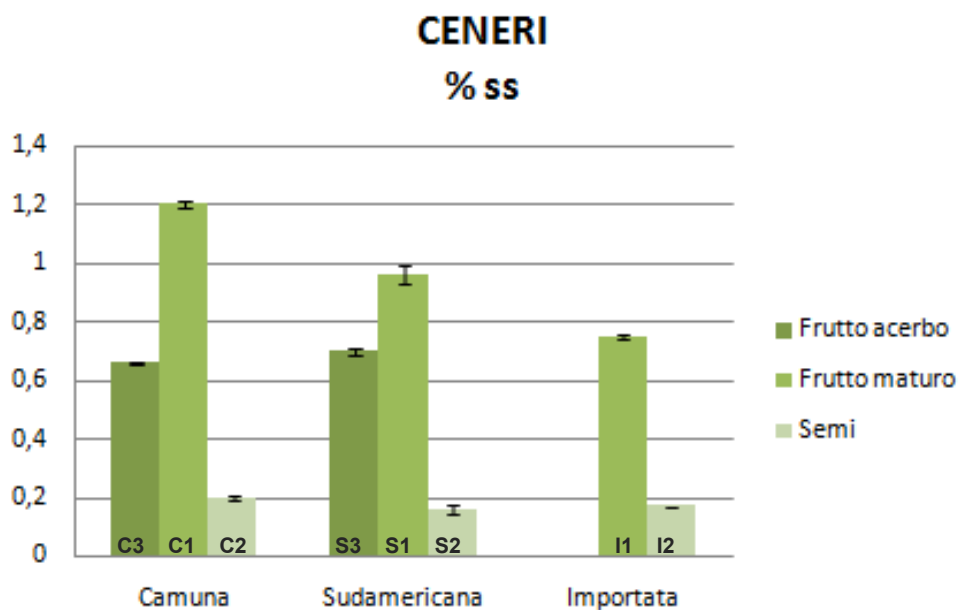


Figura 18: contenuto di ceneri totali nei frutti e nei semi espresso come percentuale sul peso secco

### 4.3 Analisi fitochimica di foglie e germogli

In Tabella 6 sono riportati i risultati delle analisi fitochimiche condotte su foglie e germoglio della cultivar camuna (campioni C4 e C5) e sudamericana (campioni S4 e S5).

	Codice	Campione	Fenoli totali mg GA/g	Flavoni e flavonoli mg QUE/g	Flavanoni e diidroflavonoli mg NRG/g	Saponine mg GS- Rg1/g	Cont caffeilchinici %
CAMUNA	C4	foglie	19,89 ± 0,86	7,76 ± 0,46	14,02 ± 0,23	18,55 ± 0,69	4,24 ± 0,28
	C5	germoglio	22,60 ± 0,26	7,72 ± 0,05	8,35 ± 0,31	12,21 ± 0,72	6,53 ± 0,024
SUDAMERICANA	S4	foglie	21,01 ± 0,45	9,18 ± 0,31	12,34 ± 0,20	13,34 ± 1,26	3,16 ± 0,20
	S5	germoglio	22,06 ± 0,23	7,94 ± 0,23	8,42 ± 0,71	12,56 ± 0,29	6,81 ± 0,16

Tabella 6: analisi fitochimica delle foglie e dei germogli di Caigua

Relativamente al contenuto di fenoli totali si può osservare che, nonostante le foglie della cultivar camuna (C4) presentino valori medi leggermente più bassi, tutti i campioni presi in esame mostrano una concentrazione comparabile, sia se si confronta foglia e germoglio, sia se si confrontano la loro le due cultivar (Tabella 6). Analoghe considerazioni possono essere fatte per il contenuto di flavoni e flavonoli dato che tutti i campioni presentano valori medi confrontabili. Nonostante i campioni di foglie della cultivar sudamericana (S4), con un contenuto medio pari  $9.18 \pm 0.31$  mg QUE/g, risultino più ricchi di flavoni e flavonoli rispetto agli altri campioni, i valori sono dello stesso ordine di grandezza (Tabella 6).

Per il contenuto di flavanoni e diidroflavonoli si osserva che le foglie per entrambe le cultivar risultano essere più ricche rispetto al germoglio (si confronti C4vsC5 e S4vsS5, Tabella 6). Facendo un confronto tra le due cultivar si osserva che sia le foglie (C4 e S4) che i germogli (C5 e S5) presentano tra loro un contenuto medio comparabile (Tabella 6).

Riguardo al contenuto di saponine totali si osserva che foglie e germoglio della cultivar sudamericana (S4 e S5) e il germoglio della cultivar camuna (C5) presentano valori del contenuto medio confrontabili. Al contrario, le foglie della cultivar camuna (C4) con un contenuto medio di  $18.55 \pm 0.69$  mg GS-Rg1/g risultano il campione con il più alto contenuto di saponine.

Per il contenuto di acidi caffeilchinici totali si osserva che i germogli di entrambe le cultivar sono più ricchi rispetto alle foglie (si confronti C4vsC5 e S4vsS5, Tabella 6). Confrontando tra lo stesso organo vegetale delle due cultivar si osserva che sia le foglie le foglie (C4 e S4) che i germogli (C5 e S5) presentano un contenuto medio tra loro comparabile (Tabella 6).

In generale, facendo un confronto tra frutti maturi ed acerbi (**C1**, **C3** e **S1**, **S3**) e le foglie e germogli (**C4**, **C5** e **S4**, **S5**) all'interno della stessa cultivar si può osservare che i frutti presentano un contenuto di fenoli totali maggiore e un contenuto di flavoni e flavonoli totali simili rispetto alle parti aeree della pianta (si confronti Tabella 4 vs Tabella 6).

Per il contenuto di flavanoni e diidroflavonoli i frutti acerbi della cultivar camuna presentano un contenuto medio molto simile a quello delle foglie della stessa cultivar (si confronti **C3**, Tabella 4 vs **C4**, Tabella 6), mentre il contenuto del frutto maturo risulta essere più simile a quello del germoglio (si confronti **C1**, Tabella 4 vs **C5**, Tabella 6). Invece, i frutti della cultivar sudamericana, sia acerbo che maturo, risultano più ricchi in flavanoni e diidroflavonoli rispetto a foglie e germoglio della stessa cultivar (si confronti **S1** e **S3**, Tabella 4, vs **S4** e **S5**, Tabella 6).

Relativamente al contenuto di saponine sia il frutto maturo che acerbo della cultivar camuna (**C1** e **C3**) presentano valori medi del contenuto inferiori rispetto sia alle foglie che al germoglio (**C4** e **C5**). Al contrario, la cultivar sudamericana presenta una tendenza opposta, con i frutti (**S1** e **S3**) più ricchi sia delle foglie che del germoglio (**S4** e **S5**) in questi composti (si confronti Tabella 4 vs Tabella 6).

Per quanto riguarda il contenuto di acidi caffeilchinici si osserva che in entrambe le cultivar foglie e germoglio risultano significativamente più ricche rispetto ai frutti, con valori medi del contenuto superiori di un ordine di grandezza rispetto a questi ultimi (si confronti Tabella 4 vs Tabella 6).

## 5. DISCUSSIONE DEI RISULTATI

Una varietà di *Cyclanthera pedata* diffusa e coltivata in Valcamonica è stata caratterizzata da un punto di vista fitochimico e nutrizionale. La varietà coltivata in Valcamonica è stata confrontata con una cultivar commerciale sudamericana ottenuta impiantando campi sperimentali negli stessi luoghi e con il frutto essiccato di una Caigua commerciale venduta ad uso erboristico ed importata dal Perù. Così facendo è stato possibile ottenere un confronto tra la varietà camuna e quella sudamericana, geneticamente diversa ma coltivata nelle stesse condizioni ambientali, e paragonare le caratteristiche del frutto prodotto in Valcamonica con materiale vegetale di importazione caratterizzato da una diversa genetica e coltivato, raccolto e lavorato in un altro luogo.

Per le varietà camuna e sudamericana coltivate sono stati campionati il frutto, sia maturo che acerbo, i semi, le foglie e i germogli. Al contrario, per la Caigua di importazione è stato acquistato un campione di frutto essiccato contenente i relativi semi, che sono stati separati manualmente.

Il frutto è la parte della Caigua più utilizzata sia come alimento che in campo erboristico, di conseguenza è stata effettuata una completa caratterizzazione sia fitochimica che nutrizionale. Nonostante il frutto sia più utilizzato a maturazione completa, anche quello immaturo viene raccolto e consumato (Matonti, 2016) e per questo è stato deciso di inserirlo nel confronto. In questo modo è stato possibile osservare come variano i titoli di principi attivi con la maturazione. Se per il consumo del frutto maturo i semi vengono rimossi, così non è per quello acerbo ed è per questo motivo che sono stati inclusi nelle analisi; così facendo è stato possibile valutare quanto contribuissero nei vari dosaggi del frutto acerbo.

Foglie e germogli trovano impiego, seppure in misura minore rispetto al frutto, come rimedio erboristico nella medicina popolare. Inoltre, le foglie sono inoltre incluse nell'elenco dell'allegato 1 del decreto ministeriale del 10 agosto 2018, che regola le piante ammesse per l'uso erboristico, di conseguenza risultano interessanti come potenziale materia prima erboristica per la preparazione di estratti o altri prodotti salutistici, anche in virtù della grande biomassa aerea che la pianta produce rispetto ai frutti. Per queste ragioni, foglie e germogli delle cultivar camuna e sudamericana sono stati inclusi nelle analisi per caratterizzarne il profilo fitochimico, confrontarlo con quello del frutto e dare una valutazione preliminare circa le potenzialità per l'uso erboristico delle parti aeree della Caigua coltivata in Valcamonica.

Il materiale vegetale raccolto è stato essiccato seguendo lo stesso protocollo usato dalle aziende produttrici, ovvero aprendolo e tagliandolo per rimuovere i semi e collocandolo in

stufa ventilata per 48 ore (frutti) a 70°C. Il frutto acerbo è stato essiccato seguendo la stessa procedura, mentre per foglie e germogli è stato necessario un tempo minore (36 ore) dato il minor contenuto di acqua. Per i frutti (maturi ed acerbi) sono state registrate perdite all'essiccamento prossime al 90-92 % del peso, che sottintendono l'alto contenuto di acqua del frutto.

Dal punto di vista fitochimico, sono stati quantificati i fenoli totali, i flavoni e flavonoli, i flavanoni e diidroflavonoli, le saponine totali e gli acidi caffeilchinici.

I fenoli totali sono stati indagati poiché, come riportato da Rivas e collaboratori (Rivas et al., 2013), i composti fenolici rappresenterebbero i principali metaboliti secondari del frutto. Dalle analisi si è osservato che i frutti maturi della cultivar camuna e sudamericana (**C1** e **S1**) presentano un contenuto simile di fenoli totali, mentre il frutto di importazione (**I1**) risulta leggermente più ricco. I valori misurati risultano essere molto inferiori (Tabella 7) rispetto ai valori riportati in letteratura (Rivas et al., 2013). Questa grande differenza nei valori potrebbe essere originata, oltre che dalle caratteristiche del materiale vegetale, anche dalle differenze nel metodo di estrazione. Infatti, Rivas e collaboratori descrivono una procedura di estrazione che prevede un'estrazione acquosa (a freddo o a caldo) seguita da una macerazione in etanolo a partire dal frutto fresco omogeneizzato (Rivas et al., 2013), mentre per le analisi effettuate per il presente elaborato è stata utilizzata un'estrazione idroalcolica a temperatura ambiente, per un tempo prolungato (48 ore), condizioni estrattive più utilizzate.

	FENOLI TOTALI mg GAE/g	RIVAS et al. 2013 mg GAE/100 g
<b>C1</b>	29,66 ± 0,63	25,86 ± 3 (Totale estratto + macerato a caldo)
<b>S1</b>	30,91 ± 2,33	28,8 ± 4 (Totale estratto + macerato a freddo)
<b>I1</b>	42,02 ± 1,54	

*Tabella 7: confronto tra i fenoli totali ottenuti in questo lavoro per la varietà camuna e quelli di Rivas et al., 2013*

Il contenuto di flavoni e flavonoli totali è stato determinato in quanto nel frutto sono stati identificati e isolati diversi C-glicosidi della crisina e dell'apigenina, che si sono rivelati

essere i costituenti caratteristici del frutto e sono stati proposti come composti “marker” per la valutazione del profilo fitochimico e la standardizzazione dei frutti di Caigua e dei prodotti derivati (Montoro et al., 2001; Carbone et al., 2004). Dall’analisi dei dati ottenuti si osserva che i frutti maturi di tutte e tre le cultivar presentano un contenuto di flavoni e flavonoli totali comparabile (Tabella 8). I valori ottenuti risultano simili a quelli riportati da Rivas e collaboratori, anche se questi ultimi risultano leggermente superiori, probabilmente per una maggiore efficienza del processo estrattivo utilizzato (Rivas et al., 2013).

Il confronto dei dati ottenuti con i valori riportati in letteratura (Tabella 8) evidenzia ancora una volta un grande differenza nei valori, probabilmente ascrivibile al metodo di estrazione utilizzato.

Si può osservare che la varietà di Caigua camuna sia abbastanza paragonabile, per quanto riguarda il contenuto di flavonoidi e di composti fenolici, alle varietà commerciali sudamericane, sia coltivate in situ sia di importazione. Tuttavia, questi dati sono puramente quantitativi e non permettono di avere informazioni relative al profilo dei composti fenolici e flavonoidici poiché non rivela quali sono presenti e in che rapporti quantitativi. Sarebbero dunque opportune ulteriori analisi per identificare e quantificare i singoli composti di queste classi e definire se i frutti sono simili anche da tale punto di vista.

	FLAVONI E FLAVONOLI mg QUE / g	RIVAS et al. 2013 mg QUE / 100 g
<b>C1</b>	9,09 ± 0,35	14,18 ± 3 (Totale estratto + macerato a caldo)
<b>S1</b>	7,96 ± 0,49	14,32 ± 2 (Totale estratto + macerato a freddo)
<b>I1</b>	10,22 ± 0,39	

*Tabella 8: confronto tra i flavoni e flavonoli ottenuti in questo lavoro per la varietà camuna e quelli di Rivas et al., 2013*

Dato che i flavonoidi sono composti caratterizzanti il frutto di Caigua (Montoro et al., 2001; Carbone et al., 2004), si è voluto investigare ulteriormente questa classe di metaboliti secondari dosando il contenuto di flavanoni e i diidroflavonoli totali. Dall’analisi dei dati si può osservare che esiste una differenza significativa tra il frutto maturo della cultivar camuna

(C1) rispetto ai frutti della cultivar sudamericana e di importazione (S1 e I1) (Tabella 9). È possibile ipotizzare che tali differenze siano ascrivibili alla differente genetica, soprattutto se si confrontano i campioni C1 e S1 che originano da campi sperimentali localizzati nella stessa zona e che quindi presentano condizioni climatiche e pedologiche simili. Si osserva inoltre che i dati ottenuti sono molto diversi (Tabella 9) rispetto a quelli riportati in letteratura (Rivas et al., 2013). Anche in questo caso le differenze potrebbero essere imputabili alla diversa efficienza dei processi di estrazione.

	FLAVANONI E DIIDROFLAVONOLI mg NRG / g	RIVAS et al. 2013 mg NRG / 100 g
C1	6,54 ± 0,22	53,79 ± 3 (Totale estratto + macerato a caldo)
S1	22,61 ± 0,34	39,8 ± 3 (Totale estratto + macerato a freddo)
I1	21,76 ± 0,21	

*Tabella 9: confronto tra i flavanoni e diidroflavonoli ottenuti in questo lavoro per la varietà camuna e quelli di Rivas et al., 2013*

Il contenuto di saponine totali è stato determinato perché diverse saponine sono state identificate e isolate dal frutto maturo di Caigua (De Tommasi et al., 1999), pertanto il frutto può essere considerato una fonte di questi composti. Tali composti sono caratterizzati da un vasto numero di attività biologiche, tra cui quella di ridurre i livelli ematici di colesterolo nel modello animale (Oboh and Omafoma, 2008), di conseguenza la presenza di saponine potrebbe spiegare, almeno in parte, alcune delle attività medicinali che vengono attribuite dalla tradizione alla Caigua.

Dall'analisi dei dati si osserva una differenza significativa tra il frutto maturo della cultivar camuna, (C1), che presenta valori inferiori rispetto a quelli dei frutti della cultivar sudamericana e di importazione (S1 e I1) (Tabella 10). Infatti, in quest'ultime due varietà, le saponine risultano essere i composti più rappresentati dopo i fenoli totali. Tali differenze potrebbero essere causate da diversità legate alla genetica ed essere state generate nel processo di selezione che ha portato alla differenziazione della cultivar camuna dalle altre cultivar. Infatti, è noto che le saponine siano composti anti-nutrienti, capaci di interferire con

alcuni processi digestivi e con l'assorbimento di alcuni nutrienti (Samtiya et al., 2020). Inoltre, molti composti appartenenti a questa classe sono caratterizzati da sapore amaro (Price et al., 1985). Per questi motivi, sulla cultivar camuna potrebbe essere stato effettuato un lavoro di selezione per ottenere una pianta che producesse frutti migliori da un punto di vista organolettico e più digeribili, il che avrebbe comportato la progressiva riduzione del contenuto in saponine. Un simile processo potrebbe rendere la cultivar camuna più adatta delle altre all'utilizzo alimentare; tuttavia, considerando - come si è detto - che le saponine hanno anche delle attività farmacologiche, averle più basse potrebbe risultare svantaggioso dal punto di vista erboristico. Non essendo però noto quali siano i principi attivi responsabili delle proprietà di questa pianta, sono necessarie ulteriori indagini a riguardo.

Campioni	Saponine (mg GS-Rgl / g)	Flavanoni e diidroflavonoli (mg NRG / g)
<b>C1</b>	7,21 ± 0,2	6,54 ± 0,22
<b>C2</b>	9,13 ± 0,46	4,11 ± 0,25
<b>C3</b>	14,19 ± 0,84	14,76 ± 0,29
<b>S1</b>	18,55 ± 1,08	22,61 ± 0,34
<b>S2</b>	7,91 ± 1,02	4,49 ± 0,48
<b>S3</b>	16,69 ± 1,04	22,46 ± 0,73
<b>I1</b>	19,48 ± 0,74	21,76 ± 0,21
<b>I2</b>	9,01 ± 0,44	4,28 ± 0,34

*Tabella 10: confronto tra l'andamento del contenuto di saponine e flavoni e diidroflavonoli*

È interessante osservare che sia il contenuto di flavanoni e diidroflavonoli e saponine presentano un trend simile osservando le variazioni che intercorrono tra frutti maturi e acerbi e i semi (Tabella 10). Questo potrebbe essere spiegato da una mancanza di selettività della reazione usata nel dosaggio dei flavanoni e diidroflavonoli. È noto, infatti, che la 2,4-dinitrofenil idrazina usata nella reazione colorimetrica può reagire con i gruppi carbonilici di altri composti (Mir et al., 2014; Struchkov et al., 2018), pertanto potrebbe reagire con i gruppi chetonici presenti nelle strutture di saponine e cucurbitacine (Figure 7 e 8) generando una serie di falsi positivi nel test.

Il contenuto totale di acidi caffeilchinici espressi come acido clorogenico è utilizzato come parametro dall'industria erboristica per quantificare il contenuto di principi attivi nella valutazione della qualità dei lotti di frutto essiccato (comunicazione personale da azienda

erboristica privata). Per questo motivo, la quantificazione di questi composti risultava essere particolarmente interessante per stabilire l'idoneità dei frutti della cultivar camuna ad essere sfruttati come materia prima erboristica. Dall'analisi dei dati si osserva che il frutto della cultivar camuna è significativamente più alto rispetto a quello della cultivar sudamericana (si confronti **C1** vs **S1**, Tabella 4). Nonostante la differenza osservata, entrambi i campioni di frutto maturo presentano un contenuto superiore allo 0.10 % che viene considerato un requisito minimo di qualità per l'utilizzo in campo erboristico (comunicazione personale da azienda erboristica privata). Si può quindi affermare che la Caigua coltivata in Valcamonica fornisce una materia prima che avrebbe i requisiti di qualità, almeno per quanto riguarda il contenuto di principi attivi, per la preparazione di estratti, integratori alimentari o altri prodotti salutistici.

I frutti immaturi della cultivar camuna e sudamericana (campioni **C3** e **S3**) hanno mostrato nella maggior parte dei casi valori diversi rispetto al frutto maturo nei differenti dosaggi (Tabella 4). Fanno eccezione il contenuto di saponine totali e di flavanoni e diidroflavonoli del frutto della cultivar sudamericana (si confronti **S1** vs **S3**, Tabella 4), che mostrano valori simili indipendenti dalla maturazione.

Il contenuto di fenoli totali nei frutti maturi di entrambe le cultivar è risultato minore di quello dei rispettivi frutti acerbi. Tale differenza può essere spiegata con la presenza dei semi, non rimossi nei frutti acerbi, e per il fatto che il loro contenuto in fenoli totali si attesta attorno ai 10 mg GA/g. Analoghe considerazioni potrebbero essere fatte per spiegare le differenze tra frutti acerbi e maturi della cultivar camuna nei dosaggi delle saponine totali e del contenuto di flavanoni e diidroflavonoli. Al contrario, la variazione degli acidi caffeilchinici tra frutto acerbo e maturo non sembra essere correlata al contributo apportato dai semi.

Per quanto riguarda le analisi nutrizionali di frutti e semi, sono state indagate le principali classi di nutrienti. Sono stati determinati il contenuto di zuccheri totali, il contenuto di lipidi totale, l'azoto totale per esprimere il contenuto di proteine e il contenuto di ceneri come indice dell'accumulo di minerali.

Per quanto riguarda il contenuto di zuccheri totali, il frutto maturo della cultivar camuna risulta essere significativamente più povero rispetto a quelli sudamericano e commerciale (si confronti **C1** vs **S1** e **I1**, Tabella 5). È interessante osservare che il contenuto di zuccheri totale mostra un trend simile a quello del contenuto di saponine totali (Tabella 12). Queste hanno numerose unità saccaridiche legate che potrebbero reagire in seguito a idrolisi causata dalle condizioni acide in cui viene condotto il saggio (Dubois et al., 1956). Per questo motivo,

i valori del contenuto di zuccheri totali misurati potrebbero sovrastimare la reale quantità di zuccheri liberi presenti nel frutto.

	Zuccheri totali mg D-Glc / g	Saponine mg GS-Rgl / g
<b>C3</b>	50,01 ± 3,97	14,19 ± 0,84
<b>C1</b>	11,93 ± 0,55	7,21 ± 0,2
<b>C2</b>	15,32 ± 1,73	9,13 ± 0,46
<b>S3</b>	73,43 ± 1,11	16,69 ± 1,04
<b>S1</b>	84,81 ± 6,60	18,55 ± 1,08
<b>S2</b>	15,38 ± 3,548	7,91 ± 1,02
<b>I1</b>	109,81 ± 8,38	19,48 ± 0,74
<b>I3</b>	17,08 ± 0,68	9,01 ± 0,44

*Tabella 12: confronto tra il contenuto di zuccheri totali e quello di saponine*

Per quanto riguarda i lipidi, si può osservare che nei frutti il contenuto è generalmente basso. Il valore maggiore di quelli acerbi potrebbe essere dovuto alla presenza dei semi che invece ne sono particolarmente ricchi, in particolare quelli della cultivar camuna (Tabella 5). Relativamente al contenuto di azoto totale si può affermare che i valori risultano comparabili, con i frutti acerbi che presentano un valore leggermente maggiore di quelli maturi (Tabella 5). Infine, per il contenuto di ceneri totale, l'organo più ricco risulta essere il frutto maturo, ma non si osservano differenze significative tra le varie cultivar (Tabella 5).

In generale si è osservato che i semi risultano sempre meno ricchi rispetto ai frutti in quasi tutti i dosaggi, l'unica e più notevole eccezione riguarda il contenuto percentuale di lipidi (Tabella 4 e 5)

Foglie e germogli non hanno sostanzialmente mostrato differenze significative confrontando lo stesso organo per le due cultivar sudamericana e camuna (Tabella 6). L'unica eccezione di rilievo è rappresentata dalle foglie della cultivar camuna (**C4**) con un contenuto medio di  $18.55 \pm 0.69$  mg GS-Rgl/g risultano il campione in assoluto con il più alto contenuto di saponine.

Rispetto ai frutti le foglie e i germogli hanno mostrato valori inferiori per tutti i parametri fitochimici considerati; tuttavia, la differenza tra i valori non è particolarmente marcata. Un'eccezione di rilievo si osserva per il contenuto degli acidi caffeilchinici totali, che risulta,

sia per le foglie che per i germogli, significativamente maggiore rispetto ai frutti. Questo, unito alla particolare abbondanza degli organi epigei, potrebbe essere un punto a favore dell'utilizzo delle foglie in campo erboristico come materia prima. In ogni caso questi dosaggi da soli non sono sufficienti per stabilire con certezza la completa sovrapposibilità del fitocomplesso delle foglie e del frutto. Infatti, questi risultati sono puramente quantitativi e sono necessarie ulteriori analisi per determinare il profilo qualitativo dei diversi contenuti di composti e valutare i loro rapporti quantitativi.

In definitiva, la cultivar camuna coltivata in situ, considerati i risultati ottenuti nei diversi dosaggi, valutati anche in luce della maggiore produttività mostrata sembra, almeno in via preliminare, una valida alternativa per l'utilizzo in campo erboristico alla Caigua commerciale importata. Nonostante la possibilità e la consistenza del suo utilizzo necessitano ancora di ulteriori elementi, i risultati delle analisi svolte sembrano promettenti.

## 6. CONCLUSIONI

Le analisi svolte hanno permesso una caratterizzazione fitochimica e nutrizionale dei frutti della cultivar camuna di *Cyclanthera pedata*. In particolare, sono state valutate le principali classi di composti e nutrienti, osservando che - nonostante alcune differenze agronomiche, morfologiche e di alcuni parametri fitochimici e nutrizionali tipici della cultivar camuna - non sono presenti significative differenze che la rendano inadatta all'utilizzo erboristico. I flavonoidi, composti molto importanti per le loro proprietà biologiche e caratterizzanti il frutto della Caigua, sono risultati poco inferiori rispetto alla cultivar importata dal Perù e lievemente maggiori di quella commerciale sudamericana coltivata nelle stesse zone. Gli acidi caffeilchinici - parametro utilizzato dalle aziende per valutare la qualità del materiale vegetale - sono invece risultati considerevolmente più alti rispetto alle altre. Il frutto maturo in ogni caso si conferma essere la parte della pianta più adatta per quanto riguarda l'utilizzo erboristico per la preparazione di estratti, integratori alimentari o altri prodotti salutistici: povero in zuccheri e in lipidi, ricco di flavonoidi e con il valore più alto di acidi caffeilchinici. Il basso contenuto di saponine del frutto camuno suggerisce inoltre un potenziale utilizzo in ambito alimentare: tali composti infatti sono anti-nutrienti e spesso sono responsabili del sapore amaro negli alimenti vegetali, e la selezione effettuata sulla cultivar nei decenni potrebbe aver prediletto frutti con migliori caratteristiche organolettiche e migliore digeribilità. Dal punto di vista dell'attività biologica e di un utilizzo erboristico di questa cultivar, questo risultato richiede ulteriori indagini. Non è noto quale o quali siano i principi attivi della Caigua responsabili delle attività attribuite a questa pianta e, dato che molte saponine risultano essere farmacologicamente attive, il basso contenuto di questi composti potrebbe ridurre le potenzialità della cultivar camuna per l'uso erboristico. Di conseguenza sono necessari ulteriori studi per investigare più approfonditamente l'attività biologica dei diversi composti contenuti in questa pianta.

Le analisi su semi non hanno invece mostrato risultati di particolare interesse erboristico. Infatti, i semi risultano sensibilmente più poveri rispetto ai frutti maturi in tutti i parametri considerati, ad eccezione della percentuale dei lipidi totali. Relativamente ai frutti acerbi, si sono osservate differenze di composizione rispetto ai frutti maturi, ma nella maggior parte dei casi queste diversità possono essere spiegate dalla presenza dei semi che, contrariamente al frutto maturo, non sono stati rimossi in quanto non separati dalla polpa del frutto.

Le foglie della cultivar camuna hanno dimostrato di avere una composizione simile a quella dei frutti, seppur in misura di poco inferiore per certi parametri. Le foglie della cultivar camuna hanno mostrato un alto contenuto di saponine, maggiore rispetto ai relativi frutti e

pertanto potrebbero essere sfruttate come fonte alternativa ai frutti per questi composti. Considerando il contenuto di acidi caffeilchinici, le foglie sono risultate significativamente più ricche rispetto ai frutti, pertanto avrebbero, almeno da un punto di vista fitochimico, i requisiti di qualità per l'uso erboristico. Considerando poi la loro abbondanza rispetto ai frutti e la maggiore facilità di raccolta, potrebbero rappresentare una valida alternativa ai frutti per quanto riguarda l'utilizzo erboristico. Sono comunque necessarie ulteriori indagini per studiare più in dettaglio il profilo del fitocomplesso delle foglie e confrontarlo con quello dei frutti allo scopo di valutare se effettivamente siano sovrapponibili da un punto di vista fitochimico.

Considerando il migliore adattamento della cultivar camuna all'ambiente alpino e la conseguente maggiore produttività, sembrerebbe che il suo utilizzo in sostituzione alla Cagua importata dal Sudamerica sia un'alternativa possibile. In ogni caso i presenti risultati sono preliminari, sono necessarie ulteriori analisi per indagare più nel dettaglio le potenzialità di questa pianta dal punto di vista chimico/nutrizionale ed economico.

## 7. FONTI BIBLIOGRAFICHE

Añez B., Espinoza W., Jaimez R., 2009. *La caigua, cultivo con perspectivas en los Andes*. Instituto de investigaciones agropecuarias. Universidad de los Andes.

Antih J., Cañigüeral S., Heinrich M., 2016. *Uso de plantas medicinales por la comunidad boliviana en el área metropolitana de Barcelona*. Revista de Fitoterapia; 141-152.

Arroyo J.G.L., 1957. *La Cyclanthera pedata, seu cultivo*. Tesis. Escuela Nacional de Agricultura, La Molina, Perú (Mimeografiado) 56.

Attele A., Wu J., Yuan C., 1999. *Ginseng pharmacology*. Biochem Pharmacol. 58, 1685–1693.

Bassani M., 2022. *La caigua (Cyclanthera pedata) come risorsa alimentare e officinale per le aree montane lombarde: risultati di un'indagine preliminare*. Tesi di laurea triennale in Valorizzazione e Tutela dell'Ambiente e del Territorio Montano.

Bissanti G., 2020. *Cyclanthera pedata. Un mondo ecosostenibile*.

<https://antropocene.it/2020/11/27/cyclanthera-pedata/>

(Pagina visualizzata ad aprile 2022)

Carbone V., Montoro P., De Tommasi N., Pizza C., 2004. *Analysis of flavonoids from Cyclanthera pedata fruits by liquid chromatography / electrospray mass spectrometry*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 34 (2), 295-304.

Chen J.C., Chiu M.H., Nie R.L., Cordell G.A., Qiu S.X, 2005. *Cucurbitacins and cucurbitane glycosides: structures and biological activities*, Nat. Prod. Rep., 22, 386-389.

Contreras S., Schwember A., Segura P., 2014. *Caigua, cucurbitácea nativa con potencia hortícola*. Revista Agronomía y Forestal UC. Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal.

[https://agronomia.uc.cl/component/com\\_sobipro/Itemid,232/pid,1607/sid,1615/](https://agronomia.uc.cl/component/com_sobipro/Itemid,232/pid,1607/sid,1615/)

(Pagina consultata in aprile 2022)

De Tommasi N., De Simone F., Speranza G., Pizza C., 1996. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 44, 2020-2025.

De Tommasi N., De Simone F., Speranza G., Pizza C., 1999. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 47, 4512-4519.

Domini L., 2018. *Censimento delle cultivar locali tradizionali della Valle Camonica*. Tesi di laurea in valorizzazione e tutela dell'ambiente e del territorio montano.

<https://www.unimontagna.it/tesi/censimento-delle-cultivar-locali-tradizionali-della-valle-camonica/>

(Pagina visualizzata ad aprile 2022)

Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K., Rebers P.A., Smith F., 1956. *Colorimetric method for determination of sugars and related substances*, 350-356

El Aziz M.M.A., Ashour A.S., Melad A.S.G., 2019. *A review on saponin from medicinal plants: chemistry isolation and determination*. *J. Nanomed Res.*, 8(1), 282-288.

Favola G., 2017. *Caigua, un rimedio naturale per ripristinare i valori di colesterolo e trigliceridi*.

<https://www.ambientebio.it/rimedi-naturali/caigua-un-rimedio-naturale-per-ripristinare-i-valori-di-colesterolo-e-trigliceridi/>

(Pagina visualizzata ad aprile 2022)

Fernandes L., Alves D., Ramos S., Oliveira F., Da Costa C., Martins E., 2005. *Nutrição mineral de plantas de maxime-do-reino*. 719-722.

Fevillée L.E., 1714. *Journal des observations physiques*. L'Ulthél d'Ultiques et Botaniques. Paris, 2, 705-765.

Frigerio J., Tedesco E., Benedetti F., Insolia V., Nicotra G., Mezzasalma V., Pagliari S., Labra M., Campone L., 2021. *Anticholesterolemic activity of three vegetal extracts (Artichoke, Caigua and Fenugreek) and their unique blend*, 1-14

- Giupponi L., Pilu R., Scafaroni A., Giorgi A., 2020. *Plant agro-diversity needs protection, study and promotion: results of research conducted in Lombardy region (Northern Italy)*. 409-430.
- Gonzales G.F., Gonez C., Villena A, 1995. *Serum-lipid and lipoprotein levels in postmenopausal women - short-course effect of Caigua*. *Menopause - The journal the North American Menopause Society*, 2, 225-234.
- Grenby T. H., 1991. *Intense sweeteners for the food industry: an overview*, 2-6
- Heng L., Vincken J.P., van Koningsveld G.A., Legger A., Gruppen H., van Boekel T., Roozen J., Voragen F., 2006. *Bitterness of saponins and their content in dry peas*. 86, 1225-1231.
- Kitagawa I., 2002. *Licorice root. A natural sweetener and an important ingredient in Chinese medicine*. *Pure Appl Chem*;74, 1189–1198.
- Klien V.L., Brandão M., Laca-Buendia J.P. 1989. *Cyclanthera pedata var. edulis (Naud.) Cogn. Uma Cucurbitaceae pouco conhecida na alimentação humana*. *Acta Botanica Brasilica*, 1, 8-13.
- Macchia M., Montoro P., Ceccarini L., Molfetta I., Pizza C., 2009. *Agronomic and phytochemical characterization of Cyclanthera pedata Schrad. cultivated in Central Italy*. *African Journal of Microbiology Research* 3, 434-438.
- Matonti L., 2016. *Le straordinarie virtù di un ortaggio peruviano che può rivelarsi un grande alleato per ripristinare i valori ottimali di colesterolo e trigliceridi*.
- Mir S.A., Bhat A. S., Ahangar A.A., 2014. *A simplified 2,4-dinitrophenylhydrazine assay for flavonoids and its comparison on with standard flavonoid assay*. *International Journal of Pharmatech*, 6 (2), 751-758

- Monigatti M., Bussmann R.W., Weckerle C.S., 2013. *Medicinal plant use in two Andean communities located at different altitudes in the Bolívar Province, Perú*. Journal of Ethnopharmacology, 145 (2), 450-464.
- Montoro P., Carbone V., De Simone F., Pizza C., De Tommasi N., 2001. *Studies of the constituents of Cyclanthera pedata fruits: isolation and structure elucidation of new flavonoid glycosides and their antioxidant activity*. Journal of agricultural and food chemistry, 49, 5156-5160.
- Montoro P., Carbone V., Pizza C., 2005. *Flavonoids from the leaves of Cyclanthera pedata: two new malonyl derivatives*. Phytochemical analysis. 16, 210-216.
- Mrinal S., Rotimi E., Alucko & Teipal Dhewa, 2020. *Plant food anti-nutritional factors and their reduction strategies: an overview*. Food Production, Processing and Nutrition, 2(6).
- Oboh H.A., Omofoma C.O., 2008. *The effects of heat-treated Lima beans (Phaseolus lunatus) on plasma lipids in hypercholesterolemic rats*. Pak. J. Nutri., 7 (5), 636-639.
- Petit P.R., Sauvaire Y.D., Hillaire-Buys D.M., Lecone O.M., Baissac Y.G., Ponsin G.R., Riber G.R., 1995: *Steroid saponins from fenugreek seeds: extraction, purification, and pharmacological investigation on feeding behaviour and plasma cholesterol*, 674-680.
- Price K., Griffiths N.M., Curl C.R., Fenwick G.R., 1985. *Undesirable sensory properties of the dried pea (Pisum sativum). The role of saponins*. Food Chem., 17, 105-115
- Price K., Johnson I., Fenwick G., 1987. *The chemistry and biological significance of saponins in foods and feedstuffs*. 26, 27-135.
- Ranilla L.G., Kwon Y., Apostolidis E., Shetty K., 2010. *Phenolic compounds, antioxidant activity and in vitro inhibitory potential against key enzymes relevant for hyperglycemia and hypertension of commonly used medicinal plants, herbs and spices in Latin America*. Bioresource Technology, 101 (12), 4676-4689.

Reyes García M., Gómez-Sánchez Prieto I., Espinoza Barrientos C., 2017. *Tablas peruanas de composición de alimentos*. Ministerio de Salud del Perú, Lima, 24-25

Rivas M., Vignale D., Ordoñez R., Zampini I., Alberto M.R., Sayago J., Isla M., 2013. *Nutritional, antioxidant and anti-inflammatory properties of Cyclanthera pedata, an Andinean fruit and products derived from them*, 55-61

Rossi G., Guzzon F., Canella M., Tazzari E., Cauzzi P., Bodino S., Ardenghi N., 2019. *Le varietà agronomiche lombarde tradizionali a rischio di estinzione o di erosione genetica*. Pavia University Press, Segrate.

Sanz M. J., Ferrandiz M. L., Cejudo M., Terencio M. C., Gil B., Bustos G., Ubeda A., Gunasegaran R., Alcaraz M. J., 1994. *Influence of a series of natural flavonoids on free radical generating systems and oxidative stress*, 689-699

Sparg S., Light M., van Staden J., 2004. *Biological activities and distribution of plant saponins*. J. Ethnopharmacol, 94, 219-243

Struchkov P., Bevoborodov V., Kolkhir V., Voskoboynikova I., Savurteey A., 2018. *Comparison of spectrophotometric method for total flavonoid assay based on complex formation with aluminum chloride as applied to multicomponent herbal drug angionorm*. Journal of pharmaceutical, negative results, 1-7

Tan S., Vuong Q., Stathopoulos C., Parks S., Roach P., 2014. *Optimized aqueous extraction of saponins from bitter melon for production of a saponin-enriched bitter melon powder*.

Uematsu Y., Hirata K., Saito K., Kudo I., 2000: *Spectrophotometric determination of saponin in Yucca extract used as food additive*, 1-4.

*United States National Herbarium*. United States. División of Botany, National Museum of Natural History (U.S.). Botany, United States National Museum. Contributions from the United States National Herbarium. Smithsonian Institution. Press. 2010, 13, 7-15

## 8. SITOGRAFIA

<http://www.piemonteparchi.it/cms/index.php/natura/piante/item/1601-stop-al-colesterolo-con-la-caigua>

(Pagina visualizzata ad aprile 2022)

[https://www.actaplantarum.org/flora/flora\\_info.php?id=2460](https://www.actaplantarum.org/flora/flora_info.php?id=2460)

(Pagina consultata in aprile 2022)

<https://www.erbavita.com/prodotto/caigua/>

(Pagina consultata in maggio 2022)

[https://www.efarma.com/erba-vita-caigua-integratore-colesterolo-400-mg-60-capsule.html?gclid=Cj0KCQjw1ZeUBhDyARIsAOzAqQKrO2W4LIQ\\_mdhlmPCKHJWwb1OLIHCCwaoJaOIbVkAlEisuKZRhgwaAgxbEALw\\_wcB](https://www.efarma.com/erba-vita-caigua-integratore-colesterolo-400-mg-60-capsule.html?gclid=Cj0KCQjw1ZeUBhDyARIsAOzAqQKrO2W4LIQ_mdhlmPCKHJWwb1OLIHCCwaoJaOIbVkAlEisuKZRhgwaAgxbEALw_wcB)

(Pagina consultata in maggio 2022)

<https://www.angelica.it/caigua>

(Pagina consultata in maggio 2022)

## **9. RINGRAZIAMENTI**

Il primo ringraziamento va senza dubbio al mio correlatore, il Dott. Marco Zuccolo, che mi ha affiancato con competenza e professionalità durante l'intera stesura di questo elaborato, e alla mia relatrice, la Dott.ssa Gigliola Borgonovo.

Il secondo ringraziamento va a tutte le persone che hanno dato vivacità e colore alla mia permanenza a Edolo in questi anni: chi da protagonista e chi da comparsa, ciascuno ha avuto un valore e sarà ricordato.

Infine, un ringraziamento a chi da casa mi ha sempre sostenuto e supportato: la famiglia prima di tutto, ma anche tanti cari amici.