

DETERMINAZIONE DEL CONTENUTO DI RESVERATROLO IN UVE, SEMILAVORATI E VINI DELLA VARIETA' LAMBRUSCO

C. ANGELI, M. LODI, F. COMPAGNONI

RIASSUNTO

Negli ultimi anni si sono sempre più delineate le proprietà terapeutiche del Resveratrolo, una molecola presente in molti prodotti naturali. Tra le caratteristiche attribuite a questa molecola citiamo una forte azione antiossidante che contribuisce alla prevenzione della perossidazione delle lipoproteine a bassa densità (LDL), riducendo pertanto il rischio di malattie miocardiche e di patologie arteriosclerotiche. Sono state altresì dimostrate proprietà antiaggreganti a livello piastrinico e di aumento dei valori di HDL.

Essendo stata rilevata questa molecola in concentrazioni apprezzabili nel vino, abbiamo focalizzato il nostro studio sulla determinazione delle variazioni di contenuto di resveratrolo, durante le fasi di vinificazione e nel prodotto finito, nelle uve tipiche della zona di Modena, in particolare nelle uve lambrusco di Sorbara, lambrusco Salamino di S.Croce e lambrusco Grasparossa di Castelvetro.

La determinazione è stata effettuata tramite procedura in HPLC.

Dai risultati ottenuti si evince che il rachide possiede una concentrazione di resveratrolo molto superiore ad ogni altro sottoprodotto ed al vino stesso, e tra le varietà prese in considerazione è risultata la varietà lambrusco Grasparossa di Castelvetro quella che presenta la concentrazione maggiore.

INTRODUZIONE

Scopo del presente lavoro è quello di analizzare la concentrazione di resveratrolo nelle uve, nei semilavorati e nel prodotto finito in tre diversi tipi di coltivazioni di *Vitis vinifera* della provincia di Modena : Lambrusco di Sorbara, Lambrusco di S.Croce, Lambrusco Grasparossa di Castelvetro, tutti riferiti alla produzione 1997.

CARATTERISTICHE DEL RESVERATROLO

Il resveratrolo è un derivato stilbenico naturalmente contenuto in varie specie vegetali che sembra essere in possesso di alcune proprietà terapeutiche. Studi recenti, volti alla prevenzione della patogenesi di molte malattie cardiovascolari, dimostrano che questa sostanza, comunemente presente anche nel vino rosso, ha una forte azione antiossidante prevenendo la perossidazione delle lipoproteine a bassa densità (LDL) e riducendo pertanto il rischio di malattie miocardiche e di patologie arteriosclerotiche.

Oltre a questi studi sono state effettuate verifiche sperimentali volte a dimostrare come questa sostanza, già nota ed utilizzata nella medicina tradizionale cinese, riduca nel siero l'aggregazione piastrinica ed aumenti i livelli di HDL. Il resveratrolo si conferma pertanto come un modulatore nella sintesi epatica delle apolipoproteine e dei lipidi e pertanto come un elemento importante nella riduzione dei rischi legati a patologie cardiache. Dati ancora più recenti dimostrano come il resveratrolo abbia una azione chemioprotettiva nei confronti delle patologie neoplastiche, sia grazie alla menzionata azione antiossidante che grazie ad una azione antimutagena inibendo lo sviluppo di lesioni preneoplastiche nei modelli animali. Tutti questi dati suggeriscono che il resveratrolo, uno dei più comuni elementi costituenti la dieta umana, meriti indagini ulteriori anche come potenziale agente chemioprotettivo anche nelle patologie tumorali.

MATERIALI E METODI

E' stato messo a punto un piano di campionamento in collaborazione con il Consorzio Interprovinciale Vini Civ & Civ di Ganaceto (Mo) per quanto riguarda il lambrusco di Sorbara ed il Lambrusco Salamino e con il Consorzio Interprovinciale Vini Civ & Civ di Castelvetro (Mo) per quanto riguarda il lambrusco Grasparossa di Castelvetro.

Il piano di campionamento è stato articolato nel seguente modo:

- **Campionamento grappoli uva:** è stato prelevato un grappolo d'uva per ogni carro conferito nell'arco della giornata (**n° 6 campioni per ogni varietà di uva**)
- **Campionamento del rachide:** sono stati prelevati **n° 6 campioni** del rachide per ogni varietà di uva durante la lavorazione nell'arco della giornata.
- **Campionamento del pigiato in presenza di buccia:** sono stati prelevati **n° 5 campioni** del pigiato per ogni varietà di uva durante la lavorazione nell'arco della giornata.
- **Campionamento del filtrato:** sono stati prelevati **n° 10 campioni** del filtrato per ogni varietà di uva durante la lavorazione nell'arco della giornata.
- **Campionamento del pannello di scarico del filtro:** sono stati prelevati **n° 5 campioni** di pannello per ogni varietà di uva durante la lavorazione nell'arco della giornata.
- **Campionamento del vino a fine fermentazione:** sono stati prelevati **n° 5 campioni** di vino per ogni varietà di uva.
- **Campionamento del vino dopo le pratiche enologiche** e successivamente con frequenza bimestrale calcolata dal termine del primo trattamento: sono stati prelevati **n° 5 campioni** di vino per ogni varietà di uva.

Preparazione del Campione :

Reattivi :

- Cloruro di metilene RPE
- Acetato di Etile RPE
- Acido Ortofosforico 85%
- Acetonitrile RPE
- Sodio Solfato Anidro

- Standard: Resveratrolo Sigma 99%

Per quanto riguarda i campioni a matrice solida (grappoli d'uva, rachide, pannello, pigiato), si provvede ad una accurata omogeneizzazione e successiva filtrazione.

Si pesano 100 g. di campione, si mettono in Omnimixer e si estrae la componente stilbenica aggiungendo 200 ml della miscela estraente di solventi composta da cloruro di metilene ed acetato di etile al 50%.

Si estrae per 5 minuti.

Si filtra su Sodio Solfato anidro e si raccolgono 100 ml dell'estratto organico.

Questo volume viene trasferito in un pallone da vuoto e viene concentrato mediante evaporazione sottovuoto con Rotavapor a 40°C fino a completa evaporazione del solvente.

L'estratto concentrato si riprende con 2 ml di acetato di etile.

Si trasferisce in un vials e si posiziona nell'autocampionatore.

Per quanto riguarda i campioni a matrice liquida (filtrato, vino a fine fermentazione, vino dopo le pratiche enologiche) se ne prelevano 100 ml e si estraggono direttamente per due volte con 100 ml della miscela estraente di solventi composta da cloruro di metilene ed acetato di etile al 50%.

Si estrae per 5 minuti.

L'estratto si filtra su Sodio Solfato anidro, e si trasferisce in un pallone da vuoto.

Viene poi concentrato mediante evaporazione sottovuoto con Rotavapor a 40°C fino a completa evaporazione del solvente.

L'estratto concentrato si riprende con 2 ml di acetato di etile.

Si trasferisce in un vials e si posiziona nell'autocampionatore.

Analisi in HPLC :

- *Apparecchiatura* : pompa a gradiente binario
- *Rivelatore* : UV visibile alla lunghezza d'onda di 311 nm
- *Sistema acquisizione dati* : JCL 6000
- *Colonna* : C18
- *Flusso* : 1 ml/minuto
- *Iniettore* : 50 µl

- *Fase Mobile* : Pompa A H_3PO_4 0,001 M (preparato prelevando 0,11 ml di H_3PO_4 portati a 1000 con acqua distillata); Pompa B Acetonitrile
- *Gradiente di eluizione* : al tempo 0 100% di A e 0% di B; al tempo 35 60% di B e 40% di A

In tali condizioni operative il resveratrolo viene eluito in circa 25 minuti.

L'identificazione del picco della sostanza in esame e' stata possibile per confronto con una soluzione standard a 10 ppm iniettata nelle medesime condizioni operative.

RISULTATI E DISCUSSIONE

In totale sono stati analizzati 42 campioni tra uve e semilavorati delle tre diverse varietà di *vitis vinifera*, riferiti tutti all'annata 1997.

Le concentrazioni più basse di resveratrolo sono state riscontrate nei campioni di pannello di filtrazione (vedi tabella 1, tabella 2 e tabella 3) e variano tra 0,018 e 0,044 mg/l; tali valori sono molto più bassi rispetto al vino e quindi si può ipotizzare che l'operazione di filtrazione non impoverisca il vino di questa molecola. Si osserva inoltre che neppure le operazioni apportate al filtrato e la fase di fermentazione modificano il contenuto di resveratrolo nel prodotto finito.

Le concentrazioni più alte di resveratrolo sono state invece riscontrate nei campioni di rachide (vedi tabella 1, tabella 2 e tabella 3) con valori che variano da 3,19 mg/l della varietà Lambrusco Grasparossa di Castelvetro, a 1,5 mg/l della varietà Lambrusco di Sorbara ed infine a 1,27 mg/l della varietà Salamino di S.Croce.

Questo risultato si giustifica probabilmente per il fatto che le tre diverse varietà di vino Lambrusco tipiche della provincia di Modena non necessitano di tempi lunghi di vinificazione e di durata del contatto tra mosto e vinacce, trattenendo quindi nei rachidi la percentuale maggiore di resveratrolo.

CONCLUSIONI

Scopo della nostra ricerca è stato quello di determinare la concentrazione e l'andamento del resveratrolo nel vino varietà Lambrusco durante la raccolta delle uve e le conseguenti operazioni di vinificazione in quanto la presenza di questo composto fenolico è stata messa in relazione con alcune proprietà farmacologiche dei vini rossi.

Da un'attenta analisi dei risultati sperimentali effettuati possiamo affermare che il rachide rappresenta l'intermedio di lavorazione che ne contiene in quantità maggiore, ed in alcuni casi la differenza con gli altri prodotti e sottoprodotti è significativa.

Si può considerare quindi il rachide un'ottima matrice vegetale impiegabile per lo studio di una tecnica estrattiva del resveratrolo ed omologhi, al fine di ottenere una sostanza pura di origine naturale da aggiungere ad un alimento. Questo sarà l'argomento di una nostra prossima ricerca.

In secondo luogo le relativamente basse concentrazioni di principio attivo riscontrate nel vino oggetto di indagine sono soprattutto da ricercarsi nel breve tempo di contatto a cui sono sottoposte le vinacce con il mosto.

Infine si è verificato che la varietà di lambrusco più ricca in resveratrolo è il Grasperossa le cui uve sono quelle più ricche della componente antocianica.

Tabella 1 - Andamento del contenuto di resveratrolo (in mg/l) durante la lavorazione, varietà Lambrusco Grasparossa di Castelvetro.

Uva	Rachide	Pigiato		Pannello		Filtrato	Fine Ferment.	Dopo pr.enol.
0,6	2,96	0,34	0,02	0,37	0,42	0,29		
0,47	3	0,35	0,11	0,36	0,4	0,44		
0,38	4	0,25	0,02	0,29	0,33	0,32		
0,57	3,22	0,27	0,02	0,39	0,43	0,44		
0,47	3,02	0,34	0,03	0,28	0,31	0,38		
0,56	2,95			0,29				
	0,38							
	0,3							
	0,37							
	0,39							
Media	0,51 3,19	0,31	0,04	0,34	0,38	0,37		
Dev.								
Stand.	0,0828 0,40804	0,04636	0,03937	0,04589	0,05449	0,06841		

Tabella 2 - Andamento del contenuto di resveratrolo (in mg/l) durante la lavorazione, varietà Lambrusco Salamino di S. Croce.

Uva	Rachide		Pigiato	Pannello	Filtrato	Fine Ferm.	Dopo pr.enol.
0,45	1,03	0,3	0,03	0,29	0,19	0,26	
0,48	0,5	0,2	0,03	0,39	0,23	0,39	
0,6	2,4	0,28	0,01	0,45	0,25	0,24	
0,39	1,5	0,43	0,01	0,1	0,38	0,24	
0,54	1	0,4	0,01	0,2	0,27	0,2	
0,49	1,2			0,39			
		0,42					
		0,38					
		0,42					
		0,4					
Media	0,49	1,27	0,32	0,018	0,34	0,26	0,27
Dev.							
Stand.	0,0725	0,64157	0,0934	0,01095	0,11286	0,07127	0,07266

Tabella 3 - Andamento del contenuto di resveratrolo (in mg/l) durante la lavorazione, varietà Lambrusco di Sorbara.

Uva	Rachide	Pigiato	Pannello	Filtrato	Fine Ferment.	Dopo pr.enol.	
0,51	2	0,3	0,01	0,22	0,2	0,24	
0,32	1,1	0,2	0,02	0,24	0,19	0,26	
0,47	2,5	0,28	0,09	0,21	0,24	0,25	
0,63	1,2	0,43	0,02	0,3	0,3	0,19	
0,45	1,22	0,43	0,08	0,24	0,3	0,26	
0,54	1			0,23			
		0,27					
		0,24					
		0,22					
		0,22					
Media	0,49	1,50	0,328	0,044	0,239	0,25	0,24
Dev.							
Stand.	0,1033	0,6047	0,1003	0,0378	0,0273	0,0527	0,0292