

# EFFETTI DELLA FERMENTAZIONE SU UNA FARINA DI GRANO BIOLOGICO

*Produrre alimenti basati sull'attività fermentativa di alcuni microrganismi rispetto ad altre tecniche di lavorazione ed estrazione è un metodo innovativo, oltre che una valida alternativa ai processi industriali, in quanto si riducono i rischi di tossicità legati all'utilizzo dei solventi organici.*

\* **Morena Gabriele**  
\* **Vincenzo Longo**  
\* **Rossella Russo**  
\* **Laura Pucci**

**U**na dieta completa ed equilibrata contribuisce al mantenimento di un buono stato di salute e benessere, garantendo sia l'apporto di nutrienti in quantità sufficienti a soddisfare le esigenze nutrizionali della persona, che l'apporto di composti bioattivi con attività antiossidante, antinfiammatoria e antimicrobica, capaci di migliorare le difese dell'organismo (1-2). Studi epidemiologici ed evidenze sperimentali dimostrano come l'assunzione di alcuni alimenti, e in particolare specifiche componenti bioattive in essi contenute, esercitino effetti benefici, fisiologici e psicologici sulla salute umana riducendo il rischio di sviluppare malattie croniche, quali malattie neurodegenerative e cardiovascolari, diabete, obesità e cancro (1-2). La moderna scienza dell'alimentazione è oggi interessata a identificare le componenti alimentari biologicamente attive e potenzialmente in grado di migliorare il benessere psicofisico dell'organismo, investigando i meccanismi molecolari alla base degli effetti benefici apportati alla salute. Infatti, molti dei prodotti alimentari tradizionali, tra cui frutta, verdura, legumi, cereali integrali e latte, contengono micro e macronutrienti (minerali, vitamine, acidi grassi, fibre alimentari, composti fenolici, carotenoidi, antocianine, tocoferolo) utili a mantenere uno stato di benessere ottimale (3).

Negli ultimi anni stanno crescendo sempre più l'interesse e l'esigenza di sviluppare processi e prodotti con specifiche caratteristiche organolettiche, sensoriali e nutrizionali, rafforzando sempre più il binomio alimento-salute e migliorando la qualità e la competitività intrinseca dei prodotti tradizionali e di nuova formulazione. Cresce inoltre la consapevolezza di garantire al consumatore prodotti sicuri per la salute umana, ma allo stesso tempo sintesi di sapore e di qualità.

Al momento diverse sono le strategie e le tecniche utilizzate allo scopo di migliorare la conservabilità e salubrità degli alimenti, arricchendo il prodotto di sostanze bioattive e/o probiotici e sviluppando sapori e consistenze caratteristiche, migliori rispetto agli alimenti di partenza. Generalmente, le sostanze bio-



Foto di H. Toyama

*I cereali sono una componente fondamentale per l'alimentazione umana*

attive vengono recuperate dalle risorse naturali mediante estrazioni solido-liquide impiegando solventi organici. Tuttavia, altre tecniche sono state proposte e prevedono l'uso di fluidi supercritici, processi ad alta pressione, estrazioni con ultrasuoni o al microonde (4).

La produzione di alimenti basata sull'attività fermentativa di alcuni microrganismi rappresenta un metodo innovativo e una valida alternativa ai processi industriali, riducendo al tempo stesso i rischi tossici associati all'uso dei solventi organici. Recentemente la fermentazione è stata utilizzata per la produzione ed estrazione di composti bioattivi nell'industria alimentare, chimica e farmaceutica (4).

La trasformazione alimentare per via fermentativa rappresenta il più antico sistema usato per la conservazione di cibi e bevande. Sviluppi nel settore biotecnologico e alimentare, una maggior caratterizzazione tecnologica, metabolica e molecolare dei ceppi utilizzati, nonché l'applicazione di processi innovativi, hanno contribuito sia al raggiungimento degli obiettivi industriali che alla produzione di alimenti di qualità. Sebbene la fermentazione fosse originariamente utilizzata per prolungare la *shelf-life* dei prodotti fermentati, oggi le colture starter, principalmente batteri lattici, lieviti, muffe, *Micrococcaceae*, propionibatteri, etc., vengono utilizzate allo scopo di innescare il processo fermentativo, assicurando buoni risultati alla produzione. Inoltre, grazie all'utilizzo di microrganismi capaci di produrre metaboliti ad attività antimicrobica (batteriocine, perossido di idrogeno, acidi organici, etc.) e di competere con la flora naturalmente presente sulle materie prime, la fermentazione inibisce la crescita dei microrganismi indesiderati migliorando la sicurezza microbiologica del prodotto fermentato (5). Infine, grazie alla bio-

sintesi di vitamine, proteine, amminoacidi essenziali, a una aumentata digeribilità delle fibre, alla degradazione di composti anti-nutrizionali, il processo fermentativo, sfruttando l'attività enzimatica dei microrganismi, aumenta il valore nutrizionale dei prodotti bio-trasformati (3).

Recentemente, la fermentazione è sempre più utilizzata per migliorare le proprietà antiossidanti dei prodotti fermentati aumentando il contenuto fenolico totale che, oltre a prevenire l'auto-ossidazione delle componenti alimentari, esercita una buona attività di *scavenger* dei radicali liberi prodotti dall'organismo (6).

Per esempio, i fermenti lattici vengono comunemente impiegati nei processi fermentativi e *Lactobacillus plantarum* rappresenta la specie principalmente usata per fermentare i prodotti di origine vegetale (7,8). Dati in letteratura dimostrano che l'impiego di lactobacilli e bifidobatteri con attività  $\beta$ -glucosidasi aumentano il contenuto di isoflavoni agliconi del latte di soia e questo potrebbe essere attribuito all'elevata attività  $\alpha$ -galattosidasi (9). Inoltre, i batteri lattici sono stati impiegati e addizionati ai cibi per produrre peptidi con attività ACE-inibitoria (angiotensin converting enzyme) e acido  $\gamma$ -aminobutirrico, utili nella prevenzione e trattamento dell'ipertensione (10,11). In un recente studio sul bioprocessamento dei fagioli neri per ottenere koji, sfruttando le proprietà fermentative dei funghi filamentosi (principalmente *Aspergillus* sp. e *Rhizopus* sp.), è stato dimostrato un aumento delle proprietà antiossidanti dei fagioli, probabilmente correlata a un aumento di fenoli e antocianine (12).

I possibili meccanismi responsabili dell'aumentata attività antiossidante dei prodotti fermentati sono riconducibili a cambiamenti strutturali dei fitochimici, alla conversione di composti fenolici glicosidi nei corrispondenti agliconi liberi, alla depolimerizzazione di composti fenolici ad alto peso molecolare, all'attività intrinseca dei microrganismi utilizzati, e/o al rilascio di flavonoidi dalla matrice alimentare (13-14). Tuttavia, l'attività antiossidante di estratti alimentari non è sempre ben correlata con il contenuto totale in sostanze bioattive; spesso l'attività sinergica tra i composti antiossidanti e/o altri componenti dell'estratto possono contribuire a questo aumento (15). Inoltre, l'attività antiossidante può essere influenzata da altri fattori come la scelta della specie microbica, la temperatura e il pH, dipendente a sua volta dalla crescita batterica e dai cambiamenti

strutturali a carico dei composti fenolici (3). Pertanto, grazie alle attività enzimatiche dei microrganismi le materie prime vengono arricchite di metaboliti secondari, acquisendo caratteristiche fisiche, nutrizionali e organolettiche nuove e/o desiderabili (16). Ciononostante in alcuni casi, come durante la frangitura delle olive, il processo fermentativo induce un'importante perdita in composti fenolici determinando di conseguenza una riduzione dell'attività antiossidante (13).

I cereali rappresentano una componente importante dell'alimentazione umana fornendo all'organismo quantità apprezzabili di fibre, carboidrati, proteine, minerali, vitamine e composti biologicamente attivi, contenute principalmente nella crusca e nel germe di grano. Studi in letteratura hanno dimostrato che la fermentazione esercita effetti positivi sul contenuto fenolico e sull'attività antiossidante totale dei cereali. Inoltre, è stato osservato che il processo fermentativo applicato ai cereali comporta la rottura strutturale della parete cellulare con il conseguente rilascio e/o sintesi di nuovi composti bioattivi (17-18). Tuttavia, il risultato è strettamente dipendente dal tipo di microrganismo impiegato (7-8).

Il lisato di grano (*Triticum aestivum* L.), registrato presso il Ministero della Salute come integratore alimentare con il nome Lisosan G, è un prodotto bio-trasformato ottenuto fermentando con lactobacilli e lieviti naturali uno sfarinato di crusello e germe di grano biologico. Il processo fermentativo adoperato, senza aggiunta di sostanze chimiche, ha lo scopo di esaltare la componentistica nutritiva del cereale valorizzando altre proprietà benefiche altrimenti latenti. Lo sfarinato di grano biologico viene dapprima sottoposto a una fermentazione controllata a 35 °C per poi essere essiccato. Tale processo induce la lisatura di tutta la componentistica macromolecolare del cereale e aumenta la biodisponibilità e accessibilità dei composti bioattivi. Il prodotto finale bio-fermentato risulta ricco in antiossidanti, oligoelementi, tocoferoli e vitamine, nonché acidi grassi polinsaturi ( $\omega$ -3,  $\omega$ -6,  $\omega$ -9) capaci di migliorare il tono vascolare e la fluidità del sangue e acido linoleico noto per ridurre i livelli di colesterolo e glucosio ematico e regolare la pressione sanguigna.

Studi precedenti hanno dimostrato che il lisato di grano riduce il danno epatico indotto dal trattamento con tetracloruro di carbonio (CCl<sub>4</sub>) (19); inoltre,

il lisato di grano protegge parzialmente dalla tossicità indotta dal cis-platino (20), un agente chemioterapico antineoplastico. Nel nostro laboratorio è stato testato l'effetto di una crema solare contenente lisato di grano in cellule di *Saccharomyces cerevisiae* irradiate con raggi UV, dimostrando un effetto antimutageno del prodotto cosmetico testato probabilmente correlato all'attività antiossidante del lisato di grano (21).

Risultati ottenuti in un recente lavoro hanno evidenziato un effetto protettivo del lisato di grano su diversi parametri cellulari e di funzionalità, quali vitalità, senescenza, adesione, etc., analizzati in cellule progenitrici endoteliali (EPCs) umane esposte a stress ossidativo. I risultati ottenuti hanno inoltre dimostrato che il pre-trattamento delle EPCs con il lisato di grano induce l'attivazione del fattore di trascrizione nucleare Nrf-2 responsabile della modulazione dei principali enzimi antiossidanti (SOD-2, Gpx-1, HO-1, etc.). L'effetto positivo esercitato dalle componenti antiossidanti contenute nel lisato di grano potrebbe quindi rappresentare un importante contributo nella prevenzione delle patologie meta-

boliche e cardiovascolari, e di patologie stress ossidativo-associate (22).

Sebbene siano diversi i lavori sull'effetto positivo esercitato dal lisato di grano, finora nessun dato di comparazione tra il profilo nutrizionale e fitochimico della farina pre-fermentazione e il prodotto fermentato è mai stato descritto.

Pertanto, in questo lavoro abbiamo per la prima volta caratterizzato il profilo fitochimico della farina prima della fermentazione confrontandolo con il contenuto in sostanze bioattive del prodotto fermentato, il lisato di grano. Successivamente abbiamo determinato, mediante saggio ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*) e saggio DPPH (*1,1-difenil-2-picrylhydrazyl*), l'attività antiossidante e l'attività di *scavenger* dei radicali della farina e del lisato di grano biologico.

Infine, l'attività antiossidante cellulare e l'attività anti-emolitica esercitata dallo sfarinato e dal prodotto bio-fermentato sono state valutate in un sistema *ex vivo* di eritrociti umani mediante saggio CAA-RBC (*Cellular antioxidant activity in Red Blood Cells*) e test emolisi.

**A. MINARDI & FIGLI S.R.L.**

Via Boncellino 32 - 48012 Bagnacavallo (Ra) - Tel. 0545 61460 - Fax 0545 60686

**DAL 1930 LAVORAZIONE E COMMERCIO PIANTE OFFICINALI**



[www.minardierbe.it](http://www.minardierbe.it)

[info@minardierbe.it](mailto:info@minardierbe.it)



## MATERIALI E METODI

### Preparazione dei campioni

I campioni di farina e lisato di grano biologico sono stati forniti da Agrisan SRL Larciano (PT, Italia) e sottoposti ad un processo di estrazione acquosa con sonicazione. In seguito a centrifugazione, il sovranatante è stato prelevato e conservato al buio a 4 °C.

L'estrazione e le successive analisi sono state fatte in triplicato. Mentre la farina di grano (FG) risulta dalla macinazione di cruschetto e germe di grano biologico, il lisato di grano (LG) è stato ottenuto fermentando ed essiccando lo sfarinato.

### Caratterizzazione fitochimica della farina e del lisato di grano biologico

#### Polifenoli totali

I polifenoli sono stati determinati con il metodo colorimetrico descritto da Singleton (23) e il contenuto totale è stato espresso come mg di acido gallico equivalenti per g in peso secco di campione (mg GAE/g).

#### Flavonoidi totali

Il contenuto di flavonoidi totali è stato determinato utilizzando il metodo colorimetrico del cloruro di alluminio descritto da Kim e coll. (24) e i risultati sono stati espressi come mg di catechina equivalenti per g in peso secco di campione (mg CE/g).

#### Flavonoli totali

Il flavonoli totali sono stati determinati usando il metodo descritto da Romani e coll. (25) e il contenuto totale è stato espresso come mg di quercetina equivalenti per g in peso secco di campione (mg QE/g).

#### Antocianine monometriche totali

Le antocianine monometriche sono state determinate utilizzando il metodo del pH differenziale descritto da Lee e coll. (26) e la concentrazione totale è stata espressa come mg di cianidina-3-glucoside equivalenti per g in peso secco di campione (mg C3GE/g), utilizzando il coefficiente di estinzione molare ( $26.900 \text{ L cm}^{-1} \text{ mol}^{-1}$ ) e il peso molecolare ( $449.2 \text{ g mol}^{-1}$ ) della cianidina-3-glucoside.

#### Acido ascorbico totale

Il contenuto totale di acido ascorbico è stato determinato utilizzando il metodo colorimetrico descritto da Jagota e Dani (27) e i risultati sono stati espressi come mg di acido ascorbico equivalenti per g in peso secco di campione (mg AAE/g).

### Attività antiossidante e antiemolitica degli estratti di farina e lisato di grano

#### Saggio ORAC

##### (Oxygen Radical Absorbance Capacity)

La capacità antiossidante degli estratti di farina e lisato di grano biologico è stata determinata utilizzando il saggio ORAC descritto da Ninfali *et al.* (28). La fluoresceina di sodio è stata usata come sonda, mentre l'AAPH (2,2-azobis (2-amidinopropane) dicloridrato) come generatore di radicali perossidici. Il decadimento di fluorescenza è stata misurata a 37 °C a 485 nm di eccitazione e 514 nm di emissione utilizzando un fluorimetro VictorTM X3 Multilabel (Waltham, MA). Il Trolox è stato usato come standard di riferimento ed i valori ORAC sono stati espressi come  $\mu\text{mol}$  di Trolox equivalente per 100 g in peso secco di campione ( $\mu\text{mol TE}/100 \text{ g}$ ).

#### Saggio DPPH (1,1-difenil-2-picrylhydrazyl)

L'attività di scavenger dei radicali degli estratti di farina e lisato di grano è stata valutata utilizzando il saggio DPPH descritto da Sharma e Bhat (29). La riduzione dei radicali DPPH è stata misurata a 517 nm e l'attività anti-radicalica (ARA) è stata calcolata come percentuale di inibizione dei radicali DPPH usando la seguente equazione:  $\text{ARA} = 100 \times [1 - (A_s - A_{\text{CNT}})]$ , come descritto da Boudjou e coll. (30). La concentrazione dell'estratto corrispondente al 50% di inibizione ( $\text{EC}_{50}$ ) è stata calcolata mediante interpolazione lineare dal grafico delle ARA% e delle concentrazioni testate.

#### Preparazione degli eritrociti

I campioni di sangue sono stati ottenuti da volontari sani, raccolti in provette trattate con EDTA (Etilen Diammino Tetraacetic Acid) e centrifugati per rimuovere il plasma, le piastrine e il buffy coat. Gli eritrociti (RBC) ottenuti sono stati quindi diluiti in tampone fosfato salino (PBS) pH 7.4.

#### Attività antiossidante cellulare in eritrociti umani (CAA-RBC)

L'attività antiossidante esercitata dalla farina e dal lisato di grano è stata valutata in un sistema *ex vivo* di eritrociti umani utilizzando il saggio CAA-RBC descritto da Blasa e coll. (31). I risultati sono stati espressi come unità CAA, in accordo con Wolfe e Liu (32), utilizzando la formula seguente:

$$\text{unità CAA} = 100 - (\int \text{SA} / \int \text{CA}) \times 100$$

dove  $\int \text{SA}$  rappresenta l'area sottesa alla curva di fluorescenza del campione e  $\int \text{CA}$  l'area sottesa alla curva del controllo (cellule trattate con AAPH).

### Misura dell'emolisi ossidativa

L'emolisi ossidativa indotta dalla decomposizione termica del generatore di radicali AAPH è stata valutata utilizzando il metodo descritto da Mikstacka e coll. (33). L'emolisi eritrocitaria è stata determinata spettrofotometricamente a 540 nm come emoglobina rilasciata nel sovrantante. I risultati sono stati espressi come emolisi percentuale rispetto al controllo.

### Analisi statistica

I dati sono stati espressi come media  $\pm$  deviazione standard di tre esperimenti indipendenti. Differenze significative tra la farina e il lisato di grano sono state valutate mediante t-test per dati non appaiati e ANOVA con Dunnett test utilizzando il programma GraphPad Prism versione 4.00 per Windows (GraphPad software, San Diego, CA). Valori di  $p < 0.05$  sono stati considerati statisticamente significativi.

### Risultati

Gli estratti ottenuti a partire dalla farina (GF) e dal lisato (GL) di grano biologico sono stati caratterizzati per il contenuto totale in polifenoli, flavonoidi, flavonoli, antocianine e acido ascorbico e i valori sono stati elencati nella tabella 1. Sebbene non emergano differenze significative tra la concentrazione di flavonoidi, flavonoli e antocianine totali ( $p = ns$ ), il processo di fermentazione applicato allo sfarinato di grano ha aumentato significativamente i livelli di polifenoli e acido ascorbico nel prodotto fermentato ( $***p < 0.001$  vs GF, test t di Student).

La capacità antiossidante totale e l'attività di *scavenger* dei radicali degli estratti di grano è stata valutata mediante saggio ORAC (*Oxygen Radical Antioxidant Capacity*) e DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*).

Le unità ORAC misurate nella farina e nel lisato di grano erano di  $722.44 \pm 68.42$  e  $1148.61 \pm 99$   $\mu\text{mol TE}/100 \text{ g}$  in peso secco di campione, con valori significativamente aumentati dopo fermentazione ( $**p < 0.01$  vs GF, test t di Student). Anche l'attività di *scavenger* dei radicali DPPH ha mostrato un incremento significativo dell'attività anti-radicalica del prodotto fermentato rispetto allo sfarinato di partenza con valori di inibizione del 50% ( $\text{EC}_{50}$ ) alle concentrazioni di  $1.26 \pm 0.01 \text{ mg/mL}$  di lisato e  $4.2 \pm 0.37 \text{ mg/mL}$  di farina di grano ( $***p < 0.001$  vs GF, test t di Student). Valori di  $\text{EC}_{50}$  più bassi sono indice di un'attività antiossidante più elevata.

Il saggio CAA-RBC ha permesso di valutare, nel sistema *ex vivo* degli eritrociti umani, l'inibizione esercitata dall'estratto di farina e di lisato di grano

	Polifenoli totali (mg GAE/g dw)	Flavonoidi (mg CE/g dw)	Flavonoli (mg QE/g dw)	Antocianine (mg C3GE/g dw)	Acido Ascorbico (mg AAE/g dw)
GF	2.56 $\pm$ 0.03	2.68 $\pm$ 0.09	2.47 $\pm$ 0.18	0.024 $\pm$ 0.003	0.49 $\pm$ 0.05
GL	3.73 $\pm$ 0.1***	2.43 $\pm$ 0.17 <sup>ns</sup>	2.65 $\pm$ 0.13 <sup>ns</sup>	0.020 $\pm$ 0.002 <sup>ns</sup>	0.86 $\pm$ 0.05***

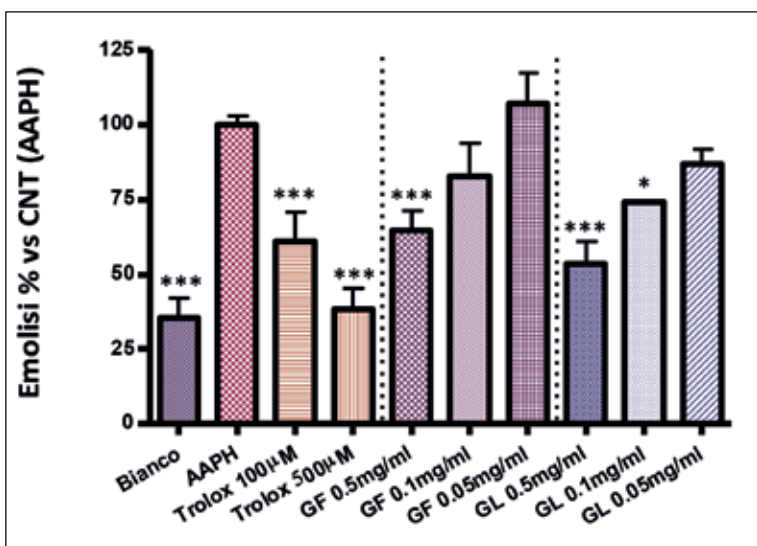
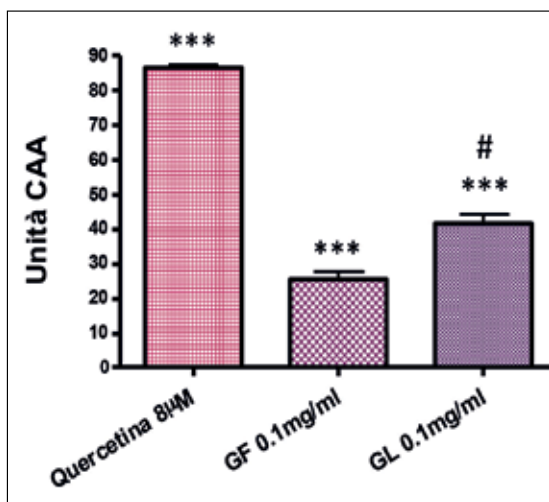
Tabella 1. Polifenoli totali, flavonoidi, flavonoli, antocianine ed acido ascorbico (mg/g in peso secco) misurati nell'estratto di farina (GF) e di lisato (GL) di grano biologico.  $***p < 0.001$  vs GF, test t di Student per dati non appaiati.

sull'ossidazione AAPH-indotta della sonda DCFH-DA. Rispetto alle cellule di controllo, esposte al solo generatore di radicali AAPH, un decremento di fluorescenza negli eritrociti pre-trattati con gli estratti di grano ( $0.1 \text{ mg/mL}$ ) è indice della capacità antiossidante cellulare del composto. I risultati sono stati espressi come unità CAA utilizzando la formula descritta da Wolfe e Liu (32); come mostrato in figura 1, il pre-trattamento con la farina e con il lisato di grano ha mostrato valori di attività antiossidante cellulare di  $26.5 \pm 2.92$  e  $44.5 \pm 5.46$  rispettivamente, contro  $86.6 \pm 0.15$  unità CAA della quercetina ( $8 \mu\text{M}$ ), usata come standard di riferimento. Sia il pre-trattamento con lo standard che il pre-trattamento con gli estratti di grano ha indotto un aumento significativo dell'attività antiossidante cellulare rispetto agli eritrociti di controllo ( $***p < 0.001$  vs CNT, unità CAA=0). Tuttavia, un'attività cellulare significativamente più bassa è stata misurata nelle cellule pre-trattate con l'estratto di farina piuttosto che con il lisato di grano ( $\#p < 0.05$  vs GF, test t di Student).

Infine, in eritrociti umani esposti a elevate concentrazioni di AAPH ( $50 \text{ mM}$ ) e quindi di radicali perossidici, è stata valutata l'attività anti-emolitica esercitata dal pre-trattamento con concentrazioni crescenti ( $0.05$ ,  $0.1$  e  $0.5 \text{ mg/mL}$ ) di farina e di lisato di grano. I risultati sono stati espressi come percentuale di emolisi rispetto alle cellule di controllo (AAPH), in cui il trattamento con il generatore di radicali ha indotto la completa emolisi ossidativa degli eritrociti, e suggeriscono un effetto anti-emolitico degli estratti alle più alte concentrazioni testate.

Come mostrato in figura 2, i risultati mostrano una risposta dose dipendente e un'inibizione significativa dell'emolisi AAPH-indotta nelle cellule pre-trattate con  $0.5 \text{ mg/mL}$  di farina e di lisato di grano ( $***p < 0.001$  vs AAPH), con valori sovrapponibili al Trolox  $100 \mu\text{M}$  usato come standard di riferimento. Tuttavia, anche se si osserva una ridotta attività anti-emolitica alle più basse concentrazioni testate, è stata osservata una significativa inibizione dell'emolisi eritrocitaria in corrispondenza del pre-trattamento con  $0.1 \text{ mg/mL}$  di lisato di grano ( $*p < 0.05$  vs AAPH), diversamente

**Figura 1. Effetto del pre-trattamento con 0.1 mg/mL di estratto di farina (GF) e lisato (GL) di grano biologico sull'attività antiossidante cellulare di eritrociti umani esposti a stress ossidativo (AAPH). \*\*\* p<0.001 vs CNT (unità CAA=0), ANOVA con Dunnett test; \* p<0.05 vs GF, test t di Student per dati non appaiati.**



**Figura 2. Effetto del pre-trattamento con concentrazioni crescenti di estratto di farina (GF) e lisato (GL) di grano biologico sull'emolisi eritrocitaria AAPH-indotta. \* p<0.05 vs CNT (AAPH), \*\*\* p<0.001 vs AAPH, ANOVA con Dunnett test.**

dalle cellule pre-incubate con la medesima quantità di farina (p=ns vs AAPH).

In conclusione, il processo fermentativo applicato allo sfarinato di grano ha migliorato il prodotto fermentato arricchendolo di composti fenolici e acido ascorbico. Probabilmente questo incremento è responsabile dell'aumentata attività antiossidante *in vitro* ed *ex vivo* misurata, tuttavia non si può escludere la possibilità che l'attività microbica dei lattobacilli e dei lieviti naturali possa aver favorito la formazione di nuovi composti con una più alta capacità antiossidante. Ulteriori studi sono necessari per definire e caratterizzare meglio il profilo delle componenti bioattive presenti nel lisato di grano.

\* Istituto di Biologia e Biotecnologia Agraria, CNR, Pisa

## Bibliografia

- Pandey KB, Rizvi SI. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxid Med Cell Longev*, 2009, 2(5):270-278.
- Kaliora AC, Dedoussis GVZ, Schmidt H. Dietary antioxidants in preventing atherogenesis. *Atherosclerosis*, 2006, 187:1-17.
- Hur SJ, Lee SY, Kim YC, Choi I, Kim GB. Effect of fermentation on the antioxidant activity in plant-based foods. *Food Chem*. 2014 Oct 1;160:346-356.
- Martins S, Mussatto SI, Martínez-Avila G, Montañez-Saenz J, Aguilar CN, Teixeira JA. Bioactive phenolic compounds: production and extraction by solid-state fermentation. A review. *Biotechnol Adv*, 2011, 29(3):365-373.
- Lindgren SE, Dobrogosz WJ. Antagonistic activities of lactic acid bacteria in food and feed fermentations. *FEMS Microbiol Rev*, 1990, 7(1-2):149-163.
- He R, Ju X, Yuan J, Wang L, Girgih AT, Aluko RE. Antioxidant activities of rapeseed peptides produced by solid state fermentation. *Food Res Int*, 2012, 49(1):432-438.
- Ng CC, Wang CY, Wang YP, Tzeng WS, Shyu YT. Lactic acid bacterial fermentation on the production of functional antioxidant herbal *Anoectochilus formosanus* Hayata. *J Biosci Biotechnol*, 2011, 111(3):289-293.
- Rodríguez H, Curiel JA, Landete JM, de las Rivas B, López de Felipe F, Gómez-Cordovés C, Mancheño JM, Muñoz R. Food phenolics and lactic acid bacteria. *Int J Food Microbiol*, 2009, 132(2-3):79-90.
- Marazza JA, Garro MS, de Giori GS. Aglycone production by *Lactobacillus rhamnosus* CRL981 during soymilk fermentation. *Food Microbiol*, 2009, 26(3):333-339.
- Torino MI, Limón RI, Martínez-Villaluenga C, Mäkinen S, Pihlanto A, Vidal-Valverde C, Frias J. Antioxidant and antihypertensive properties of liquid and solid state fermented lentils. *Food Chem*, 2013, 136(2):1030-1037.
- Kono I, Himeno K. Changes in gamma-aminobutyric acid content during beni-koji making. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2000, 64(3):617-619.
- Lee IH, Hung YH, Chou CC. Solid-state fermentation with fungi to enhance the antioxidative activity, total phenolic and anthocyanin contents of black bean. *Int J Food Microbiol*, 2008, 121(2):150-156.
- Othman NB, Roblain D, Chammen N, Thonart P, Hamdi M. Antioxidant phenolic compounds loss during the fermentation of Chétoui olives. *Food Chem*, 2009, 116(3):662-669.
- Lee HY, Park JH, Seok SH, Baek MW, Kim DJ, Lee KE, Paek KS, Lee Y, Park JH. Human originated bacteria, *Lactobacillus rhamnosus* PL60, produce conjugated linoleic acid and show anti-obesity effects in diet-induced obese mice. *Biochim Biophys Acta*, 2006, 1761(7):736-744.
- Naczek M, Shahidi F. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: occurrence, extraction and analysis. *J Pharm Biomed Anal*, 2006, 41(5):1523-1542.
- Frias J, Miranda ML, Doblado R, Vidal-Valverde C. Effect of germination and fermentation on the antioxidant vitamin content and antioxidant capacity of *Lupinus albus* L. var. Multolupa. *Food Chem*, 2005, 92(2):211-220.
- Đorđević TM, Šiler-Marinković SS, Dimitrijević-Branković SI. Effect of fermentation on antioxidant properties of some cereals and pseudo cereals. *Food Chem*, 2010, 119(3):957-963.
- Katina K, Laitila A, Juvonen R, Liukkonen KH, Kariluoto S, Piironen V, Landberg R, Aman P, Poutanen K. Bran fermentation as a means to enhance technological properties and bioactivity of rye. *Food Microbiol*, 2007, 24(2):175-186.
- Longo V, Chirulli V, Gervasi PG, Nencioni S, Pellegrini M (2007) Lisosan G, a powder of grain, does not interfere with the drug metabolizing enzymes and has a protective role on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity. *Biotechnol Lett*

29: 1155-1159

Longo V, Gervasi PG, Lubrano V (2011) Cisplatin induced toxicity in rat tissues: the protective effect of Lisosan G. *Food Chem Toxicol* 49: 233-237

Frassinetti S, Della Croce CM, Caltavuturo L, Longo V (2012) Antimutagenic and antioxidant activity of Lisosan G in *Saccharomyces cerevisiae*. *Food Chem* 135: 2029-2034

Lucchesi D, Russo R, Gabriele M, Longo V, Del Prato S, Penno G, Pucci L. Grain and bean lysates improve function of endothelial progenitor cells from human peripheral blood: involvement of the endogenous antioxidant defenses. *PLoS One*, 2014, Oct 17;9(10):e109298. doi: 10.137

Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM (1999) Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by mean of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol.* 299: 152-178.

Kim DO, Chun OK, Kim YJ, Moon HY, Lee CY (2003) Quantification of polyphenolics and their antioxidant capacity in fresh plums. *J Agric Food Chem.* 51(22):6509-6515.

Romani A, Mancini P, Tatti S, Vincieri F (1996) Polyphenols and polysaccharidies in Tuscan grapes and wines. *Italian Journal of Food Science* 8(1): 13-24.

Lee J, Durst RW, Wrolstad RE (2005) Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices,

beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: collaborative study. *J AOAC Int.* 88(5):1269-1278.

Jagota SK, Dani HM (1982) A new colorimetric technique for the estimation of vitamin C using Folin phenol reagent. *Anal Biochem.* 127(1):178-182.

Ninfali P, Mea G, Giorgini S, Rocchi M, Bacchiocca M (2005) Antioxidant capacity of vegetables, spices and dressings relevant to nutrition. *Br J Nutr.* 93(2):257-266.

Sharma Om P, Bhat Tej K. DPPH antioxidant assay revisited. *Food Chem.* 2009, 113(4):1202-1205.

Boudjou S, Oomah BD, Zaidi F, Hosseinian F. Phenolics content and antioxidant and anti-inflammatory activities of legume fractions. *Food Chem.* 2013, 138(2-3):1543-1550.

Blasa M Angelino D, Gennari L, Ninfali P. The cellular antioxidant activity in red blood cells (CAA-RBC): A new approach to bioavailability and synergy of phytochemicals and botanical extracts. *Food Chem.* 2011, 125(2):685-691.

Wolfe KL, Liu RH. Cellular antioxidant activity (CAA) assay for assessing antioxidants, foods, and dietary supplements. *J Agric Food Chem.* 2007, 55:8896-8907.

Mikstacka R, Rimando AM, Ignatowicz E. Antioxidant effect of trans-resveratrol, pterostilbene, quercetin and their combinations in human erythrocytes *in vitro*. *Plant Foods Hum Nutr.* 2010, 65(1):57-63.



NOVITÀ GOvegan 2015!!



## Green Food REVOLUTION

Tante novità per GOvegan la linea di prodotti biologici e 100% vegetali.

La famiglia dei croissant si allarga con le tre nuove versioni di frumento: *frumento integrale, frumento con alliegia, frumento con crema di cioccolato*. Inoltre sorprendi i tuoi ospiti con gli sfiziosi *patè* a base di *tofu* garantiti senza glutine.

Deliziosi spalmati sul pane o per preparare sandwich, disponibili in tre ricette: *mediterraneo, alle olive, menta e zenzero*.



La linea GOvegan ha una registrazione presso *Vegan Society* certificata da *Certification Europe Italia*, che ne controlla tutte le fasi produttive e le materie prime.



GOvegan è un marchio PROBIOS



www.probios.it