Università degli Studi di Camerino
Scuola di Scienze del Farmaco e dei Prodotti della Salute

I LEGUMI: FONTE PREZIOSA DI NUTRIENTI E DI COMPOSTI BIOATTIVI

GIOVANNI CAPRIOLI

VII Congresso SINut.

Bologna, 15-16 Giugno 2018

I LEGUMI

Famiglia delle **leguminose o fabacee**

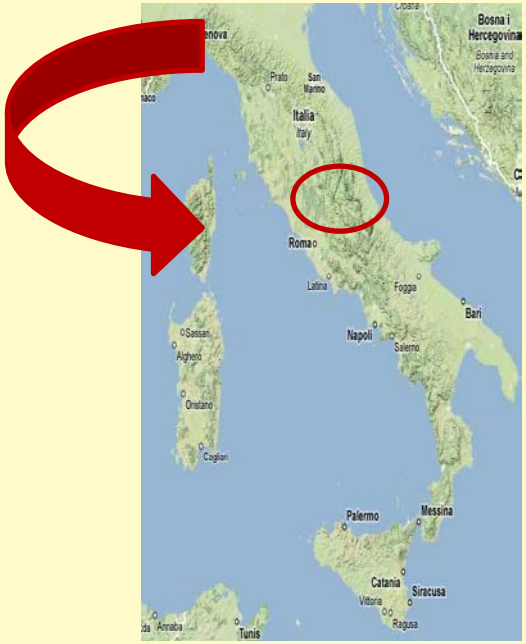
Italian name	Common English name	Botanical name
Ceci	Chickpea, garbanzo bean	*Cicer arietinum L.*
Soia	Soybean, soy, soya	*Glycine max L.*
Lenticchie	Lentils	*Lens culinaris Medik*
Fave	Fava bean or broad bean	*Vicia faba L.*
Piselli	Field dry pea	*Pisum sativum L.*
Fagioli borlotti	Kidney bean (pinto or borlotti bean)	*Phaseolus vulgaris L.*
Fagioli cannellini	White beans (navy, canellini or great northern bean)	*Phaseolus vulgaris L.*
Fagiolo di Spagna	Lima or butter beans	*Phaseolus lunatus L.*
Fagioli dell'occhio	Black-eyed pea or cowpeas	*Vigna unguiculata L.*
Fagiolo nero	Black turtle beans or black beans	*Phaseolus vulgaris L.*
Azuki	Adzuki bean	*Vigna angularis L.*
Cicerchia	Chickling or grass pea	*Lathyrus sativus L.*
Lupini	Lupini beans	*Lupinus spp.*
Fagiolo verde o peloso	Mung beans	*Vigna radiata L.*
Arachidi	Peanuts or groundnuts	*Arachis Hypogea L.*

I LEGUMI

Fonti di:

- ✓ Proteine di buon valore biologico, contengono amminoacidi essenziali ed alto contenuto di lisina
- ✓ Carboidrati complessi, in particolare amido con alto contenuto di amilosio e oligosaccaridi
- ✓ **Basso contenuto in grassi (lenticchie □1%, fagioli □2%)**
- ✓ Fibra alimentare, in particolare insolubile
- ✓ Sali minerali (Ca, Mg, K, P, Cu, Zn, Fe, Mn, Se)
- ✓ Vitamine (B1, B2, B3, B6, B9), C, E
- ✓ **Saponine**
- ✓ **Polifenoli**
- ✓ Fitosteroli

Lenticchie sono coltivati da anni nell' **Appennino umbro-marchigiano**



EFFETTI BENEFICI

- ✓ **Può aiutare a prevenire le malattie cardiovascolari (CVD)**
- ✓ **Può aiutare a gestire il diabete di tipo 2**
- ✓ **Può aiutare a prevenire le malattie del tratto digerente e il cancro del colon**
- ✓ **Può aiutare a prevenire il sovrappeso e l'obesità**

Duranti, 2006; Bahadoran et al., 2015; Kushi et al., 1999; Faris et al., 2012

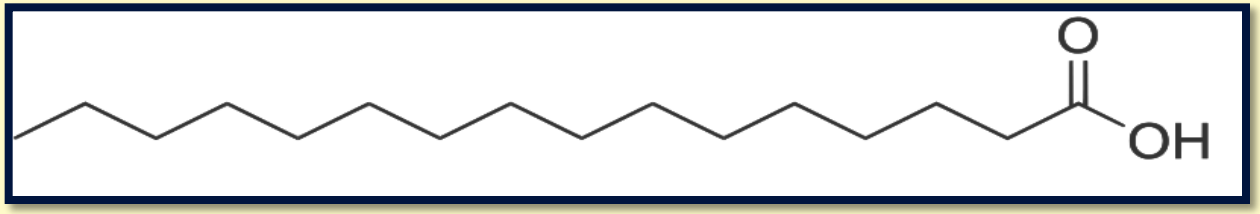
INCONVENIENTI

- ➢ **Flatulenza e dolore addominale**
- ➢ **Presenza di composti antinutrizionali (ANC)**
- ➢ **Fitati e ossalati**

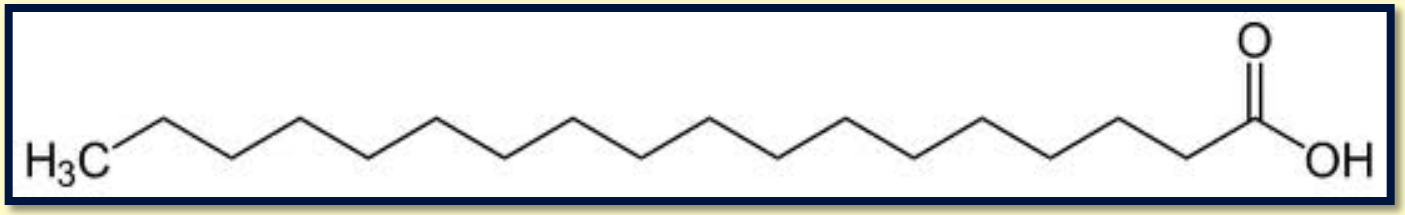
ANALISI DEGLI ACIDI GRASSI

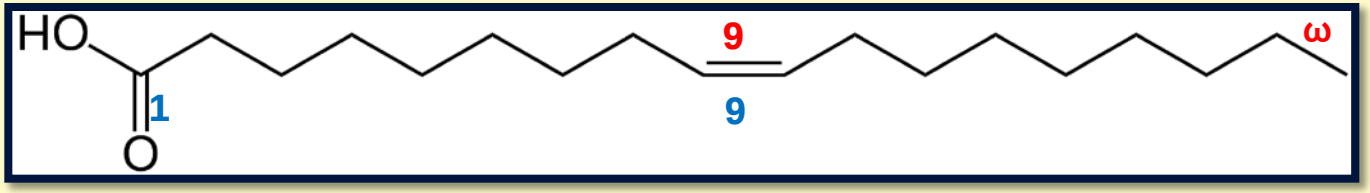
ANALISI MEDIANTE GC-FID

Acido Palmitico, C16:0

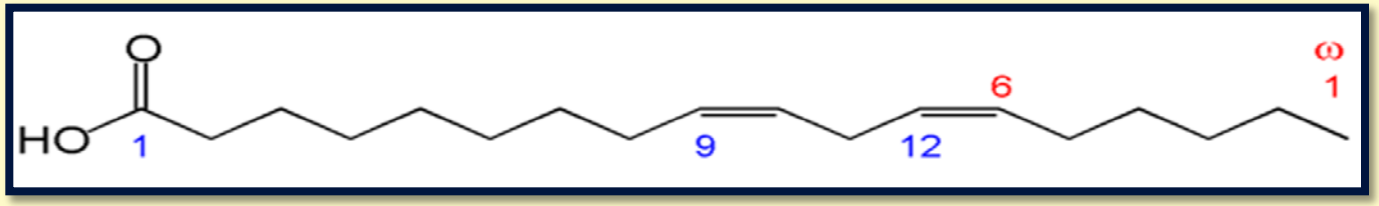


Acido Stearico, C18:0

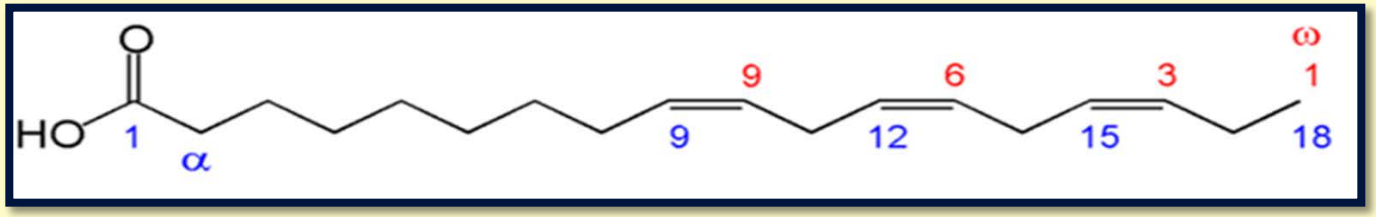




Acido Oleico, C18:1



AcidoLinoleico, C18:2, ω6



Acido Linolenico, C18:3, ω3

RUOLI ED EFFETTI DEGLI ACIDI GRASSI POLINSATURI

- Abbassano i livelli plasmatici di trigliceridi,
  → diminuiscono il rischio di patologie cardiovascolari

- Azione antiaggregante piastrinica

- Vanno ad arricchire la parte lipidica della membrana cellulare favorendone la fluidità

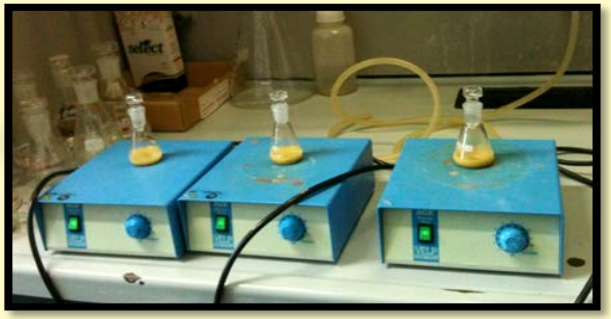
- Possono essere trasformati dalla fosfolipasi A2 in molecole ad azione ormonale (eicosanoidi) che fungono da mediatori della risposta infiammatoria e da modulatori della coagulazione del sangue

- Ruolo nello sviluppo del sistema nervoso centrale e della vista

- Caramia, G. (2002). Acidi grassi polinsaturi: gli omega-3 in età evolutiva. La *Pediatria Medica e Chirurgica*. 24, 337-345.
- Caramia, G., Cocchi, M., Gagliardini, R., Malavolta, M., Mozzon, M., & Frega, N.G. (2003). Fatty acids composition of plasma phospholipids and triglycerides in children with cystic fibrosis. The effect of dietary supplementation with an olive and soybean oils mixture. La *Pediatria Medica e Chirurgica*.25, 42-49.

OTTIMIZZAZIONE DELLA PROCEDURA DI ESTRAZIONE

1. Estrazione con esano/isopropanolo mediante agitazione magnetica stirring

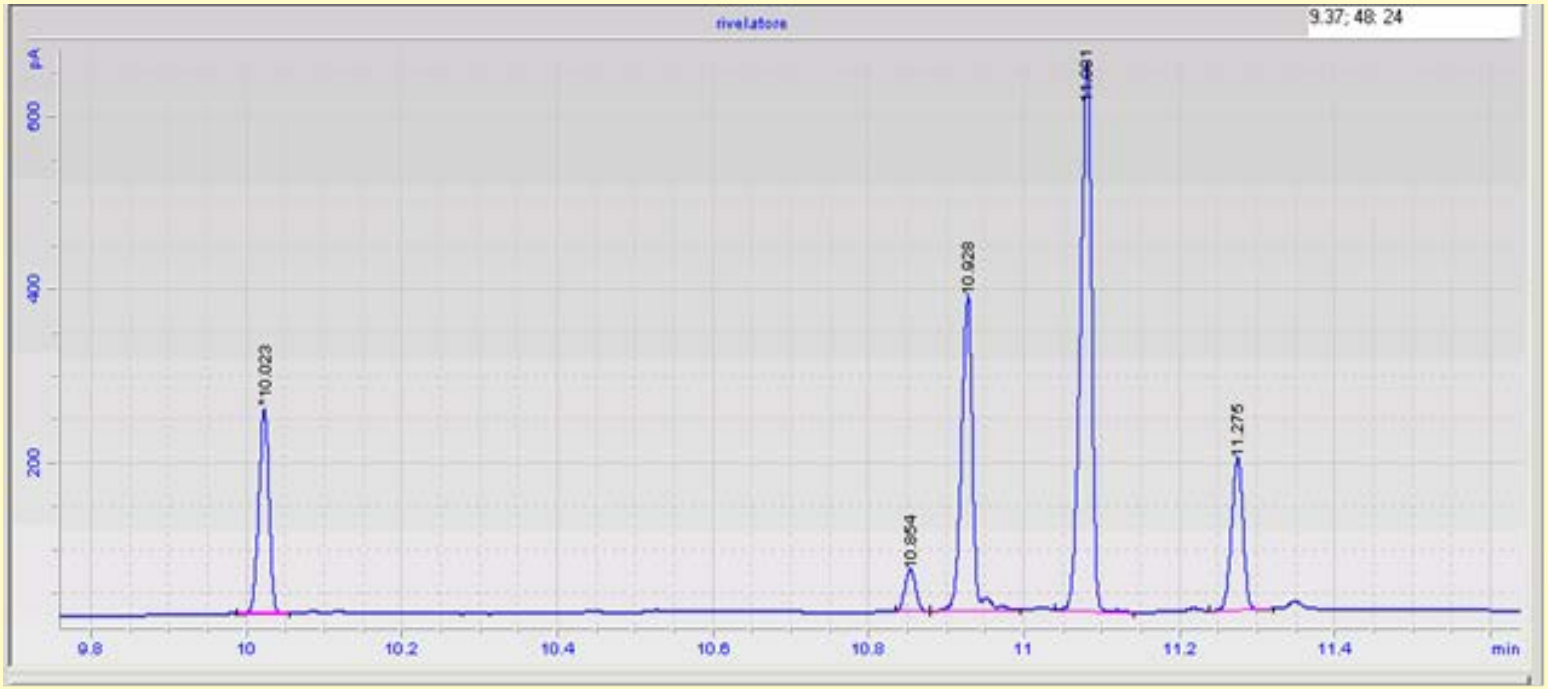


2. Estrazione soxhlet (acetone/esano e CH_2Cl_2 /esano (1:4))

3. Estrazione Folch (lavaggio con H2O + NaCl)

- ($CHCl_3$/MeOH (2:1)) Ultraturrax
- Estrazione con esano/acetone (4:1) seguendo la procedura Folch
- Estrazione con esano/isopropanolo (3:2) + procedura Folch
- Le tre procedure di estrazione sono state condotte anche con previa idratazione

Folch et al., 1957



Cromatogramma:

Picco 1: Acido Palmitico (RT 10,02 min)

Picco 2: Acido Stearico (RT 10,85 min)

Picco 3: Acido Oleico (RT 10,93 min)

Picco 4: Acido Linoleico (RT 11,09 min)

Picco 5: Acido Linolenico (RT 11,28 min)

PROFILO IN ACIDI GRASSI DI 29 DIFFERENTI LEGUMI

Type of legumes	Extract weight %	C 16:0	C 18:0	C18:1 n-9	C 18:2, n-6	C 18:3, n-3	SFAs %	MUFAs %	PUFAs %	n-6/n-3
Lentil	2.6	14.7	3.1	25.5	45.3	11.4	17.8	25.5	56.7	4.0
Lentil	2.7	14.8	2.5	28.3	43.3	11.1	17.3	28.3	54.4	3.9
Lentil	2.8	15.5	2.3	27.5	44.4	10.2	17.8	27.5	54.6	4.4
Lentil	2.6	15.5	3.0	25.7	43.8	12.1	18.4	25.7	55.9	3.6
Lentil	2.6	16.2	2.9	23.5	46.1	11.4	19.0	23.5	57.4	4.1
Lentil	2.8	15.0	3.0	24.9	46.0	11.1	17.9	24.9	57.1	4.1
Lentil	2.8	16.1	2.8	25.7	44.8	10.6	18.9	25.7	55.5	4.2
Lentil	2.7	14.6	3.1	28.1	43.9	10.3	17.7	28.1	54.2	4.3
Hulled red lentil	2.8	15.9	3.3	39.6	33.8	8.3	19.2	39.6	42.0	4.1
Chickling	2.1	15.1	17.9	26.3	38.9	1.9	33.0	26.3	40.7	20.9
Pea bean	2.8	11.7	5.1	36.0	40.7	6.4	16.8	36.0	47.2	6.3
Pea bean	2.8	12.5	4.1	26.3	37.7	7.9	16.6	26.3	45.5	4.8
Chickpea	6.2	11.3	5.9	31.8	49.0	2.1	17.2	31.8	51.2	23.1
Chickpea	6.8	11.5	9.2	31.4	46.8	2.5	20.6	31.4	49.3	19.0
Chickpea	6.1	11.9	4.1	34.8	46.9	2.4	15.9	34.8	49.3	19.7
Soybean	19.8	11.1	5.6	22.6	47.2	5.7	16.7	22.6	52.9	8.3
Fava bean	3.2	14.7	2.8	32.4	47.1	3.4	17.4	32.4	50.5	13.9
Fava bean	3.1	14.0	2.9	25.2	42.9	2.8	16.9	25.2	45.7	15.3
Navy bean	2.2	18.5	4.4	14.0	24.8	40.4	23.0	14.0	65.1	0.6
Cannellini bean	2.5	17.4	2.7	11.0	28.1	40.5	20.2	11.0	68.7	0.7
Borlotti bean	2.2	18.5	2.7	12.9	25.3	40.5	21.3	12.9	65.8	0.6
Butter bean	2.1	20.3	4.0	10.2	33.0	32.6	24.3	10.2	65.6	1.0
Black eyed bean	3.1	28.3	6.7	9.4	35.4	20.0	35.0	9.4	55.5	1.8
Black bean	2.7	17.5	4.5	17.2	31.5	29.4	22.0	17.2	60.9	1.1
Borlotti bean	1.9	25.1	12.1	14.4	19.2	29.3	37.2	14.4	48.4	0.7
Azuki bean	13.6	30.9	6.5	5.1	43.8	13.7	37.4	5.1	57.5	3.2
Kidney bean	4.7	18.7	4.0	6.1	32.7	38.5	22.7	6.1	71.2	0.9
Black bean	6.4	19.4	3.6	9.6	22.7	44.6	23.0	9.6	67.3	0.5
White bean	6.1	18.1	3.7	8.8	23.4	43.6	21.7	8.8	67.0	0.5

PROFILO IN ACIDI GRASSI DI 7 DIFFERENTI LENTICCHIE

Origin	C 16:0, Palmitic acid	C 18:0, Stearic acid	C18:1 n-9, Oleic acid	C 18:2, n-6, Linoleic acid	C 18:3, n-3, Linolenic acid	SFAs %	MUFAs %	PUFAs %	Ratio n-6/n-3
Lentil «Colfiorito»	14.7	3.1	25.5	45.3	11.4	17.8	25.5	56.7	4.0
Lentil «Terra & Sole»	14.8	2.5	28.3	43.3	11.1	17.3	28.3	54.4	3.9
Lentil «Colfiorito»	15.5	2.3	27.5	44.4	10.2	17.8	27.5	54.6	4.4
Lentil «Monte Castello»	15.5	3.0	25.7	43.8	12.1	18.4	25.7	55.9	3.6
Lentil «Castelluccio di Norcia»	16.2	2.9	23.5	46.1	11.4	19.0	23.5	57.4	4.1
Lentil «Altipiani Umbri»	15.0	3.0	24.9	46.0	11.1	17.9	24.9	57.1	4.1
Lentil «Colfiorito»	16.1	2.8	25.7	44.8	10.6	18.9	25.7	55.5	4.2
Lentil	14.6	3.1	28.1	43.9	10.3	17.7	28.1	54.2	4.3

- L'acido grasso sempre presente in misura maggiore è l'acido linoleico, mentre quello presente in misura minore è l'acido stearico. Tuttavia i rapporti tra i vari acidi grassi non sono uguali in tutti i tipi di lenticchia
- **PUFA → 54 – 58 % MUFA→ 23 – 28 % SFA → 17.3 – 19 %**
- Nelle lenticchie il rapporto tra **omega-6/omega-3 è 4:1**, valore ottimale secondo le tabelle dei LARN (Livelli di Assunzione Raccomandata di Nutrienti per la popolazione italiana).

Caprioli G, Giusti F, Ballini R, Sagratini G, Donat PV, Vittori S, Fiorini D. Lipid Nutritional Value of Legumes: Evaluation of Different Extraction Methods and Determination of Fatty Acid Composition. **Food Chemistry**. 199 (30) 2016, 965-971.

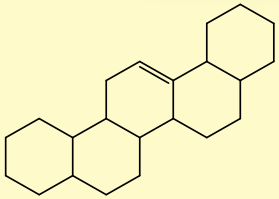
FAO/INFOODS Food Composition Databases

LE SAPONINE

Le saponine sono glicosidi naturalmente presenti nelle piante, dal sapore amaro.

Strutturalmente presentano → un nucleo agliconico (steroidico o triterpenico)

→ una catena glicosidica



Le lenticchie sono considerate come la fonte dietetica primaria di saponine alimentari, in particolare soiasaponine. (livelli 1700-2500 mg/kg)

PROPRIETA' SALUTISTICHE :

- effetto antireplicativo contro HIV
- proprietà anticarcinogeniche e antiepatotossiche
- riduzione dei livelli di colesterolo nel sangue

AZIONI BIOLOGICHE DELLE SOIASAPONINE I e βg

- Azione **IPOCOLESTEROLEMIZZANTE** → **Inibiscono l'assorbimento del colesterolo**

Diretta:
Formano complessi insolubili col colesterolo esogeno

↓

Incremento dell'escrezione fecale di colesterolo

Indiretta:
Bloccano il circolo entero-epatico degli acidi biliari

↓

Colesterolo endogeno utilizzato per la sintesi di acidi biliari che aumentano sensibilmente

Simile ai fitoesteroli:
Competono con gli steroli per l'assorbimento

↓

Minor captazione di colesterolo dagli enterociti e diminuiti livelli nel sangue

Le SS contenute negli alimenti (lenticchie) potrebbero essere utili per abbassare i livelli di colesterolo.

- *Lee S.O., Simons A.L., Murphy P. A., Hendrich S. Exp. Biol. Med. 2005, 230:472-478.*
- *Oakenfull D., Gurcharn S. Eur. J. Clin. Nutr. 1990, 44:79-80.*
- *Lin Y., Meijer G.W., Vermeer M.A., Trautwein E.A. Nutr. 2004, 134: 143-148*

ANALISI DI 60 CAMPIONI DI LEGUMI

SOIASAPONINA I I livelli più alti (907 mg kg^{-1}) nei piselli verdi, i più bassi (636 mg kg^{-1}) nella lenticchia verde e della Zuppa Toscana.

SOIASAPONINA *βg*: La lenticchia di Colfiorito e la Soia gialla mostrano alti livelli di SS *βg* (1807 and 1595 mg kg^{-1}),

In tutti i 60 campioni analizzati, eccetto I lupini, le lenticchie rosse decorticate e la cicerchia, il contenuto di SS *βg* è risultato superiore a quello di SS I.

Contenuto medio Totale di SS

60 CAMPIONI IN TRIPLICATO IN 9 DIFFERENTI TIPI DI LEGUMI (RSDs <12%)

SOIA (1): 2492 mg kg^{-1}

PISELLI (2): 2045 mg kg^{-1}

CECI (5): 1880 mg kg^{-1}

LENTICCHIE (6): 1806 mg kg^{-1}

ZUPPE E MISTO DI VARI LEGUME (13): 1557 mg kg^{-1}

FAGIOLI (27): 1498 mg kg^{-1}

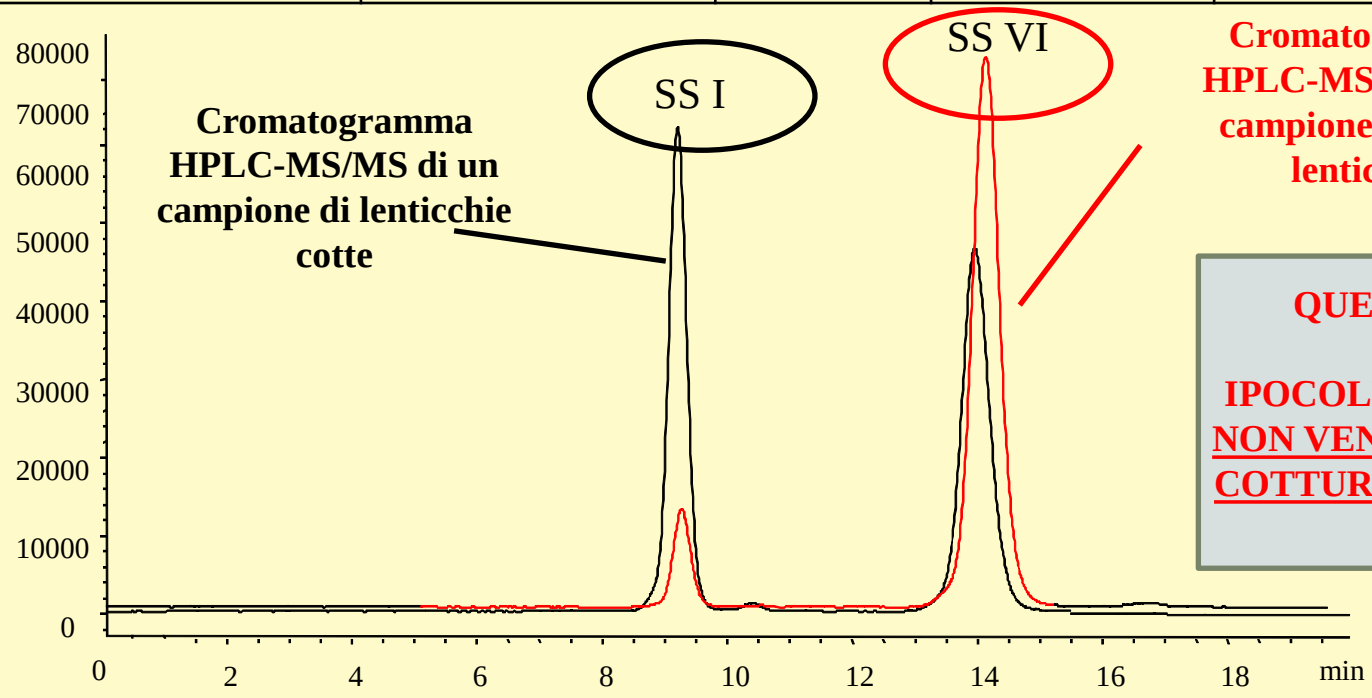
LUPINI (1): 1392 mg kg^{-1}

FAVA (3): 1361 mg kg^{-1}

CICERCHIA (2): 1341 mg kg^{-1}

LENTICCHIE CRUDE E COTTE: SS I + SS VI

Campioni	Tipologia di campione	Lenticchia mg kg^{-1}	Acqua di cottura mg kg^{-1}	Rapporto cotto/crudo (%)	SS lost in water (%)
Lenticchie di Colfiorito	crude cotte	2541.7 2388.7	0 141.8	94	5.6
Lenticchie dell' Umbria	crude cotte	1781.7 1816.3	0 134	102	7.6



QUESTE IMPORTANTI MOLECOLE IPOCOLESTEROLEMIZZANTI NON VENGONO PERSE CON LA COTTURA DELL'ALIMENTO!!!!

Caprioli, G., Vila -Donat, P., Conti, P., Maggi, F., Ricciutelli, M., Torregiani, E., Vittori, S, Sagratini, G. Rapid **Food Analytical Methods**. (2014) 7 (5) pp. 1024-1031

BIOACCESSIBILITA' SOIASAPONINE

Mouth-GI digestion

Sample
(10g)

Mouth phase
30 sec. at 37ºC in stomacher

↓ **6 ml of simúlate saliva**

Gastrointestinal digestion (GI)

Gastric phase
2h at 37ºC, pH 2.0

↓ **0.5g of pepsin solution**
(1g of pepsin in 25 mL of HCl 0.1 N)
+ 60 mL of deionized water

Duodenal phase
2h at 37ºC, pH 6.5

↓ **1.25g of bile salt and pancreatin solution**
(0.1g of pancreatin and 0.6g of bile salt in 25 mL of $NaHCO_3$ 0.1 N)

Colonic phase
2h at 37ºC, pH 6.5

↓ **Large intestine compartment**:
Simulated duodenal intestinal fluid contaminated with several bacteria ($1*10^{14}$ UFC/mL) characteristic of the gastrointestinal tract.
Incubation 37ºC, during 48h, pH 6.5

Centrifugation at 4000 rpm at 4ºC during 1h

↓

Supernatant=Bioaccessible fraction

↓

LC-MS soyasaponins analysis

CONSIDERAZIONI:

NON SOLO IL CONTENUTO DI SOIASAPONINE TOTALI RIMANE INVARIATO DOPO LA COTTURA DELL'ALIMENTO, MA UNA COSPICUA QUANTITA' DI SS I ARRIVA NEL DUODENO DOVE PUO' ESPLICARE L'AZIONE IPOCOLESTEROLEMIZZANTE!

Nel duodeno si ha una bioaccessibilita' del **10%** per la **SSI**, nel colon di circa lo **0,2%**.

↓

Time of cooking (min)	SSI mg/Kg in cooked lentil	SSI mg/Kg liquid from duodenum	% Bioaccessibility
30	640.52±3.2	57.43±1.4	8.97±0.3
45	669.23±2.5	65.32±2.2	9.76±0.5
60	684.00±1.3	72.65±1.3	10.62±1.1

G. Caprioli, G. Sagratini, F. Maggi, G. Font, D. Giardinà, J. Mañes, G. Meca, M. Ricciutelli, V. Sirocchi, E. Torregiani, S. Vittori. **J. Agric. Food Chem.** 2013, 71, 1702-1709.

LE LENTICCHIE COME ALIMENTO NUTRACEUTICO

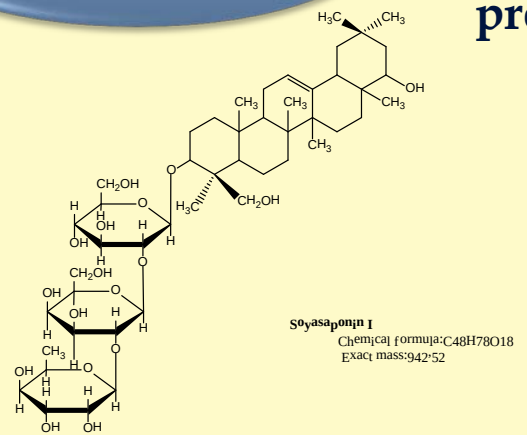
Farmaceutica

+

Nutrizione

→ **Nutraceutica**

"Food or components of food that provides health benefits including the prevention of diseases"



541 to 1457 mg kg^{-1}

→ **Cholesterol lowering effects**

Brevetto: Domanda di brevetto italiano n°102015000069580 depositata il 05.11.2015. Titolare: Università degli Studi di Camerino. Inventori: Sagratini G, Vittori S, **Caprioli G**, Cifani C, Micioni MV, Donat PV, Cecchini C, Cresci A.

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau

(43) International Publication Date
11 May 2017 (11.05.2017)

WIPO | PCT

(10) International Publication Number
WO 2017/077004 A1

STUDIO IN VIVO DEI RATTI:

ratti soggetti a dieta ipercolesterolemica e poi trattati con estratti di lenticchie per dimostrare gli effetti ipocolesterolemizzanti delle soiasaponine

❖ **Gruppo 1)** 12 ratti dieta normale, non trattati con estratto (**controllo**)

36 ratti → dieta ipercolesterolemica

❖ **Gruppo 2)** 12 ratti con dieta ipercolesterolemica e acqua. **Veicolo.**

❖ **Gruppo 3)** 12 ratti con dieta ipercolesterolemica e trattati con **estratto diluito di lenticchie**

❖ **Gruppo 4)** 12 ratti con dieta ipercolesterolemica e trattati con **estratto concentrato di lenticchie**

Dimostrare gli effetti ipocolesterolemizzanti di questo nutraceutico (estratto di lenticchie ricco in soiasaponine) in ratti soggetti preventivamente a dieta ipercolesterolemica

	Veicolo		Estratto diluito	
	T = 0	T = 71 giorni	T = 0	T = 71 giorni
Peso corporeo (g)	548.7 ± 11.4	637.8 ± 13.4	552.9 ± 12.6	640.4 ± 18.9
Colesterolo totale (mg/100 ml)	318.5 ± 39.7	277.7 ± 20.6	319.2 ± 41.2	224.8 ± 12.5*
Colesterolo HDL (mg/100 ml)	24.2 ± 2.5	37.8 ± 3.0	20.4 ± 1.6	31.4 ± 2.2
Colesterolo LDL (mg/100 ml)	101.1 ± 14.0	66.4 ± 7.2	105.6 ± 14.0	59.1 ± 5.1

#p <0,05

Il trattamento con estratto di lenticchie riduce significativamente il colesterolo totale del 17 %

Monitoraggio di ACIDI BILIARI nelle feci dei ratti trattati e non

Experimental Biology and Medicine

Soyasaponins Lowered Plasma Cholesterol and Increased Fecal Bile Acids in Female Golden Syrian Hamsters

Sun-Ok Lee, Andrean L. Simons, Patricia A. Murphy and Suzanne Hendrich

Experimental Biology and Medicine 2005, 230:472-478.

Fecal Bile Acids and Neutral Sterols. There were significant effects of treatment on bile acid and neutral sterol outputs (Table 2). Mean value of total fecal bile acid and neutral sterol outputs was significantly greater in hamsters fed group B soyasaponins ($P < 0.05$) compared with those fed casein (Table 2). Fecal excretion of cholic acid, cholestane, coprostanol, lathosterol, and campesterol was significantly greater in hamsters fed group B soyasaponins than in those fed casein ($P < 0.05$; Table 2). Hyodeoxycholic acid, hyocholic acid, ursodeoxycholic acid, and lanosterol

Table 2. Group B Soyasaponins Increased Daily Fecal Excretion of Bile Acids and Neutral Sterols (μmol) in Female Hamsters[a]

	Casein	Group B soyasaponin
Total bile acids	22.5 ± 10.3^b	46.2 ± 21.9^c
Cholic acid	20.8 ± 12.7^b	43.5 ± 25.6^c
Total neutral sterols	29.2 ± 4.7^b	54.1 ± 8.7^c
Cholestane	6.8 ± 2.6^b	9.7 ± 4.1^c
Coprostanol	1.8 ± 0.6^b	6.1 ± 3.4^c
Lathosterol	15.1 ± 9.5^b	25.9 ± 14.4^c
Campesterol	1.3 ± 0.3^b	3.4 ± 1.6^c

[a] Values represent means ± SD. $n = 10$. Within a column, means with different superscripts are different ($P < 0.05$).

In conclusion, group B soyasaponins lowered plasma-cholesterol levels by a mechanism involving the greater excretion of fecal bile acids and neutral sterols compared with casein. Greater production of soyasaponin metabolite in hamsters was associated with improved plasma cholesterol status. This study indicated that understanding the health effects of soyasaponins will require more knowledge of the metabolic fate and actions of metabolites of soyasaponins in animals and humans.

Mecc. Indiretto
Bloccano il circolo entero-epatico degli acidi biliari

→ Colesterolo endogeno utilizzato per la sintesi di acidi biliari che aumentano sensibilmente

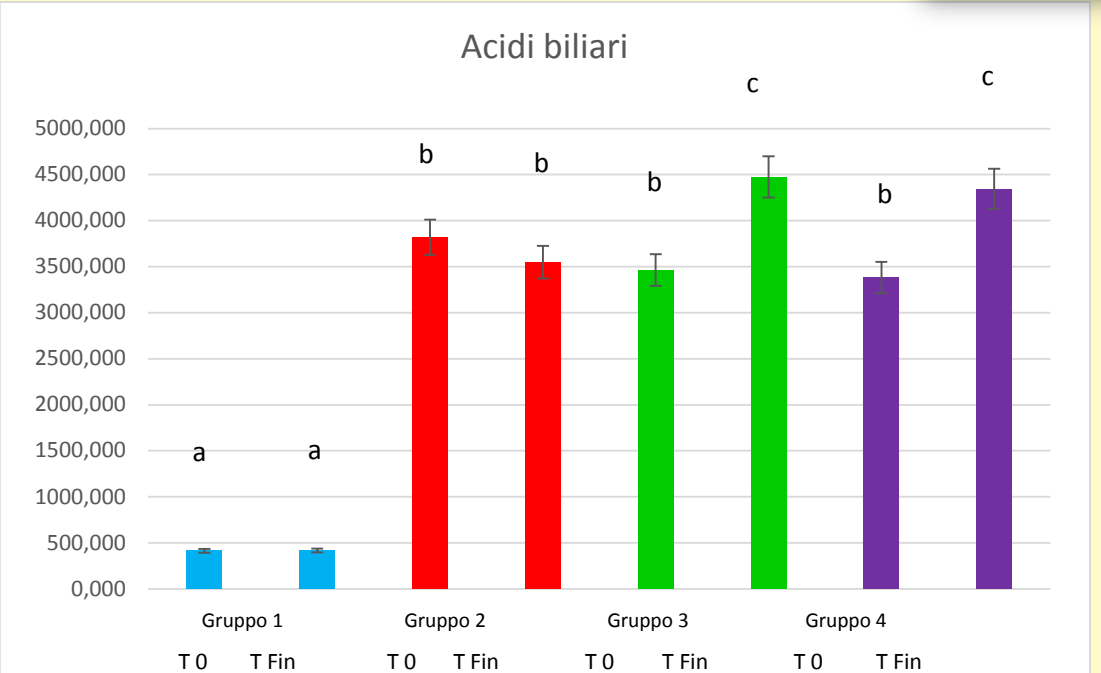
ISTOGRAMMA RIASSUNTIVO RELATIVO AGLI ACIDI BILIARI NEI CAMPIONI DI FECI NEI VARI GRUPPI DI RATTI AL T0 E T FINALE

❖ **Nel gruppo 1** il quantitativo di acidi biliari non varia nell'arco di tempo che intercorre tra T0 e T Finale. Non modificando la dieta, l'omeostasi del colesterolo resta invariata.

❖ **Nel gruppo 2** la statistica conferma che non è possibile affermare la presenza di differenze significative tra T0 e T Finale. L'acqua addizionata alla dieta non ha influenzato l'omeostasi del colesterolo.

❖ **Nel gruppo 3** si è potuto constatare un considerevole aumento dell'escrezione di acidi biliari al T Finale grazie all'introduzione dell'estratto diluito di lenticchia. Ciò conferma l'ipotesi dell'azione ipocolesterolemizzante indiretta.

❖ **Nel gruppo 4** si osserva un chiaro aumento dell'escrezione degli acidi biliari al T Finale. L'estratto di lenticchia ricco in SS ha determinato un effetto ipocolesterolemizzante, tuttavia i risultati prodotti sono paragonabili a quelli dell'estratto diluito.



#Different letters indicate significant differences ($P < 0.01$).

Secondo obiettivo: meccanismo d'azione indiretto!

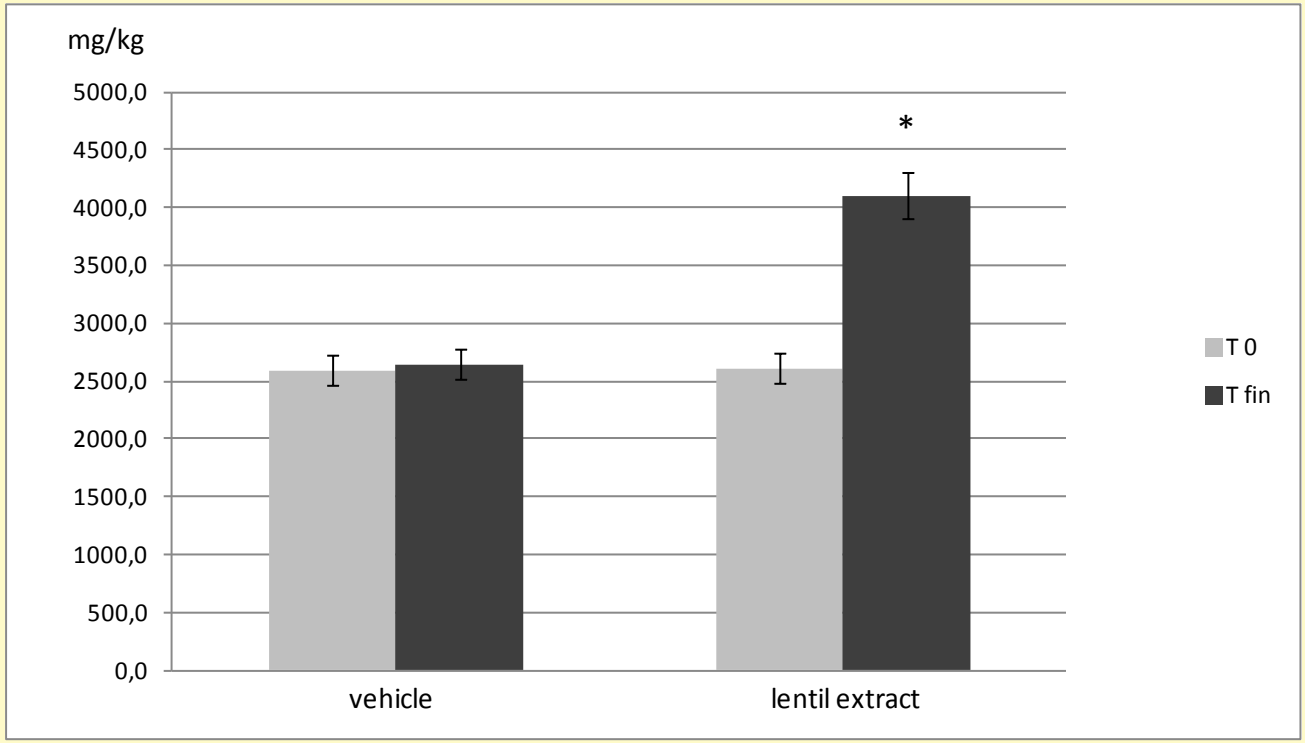
Colesterolo endogeno utilizzato per la sintesi di acidi biliari che aumentano sensibilmente

SCFAs COME REGOLATORI DELLA MICROECOLOGIA E FISIOLOGIA DEL COLON.

RUOLO FISIOLOGICO DEGLI SCFAs

- Sono nutrienti per le cellule della mucosa
- Stimolano la proliferazione dei colonociti
- Aumentano il flusso di sangue
- Il butirrato ha un ruolo chiave nel trattamento e prevenzione di patologie del colon
- Abbassano il pH
- Il propionato è il substrato per la gluconeogenesi epatica
- L'acetato è il substrato primario per la sintesi del colesterolo
- Aumentano l'assorbimento dell'acqua e l'uptake dei minerali

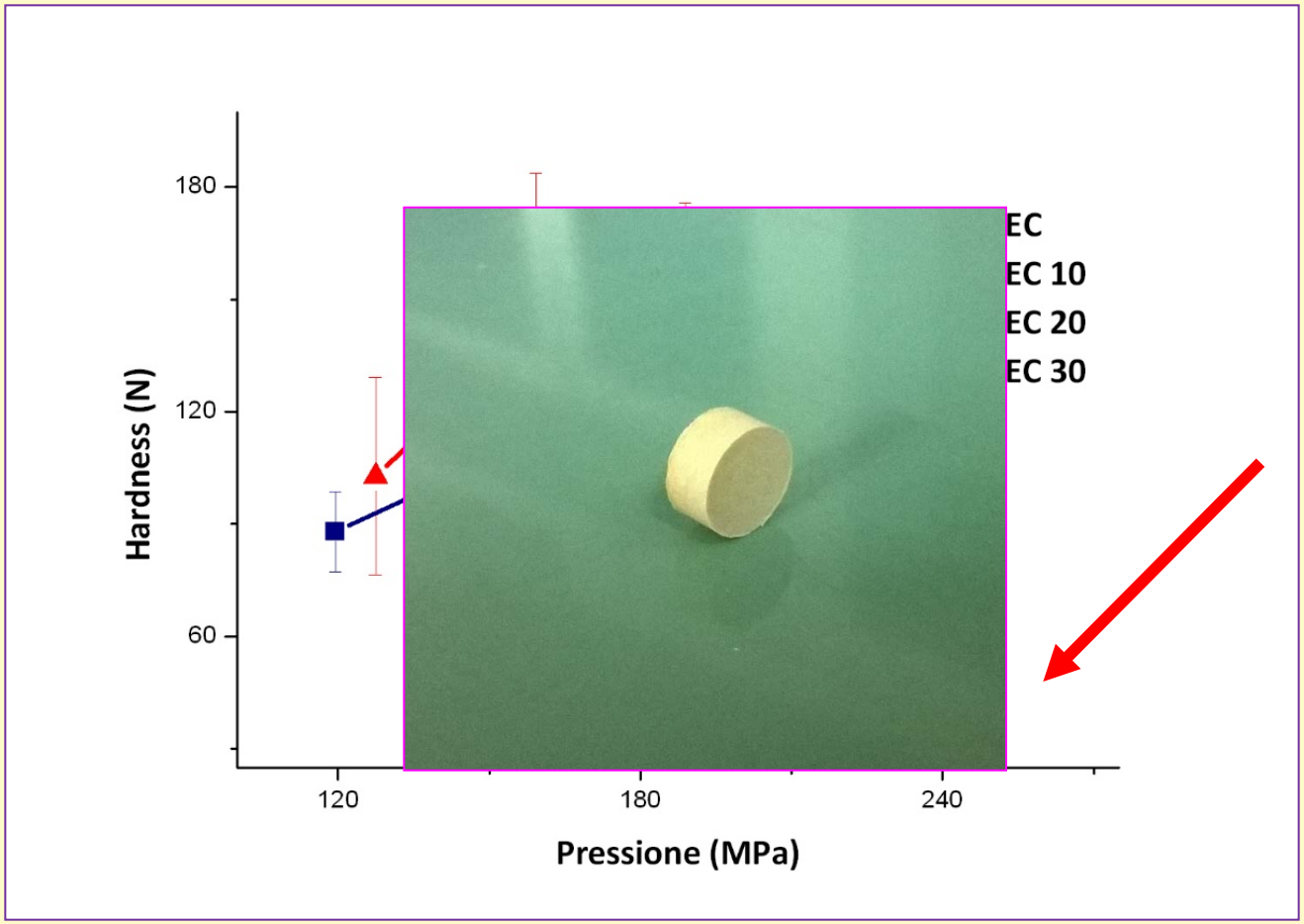
Livelli di SCFAs



Level of SCFAs (acetic, propionic and butyric acids) espressed in mg/kg in the faeces of rat fed with LE in comparison with vehicle and control

*p<0.05 statistically different from the control and vehicle according to the Student't test

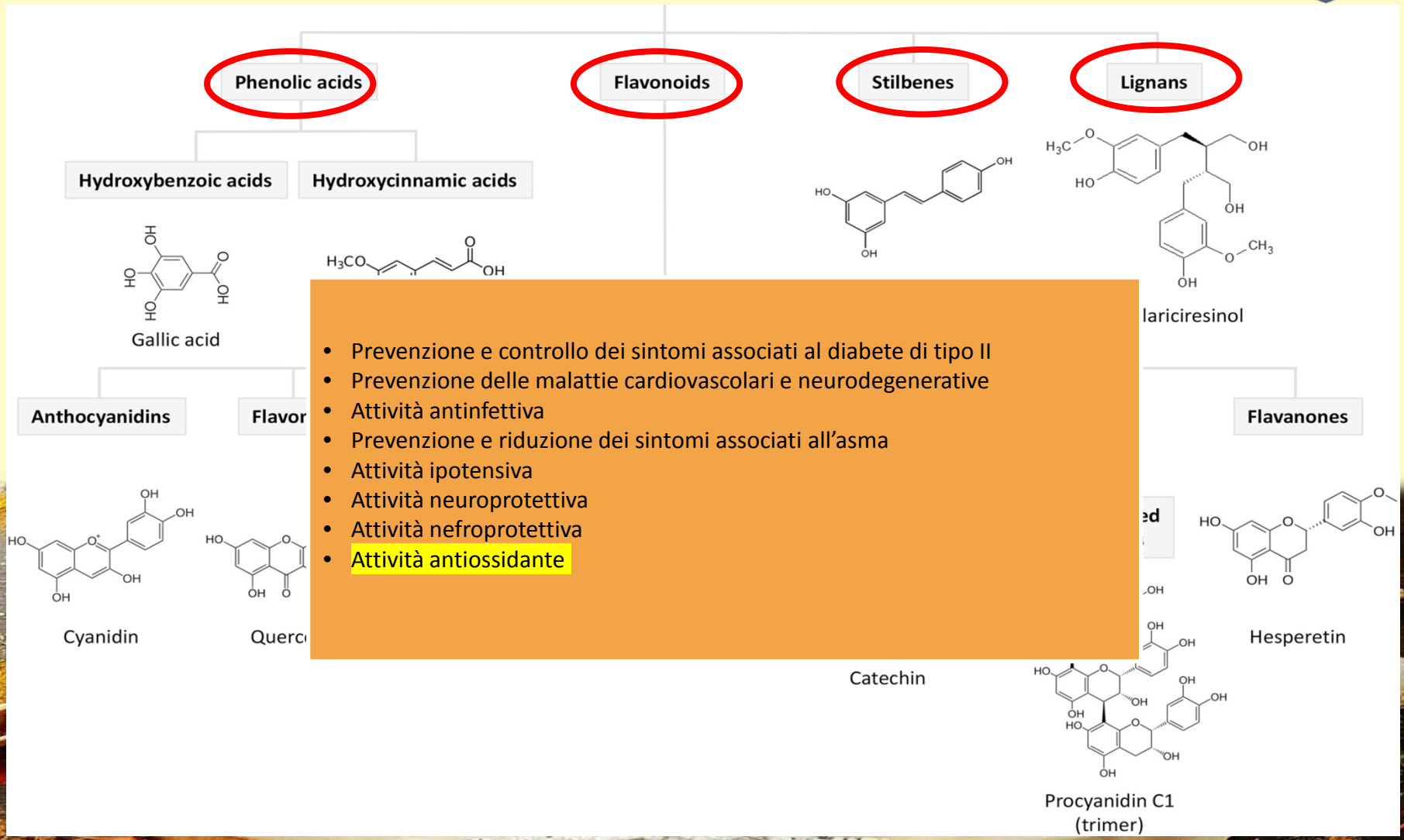
Maria Vittoria Micioni Di Bonaventura, Cinzia Cecchini, Pilar Vila Donat, **Giovanni Caprioli**, Carlo Cifani, Maria Magdalena Coman, Alberto Cresci, Dennis Fiorini, Massimo Ricciutelli, Stefania Silvi, Sauro Vittori, Gianni Sagratini. Evaluation of the hypocholesterolemic effect and prebiotic activity of a lentil (Lens culinaris Medik) extract. **Molecular Nutrition and Food Research**, 61, 11, 2017.



TABLETABILITY

Buona comprimibilità

Polifenoli



- Prevenzione e controllo dei sintomi associati al diabete di tipo II
- Prevenzione delle malattie cardiovascolari e neurodegenerative
- Attività antinfettiva
- Prevenzione e riduzione dei sintomi associati all'asma
- Attività ipotensiva
- Attività neuroprotettiva
- Attività nefroprotettiva
- Attività antiossidante

SCOPO DEL LAVORO: POLIFENOLI

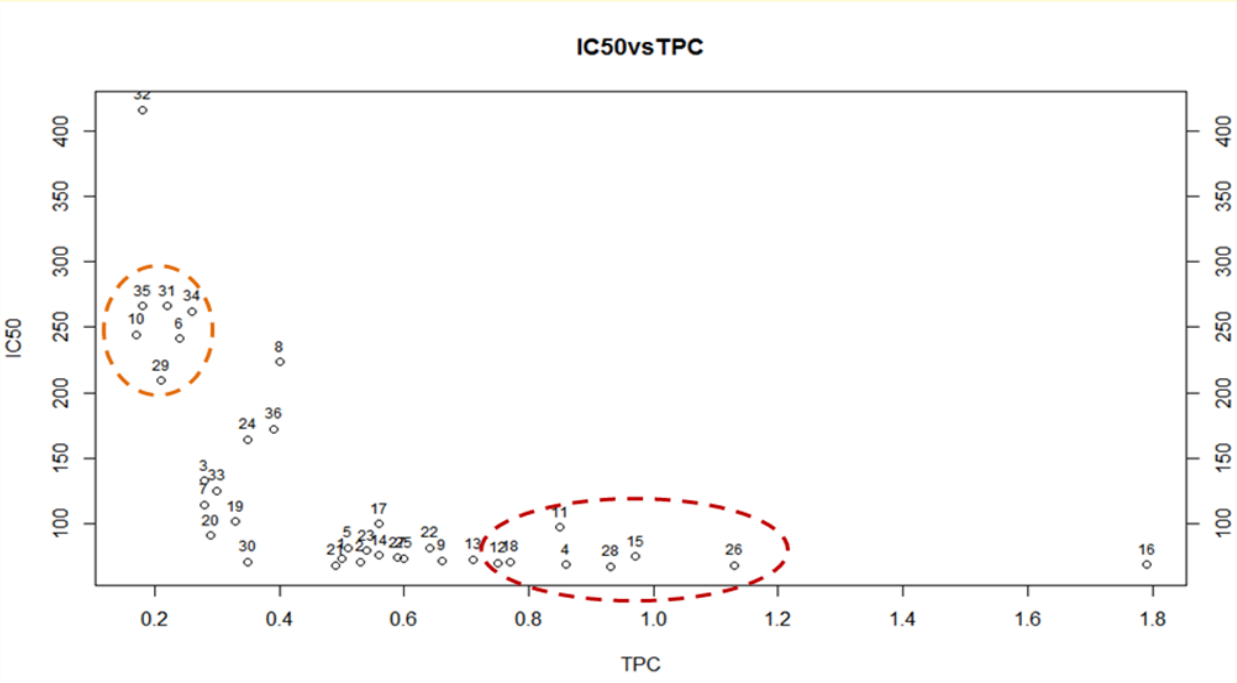
La FAO ha proclamato nel 2016 l'Anno internazionale dei legumi (IYP). IYP 2016: evidenziare le proprietà nutrizionali e i benefici per la salute dei legumi.

- Obiettivo 1: mettere a punto un metodo di **estrazione/analisi HPLC-MS/MS** in modo da riuscire a delineare un profilo relativo al contenuto **polifenolico** di diversi tipi di legumi anche di colore diverso

- Obiettivo 2: Consentire ai consumatori di scegliere il **mix di legumi (di colore diverso)** più adatto alle proprie esigenze, in virtù del contenuto polifenolico, e dunque dei valori nutrizionali e dei benefici apportati dalle varie miscele.

Miscele di legumi con un certo tenore di minerali / vitamine per gruppi specifici di persone

La correlazione tra “radical scavenging capacity” e contenuto totale in polifenoli (TPC) è stata valutata utilizzando il coefficiente di correlazione di Pearson (r2). La correlazione è statisticamente significativa per $p < 0.05$.



- Una leggera correlazione negativa è stata trovata tra TPC e IC50 degli estratti grezzi (r2 = 0,59). Questo risultato è in accordo con i dati della letteratura che mostrano che un alto contenuto di fenoli è spesso associato ad una maggiore capacità scavenger contro i radicali liberi (Oomah, Caspar, Malcolmson e Bellido, 2011). La mancanza di una correlazione completa tra TPC e IC50 potrebbe essere spiegata dal fatto che i composti fenolici non sono le uniche molecole antiossidanti nei legumi (Kalogeropoulos et al., 2010).

- **Il contenuto di composti polifenolici e l'attività antiossidante sono correlati al colore scuro dei legumi.** Infatti in figura si vede che i legumi di colore scuro (n. 4, 11, 12, 15, 18, 26, 28) sono raggruppati nell'area con IC50 basso e alto valore di TPC, mentre i legumi di colore bianco e giallo pallido sono disposti nell'area che mostra un'attività scavenging contro i radicali inferiori e un valore moderato di TPC (n.6, 10, 29, 31, 34, 35).

Giusti F., **Caprioli G.**, Ricciutelli M., Vittori S., Sagratini G. Determination of fourteen polyphenols in pulses by high performance liquid chromatography-diode array detection (HPLC-DAD) and correlation study with antioxidant activity and colour. *Food Chemistry.* 221, 2017, 689–697.

Quantificazione dei polifenoli

n.	Nome commerciale	Famiglia	Acido shiki.	Acido gallico	Delphinidin 3,5-diglucoside	Catechina	Acido clorog.	Epicat.	Acido vanillico	Acido caffeico	Acido syring.	Acido p-coumar.	Acido ferulic.	3,5-di-CQA	Rutina	Kaempferolo 3-glucoside	Cyanidin-3-glucoside	Quercetina	Total
1	Azuki verdi	*V. radiata*	0.58	0.57	0.19	1.52	n.d.	0.2	0.76	1.33	n.d.	1.56	0.47	0.04	4.18	0.65	0.63	0.07	12.75
2	Azuki rossi	*V.angularis*	0.03	0.81	0.21	33.15	0.12	0.85	n.d.	n.d.	0.12	0.71	0.6	n.d.	75.01	2.0	2.16	2.24	118.31
3	Fagioli borlotti lamon	*P.voulgaris*	0.12	0.19	n.d.	74.75	0.47	3.49	2.28	0.83	0.2	2.63	15.37	0.09	0.88	8.08	0.37	0.08	109.82
4	Fagioli borlotti	*P.voulgaris*	0.06	0.62	n.d.	121.9	0.37	7.34	5.22	0.53	0.28	1.94	16.07	n.d.	0.72	2.69	0.09	0.49	158.33
5	Fagioli occhio	*P.unguiculata*	0.18	0.32	2.5	4.59	0.2	0.5	6.84	0.47	0.54	8.44	20.72	n.d.	0.25	0.38	0.38	0.62	46.84
6	Fagioli dell'angelo	*P.vugaris*	n.d.	0.19	0.23	6.9	0.38	0.21	2.45	0.72	0.46	2.61	72.35	0.04	0.45	0.3	0.3	0.09	87.68
7	Fagioli barba di frate	*P.voulgaris*	n.d.	0.46	3.81	54.45	0.11	5.14	3.05	0.57	n.d.	2.3	13.39	n.d.	0.97	2.48	2.39	[illegible]	[illegible]
8	Fagioli neri	*P.voulgaris*	0.53	5.71	379.2	16.57	0.15	0.76	5.5	0.73	10.24	1.42	20.08	0.05	0.64	3.23	3.22	[illegible]	[illegible]
9	Fagioli aquila rossa	*P.voulgaris*	n.d.	0.26	n.d.	8.31	n.d.	0.26	1.28	0.26	0.01	0.85	5.23	n.d.	2.08	4.28	3.78	0.4	27.0
10	Fagioli corona	*P.voulgaris*	n.d.	0.29	n.d.	n.d.	0.04	n.d.	3.38	0.2	0.33	1.15	15.49	n.d.	0.03	0.09	0.1	n.d.	21.08
11	Fagioli rossi	*P.voulgaris*	n.d.	0.57	n.d.	62.5	n.d.	1.9	3.28	0.33	n.d.	1.98	9.33	n.d.	13.66	17.38	15.88	4.38	131.19
12	Fagioli lima	*P.voulgaris*	n.d.	0.17	n.d.	39.72	n.d.	14.53	3.01	n.d.	0.24	2.0	1.69	n.d.	25.16	0.1	0.09	[illegible]	[illegible]
13	Fagioli pavoni viola	*P.voulgaris*	n.d.	2.08	79.56	59.02	0.21	9.28	1.74	0.23	0.31	0.93	6.05	n.d.	1.5	0.09	0.09	[illegible]	[illegible]
14	Fagioli poesena	*P.voulgaris*	0.76	0.25	n.d.	61.2	0.03	2.92	0.99	0.41	0.21	1.35	10.31	n.d.	2.2	21.2	0.78	22.68	124.6
15	Fagioli rossoni	*P.voulgaris*	n.d.	0.26	0.28	45.95	0.1	2.602	0.879	0.40	n.d.	0.38	2.53	n.d.	12.54	2.81	2.57	7.67	78.96
16	Fagioli cremino	*P.voulgaris*	0.12	0.15	n.d.	26.99	n.d.	1.32	0.86	0.32	0.13	1.0	4.89	n.d.	1.08	107.24	0.21	1.29	145.6
17	Fagioli ruviotto	*P.voulgaris*	0.24	0.33	n.d.	38.13	0.12	1.36	5.29	0.50	0.42	1.89	9.39	n.d.	0.27	130.08	0.91	[illegible]	[illegible]

458,64 mg/kg

161,76 mg/kg

189,02 mg/kg

Valutazione TFC, TAC, TPC

Legumi	TFC (mg RE/100g DW)	TAC (mg Cy3gE/100g DW)	TPC (mg GAE/100g DW)	ABTS (mg TE/100g DW)
Fag.corona	45,51	18,82	43,19	176,59
Fag.borlotti lamon	81,14	7,44	59,05	1243,39
Fave spezzate	12,07	12,63	14,70	1149,89
Fag.pavoni viola	46,37	13,92	44,64	1052,71
Fag.posena	62,30	2,92	50,70	1237,24
Fave intere	13,37	9,05	25,57	949,38
Fag.ruviotto	37,33	2,87	34,47	1067,47
Fag.cannellini	41,85	1,82	1,77	166,75
Cicerchia	[illegible]	2,93	5,31	170,69
Fag.rossoni	[illegible]	5,95	90,16	693,50
Fag.rossi	[illegible]	8,02	58,61	403,19
Fag.lima	40,46	12,16	29,20	806,68
Fag.aquila rossa	[illegible]	4,12	12,22	199,96
Lent.eston	[illegible]	3,19	101,02	569,26
Fag.pavoni	[illegible]	7,07	95,86	1837,25
Fag.dell'angelo	[illegible]	2,02	5,18	156,91
Fag.occhio	13,93	10,01	12,04	181,76
Lent.nera	150,30	[illegible]	121,77	980,13
Fag.cremino	41,85	[illegible]	37,61	918,62
Soia	[illegible]	2,21	23,37	92,94
Fag.borlotti	[illegible]	7,40	76,13	970,29
Lent.rosse	7,03	[illegible]	2,39	141,65
Fag.barba di frate	49,98	[illegible]	43,74	704,58
Ceci neri	9,71	10,27	7,07	189,14
Azuki verdi	17,01	2,55	20,55	122,71
Piselli	4,99	3,02	2,39	93,43
Lent. qual.oro	108,42	3,10	65,40	679,97
Roveja	7,90	3,29	16,16	675,05
Azuki rossi	96,94	[illegible]	81,81	1253,23
Fag.neri	51,84	[illegible]	45,06	897,71
Ceci	9,16	1,84	3,43	118,77

79,83
100,43
153,90
142,47
81,08
143,97
63,06
111.13

Legumi	Colore	Tempo di ammollo (h)	Tempo di cottura (min)
Fag.corona	bianco	12	120
Fag.borlotti lamon	marrone e rosso	8	60
Fave spezzate	beige	nd	40
Fag.pavoni viola	viola	12	60
Fag.posena	marrone	8	120
Fave intere	giallo	12	120
Fag.ruviotto	marrone	6	60
Fag.cannellini	bianco	6	60
Cicerchia	beige	24	120
Fag.rossoni	rosso	8	60
Fag.rossi	rosso	8	60
Fag.lima	bianco e rosso	12	90
Fag.aquila rossa	bianco e rosso	8	60
Lent.eston	verde	nd	30
Fag.pavoni	rosso	12	90
Fag.dell'angelo	bianco	6	120
Fag.occhio	bianco	6	60
Lent.nera	nero	nd	30
Fag.cremino	giallo	8	60
Soia	giallo	12	30
Fag.borlotti	marrone e rosso	8	60
Lent.rosse	arancione	nd	10
Fag.barba di frate	bianco e rosso	8	60
Ceci neri	nero	12	120
Azuki verdi	verde	6	30
Piselli	verde	nd	30
Lent. qual.oro	marrone	nd	30
Roveja	verde	12	60
Azuki rossi	rosso	6	30
Fag.neri	nero	6	60
Ceci	beige	12	120

Progettazione dei mix di legumi

I legumi sono stati selezionati in base al colore comune e alla presenza di classi comuni di polifenoli

Mix nero
- 60g fagioli neri
- 25 g ceci neri
- 15 g fagioli barba di frate

Benefici delle antocianine:
- modulazione del microbioma intestinale
- prevenzione del cancro al colon
- Inibizione peptide tossico celiaco CTP

Mix bianco
- 60g fagioli dell'angelo
- 20 g fagioli occhio
- 20 g fagioli cannellini

Elevato contenuto di fibre:
- contribuiscono ad aumentare il senso di sazietà
- azione prebiotica

Mix rosso
- 50 g fagioli borlotti
- 30 g azuki rossi
- 20 g fagioli rossi

Benefici dei flavonoidi
In particolare flavanoli e flavonoli:
- funzione endoteliale
- riduzione del rischio cardiovascolare e metabolico

MIX NERO

60 g Fagioli neri
25 g Ceci neri
15 g Fagioli Barba di frate

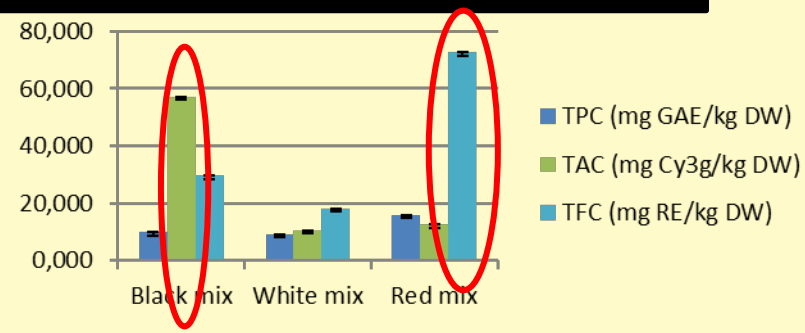
MIX ROSSO

50 g Fagioli Borlotti
30g Azuki rossi
20 g Fagioli rossi

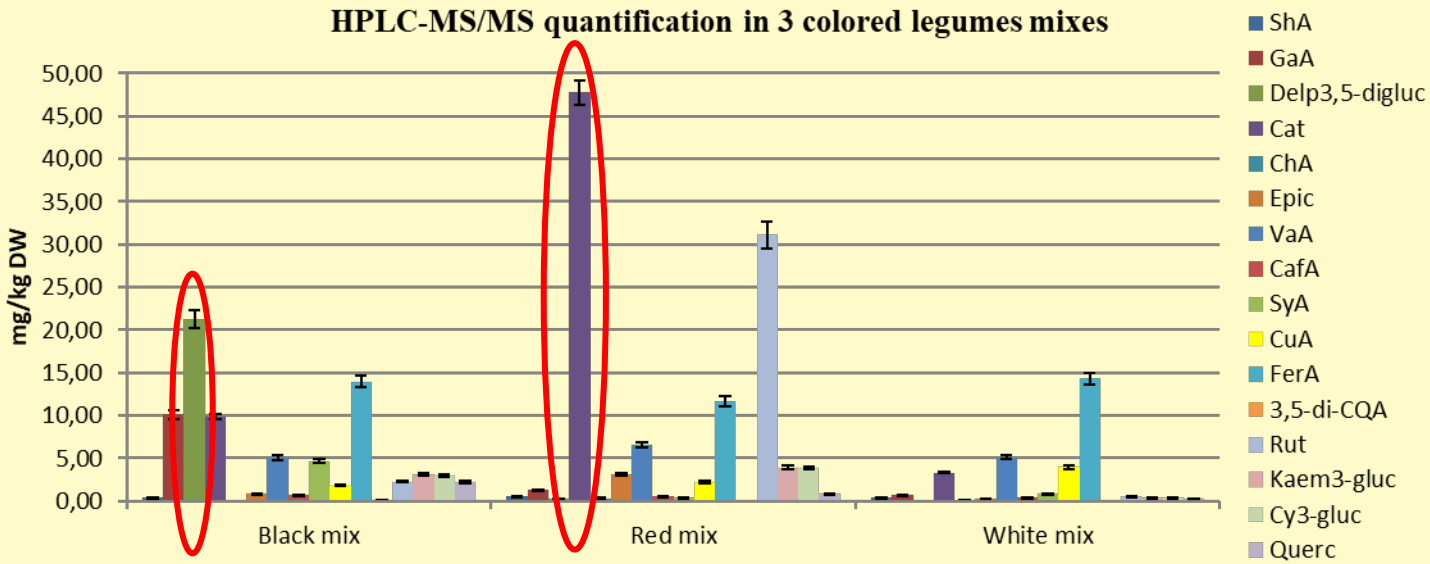
MIX BIANCO

60 g Fagioli dell'angelo
20 g Fagioli occhio
20 g fagioli cannellini

TPC, TAC, TFC dei 3 mix di legumi



Quantificazione polifenolica nei mix mediante HPLC-MS/MS



Giovanni Caprioli, Franks Kamgang Nzekoue, Federica Giusti, Sauro Vittori, Gianni Sagratini. Optimization of an extraction method for the simultaneous quantification of sixteen polyphenols in thirty-one pulse samples by using HPLC-MS/MS Dynamic-MRM triple quadrupole. *Food Chemistry.* Accepted 2018-06-12.

CONCLUSIONI

❖ I legumi sono una fonte preziosa di nutrienti: hanno un buon contenuto di vitamine (B), minerali (fosforo, potassio), proteine (lisina) e carboidrati complessi.

❖ Hanno un basso contenuto in lipidi totali; il profilo in acidi grassi ha mostrato un notevole contenuto di PUFA e MUFA.

❖I legumi sono una fonte molto preziosa anche di specifici composti bioattivi: soiasaponine ipocolesterolemizzanti e polifenoli ad attività antiossidante su tutti

❖Il contenuto di composti polifenolici e l'attività antiossidante sono correlati al colore scuro dei legumi

❖Le antocianine e i flavonoidi (flavanoli e flavonoli) sono caratteristici rispettivamente nei legumi neri e rossi e questo aspetto può essere utile per proporre nuovi alimenti funzionali.

❖La progettazione di miscele di legumi colorate potrebbe essere un idea di mercato nuova per attirare i consumatori verso un utilizzo più frequente di questi alimenti naturalmente funzionali, consentendo di scegliere il mix più adatto alle proprie esigenze.

Acknowledgments

- PROF. SAURO VITTORI
- PROF. GIANNI SAGRATINI
- DR. MASSIMO RICCIUTELLI
-DR. ELISABETTA TORREGIANI
-DR. FRANKS K. NZEKOUE
-DR. SIMONE ANGELONI
-DR. GULZHAN KHAMITOVA

Tutti i membri del FAR (UNICAM)
FOOD AND HEALTH: LENTILS AS TOOL FOR A NOVEL NUTRACEUTICAL APPROACH

GRAZIE A TUTTI PER L'ATTENZIONE

CHIMALI 2018 CAMERINO

Società Chimica Italiana
Gruppo Interdivisionale Chimica degli Alimenti

ITALIAN FOOD CHEMISTRY CONGRESS

September 24-27, 2018
Camerino, Italy

Official language: English

Main Topics

COMPOSITION, TRACEABILITY AND FOOD QUALITY
CONTAMINATION AND FOOD SAFETY
NUTRACEUTICALS AND BOTANICALS
FROM WASTE TO RESOURCE OF FUNCTIONAL CHEMICALS
INNOVATIVE ANALYTICAL TECHNIQUES IN FOOD ANALYSIS
FOOD DESIGN
EU PROJECTS AND EFSA: AN OVERVIEW

18 Renowned scientists from many European Universities will present their latest findings in their plenary or keynote presentations

Registration fees

Early Bird registration fee, expiring July 10th, 2018: € 200 (under 35), € 330 (SCI members), € 410 (Not SCI members). Registration fee covers everything, except accommodation, from the afternoon of 24 to the lunch of 27.

Fellowship

11 Fellowships to cover the cost of participation (including accommodation in University residences) of young researchers (under 35) to CHIMALI - XII Italian Food Chemistry Congress- are available. Applications by **June 30**. Please, see the website of the Congress.

For info, please write to chimali2018@unicam.it

http://**chimali2018.unicam.it**