



DIPARTIMENTO DI FARMACIA
(DIFAR)
CORSO DI LAUREA IN FARMACIA

TESI DI LAUREA

Componenti bioattivi da Cactacee di interesse fitoterapico

Relatore:

Prof Angela Bisio

Laureanda:

Arianna Poggio

ANNO ACCADEMICO

2021/2022

INDICE

Ringraziamenti	pag. 3
Scopo della tesi	pag. 4
Introduzione	pag. 5
Metodologie	pag. 31
Composti	pag. 32
Conclusioni	pag. 38
Bibliografia	pag. 39



RINGRAZIAMENTI

*“Solo con la gratitudine la vita si avvicinisce” D.
Bonhoeffer*

Grazie alla Professoressa Angela Bisio e alla Dottoressa Valeria Iobbi per l’infinita pazienza e per avermi seguita in questo lavoro di tesi.

Grazie Mamma e Papà, miei supporti costanti, mi avete spinta a non mollare, anche quando io avrei cambiato completamente... avevate ragione! E avete creduto in me anche quando le possibilità di riuscita di questa “impresa” erano pari a quelle della spedizione per trovare il Passaggio a Nord Ovest.

Grazie Ila, la mia sorellina, anche se siamo come il giorno e la notte, mi sopporti da 25 anni e sopporti i soprannomi assurdi che ti affibbio (e adesso ti tocca anche abbracciarmi 😊)

Grazie agli amici, quelli più piccoli perché in voi vedo il futuro, grazie a quelli più grandi perché mi date preziosi consigli, grazie a quelli di lunga data e a quelli appena entrati nella mia vita, a quelli a km 0 che vedo quasi tutti i giorni e a quelli “nel telefono” con cui ho solo (o quasi) contatti via social. Mi avete spinta a guardare avanti e a non aver paura del futuro.

Grazie ai miei Angeli Custodi, in particolare a Nonno Renzo, Nonna Uccia (che diceva sempre: “Ma perché hai preso un ramo così difficile?”), Nonno John John e Francesco.

Infine, ringrazio quella giornata al mare nel 2016, quella messa un po’ particolare e quel brano di Vangelo. Non fosse stato per quella torre non finita a quest’ora non starei diventando Dottoressa in Farmacia. Quindi grazie Sorella Provvidenza, sapevi che questa era la mia strada.

SCOPO DELLA TESI

Questo lavoro di tesi compilativa si pone come obiettivo la revisione bibliografica di lavori di ricerca che hanno come oggetto i frutti di *Opuntia* spp. e *Hylocereus* spp. Entrambi i generi presentano frutti che vengono consumati abitualmente in diverse parti del mondo, in particolare nei paesi tropicali e in quelli che si affacciano sul Mediterraneo meridionale. Questi frutti posseggono un profilo metabolico simile, in particolare entrambi contengono un gruppo di pigmenti che conferiscono il colore caratteristico ai frutti, le betalaine, associate alla presenza di flavonoidi e fenoli. Le proprietà antiossidanti di questi frutti sono quindi di grande interesse come antiossidanti in farmacia.

INTRODUZIONE

“Non tutti i frutti sono creati uguali” (Nurul & Asmah, 2014)

I vegetali sono alla base della piramide alimentare umana e sono fondamentali per la sopravvivenza della nostra specie; infatti, a partire dalla preistoria fino ai giorni nostri, l'uomo ha sempre fatto affidamento ai prodotti del regno vegetale, sia come fonte di sostanze nutritive, quindi carboidrati, proteine, grassi, vitamine e sali minerali, come fonte di sostanze curative, di sostanze tossiche e come fonte di sostanze colorate.

Fino all'avvento della chimica sintetica, in seguito alla rivoluzione industriale alla fine del XIX secolo, tutti i farmaci e i veleni erano prodotti di origine naturale, in gran parte ottenuti dalle piante. I prodotti di origine naturale permangono ancora oggi nelle medicine tradizionali e anche nella medicina convenzionale. La sempre crescente curiosità verso i prodotti naturali ha fatto sì che la chimica moderna si sviluppasse e mettesse a punto tecniche per la separazione e l'analisi dei composti, come ad esempio le tecniche di spettroscopia, che oggi sono alla base della chimica organica.

Attualmente, nella dieta occidentale, si consumano vegetali provenienti da più di quaranta famiglie botaniche (Lampe, 1999). Dopo la seconda guerra mondiale, in risposta al *boom* economico, il consumo di frutta e verdura si è ridotto in favore di alimenti di origine industriale e più complessi (Gharras, 2011). Tuttavia negli ultimi decenni i consumatori sono diventati sempre più consapevoli della relazione tra un'alimentazione bilanciata e ricca di vegetali e uno stato di buona salute, spesso considerando i prodotti di origine naturale e vegetale di qualità superiore (Celli & Brooks, 2017). Questa consapevolezza ha portato quindi a capire che l'assunzione di alimenti e integratori derivati da piante possa avere potere curativo e preventivo su una serie di patologie e disturbi, grazie alle diverse proprietà farmacologiche (Lampe, 1999; Montiel-Sánchez et al., 2021), per questo i prodotti naturali

hanno riscosso molta attenzione sia da parte di professionisti della salute, sia da parte di persone comuni per la capacità di promuovere il benessere del consumatore e il consumo di frutta e verdura ha un ruolo fondamentale nella prevenzione di malattie, inclusi alcuni tumori (Jana, 2012). Inoltre, gli studi epidemiologici evidenziano che condurre una vita attiva coadiuvata da un regime alimentare vario come quello mediterraneo, il quale presenta un'ampia selezione di vegetali contenenti antiossidanti, è considerato uno dei migliori nella prevenzione di malattie dovute allo stress ossidativo come quelle dovute all'invecchiamento, quelle cardiovascolari, diversi tipi di cancro e disordini neurodegenerativi (Livrea et al, 2006). Negli ultimi decenni, l'interesse verso i prodotti di origine naturale e in particolare per i derivati vegetali è aumentato. Questi vengono, infatti, percepiti dai consumatori, come più sicuri e con potenziali benefici per la salute, in contrapposizione ai prodotti di origine sintetica che invece possono essere guardati con sospetto. Inoltre, con i prodotti di origine naturale, soprattutto quando vengono usati in terapia, non vengono riscontrati gli effetti collaterali che possono emergere con i composti di origine sintetica (Sreekanth et al., 2007).

Tra le attività salutistiche dei vegetali in generale ed in particolare di quelli edibili di particolare interesse l'attività antiossidante, di modulazione della funzione degli enzimi detossificanti, di stimolazione del sistema immunitario, di modulazione del metabolismo del colesterolo, di riduzione e stabilizzazione della pressione arteriosa, e l'attività antibatterica e antivirale (Lampe, 1999).

METABOLITI SECONDARI

Le molecole responsabili delle proprietà curative o tossiche delle piante sono definite metaboliti secondari. Il concetto di “metabolita secondario” è stato definito come contrapposto a quello di “metabolita primario”. I metaboliti primari sono le molecole e i composti responsabili delle funzioni vitali della cellula e della pianta (nutrimento, respirazione e riproduzione). I metaboliti secondari sono stati definiti “end product”, prodotti in una quantità inferiore rispetto ai metaboliti primari, e ad essi “collaterali” (Bougard et al, 2011),

A differenza dei metaboliti primari, i metaboliti secondari si trovano e vengono prodotti solo in alcuni distretti particolari della cellula o solo da alcuni organi della pianta. Spesso sono presenti solo in un ristretto gruppo tassonomico e non in tutto il mondo vegetale.

I metaboliti secondari sono fondamentali per la vita e la sopravvivenza della pianta, in particolare per quanto riguarda l’adattamento all’ambiente circostante. Essi presentano anche attività protettiva contro patogeni, raggi UV e talvolta hanno anche attività anti-feedant contro gli insetti. I pigmenti sono i principali attrattori per gli impollinatori, e per gli animali coinvolti nella diffusione di frutti e semi (Raj e al., 2020).

I metaboliti secondari vegetali, che storicamente hanno trovato ampio impiego per la loro presenza in fitoterapici nella medicina tradizionale, sono attualmente presenti in molte formulazioni impiegate nella medicina convenzionale. Inoltre, le molecole derivate dal regno vegetale possono essere utilizzate come punto di partenza per la sintesi di altri composti(Lampe, 1999). L’origine geografica delle piante può portare a delle variazioni qualitative e quantitative di metaboliti secondari nelle droghe vegetali (Ramli et al., 2014).

I metaboliti secondari possono essere classificati secondo diversi criteri: il parametro più comune è attraverso la via di sintesi. Comunemente essi sono ascritti a tre grandi famiglie di composti: composti fenolici, terpenoidi, ed alcaloidi.

BETALAINI

Le betalaine sono derivati imminici dell'acido betalamico (1). Sono composti idrofili con una struttura eterociclica che presenta un gruppo cromoforo sull'acido betalamico (1); la presenza di tre doppi legami coniugati permette la colorazione della molecola (Esatbeyoglu et al., 2015; Rodriguez-Amaya, 2019; Smeriglio et al., 2019). A causa della presenza di un sistema "1,7-diaza" (sistema protonato 1,2,4,7,7-pentasostituito 1,7-diazaeptammina), alcuni ricercatori hanno denominato le betalaine cromoalcaloidi (Jana, 2012), ma la stabilità in pH leggermente acido sembra negare la caratteristica alcaloidea.

I pigmenti betalainici si trovano nei semi, frutti, fiori, foglie, fusti e/o radici di piante da una vasta gamma di ambienti naturali. Essi sono stati trovati sia in piante ornamentali come *Bougavillea glabra* sia in piante edibili come *Beta vulgaris*, *Amaranthus* spp, *Selenicereus* spp. e *Opuntia* spp.

Nella cellula le betalaine si trovano a livello vacuolare. A livello degli organi della pianta, il pericarpo dei frutti contiene una concentrazione maggiore di betalaine rispetto al mesocarpo (Hussain et al., 2018). Diversi fattori influenzano la quantità di betalaine presenti all'interno dei vegetali, tra cui le condizioni di coltivazione, la fertilità e l'umidità del suolo, la temperatura di conservazione (Hussain et al., 2018).

Le betalaine hanno un ruolo per l'attrazione degli insetti impollinatori. Le betalaine sembrano anche partecipare alla difesa della pianta dallo stress sia abiotico, questo sembrerebbe mediata dalla capacità antiossidante di queste molecole, che biotico (Polturak & Aharoni, 2018). È stato anche evidenziato il ruolo delle betalaine nella fotoprotezione (Wohlpart & Mabry, 1968).

Il momento della produzione di betalaine nella pianta varia tra le specie; come gli antociani, le betalaine possono essere presenti solo in organi immaturi, in organi senescenti o persistono per tutta la vita dell'organo.

La biosintesi delle betalaine inizia con l'idrossilazione della tirosina a L-DOPA e la successiva scissione dell'anello aromatico della L-DOPA con conseguente formazione di acido betalamico (1) (Taira et al., 2015). Questa via si basa su due enzimi chiave, la tirosinasi bifunzionale (idrossilazione e ossidazione) e la DOPA 4,5 diossigenasi (scissione dell'anello aromatico dipendente da O₂). Diverse fasi di ciclizzazione spontanea, condensazione e glucosilazione completano la via.

L'acido betalamico si condensa spontaneamente con amminoacidi e derivati amminici per formare betaxantine attraverso il legame con l'aldimina. Un'altra molecola di L-dopa viene convertita in cyclo-dopa che si condensa spontaneamente con l'acido betalamico dando origine alla betanidina. Attraverso una glucosiltransferasi una molecola di glucosio si lega sul carbonio 5, dando origine alla betanina. La betanidina è la betacianina più, e costituisce l'80% dei pigmenti rossi presenti in *B. vulgaris*. Attraverso reazioni glicosiltransferasiche e aciltransferasiche si ottengono le diverse molecole (Polturak & Aharoni, 2018; Sharma et al., 2021). La betanidina grazie a reazioni di glicosilazione e acilazione può dare origine a molte altre strutture (Sharma et al., 2021).

Questa classe di molecole è quindi ampia e può essere divisa in due macrogruppi. Le betaxantine (dal greco ξανθός =giallo) caratterizzate da un assorbimento a $\lambda=480$ nm e le betacianine (dal greco κυάνεος =blu), con assorbimento a $\lambda=540$. Dal punto di vista molecolare differiscono per i sostituenti sull'anello betalamico (Hussain et al., 2018). Le betaxantine hanno come sostituito un amminoacido, mentre le betacianine possono presentare sostituenti diversi come gruppi glucosidici e gruppi acilici (Rodriguez-Amaya,

2019). Sulla base dei diversi sostituenti le betacianine possono essere ulteriormente divise in betanine (che prendono il nome da *B. vulgaris*), gonfrenine (da *Gomphrena globosa*), amarantine (da *Amaranthus caudatus*) e buganvilline (da *Bougainvillea glabra*). Attualmente sono state identificate più di ottanta betalaine in 17 famiglie di piante (Polturak & Aharoni, 2018). Come per altri classi di molecole, la diversità all'interno del gruppo delle betacianine è dovuta, soprattutto, alle reazioni di glicosilazione e acilazione (Rodriguez-Amaya, 2019). Ad esempio la betanidina, aglicone della betanina, può essere legata ad una molecola di glucosio o ad una molecola di acido glucuronico; inoltre, sulla porzione zuccherina possono avvenire reazioni di esterificazione aromatica o alifatica (Rodriguez-Amaya, 2019). La diversità di betalaine e in particolare di betacianine è più abbondante nei cactus che nelle barbabietole rosse (Smeriglio et al., 2019).

Le betacianine sono più stabili delle betaxantine. Per esposizione a pH inferiori a 3 e superiori a 7, a luce o a calore eccessivo le betacianine si degradano in acido betalamico, di colore giallo, e in ciclodopa-5- β -glucoside, che è incolore (Wong & Siow, 2015). Diversi fattori influenzano la stabilità delle betalaine. Tra esse vi sono: le temperature elevate, il pH (l'intervallo di maggior stabilità delle betalaine è tra 3 e 7), la presenza o assenza di ossigeno, di ioni metallici, la presenza di un'atmosfera ricca di azoto, la presenza di specie reattive dell'ossigeno, la presenza di enzimi che possono degradare la molecola, l'esposizione prolungata a fonti luminose, e la quantità di acqua libera del tessuto vegetale. La degradazione segue, in linea di massima, una cinetica di tipo 1 ed è più veloce ad una temperatura elevata e ad un pH basso, (Pátkai & Barta, 1996). Si è visto che a pH più alto e temperatura più bassa la betalaina è stabile, mentre a pH più basso e a temperatura più alta si degrada più velocemente. Anche l'esposizione all'ossigeno può aumentare la velocità di degradazione del 15%, così come anche l'esposizione a ioni metallici come Cu^{2+} e Fe^{2+} . La presenza di EDTA o acido ascorbico la riducono la velocità di degradazione (Attoe & von

Elbe, 1982). Queste caratteristiche restringono gli ambiti di utilizzo delle betalaine, ad esempio in ambito alimentare, dove sono utilizzabili per cibi a pH neutro, come ad esempio le polveri, i surgelati o i prodotti caseari (Reynoso et al., 1997). Nonostante queste limitazioni, le betalaine vengono preferite alle antocianine come coloranti alimentari, soprattutto a causa della maggiore idrosolubilità e perché sono stabili in un intervallo di pH più ampio rispetto alle antocianine. Inoltre, i derivati betalamicici spesso vengono utilizzati per colorare prodotti molto processati o elaborati (Kugler et al., 2007).

Per le capacità colorimetriche le betalaine si possono paragonare ai coloranti di sintesi o alle antocianine stesse.

Per quanto riguarda la diversità di queste molecole, l'acilazione e la glicosilazione sono fondamentali (Azeredo, 2009) Si è visto che la presenza di un gruppo glicosidico sul carbonio in posizione 5 o sul carbonio in posizione 6 sono alla base dell'attività antiossidante di queste molecole. Ad oggi non si conoscono betacianine sostituite su entrambe i carboni (Azeredo, 2009). L'attività antiradicalica delle betalaine sembra essere più elevata di quella di Trolox (acido 6 idrossi-2,5,7,8 tetrametilcroman 2 carbossilico) e di altri antiossidanti, come ad esempio derivati della vitamina E. In particolare la capacità antiossidante delle betalaine è stata calcolata in TAEC, ovvero equivalenti di Trolox, e in FRAP, ovvero potere di riduzione dello ione ferrico (Kugler et al., 2007). La ricerca di antiossidanti naturali è fondamentale in quanto antiossidanti di origine sintetica come idrossianisolo butilato (BHA) e idrossitoluene butilato (BHT) sono associati a fenomeni di tossicità e potenziale cancerogenesi (Joshi & Prabhakar, 2020). E' stato evidenziato come le betacianine, in particolare betanidina, betanina e fillocactina, possano inibire il radicale perossido che è responsabile dell'ossidazione dei lipidi di membrana (Taira et al., 2015).

Correlate all'azione antiossidante vi sono le diverse attività biologiche delle betalaine: protezione dall'ossidazione delle lipoproteine a bassa densità, prevenzione dei danni a livello del DNA, attività antinfiammatoria, attività regolatoria a livello genetico, protezione dai radicali liberi e induzione di enzimi di detossificazione. A livello dei singoli organi si possono riconoscere effetti a livello cardiaco; infatti, abbassano il livello plasmatico sia di omocisteina che quello di proteina c reattiva, responsabile di danno a livello arterioso (Hussain et al., 2018). I cibi ricchi di betalaine riducono i depositi di grasso intorno al fegato associati con l'obesità e aiutano la digestione promuovendo una maggiore produzione di acido a livello gastrico (Hussain et al., 2018). L'azione antiossidante delle betalaine è benefica anche per la pelle la protegge dall'invecchiamento precoce dovuto all'esposizione al sole.

Per studi di biodisponibilità sono state usate betalaine ottenute da *Beta vulgaris* e *Opuntia ficus-indica*. In ratti nutriti con cibi ricchi di betalaine la betanina viene metabolizzata in percentuali molto elevate nello stomaco e nell'intestino, in particolare il 74% a livello gastrico, il 35% a livello dell'intestino tenue, e il 60% livello del colon (Khan, 2016). Solo una piccola percentuale viene metabolizzata nel fegato. Quando viene ingerita, la betanina viene ritrovata a livello delle urine a partire da 2-4 h dopo l'ingestione e continua per 12 h, ma non sono evidenziati prodotti di degradazione. Dopo la somministrazione di 500 g di fico d'India, che contenevano 16 mg di betanina e 28 g di indicaxantina (10), entrambe le betalaine hanno raggiunto la massima concentrazione plasmatica dopo 3h e dopo 12h dall'ingestione non erano più rilevabili nel plasma (Tesoriere et al., 2005).

La presenza di betanina si può riscontrare nel plasma da 60 minuti dopo l'ingestione. La massima concentrazione plasmatica (C_{max}) di 0,20 nmol/ml è stata raggiunta dopo 3,1 h. L'emivita di eliminazione è risultata di 0,94 h. La biodisponibilità della betanina era 3,7%, mentre non è stata riscontrata betanidina (2) a livello plasmatico (Khan et al., 2015).

Secondo uno studio di Kanner del 2001 (Kanner et al., 2001) la biodisponibilità di betalaine è tra il 0,5% e il 0,9%. La scarsa biodisponibilità può essere influenzata da diversi fattori, ad esempio la matrice in cui si trovano le betalaine, la complessità del cibo consumato, le capacità di digestione e di assorbimento del soggetto consumatore. In particolare, la matrice è il fattore che maggiormente influenza la farmacocinetica delle betalaine.

Fino a pochi anni fa non si è mai presa in considerazione la biodisponibilità di betalaine e in particolare di betanina a partire da *Selenicereus* spp. Si è visto che l'assorbimento è migliore quando se ne assume il succo. Choo e colleghi in uno studio del 2019 (Choo et al., 2019), si sono concentrati sulla biodisponibilità di betacianine nel succo sia fermentato che non fermentato: si è scoperto che la fermentazione aumenta la concentrazione di betacianine nel succo da 28,27 mM a 36,88 mM. In una simulazione *in vitro* della digestione gastrica si è visto che nel succo fermentato la quantità di betacianine si riduce del 13,56% dopo la digestione gastrica e arriva fino al 53,86% dopo quella intestinale; il succo non fermentato invece presenta una perdita del 22,32% di betacianine dopo la digestione gastrica e dopo la digestione intestinale la perdita del 56,24%. La concentrazione che si può trovare nel torrente sanguigno è di 17 mM, mentre per *O. ficus-indica* è 0,2 μ M, dopo la somministrazione di 500 grammi di mesocarpo. Le betalaine vengono escrete come prodotti di metabolismo e non come molecola tal quale (Khan & Giridhar, 2015).

Nonostante *B. vulgaris* sia la fonte principale di estrazione di betalaine, negli ultimi decenni si stanno cercando fonti alternative (Polturak & Aharoni, 2018).

FENOLI

I fenoli contenuti nelle piante possono essere divisi in tre diverse classi: acidi fenolici e fenoli semplici, derivati dell'acido *p*-idrossicinnamico e flavonoidi.

Per quanto riguarda i derivati dell'acido *p*-idrossicinnamico i derivati più comuni sono acido caffeico, acido ferulico. Sono anche comuni i derivati esterei o glucosidici (Panche et al., 2016).

I flavonoidi sono il gruppo di polifenoli a basso peso molecolare maggiormente rappresentato nei vegetali, e possono essere ulteriormente divisi in ulteriori famiglie, in base alla conformazione degli anelli e dalla presenza di insaturazioni nella struttura. Sono ampiamente diffusi in tutto il regno vegetale, sia come molecole tal quali sia come glucosidi (Tuberoso & Orrù, 2008).

I flavonoidi possono essere utilizzati in ambito medicinale e farmaceutico, cosmetico e nutraceutico, principalmente a causa delle loro capacità antiossidante, antinfiammatoria e anticarcinogenica; inoltre possono agire sulla modulazione degli enzimi cellulari. I flavonoidi sono potenti inibitori di molti enzimi, come ad esempio la xantina ossidasi, le ciclossingenesi, responsabili della risposta infiammatoria e dolorifica, e le lipossigenasi (Tuberoso & Orrù, 2008).

Con l'alimentazione si consumano circa 1 g di flavonoidi al giorno, in particolare il flavonoide più consumato nella dieta è la quercetina. Questa molecola ha mostrato diverse proprietà antitumorali, riducendo la biodisponibilità e l'attivazione metabolica epatica di alcuni agenti cancerogeni.

Studi su colture cellulari evidenziano come quercetina e rutina abbiano proprietà antiproliferative nei confronti delle cellule epiteliali che portano al cancro del colon retto.

Tra le principali classi di flavonoidi possiamo ricordare i flavoni, con un doppio legame in posizione 2 dell'anello C, i flavonoli, che sono flavoni ossidrilati in posizione 5, gli isoflavonoidi, che presentano l'anello B legato all'anello l'anello C con un legame in posizione 3, e i neoflavonoidi, che presentano l'anello B legato all'anello l'anello C in posizione 4.

Le principali attività salutistiche dei flavonoidi sono la anticolinesterasica, la antinfiammatoria, la modulazione della produzione di ormoni steroidei e della xantina ossidasi, l' attività antitrombogenica; essi inoltre contrastano l'antibiotico resistenza (Yeddes et al., 2013).

CAROTENOIDI

I carotenoidi sono una classe di pigmenti che comprende i caroteni e le xantofille (Sharma et al., 2021). Sono pigmenti lipofili, responsabili dello spettro cromatico che va dal giallo al rosso, non solo nelle piante, ma anche in alcuni animali, come i crostacei (Rodriguez-Amaya, 2019).

Queste molecole presentano un sistema di doppi legami coniugati che è il gruppo cromoforo, facilmente isomerizzabile ed ossidabile (Rodriguez-Amaya, 2019).

Molti fattori influenzano la quantità di carotenoidi presenti all'interno di un vegetale di interesse, quali la cultivar e varietà, lo stadio di maturazione, le condizioni climatiche e la stagione di raccolta, l'area geografica di crescita, le pratiche agronomiche, il metodo di raccolta e trattamento nel post raccolto (Rodriguez-Amaya, 2019).

La stabilità chimica è correlata all'esterificazione o non esterificazione della molecola e anche alla matrice solida in cui si trovano questi composti. La stabilità diminuisce quando viene distrutta l'integrità cellulare. Un riscaldamento modesto può portare ad un aumento della biodisponibilità (Rodriguez-Amaya, 2019).

La perdita di carotenoidi durante la lavorazione può essere dovuta a traumi meccanici, oppure a processi degradativi di natura enzimatica o non enzimatica. È molto frequente l'autossidazione di natura non enzimatica (Rodriguez-Amaya, 2019).

I carotenoidi sono precursori della vitamina A. Recentemente la ricerca si è concentrata sull'uso di questa classe di pigmenti per prevenire malattie degenerative o dovute all'invecchiamento, in particolare, contro il cancro, malattie cardiovascolari, cataratta e maculopatia degenerativa, protezione della pelle dai danni del sole. Come per le betalaine, le attività salutari dei carotenoidi sono dovute all'attività antiossidante di queste molecole (Rodriguez-Amaya, 2019). Sono anche state riconosciute attività di natura non antiossidante

quali la modulazione di fattori tumorali, la regolazione della proliferazione cellulare, la promozione del differenziamento cellulare, la modulazione dei meccanismi di riparazione del DNA e la modulazione degli enzimi di detossificazione (Rodriguez-Amaya, 2019).

CLOROFILLE

La clorofilla e molecole correlate sono pigmenti verdi solubili in olio, essendo il pigmento di colore verde è ampiamente diffuso nelle piante.

La molecola della clorofilla presenta un gruppo idrofilo, in particolare la porfirina centrale che ricorda come struttura quella del gruppo eme presente nei globuli rossi e una coda lipofila. Le clorofille possono essere di due generi: clorofilla A e clorofilla B, la prima presenta un gruppo metile (CH_3) sul carbonio 7, mentre la seconda presenta un gruppo aldeide (CHO), la differenza di sostituito porta ad un diverso profilo cromatico, in particolare clorofilla A è blu-verde, mentre clorofilla B è gialla-verde ed è una dei coloranti riconosciuti dall'Unione Europea con la sigla di E140 (Sharma et al., 2021).

Come per le betalaine, c'è sempre maggior richiesta per le clorofille, in quanto la consapevolezza dei benefici portati dai coloranti di origine naturale, rispetto a quelli origine sintetica (Sharma et al., 2021).

LE CACTACEAE

La famiglia delle *Cactaceae* Juss. è composta da tre sottofamiglie: *Opuntioideae*, *Pereskioideae* e *Cactoideae*. Essa include 150 generi e 1000-2000 specie. Le piante di questa famiglia sono succulente e spinose e presentano fusti con attività fotosintetica. Sono distribuite in quasi tutto il mondo, a partire dalle regioni sub artiche del Canada fino a climi impervi come la Valle della Morte negli Stati Uniti o sulle Ande a quasi 5000 metri. Si trovano, quindi, sia in climi ricchi di precipitazioni e in climi che ne sono quasi completamente privi. Di solito le piante spinose si trovano in climi aridi, mentre nelle regioni più umide si trovano cacti senza spine (Hussain et al., 2018). In particolare, i fiori e i frutti dei generi *Selenicereus* e *Opuntia* sono fonti di betalaine (Hussain et al., 2018).

SELENICEREUS (HYLOCEREUS) SPP.

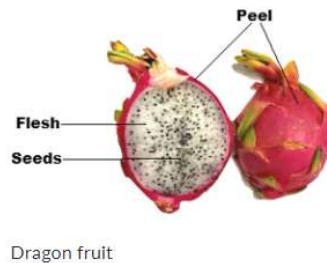


Figura 1: Sezione longitudinale di frutto di *Hylocereus undatus* (Joshi & Prabhakar, 2020)

Le specie appartenenti al genere *Hylocereus* Britton & Rose, attualmente considerato sinonimo di *Selenicereus* Britton & Rose, sono cactus epifiti (Stintzing et al., 2002). Attualmente ne vengono riconosciute trentuno specie (Wybraniec & Mizrahi, 2002). Sono sia piante ornamentali sia piante da frutto (Nurul & Asmah, 2014). Il genere è originario del Centro e Sud America, diffuso anche in molti stati del Sud Est Asiatico, come Malesia, Filippine, Thailandia, Sud della Cina e Vietnam (Ren et al., 2020). In Malesia la coltivazione è iniziata negli anni '90 e nel 2015 563,2 ettari risultavano dedicati a questa coltura (Choo et al., 2018; Nurul & Asmah, 2014). In Nicaragua nel 2003 420 ettari erano dedicati a questa coltura e sono state esportate 55 tonnellate di mesocarpo di frutto congelato (Vaillant et al., 2005). Questi cactus vengono anche coltivati in Israele, ma di solito in serra e non all'aria aperta. In Australia le coltivazioni sono nel New South Wales, Queensland, parte dell'Australia Occidentale e nel Territorio del Nord (Nurul & Asmah, 2014). In Indonesia, la pianta è diventata popolare grazie alle caratteristiche del frutto ed alla bellezza della pianta (Priatni & Pradita, 2015).

In generale, queste piante crescono bene e vengono coltivate nelle regioni tropicali e subtropicali (Thu et al., 2019), infatti la pianta può sopravvivere a temperature superiori a 40°C (Nurul & Asmah, 2014). In particolare, *Selenicereus undatus* (Haw.) D.R.Hunt (*Hylocereus undatus*) viene utilizzato in America Centrale e Messico come pianta ornamentale da giardino. Altre specie, ad esempio, *Selenicereus monacanthus* (Lem.) D.R.Hunt (*Hylocereus polyrhizus*), si prestano alla domesticazione per la produzione di frutti grandi (Wybraniec & Mizrahi, 2002).

Il frutto, chiamato *pitaya* o frutto del drago o “*buah naga*” in indonesiano (Priatni & Pradita, 2015) è una bacca di forma ovale abbastanza grande (Wybraniec & Mizrahi, 2002) e oblunga (Stintzing et al., 2002) lunga dai 13 ai 15 cm e dal peso variabile dai 300 ai 600 g (Polturak & Aharoni, 2018). Il nome inglese di “dragon fruit” è dovuta alla morfologia del pericarpo, ed in particolare alle formazioni carnose simili a scaglie sull’esocarpo (Chew et al., 2019). Il mesocarpo, che può essere bianco o rosso, è ricco di semi neri digeribili simili a quelli del kiwi (Stintzing et al., 2002). A maturità i frutti presentano una colorazione rosa scuro (Jamilah et al., 2011; Priatni & Pradita, 2015). In Centro America i frutti vengono consumati sia come succo sia come frutto intero (Vaillant et al., 2005). I frutti vengono considerati alimenti funzionali grazie alla presenza delle betalaine, in aggiunta ad altri composti quali glucosio, proteine, vitamine, come la vitamina C, acidi organici, fitoalbumine, minerali, soprattutto potassio, magnesio, fosforo e calcio, fenoli, steroli, flavonoidi e tocoferoli. I frutti vengono anche utilizzati come integratori e come adiuvanti per la medicina convenzionale (Polturak & Aharoni, 2018; Priatni & Pradita, 2015). Per le proprietà nutraceutiche questo frutto è stato definito *wonder fruit* (Joshi & Prabhakar, 2020)

In base alla colorazione dell’esocarpo e del mesocarpo dei frutti, si possono riconoscere diverse specie:

- *Selenicereus undatus* (Haw.) D.R.Hunt (*Hylocereus undatus*) con esocarpo rosso e mesocarpo bianco
- *Selenicereus monacanthus* (Lem.) D.R.Hunt (*Hylocereus polyrhizus*) con esocarpo rosso e mesocarpo rosso
- *Selenicereus megalanthus* (K.Schum. ex Vaupel) Moran (*Hylocereus megalanthus*) con esocarpo giallo e mesocarpo bianco
- *Selenicereus costaricensis* (F.A.C.Weber) S.Arias & N.Korotkova ex Hammel (*Hylocereus costaricensis*) esocarpo tendente al viola e mesocarpo tendente al viola

Il mesocarpo viene utilizzato nell'industria alimentare, mentre l'esocarpo può essere utilizzato per l'estrazione di betalaine (Ren et al., 2020). L'utilizzo dell'esocarpo come fonte di questi pigmenti, in particolare betacianine, ha trovato ampio interesse a partire dagli anni '90 (Herbach et al., 2006). Nel 2000 da *S. monacanthus* è stata isolata per la prima volta la ilocerenina (Wybraniec & Mizrahi, 2002). Altre betacianine molto comuni in questo genere sono la betanina, la fillocactina, Isobetanidina, isobetanina, betanidina, isofillocactina. In percentuale la betanina rappresenta il 76% delle betalaine presenti nel dragon fruit e l'ilocerenina il 11,7% (T.T.M. & D.V., 2019). La sintesi delle betalaine avviene durante lo sviluppo e la maturazione dei frutti (Wu et al., 2019).

I frutti all'inizio del processo di maturazione presentano una colorazione verde, indice di presenza delle clorofille, mentre a maturazione ultimata presentano una colorazione rosa scuro-rossa, indice di presenza di betalaine. Lo stesso vale per il mesocarpo dei frutti. In particolare, come riportato in figura, l'esocarpo e il mesocarpo maturano in momenti diversi. Il mesocarpo impiega un giorno per passare da bianco, a rossiccio e due giorni perché passi a rosso, indicati come 26 giorni dopo l'antesi (DPA), 27 DPA e 29 DPA.



Figura 2 Cambiamento di colorazione dei frutti di *S. undatus* (Wu et al., 2019)

Dal punto di vista quantitativo si può osservare che nell'esocarpo le betacianine passano da 0,87 mg/100 g in peso secco (DW) a 2,66 mg /100 g DW con picchi di 10,43 g/100 mg, mentre le betaxantine passano da 2,37mg/100g a 5,59 mg/100g DW. Questi valori vanno dal giorno 10 DPA al giorno 27 DPA; quindi, si evince che la concentrazione di betaxantine sia più elevata di quella delle betacianine durante il processo di maturazione. Alla fine di questo processo la differenza di concentrazione tra le due classi di betalaine diventa minima. Per quanto riguarda invece il mesocarpo, la percentuale di betacianine è sempre più elevata, ma entrambe le classi di pigmenti aumentano la propria concentrazione durante le fasi di maturazione ovvero da 10 DPA a 26 DPA, 3,40 mg/100 g DW e 2,70 mg/100g DW, per poi crescere in modo drastico alla fine del processo maturativo con le betacianine che hanno una concentrazione di 2,9 volte superiori alle betaxantine con una concentrazione di 32,54 mg/100g DW e 11,21mg/100 g DW (Wu et al., 2019). Tuttavia, altri studi evidenziano la totale assenza di betaxantine e l'esclusiva presenza di betacianine, che sono molto più stabili (Vaillant et al., 2005). La presenza di betacianine nel mesocarpo, che sarebbe prodotto di scarto, aumenta il valore economico di questi frutti, in particolare dall'esocarpo possono essere estratti fino a 150 mg di betacianine su 100 g di mesocarpo (Chew et al., 2019).

L'estratto di dragon fruit presenta delle capacità antiossidanti dovuti alla presenza di betalaine con altri metaboliti secondari con proprietà antiossidanti (ad esempio la vitamina C

e la vitamina E) e composti fenolici (Jamilah et al., 2011). Questi formano un fitocomplesso antiossidante, in particolare Esquivel e colleghi (Esquivel et al., 2007) hanno evidenziato come nonostante l'ubiquità di betalaine e altri composti fenolici, il contributo maggiore all'attività antiossidante sia data dalle prime.

L'estratto di dragon fruit è un buon antiossidante; inoltre si è visto come l'estratto fresco o il succo abbiamo una proprietà antiossidante maggiore rispetto all'estratto secco essiccato con tecnica spray dry (Joshi & Prabhakar, 2020). È anche stata evidenziata un'attività antimicrobica. È stata studiata *in vivo* l'attività sinergica tra questo estratto con il cloramfenicolo su lesioni da calore sui ratti e si è studiata l'inibizione di crescita di *Pseudomonas aeruginosa* (Joshi & Prabhakar, 2020).

Inoltre, l'estratto di dragon fruit ha mostrato buona attività citotossica nei confronti di alcune linee cellulari di tumori umani, in particolare tumore alla prostata, tumore al seno e tumore allo stomaco. L'attività citotossica è dose dipendente, l'IC₅₀ di *S. monacanthus* è 0,73 mg/ml h, mentre per *S. undatus* è 0,61 mg/ml h. È stato evidenziato che l'estratto di dragon fruit esercita attività citotossica contro una linea cellulare del tumore al seno umano (Joshi & Prabhakar, 2020).

Un'altra applicazione terapeutica dell'estratto di dragon fruit è contro il diabete e le complicazioni date da questa patologia. Estratti di *S. undatus* hanno dimostrato attività inibitoria contro la CAMP fosfodiesterasi (Joshi & Prabhakar, 2020).

Inoltre, al dragon fruit vengono riconosciute attività nutraceutiche, tra cui quella probiotica (Joshi & Prabhakar, 2020).

OPUNTIA SPP.



Figura 3: Sezione longitudinale di frutto di *Opuntia ficus indica*

Il genere *Opuntia* Mill. appartiene alla famiglia delle Cactaceae e comprende 136 specie (El-Mostafa et al., 2014; El Kossori et al., 1998; Ramírez-Ramos et al., 2018). Il genere è originario del Messico (Ramírez-Ramos et al., 2018) ed è stato introdotto in Europa dopo le esplorazioni europee e soprattutto a partire dal XVI secolo. Questo dato viene confermato dal fatto che i trattati medici arabi antecedentemente datati non riportano l'utilizzo di questi cactus. La specie fruttifera più consumata è *O. ficus-indica* (L.) Mill. (Moussa-Ayoub et al., 2016). Vengono anche usate *O. dillenii* (Ker Gawl.) Haw. (Betancourt et al., 2017; Moussa-Ayoub et al., 2016), *O. stricta* (Haw.) Haw. (Castellar et al., 2003; Yeddes et al., 2013), *O. robusta* H.L.Wendl. ex Pfeiff. (Du Toit et al., 2018), *O. macrorhiza* Engelm. (Moussa-Ayoub et al., 2016), *O. mesacantha* Raf. (Bourhia et al., 2020). Queste piante sono originarie dell'emisfero occidentale (Almela & Fernandez-Lopez, 2001) ed in particolare degli altipiani messicani, dove vengono coltivate. La produzione dei frutti di *O. ficus-indica* nel 2019 era di oltre 400.000 tonnellate (García-Cayuela et al., 2019). Inoltre, le diverse specie di *Opuntia* sono uno dei capisaldi dell'alimentazione della popolazione locale (Bouzoubaâ et al., 2016), sia sottoforma di frutto fresco che come frutto essiccato (El-Mostafa et al., 2014). Tutte le

specie sono diffuse soprattutto nelle aree tropicali e semi aride. Le specie di *Opuntia* sono in grado di sopravvivere in condizioni di siccità o di ridotto apporto idrico grazie ad un particolare metabolismo detto metabolismo dell'acido delle crassulacee o CAM. Questa particolarità metabolica permette la produzione di biomassa anche in condizioni di siccità, in particolare gli stomi vengono chiusi durante il giorno e aperti durante la notte quando la temperatura è inferiore (Ramírez-Ramos et al., 2018). Queste piante crescono meglio vicino al mare, perché riescono a sfruttare meglio la foschia della mattina e della notte delle zone marittime (Bouzoubaâ et al., 2016). La presenza di cere sia sui frutti che sui cladodi permette a questi di mantenere una colorazione verde anche quando c'è scarsità di acqua (Feugang et al., 2006).

Attualmente, *O. ficus-indica* è diffusa in America Centrale, America Meridionale, in alcune aree degli Stati Uniti, Sud Africa e paesi che si affacciano sul Mediterraneo (El-Mostafa et al., 2014; Jana, 2012). Questi cacti possono anche crescere in aree che presentano abbondanti precipitazioni nevose come l'Argentina e le Ande e il Canada (Feugang et al., 2006) In particolare, in Tunisia cresce su ottocentomila km² e in Marocco è diffuso ovunque eccetto le aree montane e il deserto del Sahara (Bouzoubaâ et al., 2016). Altre zone di diffusione si hanno nel Sud Est Asiatico, Korea del Sud (Kim et al., 2006), Australia e Madagascar (Jana, 2012). In Marocco sono diffuse tre varietà di *O. ficus-indica*: “Christian Nopal”, con cladodi spinosi, “Muslim Nopal”, con cladodi non spinosi, usati come foraggio per il bestiame e “Mose's Nopal”, con cladodi non spinosi, che produce frutti più grandi, e che cresce soprattutto a sud del Paese (El-Mostafa et al., 2014). In Italia il genere *Opuntia* è diffuso soprattutto in Sicilia e nelle regioni del sud, ma cresce spontaneamente anche a nord, ad esempio in Liguria. L'interesse per queste piante è sempre stato per l'uso alimentare, soprattutto a livello locale. Solo recentemente, alcune nazioni hanno incrementato

l'esportazione (Smeriglio et al., 2019). La Sicilia, in particolare, è il secondo produttore ed esportatore al mondo di frutti di fico d'India (Butera et al., 2002).

Il fico d'India, detto anche *prickly pear* (pera spinosa) (Ramírez-Ramos et al., 2018), è un frutto molto versatile, grazie al suo gusto dolce ma acidulo, che si presta alla preparazione di insalate, marmellate, e che viene utilizzato come base per dolci (Jana, 2012). Esso può anche essere consumato in infuso (El-Mostafa et al., 2014). Il contenuto di betalaine rende possibile l'estrazione di coloranti per l'industria alimentare, e il range di stabilità di questi pigmenti li rende ideali per colorare alimenti neutri e poco acidi, come ad esempio i latticini (Jana, 2012).

Il frutto è una bacca ovale con esocarpo, che costituisce dal 33 al 55% del suo peso, molto spesso che presenta delle formazioni simili a spine, ed un mesocarpo succoso, che costituisce dal 45 al 67% di peso del frutto (la percentuale di acqua si avvicina al 90%), con molti semi che costituiscono circa il 10% del mesocarpo (Piga, 2004). Il frutto può essere di diversi colori, giallo canarino, rosso, marrone, verde o viola. Il peso varia dai 100 ai 150 g e può arrivare a più di 200 g, a seconda delle condizioni di coltivazione e della cultivar (Feugang et al., 2006). La produzione di frutti annua è di circa quaranta tonnellate per ettaro (El Kossori et al., 1998). Le differenze di composizione dei metaboliti secondari del frutto dipendono dalla cultivar, dalla pianta, dalle condizioni climatiche e dal momento della raccolta. L'apporto calorico è di circa 50 kcal per 100 g ed è paragonabile a quello di altri frutti come, ad esempio, la pera o l'albicocca (Jana, 2012). Questi frutti presentano una shelf life breve, di circa 3 o 4 settimane, il che inficia la conservazione a lungo termine. Essi invece durano a lungo sulla pianta (Jana, 2012). Una delle strategie per aumentare il periodo di conservazione del frutto è la spremitura (Feugang et al., 2006; Sáenz et al., 1998). Il succo può essere pastorizzato, trattato a 115°C a pH neutro, o acidificato a pH 4 o 4,3, impiegando una temperatura di pastorizzazione intorno ai 100°C. In questo modo si preservano le betalaine e

altri metaboliti secondari, che altrimenti verrebbero degradati dalle temperature più elevate (Feugang et al., 2006).

Durante il processo di maturazione dei frutti sia di *Selenicereus* sia di *Opuntia* avviene una variazione del contenuto di pigmenti (Coria Cayupán et al., 2011). A maturità la concentrazione di quella di betalaine nel mesocarpo è intorno a valori di 72 – 132 µg/g e nell'esocarpo 36 -60 µg/g nel mesocarpo.

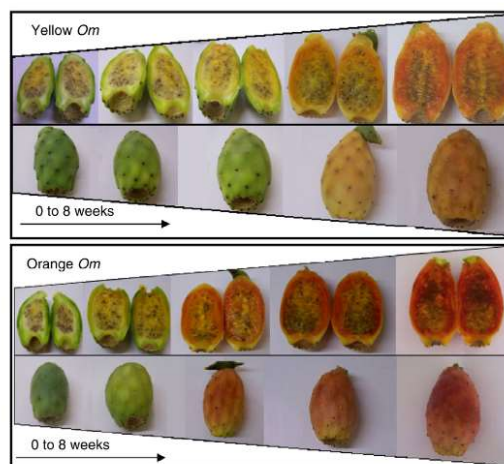


Figura 4 Cambiamento di colorazione dei frutti di *O. mesacantha* (Coria Cayupán et al., 2011)

Le colorazioni dei frutti sono molto variabili e possono andare dal rosso-viola al giallo e al bianco (Almela & Fernandez-Lopez, 2001).

In Egitto, la raccolta dei frutti di *O. ficus-indica* va da giugno a settembre, mentre quella dei frutti di *O. dillenii* da novembre a gennaio (Moussa-Ayoub et al., 2011).

Il fico d'India viene utilizzato in ambito alimentare (anche in forma di marmellate, gelatina e succo), salutistico e cosmetico (El-Mostafa et al., 2014). Il fico d'india veniva e viene tuttora consumato come frutto fresco o essiccato. Nei paesi del bacino del Mediterraneo viene utilizzato come alimento funzionale, grazie all'elevato valore nutrizionale e grazie alla

presenza di metaboliti secondari come le betacianine e betaxantine. Per quanto riguarda le betacianine si evidenziano betanina), isobetanina , betanidina, gonfrenina I e fillocactina , mentre come betaxantine si possono riconoscere portulacaxantina I , fenilalanina betaxantina , vulgaxantina IV (Piga, 2004; Smeriglio et al., 2019). Sono inoltre presenti taurina, calcio e magnesio (Piga, 2004), sodio, zinco, ferro, manganese e selenio (Galati et al, 2003), acido ascorbico, vitamina E, carotenoidi, fibre e amminoacidi (El-Mostafa et al., 2014).

Il valore nutrizionale di *O. ficus-indica* è dovuto soprattutto alla presenza di vitamina C e vitamina E, carotenoidi, fibre, amminoacidi e ad un elevato livello di glucosio e fruttosio (Feugang et al., 2006). La presenza di fenoli, flavonoidi e betalaine aumentano ulteriormente la salubrità di questi frutti, grazie alle loro attività ipoglicemizzanti, ipolipidemiche e antiossidanti (El-Mostafa et al., 2014). *O. ficus-indica* può contenere fino a 100 mg/100 g di betalaine, contro i 50 mg/100 g di *Beta vulgaris*, mentre *O. stricta* ne presenta 80 mg/100 g (Jana, 2012).

Il contenuto di acido ascorbico nel mesocarpo è circa 20-40 mg/100 g, e il pH è tra 5 e 6,6 (le betalaine sono stabili tra pH 3 e 7, quindi in questi frutti sono alla massima stabilità) (Jana, 2012).

Fino alla fine degli anni '80 erano conosciute le proprietà farmacologiche dei cladodi (Livrea & Tesoriere, 2006) (definiti anche "pale") ma non erano mai state indagate le proprietà farmacologiche del frutto del fico d'India. Nella medicina tradizionale e nelle farmacopee sub Sahariane (El-Mostafa et al., 2014) sono riportati sia i fiori che i frutti, a cui vengono riconosciute proprietà anti ulcerogeniche e proprietà antidiarroiche, che sono state oggetto anche di studi scientifici (Galati et al., 2003). Sono inoltre descritte attività antinfiammatoria, ipoglicemizzante, e neuroprotettiva (Kim et al., 2006). Nella medicina tradizionale messicana *O. ficus-indica* viene usato per la cura del diabete (Feugang et al., 2006), edemi,

iperlipidemia, obesità e gastrite catarrale. L'estratto alcolico viene inoltre utilizzato come antinfiammatorio ed antivirale. Nella medicina tradizionale viene usato per curare le affezioni di virus sia ad RNA che a DNA sia negli umani che negli animali (Feugang et al., 2006) e come ipoglicemizzante. Attualmente vengono suggerite potenzialità terapeutiche contro la sindrome metabolica, l'iperlipidemia, con studi che evidenziano come un consumo di 1g/kg di estratto di *O. ficus-indica* possa portare una riduzione delle LDL e dei trigliceridi (Feugang et al., 2006). È stato inoltre suggerito nel trattamento della steatosi epatica non alcolica, la sindrome metabolica, malattie dovute all'invecchiamento e a batteri e virus (El-Mostafa et al., 2014), ed in alcuni tipi di cancro. È stata studiata l'efficacia dell'estratto di *O. ficus-indica* contro la linea cellulare K562 della leucemia mieloide cronica (Sreekanth et al., 2007) e la linea cellulare HT29 del cancro al colon retto (Serra et al., 2013). *In vitro* inibisce la crescita di cellule cancerose della vescica, della cervice uterina e dell'ovaio. *In vivo*, su modello murino, ha attività antiproliferativa sul tumore nudo dell'ovaio, con azione sia dose che tempo dipendente. L'attività antiproliferativa è risultata molto simile a quella della retinammide, utilizzata per la chemoprevenzione (Feugang et al., 2006). Sembra, inoltre, che gli estratti di frutto di fico d'India siano efficaci per il trattamento e la prevenzione della dipendenza da alcol (El-Mostafa et al., 2014). La varietà Saboten, originaria della Corea del Sud, viene utilizzata nella medicina tradizionale coreana per diversi disturbi; come dolori addominali di varia natura, asma bronchiale, bruciature, difficoltà digestive e per la prevenzione del diabete (Kim et al., 2006).

L'effetto antiossidante dovuto ai metaboliti contenuti nei frutti di *O. ficus indica* è fino a due volte più elevato di pere, mele, pomodori, banane e uva bianca, mentre è paragonabile a quello dell'uva rossa e del pompelmo (Yeddes et al., 2013). Questo effetto antiossidante è da ascrivere all'attività complementare dei polifenoli, vitamina C e betalaine (Livrea & Tesoriere, 2006)

METODOLOGIE UTILIZZATE PER L'ESTRAZIONE E L'IDENTIFICAZIONE DEI METABOLITI SECONDARI

In questa tesi sono stati presi in esame frutti appartenenti al genere *Selenicereus* e frutti appartenenti al genere *Opuntia*.

A) *Selenicereus* Britton & Rose

S. monacanthus (Lem.) D.R.Hunt (Chia & Chong, 2015; Choo et al., 2019; D et al., 2009; Fadzliana et al., 2017; Fathordoobady et al., 2016; Foong et al., 2012; Harivaindaran et al., 2008; Herbach et al., 2004; Hor et al., 2012; Jamilah et al., 2011; Joshi & Prabhakar, 2020; Kunnika & Pranee, 2011; Lee et al., 2014; Leong et al., 2018; Luo et al., 2014; Mahayothee et al., 2019; Mustafa et al., 2018; Naderi et al., 2010; Nurul & Asmah, 2014; Rebecca et al., 2008; Ren et al., 2020; Sambasevam et al., 2020; Siow & Wong, 2017; Stintzing et al., 2002; T.T.M. & D.V., 2019; Tang, C.S & Norziah M.H, 2010; Wong & Siow, 2015; Wu et al., 2019; Wybraniec et al., 2007, 2009; Wybraniec & Mizrahi, 2005),

S. undatus (Haw.) D.R.Hunt (de Mello et al., 2015; Siow & Wong, 2017; Song et al., 2016),

S. costaricensis (F.A.C.Weber) S.Arias & N.Korotkova ex Hammel (Winson et al., 2020).

B) *Opuntia* Mill.

O. ficus-indica (L.) Mill. (Bourhia et al., 2020; Butera et al., 2002; Castellar et al., 2003; Cejudo-Bastante, Hurtado, et al., 2014; Du Toit et al., 2018; El-Hawary et al., 2020; Galati et al., 2003; García-Cayuela et al., 2019; Moussa-Ayoub et al., 2011; Ramírez-Ramos et al., 2018; Smeriglio et al., 2019; Yeddes et al., 2013),

O. dillenii (Ker Gawl.) Haw. (Betancourt et al., 2017; Moussa-Ayoub et al., 2016), *O. stricta* (Castellar et al., 2003; Yeddes et al., 2013),

O. robusta H.L.Wendl. ex Pfeiff. (Du Toit et al., 2018),

O. macrorhiza Engelm. (Moussa-Ayoub et al., 2016),

O. mesacantha Raf. (Bourhia et al., 2020).

Per quanto riguarda l'origine geografica sono stati presi in considerazione studi su frutti prodotti in:

Selenicereus: Malesia (Chang et al. 2020; (Choo et al., 2018, 2019; Mustafa et al., 2018; Nurul & Asmah, 2014; Winson et al., 2020), Cina (Qin et al., 2020; Wu et al., 2019), Israele (Wybraniec & Mizrahi, 2002), Giappone (Taira et al., 2015), Thailandia (Mahayothee et al., 2019), Vietnam (Le et al., 2020; T.T.M. & D.V., 2019), Corea del Sud (Lee et al., 2014), Indonesia (Priatni & Pradita, 2015), Nicaragua (Vaillant et al., 2005), Filippine (Rodriguez et al., 2016), Costa Rica (Esquivel et al., 2007);

Opuntia: Sud dell'Italia (Galati et al., 2003; Smeriglio et al., 2019), in Marocco (Bourhia et al., 2020), Tunisia, Egitto (El-Hawary et al., 2020), Venezuela (Viloria-Matos et al., 2001), Sud Africa (Du Toit et al., 2018), Spagna (García-Cayueta et al., 2019; Melgar et al., 2019), Portogallo (Mata et al., 2016), Messico (García-Cayueta et al., 2019; González-Ponce et al., 2020; Ramírez-Ramos et al., 2018), Australia (Gouws et al., 2019), India (Ravichandran & Ekambaram, 2018)

I frutti del drago (*Selenicereus* spp.) e i fichi d'India (*Opuntia* spp.) che vengono utilizzati per l'estrazione del fitocomplesso o di singoli metaboliti secondari vengono selezionati valutando lo stadio di maturazione. Esso può essere valutato conoscendo i giorni post antesi o post impollinazione, ad esempio tra i 30 e i 35 giorni (Fathordoobady et al., 2016) e i 35 e i 38 giorni (Nurul & Asmah, 2014). Un altro metodo di selezione, più accurato, è la valutazione

dei gradi Brix; nel frutto del drago maturo questi gradi sono tra i 13 e i 15 e quelli per un fico d'India maturo sono tra 12 e 14 (Cejudo-Bastante, Chaalal, et al., 2014). I gradi Brix servono per la misurazione della quantità di solidi solubili presenti in una matrice solida, nel caso del frutto del drago e del fico d'India, la maggior parte sono zuccheri (Chang et al., 2020).

Prima di procedere con l'estrazione vera e propria è importante che il frutto sia lavato e asciugato, in modo da eliminare eventuali detriti che potrebbero inficiare il processo estrattivo e le analisi successive (Hor et al., 2012; Lee et al., 2014; Nurul & Asmah, 2014).

I frutti dopo essere stati lavati vengono sbucciati e poi le parti di mesocarpo ed esocarpo sono conservate a temperature basse -80°C (Wu et al., 2019) o a -20°C e al riparo dalla luce (T.T.M. & D.V., 2019).

Ai fini estrattivi il frutto o sue parti possono essere frullati ottenendo un succo che viene poi liofilizzato (T.T.M. & D.V., 2019). Dal liofilizzato in polvere si può procedere con l'estrazione.

Composti che possono interferire con l'estrazione, ad esempio le pectine, vengono fatti precipitare per trattamento con etanolo. In alternativa, si possono usare degli enzimi che portano alla lisi delle pectine e delle mucillagini, come ad esempio il Pectinex (Naderi et al., 2010).

I solventi più utilizzati per l'estrazione di metaboliti secondari dai frutti di *Selenicereus* spp. sono acetone (Razak et al., 2017; Wu et al., 2019), acqua distillata e/o deionizzata (Azwanida et al., 2014; D et al., 2009; Liu et al., 2019; Rebecca et al., 2008; Rodriguez et al., 2016; Stintzing et al., 2002; Thirugnanasambandham & Sivakumar, 2017), etanolo (Anni Faridah, 2015; D et al., 2009; Kunnika & Pranee, 2011; Naderi et al., 2010; Ren et al., 2020; Siow & Wong, 2017; Wybraniec & Mizrahi, 2002), metanolo (Mahayothee et al., 2019; Tenore et al., 2012) ed estrazione mediante CO_2 supercritica (Fathordoobady et al., 2016). Alcuni autori hanno utilizzato il succo del frutto (Chia & Chong, 2015; Esquivel et al., 2007;

Mata et al., 2016; Nurul & Asmah, 2014; Rebecca et al., 2010; Siow & Wong, 2017; Tze et al., 2012; Vaillant et al., 2005), o il prodotto della fermentazione dei frutti (Choo et al., 2019; Foong et al., 2012).

Prima dell'analisi qualitativa e l'identificazione dei vari metaboliti secondari si procede con l'analisi quantitativa, in particolare con il calcolo delle betacianine totali e il calcolo dei fenoli totali. In particolare, le betacianine vengono espresse in mg betanina/100 g di frutto, le betaxantine in mg indicaxantina/100 g di frutto e il totale viene calcolato sommando le betacianine totali e le betaxantine totali. I fenoli e i flavonoidi invece vengono misurati in mg equivalenti di acido gallico/100 g di frutto e i carotenoidi totali in μg di equivalenti di β carotene/100 g di frutto (Almela & Fernandez-Lopez, 2001)

Questi metodi, però, non portano ad un'analisi qualitativa; quindi, occorre separare ed analizzare ulteriormente i componenti. Per questo sono utili le tecniche cromatografiche accoppiate alla spettrometria di massa.

I solventi usati sono in genere acqua con acido formico 1% o acido acetico 0,5% (eluente A) e acetonitrile con acido formico 1% o acido acetico 0,5 (eluente B) (Castellanos-Santiago & Yahia, 2008; El-Hawary et al., 2020; Fernández-López et al., 2007; Osorio-Esquivel et al., 2011; T.T.M. & D.V., 2019; Yahia et al., 2010), operando con gradienti lineari o in isocratica, e talvolta a temperatura controllata, ad esempio a 35°C (Mata et al., 2016) o 25°C (Fernández-López et al., 2007).

Le colonne cromatografiche utilizzate possono essere C18 a fase inversa (Fernández-López et al., 2007; Osorio-Esquivel et al., 2011), F5 (El-Hawary et al., 2020), o C30 a fase inversa (Yahia et al., 2010). Per i composti fenolici si impiegano anche colonne LH20.

Il monitoraggio delle betacianine e relativi prodotti di degradazione nei sistemi HPLC-DAD avviene rispettivamente a 538 nm e 476 nm. L'acido betalamico (1) viene rilevato a 415 nm, le betaxantine a 485 nm e l'acido *p*-idrossicinnamico a 320 nm.

La separazione dei carotenoidi avviene mediante metanolo (solvente A) e metil-t-butil etere (solvente B), su colonna C30 a 15°C prima in isocratica e successivamente con gradiente lineare (Yahia et al., 2010).

La GC-MS viene invece usata molto raramente, ed è stata riportata per analisi su specie di *Selenicereus* (Luo et al., 2014) e per *O. ficus-indica* (Suh et al., 2017).

PRINCIPALI COMPOSTI ISOLATI

Betalaine

Nei frutti di *Selenicereus* spp. sono state descritte betanina, fillocactina , ilocerenina ed indicaxantina (Joshi & Prabhakar, 2020; Kugler et al., 2007; Luo et al., 2014; Ramli et al., 2014; Stintzing et al., 2003; T.T.M. & D.V., 2019; Taira et al., 2015). In *S. monacanthus* sono state descritte buganvillina, betanina, isobetanina, fillocactina e isofillocactina (Stintzing et al., 2002).

In *O. ficus-indica* sono state descritte betaxantina, betanina, isobetanina , indicaxantina , tirosin-betaxantina , leucina-betaxantina , fenilalanina betaxantina)e triptofano betaxantina (Mata et al., 2016), vulgaxantina IV e portulacaxantina I (Smeriglio et al., 2019). In *O. stricta* sono state identificate betanina , isobetanina , neobetanina , gonfrenina I ed acido betalamico (Fernández-López et al., 2007).

Acidi organici e Fenoli

O. ficus-indica (Mata et al., 2016), contiene molti acidi organici, tra cui l'acido malico , l'acido chinico , l'acido citrico , l'acido succinico , l'acido *p*-idrossibenzoico , l'acido piscidico), acido eucomico , ed un glucoside dell'acido ferulico (El-Hawary et al., 2020).

Nei frutti di *Selenicereus* spp. sono stati evidenziati acido siringico , acido vanillico acido *p*-idrossibenzoico), acido caffeico e acido gallico (Joshi & Prabhakar, 2020).

Flavonoidi

Nei frutti di *O. ficus-indica* sono stati evidenziati rutina , quercetina , isoramnetina-quercetin-glucoside , isoramnetin glucosil-di-ramnoside , isoramnetin pentosil-rutinoside , isoramnetina pentosil-ramnoside (Mata et al., 2016), canferolo-3-O-rutinoside , isoramnetina-3-O-rutinoside e isoramnetina 3-O-glucoside (Galati et al., 2003).

Carotenoidi e clorofille

Sono stati rilevati diversi carotenoidi, soprattutto in tracce, quali neoxantina e violaxantina mentre l'unico carotenoide presente in quantità elevata era la luteina. Tra i pigmenti fotosintetici era presente la clorofilla A (Yahia et al., 2010).

Altri metaboliti secondari

In *Selenicereus* spp. sono stati evidenziati l'acido oleico , lo squalene , l'octadecanale , l'1-nonadecene , e l'eicosano (Luo et al., 2014).

CONCLUSIONI

I frutti di *Selenicereus* spp. e di *Opuntia* spp. sono ricchi di pigmenti, in particolare di betalaine, che sono pigmenti con molte potenzialità per la salute umana, di composti fenolici e flavonoidici, fondamentali per l'attività antiossidante. Per quanto riguarda l'estrazione, devono essere compiuti diversi passaggi di purificazione. Tra le tecniche cromatografiche l'HPLC anche accoppiata alla spettrometria di massa, rappresenta la scelta di elezione.

Dai risultati si evince che vi sono differenze nella presenza di metaboliti secondari sia tra i due generi, sia da un punto di vista quantitativo che da un punto di vista qualitativo. Sono presenti differenze anche tra frutti della stessa specie ma provenienti da cultivar diverse, raccolti in momenti della stagione diversa o in anni diversi.

BIBLIOGRAFIA

- Almela, L., & Fernandez-Lopez, J. A.** (2001). Application of high-performance liquid chromatography to the characterization of the betalain pigments in prickly pear fruits. *Journal of Chromatography A*, **913**, 415–420.
- Anna Skopińska, Dominika Szot, Karolina Starzak, Y. M., & Wybraniec, S.** (2015). The effect of ascorbic acid supplementation on betacyanin stability in purple pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) juice. *Challenges of Modern Technology*, **6(4)**, 14–18.
- Anni Faridah, R. H. and D. S. 1 1.** (2015). Betalains from Red Pitaya Peel (*Hylocereus polyrhizus*): Extraction, Spectrophotometric and HPLC-DAD Identification, Bioactivity and Toxicity Screening.
- Attoe, E. L., & von Elbe, J. H.** (1982). Degradation Kinetics of Betanine in Solutions As Influenced by Oxygen. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **30(4)**, 708–712.
- Azeredo, H. M. C.** (2009). Betalains: Properties, sources, applications, and stability - A review. *International Journal of Food Science and Technology*, **44(12)**, 2365–2376.
- Azwanida, N. N., Normasarah, N., & Afandi, A.** (2014). Utilization and Evaluation of Betalain Pigment from Red Dragon Fruit (*Hylocereus Polyrhizus*) as a Natural Colorant for Lipstick. *Jurnal Teknologi*, **69(6)**, 139–142.
- Betancourt, C., Cejudo-Bastante, M. J., Heredia, F. J., & Hurtado, N.** (2017). Pigment composition and antioxidant capacity of betacyanins and betaxanthins fractions of *Opuntia dillenii* (Ker Gawl) Haw cactus fruit. *Food Research International*, **101**(May), 173–179.
- Bourhia, M., Elmahdaoui, H., Ullah, R., Ibenmoussa, S., & Shahat, A. A.** (2020). Physicochemical evaluation of the fruit pulp of *Opuntia* spp growing in the Mediterranean area under hard climate conditions. **565–575**.
- Bouzoubaâ, Z., Essoukrati, Y., Tahrouch, S., Hatimi, A., Gharby, S., & Harhar, H.** (2016). Phytochemical study of prickly pear from southern Morocco. *Journal of the*

Saudi Society of Agricultural Sciences, **15(2)**, 155–161.

Butera, D., Tesoriere, L., Di Gaudio, F., Bongiorno, A., Allegra, M., Pintaudi, A. M.,

Kohen, R., & Livrea, M. A. (2002). Antioxidant activities of sicilian prickly pear

(*Opuntia ficus indica*) fruit extracts and reducing properties of its betalains: Betanin and indicaxanthin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50(23)**, 6895–6901.

Castellanos-Santiago, E., & Yahia, E. M. (2008). Identification and quantification of

betalains from the fruits of 10 Mexican prickly pear cultivars by high-performance liquid chromatography and electrospray ionization mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **56(14)**, 5758–5764.

Castellar, R., Obón, J. M., Alacid, M., & Fernández-López, J. A. (2003). Color properties

and stability of betacyanins from *Opuntia* fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **51(9)**, 2772–2776.

Cejudo-Bastante, M. J., Chaalal, M., Louaileche, H., Parrado, J., & Heredia, F. J.

(2014). Betalain profile, phenolic content, and color characterization of different parts and varieties of *Opuntia ficus-indica*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **62(33)**, 8491–8499.

Cejudo-Bastante, M. J., Hurtado, N., Mosquera, N., & Heredia, F. J. (2014). Potential

use of new Colombian sources of betalains. Color stability of ulluco (*Ullucus tuberosus*) extracts under different pH and thermal conditions. *Food Research International*, **64**, 465–471.

Celli, G. B., & Brooks, M. S. L. (2017). Impact of extraction and processing conditions on

betalains and comparison of properties with anthocyanins — A current review. *Food Research International*, **100**, 501–509.

Chew, Y. M., Hung, C. H., & King, V. A. E. (2019). Accelerated storage test of betalains

extracted from the peel of pitaya (*Hylocereus cacti*) fruit. *Journal of Food Science and*

- Technology*, **56(3)**, 1595–1600.
- Chia, S. L., & Chong, G. H.** (2015). Effect of Drum Drying on Physico-chemical Characteristics of Dragon Fruit Peel (*Hylocereus polyrhizus*). *International Journal of Food Engineering*, **11(2)**, 285–293.
- Choo, K. Y., Kho, C., Ong, Y. Y., Thoo, Y. Y., Lim, L. H., Tan, C. P., & Ho, C. W.** (2018). Fermentation of red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) for betalains concentration. *International Food Research Journal*, **25(6)**, 2539–2546.
- Choo, K. Y., Ong, Y. Y., Lim, R. L. H., Tan, C. P., & Ho, C. W.** (2019). Study on bioaccessibility of betacyanins from red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*). *Food Science and Biotechnology*, **28(4)**, 1163–1169.
- Coria Cayupán, Y. S., Ochoa, M. J., & Nazareno, M. A.** (2011). Health-promoting substances and antioxidant properties of *Opuntia* sp. fruits. Changes in bioactive-compound contents during ripening process. *Food Chemistry*, **126(2)**, 514–519.
- D, P., K, C. M., A, S. A., M, L. O., & O, J. A.** (2009). Red-fleshed pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) fruit colour and betacyanin content depend on maturity. *International Food Research Journal*, **16**, 233–242.
- de Mello, F. R., Bernardo, C., Dias, C. O., Gonzaga, L., Amante, E. R., Fett, R., & Candido, L. M. B.** (2015). Antioxidant properties, quantification and stability of betalains from pitaya (*Hylocereus undatus*) peel. *Ciencia Rural*, **45(2)**, 323–328.
- Du Toit, A., De Wit, M., Osthoff, G., & Hugo, A.** (2018). Relationship and correlation between antioxidant content and capacity, processing method and fruit colour of cactus pear fruit. *Food and Bioprocess Technology*, **11(8)**, 1527–1535.
- El-Hawary, S. S., Sobeh, M., Badr, W. K., Abdelfattah, M. A. O., Ali, Z. Y., El-Tantawy, M. E., Rabe, M. A., & Wink, M.** (2020). HPLC-PDA-MS/MS profiling of secondary metabolites from *Opuntia ficus-indica* cladode, peel and fruit pulp extracts

and their antioxidant, neuroprotective effect in rats with aluminum chloride induced neurotoxicity. *Saudi Journal of Biological Sciences*, **27(10)**, 2829–2838.

El-Mostafa, K., El Kharrassi, Y., Badreddine, A., Andreoletti, P., Vamecq, J., El Kebbaj, M. S., Latruffe, N., Lizard, G., Nasser, B., & Cherkaoui-Malki, M. (2014). Nopal cactus (*Opuntia ficus-indica*) as a source of bioactive compounds for nutrition, health and disease. *Molecules*, **19(9)**, 14879–14901.

El Kossori, R. L., Villaume, C., El Boustani, E., Sauvaire, Y., & Méjean, L. (1998). Composition of pulp, skin and seeds of prickly pears fruit (*Opuntia ficus indica* sp.). *Plant Foods for Human Nutrition*, **52(3)**, 263–270.

Esatbeyoglu, T., Wagner, A. E., Schini-Kerth, V. B., & Rimbach, G. (2015). Betanin-A food colorant with biological activity. *Molecular Nutrition and Food Research*, **59(1)**, 36–47.

Esquivel, P., Stintzing, F. C., & Carle, R. (2007). Pigment pattern and expression of colour in fruits from different *Hylocereus* sp. genotypes. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, **8(3)**, 451–457.

Fadzliana, N. A. F., Rogayah, S., Shaharuddin, N. A., & Janna, O. A. (2017). Addition of L-Tyrosine to improve betalain production in red pitaya callus. *Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science*, **40(4)**, 521–532.

Fathordoobady, F., Mirhosseini, H., Selamat, J., & Manap, M. Y. A. (2016). Effect of solvent type and ratio on betacyanins and antioxidant activity of extracts from *Hylocereus polyrhizus* flesh and peel by supercritical fluid extraction and solvent extraction. *Food Chemistry*, **202**, 70–80.

Fernández-López, J. A., Castellar, R., Obón, J. M., & Almela, L. (2007). Monitoring by liquid chromatography coupled to mass spectrometry the impact of pH and temperature on the pigment pattern of cactus pear fruit extracts. *Journal of Chromatographic*

Science, **45(3)**, 120–125.

- Feugang, J. M., Konarski, P., Zou, D., Stintzing, F. C., & Zou, C.** (2006). Nutritional and medicinal use of Cactus pear (*Opuntia spp.*) cladodes and fruits. *Frontiers in Bioscience*, **11(SUPPL. 2)**, 2574–2589.
- Foong, J. H., Hon, W. M., & Ho, C. W.** (2012). Bioactive Compounds Determination in Fermented Liquid. *Borneo Science*, *September*, 37–56.
- Galati, E. M., Mondello, M. R., Giuffrida, D., Dugo, G., Miceli, N., Pergolizzi, S., & Taviano, M. F.** (2003). Chemical characterization and biological effects of sicilian *Opuntia ficus indica* (L.) Mill. fruit juice: Antioxidant and antiulcerogenic activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **51(17)**, 4903–4908.
- García-Cayuela, T., Gómez-Maqueo, A., Guajardo-Flores, D., Welti-Chanes, J., & Cano, M. P.** (2019). Characterization and quantification of individual betalain and phenolic compounds in Mexican and Spanish prickly pear (*Opuntia ficus-indica* L. Mill) tissues: A comparative study. *Journal of Food Composition and Analysis*, **76**(May 2018), 1–13.
- Gharras, H. El.** (2011). Betalain: A Particular Class of Antioxidant Pigment. *Natural Product Communications*, **6(10)**, 1934578X1100601.
- González-Ponce, H. A., Martínez-Saldaña, M. C., Tepper, P. G., Quax, W. J., Buist-Homan, M., Faber, K. N., & Moshage, H.** (2020). Betacyanins, major components in *Opuntia* red-purple fruits, protect against acetaminophen-induced acute liver failure. *Food Research International*, **137**(April), 109461.
- Gouws, C. A., Georgiouopoulou, E., Mellor, D. D., & Naumovski, N.** (2019). The effect of juicing methods on the phytochemical and antioxidant characteristics of the purple prickly pear (*Opuntia ficus Indica*)—preliminary findings on juice and pomace. *Beverages*, **5(2)**, 1–18.

- Harivaindaran, K. V., Rebecca, O. P. S., & Chandran, S.** (2008). Dye2.Pdf. In *Pakistan Journal of Biological Science* (Vol. 11, Issue 18, pp. 2259–2263).
- Herbach, K. M., Stintzing, F. C., & Carle, R.** (2004). Impact of thermal treatment on color and pigment pattern of red beet (*Beta vulgaris* L.) preparations. *Journal of Food Science*, **69**(6).
- Herbach, K. M., Stintzing, F. C., & Carle, R.** (2006). Betalain stability and degradation - Structural and chromatic aspects. *Journal of Food Science*, **71**(4).
- Hor, S. Y., Ahmad, M., Farsi, E., Yam, M. F., Hashim, M. A., Lim, C. P., Sadikun, A., & Asmawi, M. Z.** (2012). Safety assessment of methanol extract of red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*): Acute and subchronic toxicity studies. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, *63*(1), 106–114. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2012.03.006>
- Hussain, E. A., Sadiq, Z., & Zia-Ul-Haq, M.** (2018). Betalains: Biomolecular aspects. In *Betalains: Biomolecular Aspects*.
- Jamilah, B., Shu, C. E., Kharidah, M., Dzulkifly, M. A., & Noranizan, A.** (2011). Physico-chemical characteristics of red pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) peel. *International Food Research Journal*, **18**(1), 279–286.
- Jana, S.** (2012). Nutraceutical and functional properties of cactus pear (*Opuntia spp.*) and its utilization for food applications. *Journal of Engineering Research and Studies*, **3**(2), 60–66.
- Joshi, M., & Prabhakar, B.** (2020). Phytoconstituents and pharmaco-therapeutic benefits of pitaya: A wonder fruit. *Journal of Food Biochemistry*, **44**(7), 1–15.
- Kanner, J., Harel, S., & Granit, R.** (2001). Betalains - A new class of dietary cationized antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **49**(11), 5178–5185.
- Khan, M. I.** (2016). Plant Betalains: Safety, Antioxidant Activity, Clinical Efficacy, and Bioavailability. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, **15**(2), 316–

- Khan, M. I., & Giridhar, P.** (2015). Plant betalains: Chemistry and biochemistry. *Phytochemistry*, **117**, 267–295.
- Khan, M. I., Harsha, P. S. C. S., Chauhan, A. S., Vijayendra, S. V. N., Asha, M. R., & Giridhar, P.** (2015). Betalains rich *Rivina humilis* L. berry extract as natural colorant in product (fruit spread and RTS beverage) development. *Journal of Food Science and Technology*, **52(3)**, 1808–1813.
- Kim, J. H., Park, S. M., Ha, H. J., Moon, C. J., Shin, T. K., Kim, J. M., Lee, N. H., Kim, H. C., Jang, K. J., & Wie, M. B.** (2006). *Opuntia ficus-indica* attenuates neuronal injury in in vitro and in vivo models of cerebral ischemia. *Journal of Ethnopharmacology*, **104(1–2)**, 257–262.
- Kugler, F., Stintzing, F. C., & Carle, R.** (2007). Evaluation of the antioxidant capacity of betalainic fruits and vegetables. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, **81(1)**, 69–76.
- Kunnika, S., & Pranee, A.** (2011). Influence of enzyme treatment on bioactive compounds and colour stability of betacyanin in flesh and peel of red dragon fruit *Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton and Rose. *International Food Research Journal*, **18(4)**, 1437–1448.
- Lampe, J. W.** (1999). Health effects of vegetables and fruit: Assessing mechanisms of action in human experimental studies. *American Journal of Clinical Nutrition*, **70(3 SUPPL.)**.
- Lee, S., Suh, D. H., Lee, S., Heo, D. Y., Kim, Y. S., Cho, S. K., & Lee, C. H.** (2014). Metabolite profiling of red and white pitayas (*Hylocereus polyrhizus* and *Hylocereus undatus*) for comparing betalain biosynthesis and antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **62(34)**, 8764–8771.
- Leong, H. Y., Ooi, C. W., Law, C. L., Julkifle, A. L., Ling, T. C., & Show, P. L.** (2018).

- Application of liquid biphasic flotation for betacyanins extraction from peel and flesh of *Hylocereus polyrhizus* and antioxidant activity evaluation. *Separation and Purification Technology*, **201(February)**, 156–166.
- Liu, B., Ye, C., Geng, L., & Zhou, W.** (2019). Betacyanins in dragon fruit peels: the kinetic models of their degradation under different treatment conditions. *International Journal of Food Science and Technology*, **54(10)**, 2949–2962.
- Livrea, M. A., & Tesoriere, L.** (2006). Health Benefits and Bioactive Components of the Fruits. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*, **8(November)**, 73–90.
- Luo, H., Cai, Y., Peng, Z., Liu, T., & Yang, S.** (2014). Chemical composition and in vitro evaluation of the cytotoxic and antioxidant activities of supercritical carbon dioxide extracts of pitaya (dragon fruit) peel. *Chemistry Central Journal*, **8(1)**, 1–7.
- Mahayothee, B., Komonsing, N., Khuwijitjaru, P., Nagle, M., & Müller, J.** (2019). Influence of drying conditions on colour, betacyanin content and antioxidant capacities in dried red-fleshed dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*). *International Journal of Food Science and Technology*, **54(2)**, 460–470.
- Mata, A., Ferreira, J. P., Semedo, C., Serra, T., Duarte, C. M. M., & Bronze, M. R.** (2016). Contribution to the characterization of *Opuntia* spp. juices by LC-DAD-ESI-MS/MS. *Food Chemistry*, **210**, 558–565.
- Melgar, B., Dias, M. I., Barros, L., Ferreira, I. C. F. R., Rodriguez-Lopez, A. D., & Garcia-Castello, E. M.** (2019). Ultrasound and microwave assisted extraction of *Opuntia* fruit peels biocompounds: Optimization and comparison using RSM-CCD. *Molecules*, **24(19)**, 1–16.
- Montiel-Sánchez, M., García-Cayuela, T., Gómez-Maqueo, A., García, H. S., & Cano, M. P.** (2021). In vitro gastrointestinal stability, bioaccessibility and potential biological

- activities of betalains and phenolic compounds in cactus berry fruits (*Myrtillocactus geometrizans*). *Food Chemistry*, **342**(August 2020), 128087.
- Moussa-Ayoub, T. E., El-Samahy, S. K., Rohn, S., & Kroh, L. W.** (2011). Flavonols, betacyanins content and antioxidant activity of cactus *Opuntia macrorhiza* fruits. *Food Research International*, **44**(7), 2169–2174.
- Moussa-Ayoub, T. E., Jaeger, H., Youssef, K., Knorr, D., El-Samahy, S., Kroh, L. W., & Rohn, S.** (2016). Technological characteristics and selected bioactive compounds of *Opuntia dillenii* cactus fruit juice following the impact of pulsed electric field pre-treatment. *Food Chemistry*, **210**, 249–261.
- Mustafa, M. A., Ali, A., Seymour, G., & Tucker, G.** (2018). Treatment of dragonfruit (*Hylocereus polyrhizus*) with salicylic acid and methyl jasmonate improves postharvest physico-chemical properties and antioxidant activity during cold storage. *Scientia Horticulturae*, **231**(July 2017), 89–96.
- Naderi, N., Stintzing, F. C., Ghazali, H. M., Manap, Y. A., & Jazayeri, S. D.** (2010). Betalain extraction from *Hylocereus polyrhizus* for natural food coloring purposes. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*, **12**, 143–154.
- Nurul, S. R., & Asmah, R.** (2014). Variability in nutritional composition and phytochemical properties of red pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) from Malaysia and Australia. *International Food Research Journal*, **21**(4), 1689–1697.
- Osorio-Esquivel, O., Alicia-Ortiz-Moreno, Álvarez, V. B., Dorantes-Álvarez, L., & Giusti, M. M.** (2011). Phenolics, betacyanins and antioxidant activity in *Opuntia joconostle* fruits. *Food Research International*, **44**(7), 2160–2168.
- Panche, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R.** (2016). Flavonoids: An overview. *Journal of Nutritional Science*, **5**.
- Pátkai, G., & Barta, J.** (1996). Decomposition of betacyanins and betaxanthins by heat and

- pH changes. *Nahrung - Food*, **40(5)**, 267–270.
- Piga, A.** (2004). Cactus pear: A fruit of nutraceutical and functional importance. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*, *6*(October 2004), 9–22.
- Polturak, G., & Aharoni, A.** (2018). “La Vie en Rose”: Biosynthesis, Sources, and Applications of Betalain Pigments. *Molecular Plant*, *11*(1), 7–22.
- Priatni, S., & Pradita, A.** (2015). Stability Study of Betacyanin Extract from Red Dragon Fruit (*Hylocereus Polyrhizus*) Peels. *Procedia Chemistry*, **16**, 438–444.
- Qin, Y., Xu, F., Yuan, L., Hu, H., Yao, X., & Liu, J.** (2020). Comparison of the physical and functional properties of starch/polyvinyl alcohol films containing anthocyanins and/or betacyanins. *International Journal of Biological Macromolecules*, **163**, 898–909.
- Ramírez-Ramos, M., Medina-Dzul, K., García-Mateos, R., Corrales-García, J., Ybarra-Moncada, C., & Castillo-González, A. M.** (2018). Nutraceutical components, antioxidant activity, and color of 11 varieties of prickly pear (*Opuntia* sp.). *Journal of Applied Botany and Food Quality*, **91**, 211–218.
- Ramli, N. S., Brown, L., Ismail, P., & Rahmat, A.** (2014). Effects of red pitaya juice supplementation on cardiovascular and hepatic changes in high-carbohydrate, high-fat diet-induced metabolic syndrome rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, **14**, 1–10. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-14-189>
- Ravichandran, R., & Ekambaram, N.** (2018). Assessment of factors influencing the concentration of betacyanin from *Opuntia ficus-indica* using forward osmosis: Concentration of betacyanin using forward osmosis. *Journal of Food Science and Technology*, **55(7)**, 2361–2369.
- Razak, U. N. A. A., Taha, R. M., Musa, S. A. N. illa C., & Mohamed, N.** (2017). Detection of betacyanins pigment stability from *Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton & Rose fruit pulp and peel for possible use as natural coating. *Pigment and Resin*

Technology, **46(4)**, 303–308.

- Rebecca, O. P. S., Boyce, A. N., & Chandran, S.** (2010). Pigment identification and antioxidant properties of red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*). *African Journal of Biotechnology*, **9(10)**, 1450–1454.
- Rebecca, O. P. S., Zuliara, R., Boyce, A. N., & Chandran, S.** (2008). Determining pigment extraction efficiency and pigment stability of dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*). In *Journal of Biological Sciences (Vol. 8, Issue 7)*, pp. 1174–1180.
- Ren, N., Wang, C., Zhao, Z., Cheng, C., Wei, W., & Qin, G.** (2020). Extraction of betacyanins from *Hylocereus polyrhizus* (dragon fruit) peel and further enrichment by adsorption. *International Journal of Food Engineering*, **16(12)**.
- Reynoso, R., Garcia, F. A., Morales, D., & Gonzalez De Mejia, E.** (1997). Stability of Betalain Pigments from a Cactacea Fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **45(8)**, 2884–2889.
- Rodriguez-Amaya, D. B.** (2019). Update on natural food pigments - A mini-review on carotenoids, anthocyanins, and betalains. *Food Research International*, **124**(May 2018), 200–205.
- Rodriguez, E. B., Vidallon, M. L. P., Mendoza, D. J. R., & Reyes, C. T.** (2016). Health-promoting bioactivities of betalains from red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton and Rose) peels as affected by carbohydrate encapsulation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **96(14)**, 4679–4689.
- Sáenz, C., Estévez, A. M., Sepúlveda, E., & Mecklenburg, P.** (1998). Cactus pear fruit: A new source for a natural sweetener. *Plant Foods for Human Nutrition*, **52(2)**, 141–149.
- Sambasevam, K. P., Yunos, N., Mohd Rashid, H. N., Baharin, S. N. A., Suhaimi, N. F., Raoov, M., & Shahabuddin, S.** (2020). Optimization of Natural Colour Extraction from Dragon Fruit (*Hylocereus polyrhizus*) Peel. *Scientific Research Journal*, **17(2)**, 33.

- Sharma, M., Usmani, Z., Gupta, V. K., & Bhat, R.** (2021). Valorization of fruits and vegetable wastes and by-products to produce natural pigments. *Critical Reviews in Biotechnology*, **41**(4), 535–563.
- Siow, L. F., & Wong, Y. M.** (2017). Effect of juice concentration on storage stability, betacyanin degradation kinetics, and sensory acceptance of red-fleshed dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) juice. *International Journal of Food Properties*, **20**(3), 623–632.
- Smeriglio, A., Bonasera, S., Germanò, M. P., D'Angelo, V., Barreca, D., Denaro, M., Monforte, M. T., Galati, E. M., & Trombetta, D.** (2019). *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. fruit as source of betalains with antioxidant, cytoprotective, and anti-angiogenic properties. *Phytotherapy Research*, **33**(5), 1526–1537.
- Song, H., Chu, Q., Xu, D., Xu, Y., & Zheng, X.** (2016). Purified Betacyanins from *Hylocereus undatus* Peel Ameliorate Obesity and Insulin Resistance in High-Fat-Diet-Fed Mice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **64**(1), 236–244.
- Sreekanth, D., Arunasree, M. K., Roy, K. R., Chandramohan Reddy, T., Reddy, G. V., & Reddanna, P.** (2007). Betanin a betacyanin pigment purified from fruits of *Opuntia ficus-indica* induces apoptosis in human chronic myeloid leukemia Cell line-K562. *Phytomedicine*, **14**(11), 739–746.
- Stintzing, F. C., Schieber, A., & Carle, R.** (2002). Betacyanins in fruits from red-purple pitaya, *Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton & Rose. *Food Chemistry*, **77**(1), 101–106.
- Stintzing, F. C., Schieber, A., & Carle, R.** (2003). Evaluation of colour properties and chemical quality parameters of cactus juices. *European Food Research and Technology*, **216**(4), 303–311.
- Suh, S., Kim, Y. E., Yang, H. J., Ko, S., & Hong, G. P.** (2017). Influence of autoclave

- treatment and enzymatic hydrolysis on the antioxidant activity of *Opuntia ficus-indica* fruit extract. *Food Science and Biotechnology*, **26(3)**, 581–590.
- T.T.M., T., & D.V., Q.** (2019). Studies on betalains chemistry from the Vietnamese red dragon fruits (*Hylocereus polyrhizus*) by LC-ESI-MS/MS. *Can Tho University Journal of Science*, **Vol.11(1)(1)**, 87.
- Taira, J., Tsuchida, E., Katoh, M. C., Uehara, M., & Ogi, T.** (2015). Antioxidant capacity of betacyanins as radical scavengers for peroxy radical and nitric oxide. *Food Chemistry*, **166**, 531–536.
- Tang, C.S, T. C. ., & Norziah M.H, N. M. .** (2010). Stability of betacyanin pigments from red purple pitaya fruit (*Hylocereus polyrhizus*) : Influence of pH, temperature, metal ions and ascorbic acid. *Indonesian Journal of Chemistry*, **7(3)**, 327–331.
- Tenore, G. C., Novellino, E., & Basile, A.** (2012). Nutraceutical potential and antioxidant benefits of red pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) extracts. *Journal of Functional Foods*, **4(1)**, 129–136.
- Tesoriere, L., Butera, D., Allegra, M., Fazzari, M., & Livrea, M. A.** (2005). Distribution of betalain pigments in red blood cells after consumption of cactus pear fruits and increased resistance of the cells to ex vivo induced oxidative hemolysis in humans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53(4)**, 1266–1270.
- Thirugnanasambandham, K., & Sivakumar, V.** (2017). Microwave assisted extraction process of betalain from dragon fruit and its antioxidant activities. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, **16(1)**, 41–48.
- Tuberoso, C. I. G., & Orrù, C. D.** (2008). Phenolic compounds in food. *Progress in Food Chemistry*, **4**, 1–45.
- Tze, N. L., Han, C. P., Yusof, Y. A., Ling, C. N., Talib, R. A., Taip, F. S., & Aziz, M. G.** (2012). Physicochemical and nutritional properties of spray-dried pitaya fruit powder as

- natural colorant. *Food Science and Biotechnology*, **21(3)**, 675–682.
- Vaillant, F., Perez, A., Davila, I., Dornier, M., & Reynes, M.** (2005). Colorant and antioxidant properties of red-purple pitahaya (*Hylocereus* sp.). *Fruits*, **60(1)**, 3–12.
- Viloria-Matos, A., Moreno-Alvarez, M. J., & Hidalgo-Báez, D.** (2001). isolation and identification of betacyanin from fruits of *Opuntia boldinghii* Br. et R. by HPTLC
aislamiento e identificación de betacianina proveniente de frutos de opuntia boldinghii br. et r. por hptlc aillamento e identificación de betacianina provint. *Ciencia y Tecnologia Alimentaria*, **3(3)**, 140–143.
- Winson, K. W. S., Chew, B. L., Sathasivam, K., & Subramaniam, S.** (2020). The establishment of callus and cell suspension cultures of *Hylocereus costaricensis* for the production of betalain pigments with antioxidant potential. *Industrial Crops and Products*, **155**(July), 112750.
- Wohlpert, A., & Mabry, T. J.** (1968). On the Light Requirement for Betalain Biogenesis. *Plant Physiology*, **43(3)**, 457–459.
- Wong, Y. M., & Siow, L. F.** (2015). Effects of heat, pH, antioxidant, agitation and light on betacyanin stability using red-fleshed dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) juice and concentrate as models. *Journal of Food Science and Technology*, **52(5)**, 3086–3092.
- Wu, Y., Xu, J., He, Y., Shi, M., Han, X., Li, W., Zhang, X., & Wen, X.** (2019). Metabolic profiling of pitaya (*hylocereus polyrhizus*) during fruit development and maturation. *Molecules*, **24(6)**, 1–16.
- Wybraniec, S., & Mizrahi, Y.** (2002). Fruit flesh betacyanin pigments in *Hylocereus* cacti. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50(21)**, 6086–6089.
- Wybraniec, S., & Mizrahi, Y.** (2005). Generation of decarboxylated and dehydrogenated betacyanins in thermally treated purified fruit extract from purple pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) monitored by LC-MS/MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*,

53(17), 6704–6712.

Wybraniec, S., Nowak-Wydra, B., Mitka, K., Kowalski, P., & Mizrahi, Y. (2007). Minor betalains in fruits of *Hylocereus* species. *Phytochemistry*, **68**(2), 251–259.

Wybraniec, S., Stalica, P., Jerz, G., Klose, B., Gebers, N., Winterhalter, P., Spórna, A., Szaleniec, M., & Mizrahi, Y. (2009). Separation of polar betalain pigments from cacti fruits of *Hylocereus polyrhizus* by ion-pair high-speed countercurrent chromatography. *Journal of Chromatography A*, **1216**(41), 6890–6899.

Yahia, E. M., Castellanos, E., & Mondragon-Jacobo, C. (2010). Identification and quantification of pigments in prickly pear fruit. *Acta Horticulturae*, **877**, 1129–1136.

Yeddes, N., Chérif, J. K., Guyot, S., Sotin, H., & Ayadi, M. T. (2013). Comparative study of antioxidant power, polyphenols, flavonoids and betacyanins of the peel and pulp of three Tunisian *Opuntia* forms. *Antioxidants*, **2**(2), 37–51.

Dal Libro del Siracide 38,6-8

*Ed Egli ha dato la scienza agli uomini perché fosse glorificato nelle sue
meraviglie.*

*Con esse il medico cura e toglie il dolore, con queste il farmacista prepara le
mixture.*