VINO e RESVERATROLO: una review

Fonte: Vincenzo Brandolini e alt. - VQ mensile di Viticoltua e Enologia - n. 3 sett. 2005 pag 16-22

La storia del vino s'intreccia strettamente con lo sviluppo delle prime civiltà. II vino infatti è parte della cultura umana da oltre 6000 anni e da sempre e considerato un elemento essenziale nelle funzioni socio-religiose. Diffuso in tutto il bacino del mediterraneo, era considerato, oltre che un alimento energetico e dotato dl proprietà disinfettanti, anche un simbolo di sviluppo, una preziosa merce di scambio e un dono da offrire agli Dei. Successivamente l'uso del vino e stato legato in modo simbolico al rito fondamentale del cristianesimo, unendo quindi indissolubilmente questa bevanda alla civiltà europea e occidentale. Da allora per molti secoli il vino ha continuato a nutrire, dissetare e sollevare lo spirito di numerose generazioni di europei, per poi diffondersi, parallelamente alla scoperta dei nuovi continenti, nelle Americhe, in Australia e in Sud Africa.

E' NECESSARIO DISTINGUERE IL VINO, PRODOTTO NATURALE LEGATO ALLA TRADIZIONE ALIMENTARE, DA ALTRE BEVANDE ALCOLICHE E SUPERALCOLICHE, SOPRATTUTTO PER GLI EFFETTI NOCIVI LEGATI AL CONSUMO ECCESSIVO DI ALCOL

A metà degli anni Novanta si e osservato un declino del consumo di vino, in quanto considerato una bevanda legata al mondo contadino e rurale. A scoraggiarne il consumo sono stati inoltre i problemi sociali legati all'alcolismo. E' necessario però distinguere il vino, prodotto naturale legato alla tradizione alimentare, da altre bevande alcoliche e superalcoliche, soprattutto per gli effetti nocivi legati al consumo eccessivo di alcol. Infatti, il vino non è solo alcol, ma e un complesso di sostanze organiche che derivano sia dai costituenti dell'uva, sia dal metabolismo dei lieviti e che sono dotate di interessanti attività biochimiche e farmacologiche.

Da uno studio comparativo effettuato tra la popolazione del sud della Francia e quella americana, è emerso che, a fronte di un consumo di grassi saturi sostanzialmente equivalente, la popolazione francese presentava una minore incidenza di patologie coronariche. Il principale e forse unico elemento di diversità riscontrabile in questo studio fu individuato nell'elevato consumo di vino rosso da parte dei francesi. Questo fenomeno, noto come *Paradosso francese*, ha portato a considerare *il vino un alimento funzionale*. Per spiegare tale fenomeno, inizialmente si è ipotizzato che fosse l'alcol a esercitare un ruolo protettivo nei confronti delle coronopatie, attivando un meccanismo di produzione di *lipoproteine ad alta densità* (HDL). Solo successivamente è stato evidenziato come il tasso medio di colesterolo HDL riscontrato nella popolazione francese non fosse superiore a quello di altre nazioni (Stacchini et al., 1995). Inoltre, nella patogenesi dell'aterosclerosi gioca un ruolo particolare l'ossidazione delle lipoproteine a bassa densità, nei confronti delle quali gli antiossidanti, di cui è ricco il vino rosso, svolgono un ruolo protettivo importante.

A SEGUITO DELLE DISCUSSIONI SOLLEVATE DAL PARADOSSO FRANCESE, SONO STATE CONDOTTE NUMEROSE RICERCHE SCIENTIFICHE PER LA CARATTERIZZAZIONE DELLA FRAZIONE POLIFENOLICA DEI VINI E PER INDIVIDUARE I PIU SIGNIFICATIVI PRINCIPI ATTIVI

A seguito delle discussioni sollevate dal *Paradosso francese*, sono state condotte numerose ricerche scientifiche per la caratterizzazione della frazione polifenolica dei vini e per individuare i più significativi principi attivi. Questi studi hanno individuato nel *trans* resveratrolo la sostanza alla quale attribuire, grazie a un modico consumo di vino, gli effetti farmacologici auspicati. Dalla sua identificazione, sono stati condotti numerosi studi che hanno cercato di evidenziare l'efficacia di questa sostanza sulla salute umana. E' stato quindi dimostrato che il resveratrolo inibisce l'aggregazione piastrinica (Chung, 1992; Rimura, 1985; Pace-Asciak, 1995; Bertelli, 1995), protegge il fegato dalla perossidazione lipidica (Rimura, 1983) e inibisce l'ossidazione delle LDL (Frankel, 1993), assumendo cosi un ruolo importante nella prevenzione delle malattie cardiovascolari. Sulla scorta di ciò è stato messo in evidenza che l'uva e i suoi derivati sono i più importanti alimenti contenenti questo composto.

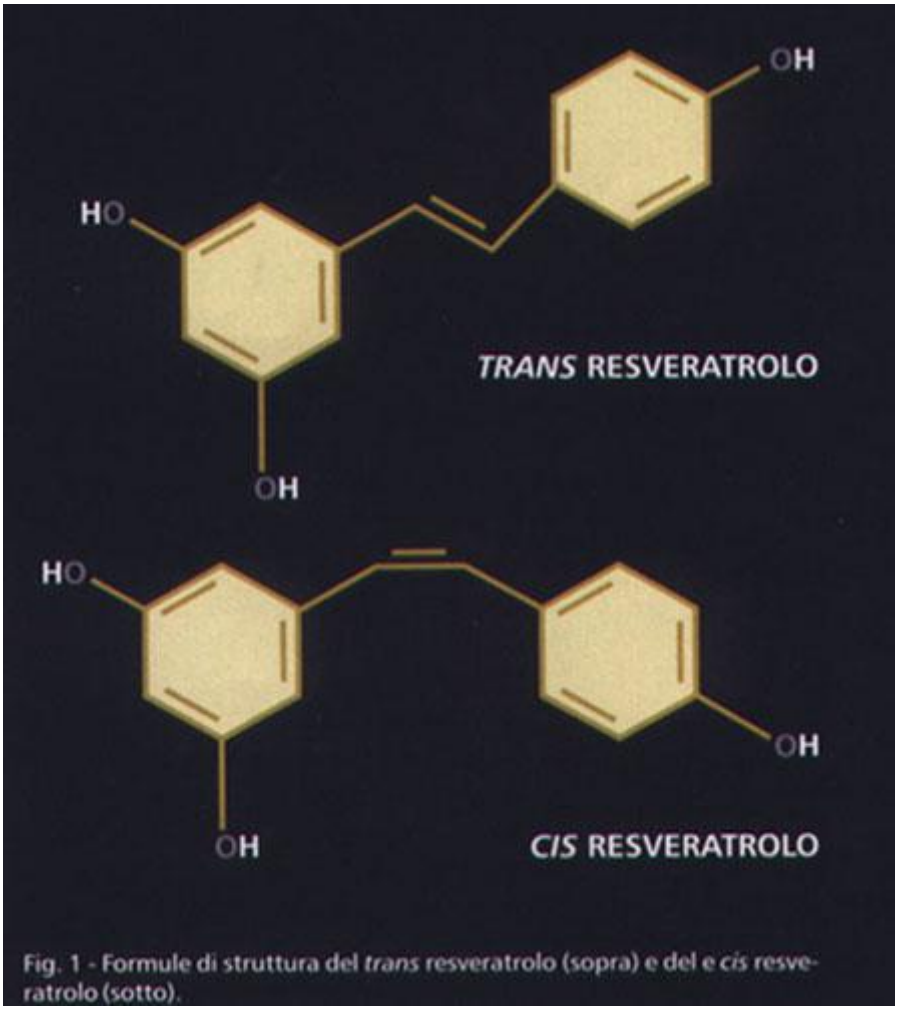


Fig. 1 - Formule di struttura del *trans* resveratrolo (sopra) e del e *cis* resveratrolo (sotto).

Il resveratrolo nella vite

Le ricerche hanno dimostrato che il resveratrolo è localizzato principalmente nella buccia dell'uva, mentre è assente o presente in concentrazioni molto limitate nella polpa e sembra non avere un ruolo significativo nei confronti delle proprietà organolettiche del frutto.
Il resveratrolo può essere di natura costituzionale o indotta; come composto costituzionale è contenuto in radici, vinaccioli e rachidi, mentre come sostanza indotta, grazie alle sue caratteristiche antifungine, è considerato una fitoalessina ed è associato ai fenomeni di resistenza delle specie del genere Vitis verso funghi patogeni quali la *Botrytis cinerea* e la *Plasmopara viticola* (Creasy, 1988; Yeandet, 1991; Yeandet, 1995), essendo prodotto da foglie e bacche. Anche altri fattori di varia natura possono stimolare le foglie e le bacche alla sintesi di resveratrolo e fra questi i più noti sono i raggi UV, i metalli (es. rame) e le ferite (Fregoni et al., 1994). Le origini geografiche, la varietà, il sistema di allevamento, lo stato fitosanitario delle uve e la tecnica di vinificazione sembrano influenzare la concentrazione di resveratrolo nel vino, mentre l'annata non sembra essere un fattore determinante.
Nella vite, oltre al *trans* resveratrolo e al suo isomero *cis* (figura 1) sono presenti i rispettivi D-glucopiranosidi (*trans* e *cis piceid*) e alcuni altri stilbeni idrossilati (Pool et al., 1981). II *cis* resveratrolo, secondo alcuni Autori, sarebbe presente nel vino ma non nell'uva (Jeandet et al., 1995; Mattivi et al., 1995; Lamuela Raventos et al., 1995; Goldberg et al., 1995a e 1995b; Yayatilake, 1993) perché si formerebbe per isomerizzazione del *trans* resveratrolo e avrebbe anche un'azione farmacologica diversa: inibire l'attività chinasica, un fattore connesso al cancro (Soleas, 1995); secondo altri Autori invece, l'isomero *cis* del resveratrolo sarebbe già presente nell'uva e aumenterebbe nel vino non conservato al riparo dalla luce (Jeandet et al.,1995) e la tecnologia di vinificazione utilizzata sarebbe un altro fattore rilevante per stabilire la quantità di resveratrolo contenuto nel vino.

Il resveratrolo nel vino

NEL PROCESSO DI VINIFICAZIONE CON MACERAZIONE, IL TEMPO DI CONTATTO BUCCE-MOSTO AUMENTEREBBE IL CONTENUTO DI RESVERATROLO DI CIRCA 10 VOLTE PER 1 VINI BIANCHI E 13 PER I VINI ROSSI

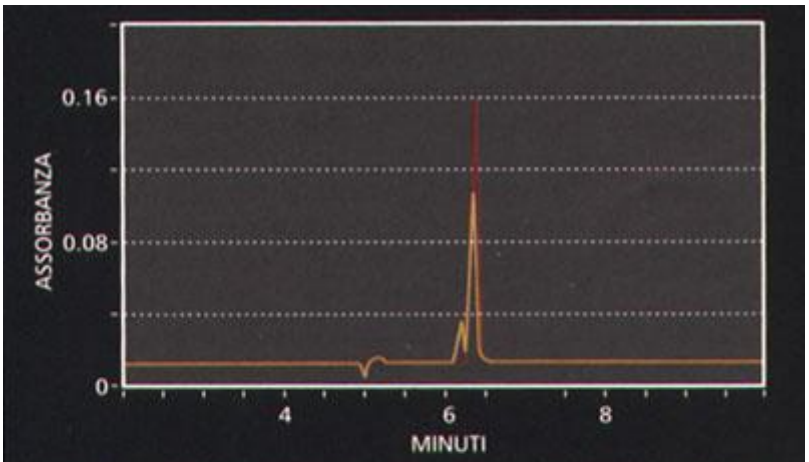
Nel processo di vinificazione con macerazione, il tempo di contatto bucce-mosto aumenterebbe il contenuto di resveratrolo di circa 10 volte per i vini bianchi e 13 per i vini rossi, pertanto quantificare il resveratrolo nel vino finito potrebbe essere un indice della pratica enologica utilizzata. Questi risultati trovano conferma anche in uno studio eseguito su vini dello stato di New York, dove è stato verificato che vini rossi prodotti con il maggior tempo di contatto mosto-bucce presentavano un contenuto di resveratrolo superiore. Inoltre, è stato dimostrato come il contenuto di resveratrolo sia più elevato nei vini ottenuti con uve provenienti da zone umide poiché, essendo il resveratrolo un fungicida naturale (fitoalessina), le uve che maturano in climi umidi, dove maggiore è l'incidenza degli attacchi di malattie fungine, ne dovranno contenere maggiori quantitativi per una efficace difesa dalle avversità.

Altre ricerche hanno evidenziato che durante la macerazione i livelli di *trans* e *cis* resveratrolo e dei rispettivi D-glucopiranosidi non aumenterebbero in modo costante, anche se uno studio eseguito su Lambrusco a foglia frastagliata ha riportato la possibilità di un aumento della concentrazione di questi composti durante la vinificazione (Mattivi et al., 1995). Per quanto riguarda i glucosidi, essi sono solubilizzati nel vino durante i primi stadi della vinificazione e prima dei rispettivi agliconi. Inoltre, la concentrazione iniziale di *trans* resveratrolo - D-glucopiranoside è normalmente inferiore al corrispondente *cis* e diminuisce durante la vinificazione, raggiungendo il valore minimo in coincidenza con la concentrazione finale di etanolo. Altri fattori che possono influire sulla concentrazione di resveratrolo sono il tipo di lievito e le eventuali fermentazioni secondarie, mentre i trattamenti enologici non sembra determinino modificazioni apprezzabili.

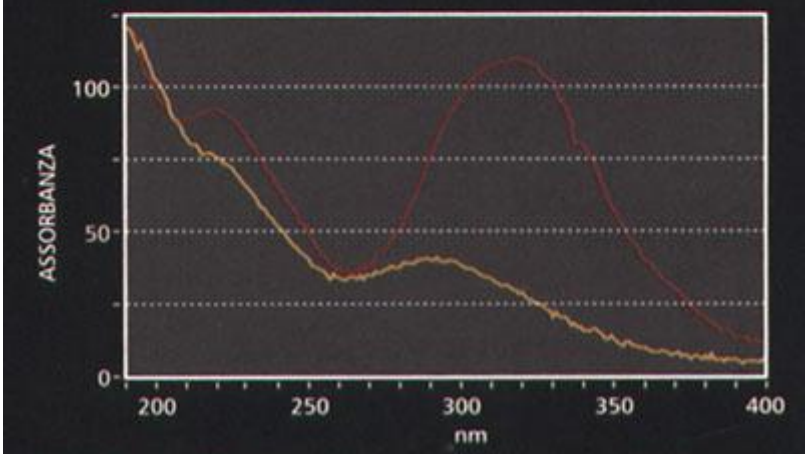
Contenuto in resveratrolo del vini in commercio

Sulla scorta degli studi riportati in letteratura è stata effettuata un'indagine sul contenuto di resveratrolo nei vini del commercio utilizzando, per le analisi, una metodologia basata sull'uso dell'elettroforesi capillare. Questa è una tecnica di recente acquisizione che presenta importanti caratteristiche quali elevata riproducibilità, sensibilità e capacità separative, nonché la necessità di un limitato quantitativo di campione per l'analisi.
In considerazione dell'elevata sensibilità della tecnica analitica, è stato necessario effettuare un'estrazione del resveratolo dal vino per ridurre l'effetto matrice e ottenere una quantificazione precisa. La metodologia estrattiva con la quale sono stati ottenuti i migliori valori di recupero è stata l'estrazione in fase solida (SPE) con cartucce C18.
Negli elettroferogrammi, registrati a 315 nm, il picco del *trans* resveratrolo è stato identificato mediante confronto con lo standard analitico sia in base al tempo di migrazione elettroforetica, sia con la comparazione degli spettri UV dei picchi in esame.
E' noto che, per azione della luce, il *trans* resveratrolo si isomerizza parzialmente a *cis* e che si forma una miscela dei due composti. Al fine di valutare tale processo, è stato messo a punto un protocollo per lo studio degli effetti dell'irraggiamento con luce UV di una soluzione di *trans* resveratrolo.

Nel grafico 1 sono riportati gli elettroferogrammi della soluzione di *trans* resveratrolo prima e dopo l'irraggiamento. Si nota chiaramente il decremento del picco relativo al *trans* resveratrolo e la comparsa di un nuovo picco relativo all'isomero *cis*. Nel grafico 2 sono mostrati gli spettri UV dei due isomeri e si vede come siano perfettamente individuabili: l'isomero *cis* possiede una max a 290 nm mentre l'isomero *trans* possiede una max a 315 nm. Questo studio ci ha permesso di ottenere in laboratorio lo standard di riferimento necessario per poter identificare e dosare negli estratti di vino commerciale anche l'isomero *cis*, il cui standard analitico non era disponibile in commercio.

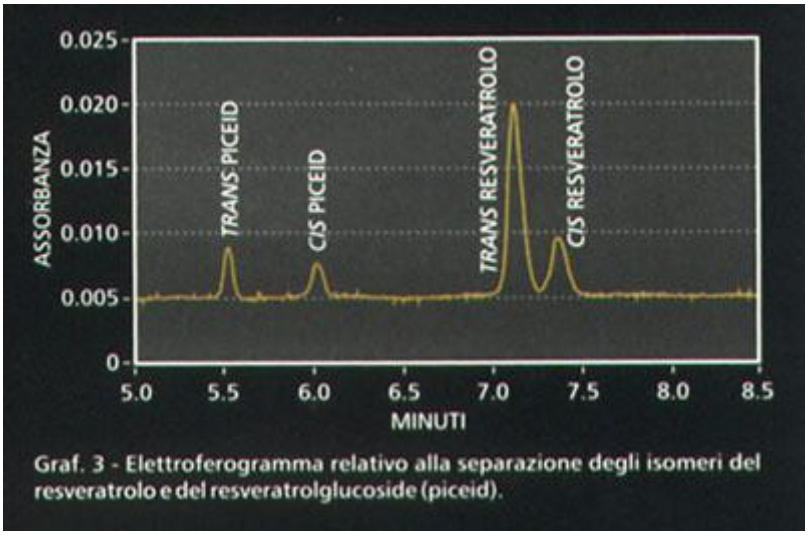


Graf. 1 - Elettroferogramma di una soluzione di *trans* resveratrolo prima (—) e dopo (—) irraggiamento.



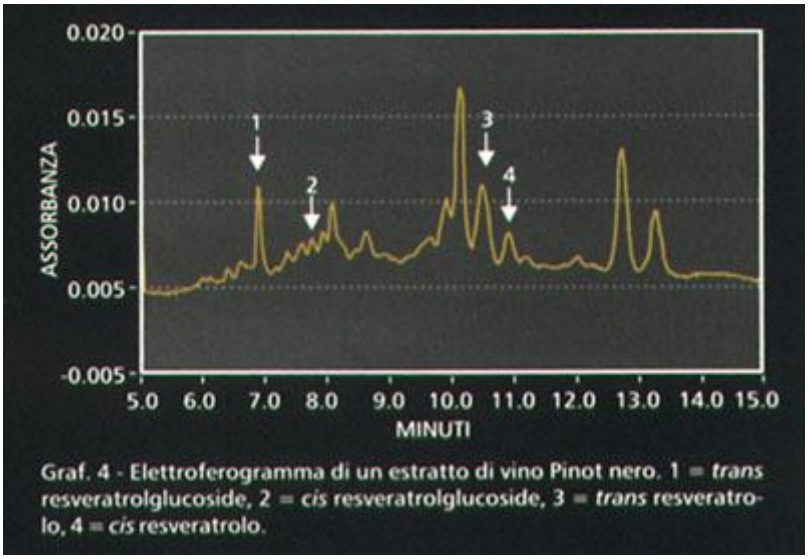
Graf. 2 - Spettri UV relativi agli isomeri *cis* (—) e *trans* (—) del resveratrolo.

Analogamente lo stesso protocollo di lavoro è stato applicato al glucoside, in modo da ottenere gli isomeri *cis* e *trans*. Ottenuti i quattro standard analitici, è stata studiata e messa a punto una metodologia separativa in elettroforesi capillare al fine di ottenere la separazione e l'identificazione dei quattro derivati (grafico 3) per dosarli nei vini.



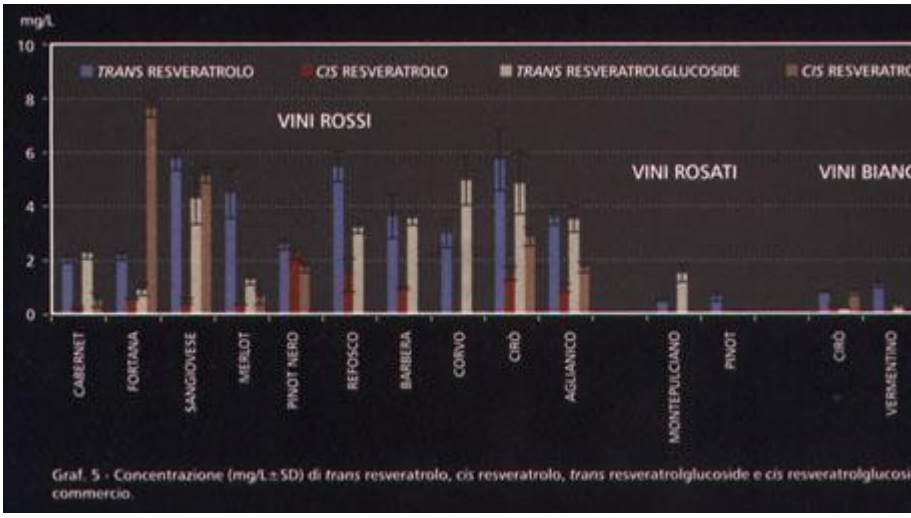
Graf. 3 - Elettroferogramma relativo alla separazione degli isomeri del resveratrolo e del resveratrolglucoside (piceid).

La separazione dei suddetti composti è stata ottenuta in soli 15 minuti, utilizzando per la corsa elettroforetica un tampone formato da $Na_2B_4O_7$ 20 mM, PEG 400 25 mM e SDS 25 mM, addizionato di metanolo in rapporto 9:1 al momento dell'uso. Nel grafico 4 è riportato l'elettroferogramma ottenuto con un vino rosso in cui sono individuabili i picchi relativi a *trans* resveratrolgiucoside, *cis* resveratrolgiucoside, *trans* resveratrolo e *cis* resveratrolo.



Graf. 4 - Elettroferogramma di un estratto di vino Pinot nero. 1 = *trans* resveratrolglucoside, 2 = *cis* resveratrolglucoside, 3 = *trans* resveratrolo, 4 = *cis* resveratrolo.

I composti sono stati identificati confrontando i tempi di migrazione elettroforetica e i relativi spettri uv. Questa metodologia è stata impiegata per analizzare vini tipici italiani provenienti da diverse regioni. Nel grafico 5 sono riportati parte dei risultati ottenuti da vini commerciali. Per alcuni vini non è stato possibile determinare i quattro isomeri poiché le quantità sono risultate al di sotto del limite di rilevabilità strumentale.

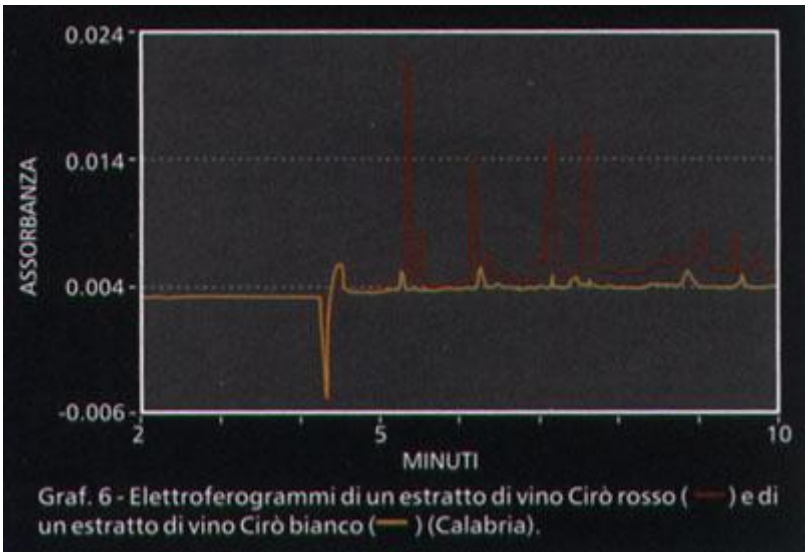


Graf. 5 - Concentrazione (mg/L ± SD) di *trans* resveratrolo, *cis* resveratrolo, *trans* resveratrolglucoside e *cis* resveratrolglucos commercio.

I VINI ROSSI EVIDENZIANO UNA MAGGIORE CONCENTRAZIONE DI RESVERATROLO E DERIVATI RISPETTO AI VINI ROSATI E BIANCHI. GLI ISOMERI *TRANS* SONO, IN GENERALE, QUANTITATIVAMENTE SUPERIORI AI CORRISPONDENTI ISOMERI *CIS*, ANCHE SE I RAPPORTI TRA I DIVERSI COMPOSTI RISULTANO ABBASTANZA VARIABILI

Osservando il grafico 5 si può notare come i vini rossi evidenzino, complessivamente, una maggiore concentrazione di resveratrolo e derivati rispetto ai vini rosati e bianchi e come

gli isomeri *trans* siano, in generale, quantitativamente superiori ai corrispondenti isomeri *cis*, anche se i rapporti tra i diversi composti risultano abbastanza variabili.
Le differenze riscontrate tra vini rossi e bianchi sono legate principalmente alle tecniche di vinificazione utilizzate. A dimostrazione di ciò, nel grafico 6 sono riportati gli elettroferogrammi di due vini ottenuti da uve Cirò vinificate con e senza macerazione. Il tracciato del vino rosso presenta un maggior numero di picchi, a testimonianza di un maggior contenuto di composti fenolici dovuto al tempo di contatto più prolungato tra mosto e vinacce, mentre il tracciato del Cirò bianco, pur utilizzando le stesse uve, dimostra di non contenere concentrazioni significative di polifenoli.



Graf. 6 - Elettroferogrammi di un estratto di vino Cirò rosso (—) e di un estratto di vino Cirò bianco (—) (Calabria).

Conclusioni

Da questo studio emerge come nei vini commerciali esaminati il resveratrolo sia sempre presente in quantità inferiori a 10 ppm, e confermi la caratteristica di un contenuto maggiore nei vini ottenuti con la macerazione delle bucce. Da altre ricerche da noi eseguite è risultato che la quantità di *trans* resveratrolo nel prodotto finito dipende molto dalla tecnologia di vinificazione adottata, mentre non subisce variazioni apprezzabili durante il periodo di invecchiamento, purché il vino sia conservato in modo corretto e in assenza di luce. Le quantità di *trans* resveratrolo riscontrate nei vini saggiati non sono, da sole, sufficienti per determinare in vivo quegli effetti farmacologici che alcune scuole di pensiero enfatizzano.

PER STIMARE IL CORRETTO APPORTO DI POLIFENOLI SARÀ NECESSARIO, IN FUTURO, CONOSCERE L'INTERA COMPOSIZIONE DELLA FRAZIONE FENOLICA DEL VINO, AL FINE DI VALUTARE OPPORTUNAMENTE LE AZIONI FARMACOLOGICHE SULL'ORGANISMO SIA *IN VITRO* SIA *IN VIVO*

Tuttavia nel vino possono essere presenti isomeri e altri derivati come il *trans* resveratrolglucoside, oltre a interessanti composti polifenolici come i flavonoidi, che sicuramente possono concorrere a esaltare quell'efficace azione preventiva che tutti auspicano nei confronti delle cosiddette malattie del benessere. Per stimare il corretto apporto di polifenoli sarà necessario, in futuro, conoscere

l'intera composizione della frazione fenolica del vino, al fine di valutare opportunamente le azioni farmacologiche sull'organismo sia *in vitro* sia *in vivo*. Attualmente si può affermare che il vino, che contiene un pool di importanti antiossidanti tra i quali il più noto è sicuramente il resveratrolo, se assunto con moderazione e all'interno di una dieta bilanciata, aiuta a mantenere elevate le difese antiossidanti dell'organismo. Per cui il classico bicchiere di vino rosso a pasto, consigliato anche dai nutrizionisti, può diventare un valido ausilio per coloro che prediligono alimentarsi con la cosiddetta dieta mediterranea.

Vincenzo Brandolini, Annalisa Maietti, Paola Tedeschi, Giorgio Vecchiati, Dionisio Mazzotta
Dipartimento di Scienze Farmaceutiche - Università di Ferrara

Bibliografia

BARLASS M., MILLER R.M., DOUGLAS TJ. (1987). Development of Methods for Screening Grapevines for Resistance to Infection by Downy Mildew. Am. J. Enol. Vitic., 38 (1), 65-68.

BERTELLI E. (1995). Antiplatelet activity of synthetic and natural resveratroi in red wine. Int. J. Tissue React., 17: 1-3.

CHUNG M.I. (1992). An antiplatelet principle of Veratrum formosanum. Pianta Med, 58: 274-276.

CREASY 1.1 (1988). Phytoalexin production potential of grape berries. J. Am. Soc. Hortic. Sci., 1 13: 230-234.

FRANKEL E.N. (1993). Inibition of human LDL oxidation by resveratrol. Lancet: 341, 1 103-1 104.

FREGONI M., BAVARESCO L., PETEGOLLI D., TREVISAN M., GHEBBIONI C. (1994). Indagine sul contenuto di resveratrolo in alcuni vini della valle d'Aosta e dei colli piacentini. Vignevini 21(6): 33-36.

GOLDBERG D. M., NG E., KARUMANCHIRI A., YANG J., DIAMANDIS E.P_SOLEAS G. J (1995a). Assay of resveratrol glycosides and isomers in wine by direct injection high performance liquid chromatography. J. Chrom.A, 708, 89-98.

GOLDBERG D.M., KARUMANCHIRI A., NG E., YAN J., DIAMANDIS E. P, SOLEAS G. J. (1995b). Direct gas chromatography-mass spectrometric method to assay cis resveratrol in wines: preliminary survey of its concentration in commerciai wines. J. Agric. Food Chem., 43: 1245-1250.

JAYATILAKE G. S. (1993). Kinase inhibitors from Polygonum cuspidatum. J. Nat. Prod., 56:1805-1810.

JEANDET P. (1991). The production of resveratrol by grape berries in different development stages, Am. J. Enol. Vitic., 42:41-46.

JEANDET P (1995). Production of the phytoalexin resveratrol by grapes as a response to Botrytis attacks under natural conditions. J. Phytopathol, 143: 135-139.

JEANDET P., BESSIS R., GANTHERON B. (1991). The Production of Resveratrol (3,5,4'-trihydroxystilbene) by Grape Berries in Different Developmental Stages. Am. J. Enol. Vitic., 42 (1):41-46.

JEANDET P., BESSIS R., MAUME B. F, MEUNIER P., PEYRON D., TROLLAT P (1995). Effects of enological practices on the resveratrol isomer content of wine. J. Agric. Food Chem., 43: 316-319.

KIMURA Y (1983) Effects of stilbene components of roots of Polygonum ssp on liver injury in peroxidized oil feci rats. Pianta Med, 49:51-54.

KIMURA Y (1985). Effects of stilbene on arachidonate metabolism in leukocytes. Biochim. Biohys. Acta, 834: 275-278.

LANGCAKE P, MC CARTY W.V (1979). The relationship of resveratroi production to infection of grapevine leaves by Botrytis cinerea. Vitis, 18:244-253.

LAMUELA-RAVENTOS L.M., ROMERO-PEREZ A.I., WATERHOUSE A.L., DE LA TORRE BORONAT M.C. (1995). Direct HPLC analysis of cis and trans resveratrol and piceid isomers in spanish red Vitis vinifera wines. J. Agric. Food Chem., 43, 281-283.

MATTIVI E, RENIERO F., KORHAMMER S. (1995). Isolation, characterization and evolution in red wine vinification of resveratrol monomers. J. Agric. Food Chem., 43:1820-1823.

PACE-ASCIAK C.R. (1995). The red wine phenolics trans resveratrol and quercetin block human platelet aggregation and eicosanoids syntesis: implication for protection against coronary heart disease. Clin. Chim. Acta, 235: 207-219.

POOL R.M., CREASY L.L., FRACKELTON A.S. (1981). Resveratrol and the viniferins, their application to screening for disease resistance in grape breeding programs. Vitis, 20:136-145.
SIEMAM E.H., CREASY 1.1. (1992). Concentration of the Phytoalexin Resveratrol in Wine. Am. J. Enol. Vitic---43 (1), 49-52.

SOLEAS G.J. (1995). A derivatized gas chromatographycs-mass spectrometric method for the analysis of both isomers of resveratrol in juice and wine. Am. J. Enol. Vitic., 46: 346352.

STACCHINI A., DRAISCI R., LUCENTINI L. (1995). Principi antiossidanti presenti nei vini. Commento ai dati recenti della letteratura. La rivista di scienza dell'Alimentazione, anno 24, n. 3.