

Contenuto di un nuovo stilbene (piceatannolo) in alcuni vini della Sicilia

N. GEBBIA* - L. BAVARESCO**(*) - M. FREGONI** - S. CIVARDI** - L. CROSTA* - F. FERRARI*** - F. GRIPPI* - M. TOLOMEO**** - M. TREVISAN***

* Consorzio sul Rischio Biologico in Agricoltura. (†) Centro Regionale per la sicurezza dei prodotti agroalimentari, Regione Siciliana; presso Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia, via Rocco Dicillo, 4 - 90129 Palermo. ** Istituto di Frutti-Viticoltura. *** Istituto di Chimica Agraria ed Ambientale, Università Cattolica S. Cuore, Via Emilia Parmense, 84 - 29100 Piacenza. **** Divisione di Ematologia e Servizio AIDS, Università di Palermo.

RIASSUNTO

Per 15 vini siciliani, prodotti nelle provincie di Palermo, Trapani, Agrigento e Catania, ed ottenuti da vinificazione in purezza dei vitigni Nero d'Avola, Merlot, Cabernet Sauvignon, Cabernet franc, Sangiovese, Syrah, Alicante Bouschet, nelle annate 2000, 2001, 2002, si sono analizzate le concentrazioni delle principali sostanze stilbeniche. È stata riscontrata per la prima volta nei vini la presenza di piceatannolo (valore medio 0,18 mg/L, con variazioni da non rilevabile a 0,45 mg/L), sostanza che presenta notevoli attività biologiche, come fattore di prevenzione contro alcune patologie (inibitore della protein-tirosina chinasi e della 5 alpha-reduttasi, agente antileucemico, antiossidante e "radical scavenger", ecc.). Il *trans*-resveratrolo è variato da 0,14 mg/L a 1,45 mg/L (valore medio 0,71 mg/L), mentre il *cis*-resveratrolo è variato da 0,06 mg/L a 1,16 mg/L (valore medio 0,28 mg/L). L'applicazione di una tecnica viticola orientata alla qualità e di una tecnica enologica poco invasiva hanno favorito la presenza di sostanze stilbeniche nei vini.

Parole chiave: piceatannolo, resveratrolo, vino, Sicilia

SUMMARY

THE OCCURRENCE OF THE STILBENE PICEATANNOL IN SOME WINES FROM SICILY

15 wines from Sicily (Italy), obtained in the provinces of Palermo, Trapani, Agrigento, Catania, coming from vinification of *Vitis vinifera* L. cvs. Nero d'Avola, Merlot, Cabernet Sauvignon, Cabernet franc, Sangiovese, Syrah, Alicante Bouschet, during vintages 2000, 2001, 2002, have been analysed for the main stilbenic compounds. The occurrence of piceatannol (trans-3,3',4,5'-tetrahydroxy-stilbene) has been recorded for the first time in the wine (average value 0.18 mg/L, ranging from not detectable to 0.45 mg/L). The compound is claimed to have powerful biological activities, by preventing some diseases, since it is an inhibitor of protein-tyrosine kinase and 5 alpha-reductase, an antileukaemic, antioxidant and radical scavenger agent. *Trans*-resveratrol ranged from 0.14 mg/L to 1.45 mg/L (average value 0.71 mg/L), while *cis*-resveratrol ranged from 0.06 mg/L to 1.16 mg/L (average value 0.28 mg/L). Under quality-oriented cultural practices in the vineyard and under a mild enological technology a higher level of stilbenic compounds occurred.

Key words: piceatannol, resveratrol, wine, Sicily

Introduzione

Il piceatannolo o astringinina (3,3',4,5'-tetraidrossistilbene) è una sostanza di natura stilbenica presente in alcune piante non commestibili come *Euphorbia lagascae* (Ferrigni *et al.*, 1984), *Melaleuca leucadendron* (Tsuruga *et al.*, 1991), *Picea abies* (Mannila e Talvitie, 1992), *Picea sitchensis* (Aritomi e Donnelly, 1976), *Cassia garrettiana* (Kimura *et al.*, 2000) e in *Scirpus californicus* (Schmeda-Hirschmann *et al.*, 1996), i cui rizomi sono edibili, *Rheum undulatum* (Ko and Ko, 2000), i cui rizomi sono utilizzati per medicine tradizionali, *Saccharum* spp. (Brinker e Seigler, 1991), e *Aiphanes aculeata* (Lee *et al.*, 2001); recentemente (Bavaresco *et al.*, 2002) il piceatannolo è stato dosato per la prima volta in un frutto commestibile (l'uva). Il glucoside del piceatannolo, invece (piceatannolo 3-O-β-D-glucopiranoside o astringina) è stato trovato in colture di sospensioni cellulari di vite (Waffo-Teguo *et al.*, 1996) e nel vino (Carando *et al.*, 1999; Landrault *et al.*, 1999; Ribeiro de Lima *et al.*, 1999). Fino ad oggi, comunque, il piceatannolo libero non è ancora stato individuato nel vino.

L'interesse per questo composto nasce dalle notevoli proprietà biologiche finora testate, come il suo effetto inibitore della protein-tirosina chinasi (Geahlen e McLaughlin, 1989; Oliver *et al.*, 1994) e della 5 α-reduttasi (Ko e Ko, 2000), come agente antileucemico (Ferrigni *et al.*, 1984; Mannila *et al.*, 1993), antiossidante e "radical scavenger" (Fauconneau *et al.*, 1997). Recentemente è stato dimostrato che il piceatannolo previene nei

linfociti B e T, nei fibroblasti e nelle cellule HeLa la fosforilazione dell'interferone-α-indotto Stat3 e Stat5 (Su e David, 2000), così come la progressione del ciclo cellulare nelle cellule cancerogene colorectali (Wolter *et al.*, 2002). Secondo Potter *et al.* (2002) il resveratrolo è convertito in piceatannolo dall'enzima CYP1B1 del citocromo P450 che è presente nei tumori, e il piceatannolo è ritenuto essere il composto attivo che attacca e distrugge le cellule cancerogene.

Se il piceatannolo, nonostante sia stato cercato in numerose analisi sul vino, non è finora mai stato identificato (Bavaresco *et al.*, 1999) esistono invece nel vino altre sostanze di natura stilbenica da tempo note, la prima delle quali ad essere individuata è stata il *trans*-resveratrolo. L'interesse per il resveratrolo deriva dalla sua attività, prima ipotizzata e poi verificata, di riduzione del rischio di malattie cardio-vascolari in connessione al cosiddetto "paradosso francese" (Renaud e De Lorgeril, 1992). Le caratteristiche positive per la salute umana risiedono nell'attività antiossidante (Frankel *et al.*, 1993), contro l'aggregazione delle piastrine (Bertelli *et al.*, 1995; 1996), contro l'adesione di granulociti e monociti all'endotelio (Ferrero *et al.*, 1998), contro alcuni processi di sviluppo del tumore (Jang *et al.*, 1997; Soleas *et al.*, 2002), come regolatore della risposta immunitaria (Falchetti *et al.*, 2001), come fattore preventivo del danno ossidativo del DNA (Sgambato *et al.*, 2001), come fitoestrogeno (Calabrese, 1999); per una review completa sugli effetti biologici del resveratrolo si rimanda a Frémont (2000).

Dopo il primo dosaggio di *trans*-resveratrolo nel vino ad opera di Siemann e Creasy (1992), molti altri autori si sono cimentati nell'analisi di tale composto nei vini di numerose zone viticole mon-

(*) Il CO.RI.BI.A. è un ente di diritto pubblico costituito ai sensi dell'art. 5 della l.r. 88/1982 - promotore: Assessorato Agricoltura e Foreste della Regione Siciliana.

(†) "Corresponding author"

diali. Oltre al *trans*-resveratrolo, il vino contiene altri stilbeni, quali l'isomero *cis*- ed i corrispondenti glucosidi (piceide o polidatina), l'astringina (glucoside del piceatannolo), un deidromero del resveratrolo (Adrian *et al.*, 2000), il pallidolo e l' ϵ -viniferina (Landrault *et al.*, 2002). I vini rossi, in genere, presentano livelli di stilbeni più elevati rispetto ai bianchi (a causa della macerazione, con conseguente estrazione della sostanza dalle bucce), anche se uno di questi ultimi (il Rhein Riesling) presenta una vasta gamma di nuove sostanze stilbeniche (Baderschneider e Winterhalter, 2000). Gli stilbeni sono presenti nel vino in seguito alla loro estrazione dalle bucce, ed in piccola parte da pezzetti di raspi (Bavaresco *et al.*, 1997a; 2000) presenti accidentalmente nella massa fermentante, durante la fermentazione alcolica (Mattivi *et al.*, 1995). La successiva fermentazione malolattica è in grado di aumentare la quota di resveratrolo nel vino grazie alla capacità dei batteri lattici di liberare la sostanza dalla sua forma glucosidica, nella quale è in parte presente nelle bucce (Pezet e Cuenat, 1996).

Il resveratrolo presenta una ampia gamma di variazione (fino a 20 mg/L) in funzione di molti fattori, quali l'origine geografica, il vitigno, le condizioni meteorologiche della fase di maturazione dell'uva, le tecniche colturali nel vigneto (Bavaresco *et al.*, 2001), i metodi di vinificazione (Mattivi e Nicolini, 1993; Fregoni *et al.*, 1994).

Prima del suo dosaggio nel vino, il resveratrolo e le viniferine erano noti come sostanze presenti nella vite sia sottoforma costitutiva (negli organi legnosi) che indotta (nelle foglie e nelle bucce delle bacche), agendo in questo caso da fitoalessine (sostanze sintetizzate *ex novo* dopo il contatto tra ospite e patogeno o qualche altro elicitore). Il ruolo di questi composti nella pianta è di carattere fungistatico, permettendo alla vite di proteggersi dalle malattie quali la botrite, la peronospora, ed altri funghi secondari, come *Phomopsis* spp. e *Rhizopus* spp. (Bavaresco e Fregoni, 2001). In genere, quindi, i genotipi resistenti alle malattie producono, a livello fogliare, quantitativi maggiori di stilbeni rispetto a genotipi sensibili. Anche le bacche mature (le bucce) sono in grado di sintetizzare, dopo l'intervento di un elicitore, resveratrolo ed il suo glucoside (Jeandet *et al.*,

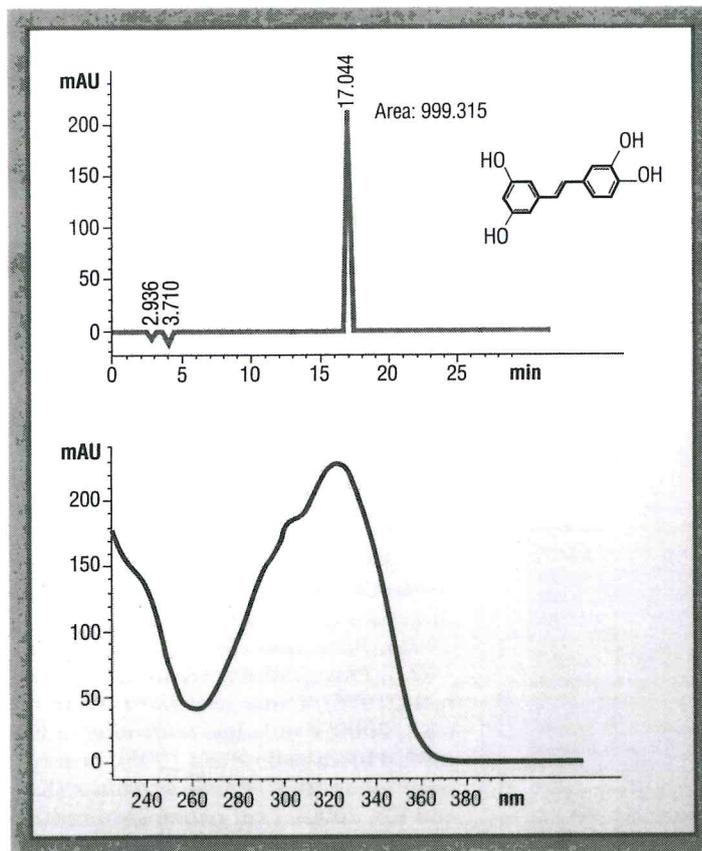


Fig. 1 - Cromatogramma, formula di struttura e spettro di assorbimento del piceatannolo standard.

vitigni di *V. vinifera*, e questo è concorde con il rapporto diretto tra produzione di fitoalessine e resistenza alle malattie propria degli ibridi e delle specie selvatiche. In altri lavori, invece, (Soleas *et al.*, 1995a e b) sono stati riscontrati livelli di resveratrolo più elevati in bacche di alcune varietà di *V. vinifera* rispetto ad alcuni ibridi ed alla Concord (*V. labrusca*), coltivati in Ontario.

1995a; Waterhouse e Lamuela-Raventos, 1994), ϵ -viniferina, pterostilbene (Bavaresco *et al.*, 1997b) e piceatannolo (Bavaresco *et al.*, 2002).

Le concentrazioni di stilbeni nelle bacche sono correlate al genotipo in modo contraddittorio. Secondo Creasy e Coffee (1988), Jeandet *et al.* (1991), Bavaresco *et al.* (1997b) alcuni ibridi e varietà di *V. labrusca* hanno più stilbeni rispetto a vi-

Anche le concentrazioni di resveratrolo nel vino appaiono contraddittorie per quanto riguarda il rapporto tra varietà più o meno resistenti alle malattie. Come regola generale dovremmo aspettarci livelli elevati in vini provenienti da uve di ibridi o specie americane e livelli bassi in vini ottenuti da uve di *V. vinifera*, a parità di condizioni ambientali e di tecniche di vinificazione. Secondo i risulta-

ti di Romero-Perez *et al.* (1996) i livelli di resveratrolo e del suo glucoside sono serviti come marker varietali di alcuni vini bianchi ottenuti da vitigni spagnoli di *V. vinifera* e le concentrazioni di stilbeni

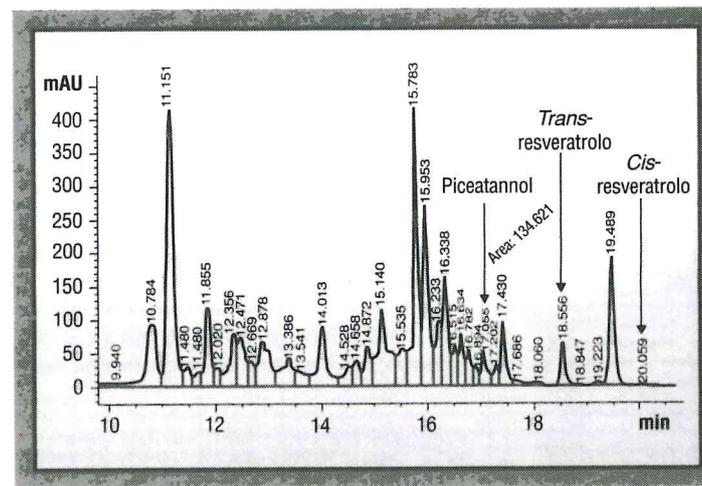


Fig. 2 - Cromatogramma di un campione di vino analizzato.

Tabella 1
Concentrazioni di stilbeni nei vini siciliani oggetto di indagine.

Campioni	Vitigno	Annata	Provincia	Piceatannolo (mg/L)	Trans-resveratrolo (mg/L)	Cis-resveratrolo (mg/L)	Resveratrolo totale (mg/L)	Rapporto Trans/Cis-resveratrolo
1	Nero d'Avola	2001	Trapani	0,16	0,77	0,20	0,97	3,85
2	Merlot	2001	Agrigento	0,34	1,14	0,50	1,64	2,28
3	Nero d'Avola	2002	Trapani	0,28	1,00	0,23	1,23	4,35
4	Nero d'Avola	2001	Palermo	n.r.	0,14	0,06	0,20	2,33
5	Cabernet Sauvignon	2001	Catania	n.r.	0,66	0,44	1,10	1,50
6	Nero d'Avola	2001	Palermo	0,07	0,41	0,10	0,51	4,10
7	Sangiovese	2001	Trapani	0,45	0,83	0,15	0,98	5,53
8	Cabernet Sauvignon	2001	Trapani	0,14	0,31	0,15	0,46	2,07
9	Syrah	2001	Palermo	0,14	0,43	0,09	0,52	4,78
10	Alicante Bouschet	2001	Trapani	0,17	1,45	0,32	1,77	4,53
11	Sangiovese	2002	Agrigento	0,09	0,30	0,08	0,38	3,75
12	Cabernet franc	2001	Catania	0,21	1,20	1,16	2,36	1,03
13	Nero d'Avola	2000	Palermo	0,17	0,64	0,28	0,92	2,29
14	Merlot	2001	Agrigento	0,39	1,08	0,30	1,38	3,60
15	Syrah	2001	Trapani	0,07	0,31	0,11	0,42	2,82
MEDIA				0,18	0,71	0,28	0,99	3,25

n.r. = non rilevabile, valore inferiore a 0,05 mg/L

sono apparse correlate con la loro resistenza alle malattie fungine. Lamikanra *et al.* (1996), inoltre, hanno riscontrato livelli di resveratrolo più elevati in vini provenienti da *V. rotundifolia* (resistente alle malattie) che non in quelli ottenuti da vitigni di *V. vinifera* e *V. labrusca*. A differenza di questi dati, invece, Soleas *et al.* (1995b; 1997a) hanno trovato livelli di resveratrolo più elevati in vini di varietà di *V. vinifera* che in quelli di ibridi francesi. Secondo dati non pubblicati di Bavaresco, il vino della vendemmia 1992 ottenuto dal vitigno ibrido tedesco a bacca rossa Regent (Diana x Chambourcin) coltivato nel Rheinland-Pfalz, aveva un livello abbastanza basso di *trans*- e *cis*-resveratrolo (rispettivamente 0,71 e 1,20 mg/L).

Gli stilbeni (specie i glucosidi del resveratrolo) sono presenti anche in succhi d'uva non fermentati (Romero-Pérez *et al.*, 1999; Nikfardjam *et al.*, 2000; Wang *et al.*, 2002).

Materiali e metodi

La prova ha riguardato 15 vini rossi monovitigno prodotti in Sicilia, nelle zone, con i vitigni e nelle annate indicate nella tabella 1. Le analisi sono state effettuate nel novembre 2002, con due repliche per ciascun vino. Dopo una centrifugazione a 1.500 rpm per 2 minuti, l'identificazione e la quantificazione di piceatannolo, *trans*-resveratrolo e *cis*-resveratrolo è stata fatta mediante HPLC, con iniezione diretta dei campioni (Fregoni *et*

al., 1994, modificato). Come sostanze standard sono stati utilizzati il piceatannolo (P 0453, Sigma - Aldrich), il *trans*-resveratrolo (R 5010, Sigma - Aldrich), il *cis*-resveratrolo ottenuto per isomerizzazione del *trans*-resveratrolo in seguito ad esposizione a raggi UV ($\lambda = 366$ nm) per 40 minuti (conversione del 90%). Si è utilizzato un cromatografo liquido Hewlett-Packard (Waldbronn, Germania) 1090 L con autoiniettore (50 μ L volume di iniezione) e rilevatore a serie di diodi (DAD) posizionato a 305 e 325 nm, equipaggiato con una colonna Phenomenex Luna C18 (2) 250 x 4,6 mm 5 μ m, miscela eluente acetonitrile (A) e tampone fosfato ($\text{KH}_2\text{PO}_4 + \text{H}_3\text{PO}_4$) 0,02 M a pH = 3,0 (B). Il gradiente adottato è riportato nella tabella sottostante, ad un flusso di 1,0 mL/min.

Eluente B (%)	Tempo (min)
10	0
10	5
20	8
20	10
40	13
40	25
10	27

Nelle condizioni riportate i tempi di ritenzione delle sostanze indagate sono i seguenti (a 20 °C):
 - piceatannolo: 17,04 min;
 - *trans*-resveratrolo: 18,6-19,2 min;
 - *cis*-resveratrolo: 19,9-20,4 min.

Grazie al rilevatore a diodi, di cui lo strumento è dotato, è possibile eseguire in tempo reale lo spettro UV-VIS per tutti i campioni analizzati, ed è anche possibile

Tabella 2
Concentrazione di stilbeni in funzione del vitigno (valori medi \pm s).

Vitigno	Numero analisi	Piceatannolo (mg/L)	Trans-resveratrolo (mg/L)	Cis-resveratrolo (mg/L)	Resveratrolo totale (mg/L)	Rapporto Trans/Cis-resveratrolo
Nero d'Avola	10	0,14 \pm 0,11	0,59 \pm 0,33	0,17 \pm 0,09	0,76 \pm 0,41	3,5
Merlot	4	0,37 \pm 0,04	1,11 \pm 0,04	0,40 \pm 0,14	1,51 \pm 0,18	2,8
Cabernet Sauvignon	4	0,07 \pm 0,10	0,49 \pm 0,25	0,30 \pm 0,21	0,79 \pm 0,45	1,6
Cabernet franc	2	0,21	1,20	1,16	2,36	1,0
Sangiovese	4	0,27 \pm 0,25	0,57 \pm 0,37	0,12 \pm 0,05	0,69 \pm 0,42	4,9
Syrah	4	0,11 \pm 0,05	0,37 \pm 0,08	0,10 \pm 0,01	0,47 \pm 0,07	3,7
Alicante Bouschet	2	0,17	1,45	0,32	1,77	4,5

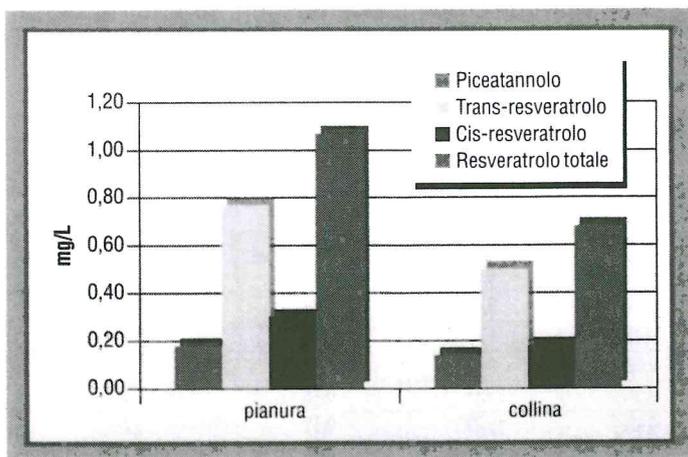
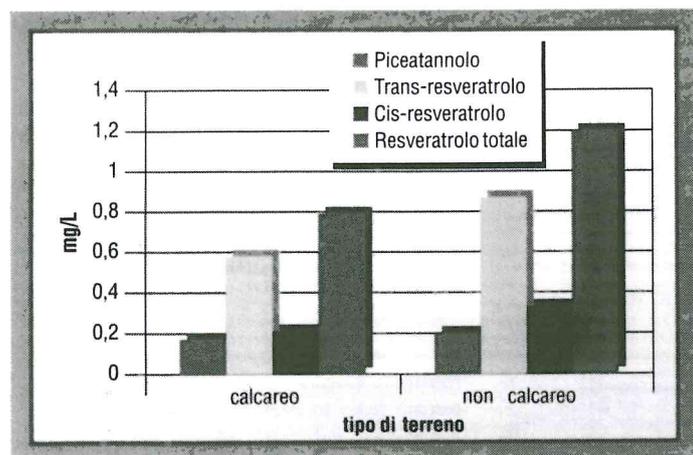


Fig. 3 - Concentrazione di stilbeni in funzione della giacitura del vigneto.

di conseguenza, stabilire la purezza dei picchi sottoposti a scansione per mezzo della maggiore o minore corrispondenza dell'andamento delle due curve (tratteggiata e continua) che rappresentano l'assorbimento della sostanza alle diverse lunghezze d'onda. La quantificazione è stata fatta con il metodo dello standard esterno. Il metodo era lineare tra 0,05 mg/L e 3 mg/L. Il limite di rilevazione è di 0,05 mg/L. Ogni dato riportato in tabella 1 è la media di due repliche. Il dato relativo al resveratrolo totale è stato ottenuto sommando il valore dell'isomero *trans*- a quello dell'isomero *cis*-.

Ciascun campione di vino era corredato da una scheda agronomica ed una enologica, dove venivano riportate le più importanti caratteristiche agronomiche e tecnico-strutturali

Fig. 5 - Concentrazione di stilbeni in funzione del tipo di terreno.



li dei vigneti (dalle uve dei quali si sono ottenuti i vini analizzati) e le operazioni salienti della vinificazione. Sulla base di questa indagine è stato possibile stabilire delle connessioni tra i suddetti parametri e le concentrazioni nei vini delle sostanze stilbeniche, secondo quanto riportato nella tabella 2 e nelle figure dalla 3 alla 16.

Risultati

Il piceatannolo è stato dosato in tutti i campioni analizzati, ad eccezione del campione 4 (Nero d'Avola, 2001, Palermo) e del campione 5 (Cabernet Sauvignon, 2001, Catania); dove presente, la sostanza è variata da 0,07 mg/L (campione 6, Nero d'Avola, 2001, Palermo e campione 15, Syrah, 2001, Trapani) a 0,45 mg/L (campione 7, Sangiovese, 2001, Trapani), con un valore medio generale di 0,18 mg/L (tab. 1).

Il *trans*-resveratrolo è stato rilevato in tutti i vini ed è variato da 0,14 mg/L (campione 4, Nero d'Avola, 2001, Palermo) a

1,45 mg/L (campione 10, Alicante Bouschet, 2001, Trapani), con un livello medio di 0,71 mg/L (tab. 1).

Anche il *cis*-resveratrolo è stato dosato in tutti i vini, ed il campione 4 (Nero d'Avola, 2001, Palermo) ha presentato il valore più basso (0,06 mg/L), mentre il campione 12 (Cabernet franc, 2001, Catania) ha fatto registrare il livello più elevato (1,16 mg/L); il valore medio dei 15 vini è stato di 0,28 mg/L (tab. 1).

Il resveratrolo totale è variato da 0,20 mg/L nel campione 4 a 2,36 mg/L nel campione 12, con un valore medio di 0,99 mg/L (tab. 1).

Il rapporto tra i due isomeri del resveratrolo è risultato sempre maggiore di 1, ed è variato da 1,03 per il campione 12 a 5,53 per il campione 7.

L'effetto del vitigno

Fig. 4 - Concentrazione di stilbeni in funzione della tessitura del suolo.

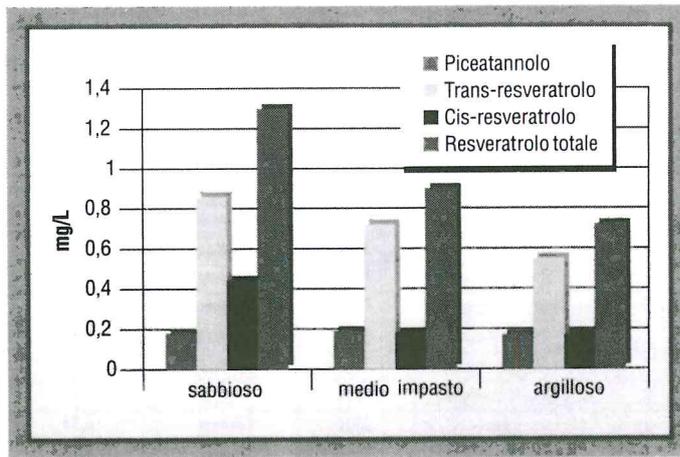
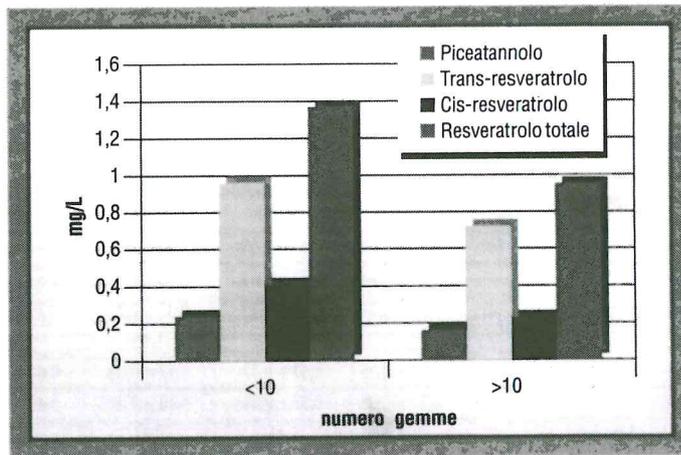


Fig. 6 - Concentrazione di stilbeni in funzione del numero di gemme/pianta.



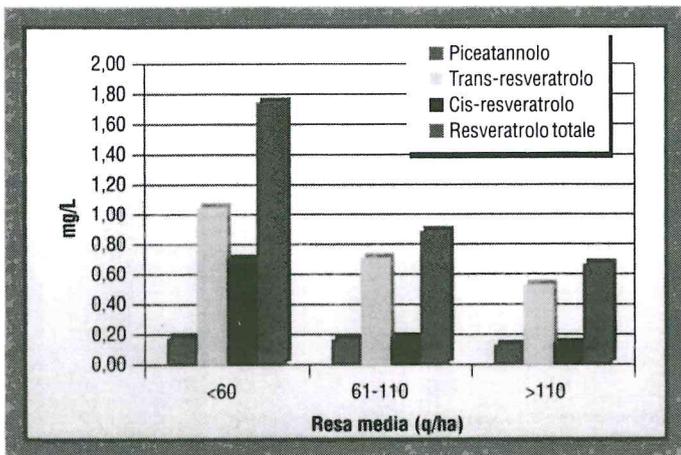


Fig. 7 - Concentrazione di stilbeni in funzione della produzione di uva/ha.

sui livelli di stilbeni nel vino è riportato in tabella 2. Il Merlot ha presentato il valore più elevato di piceatannolo (0,37 mg/L), mentre il Cabernet Sauvignon il valore più basso (0,07 mg/L). Il *trans*-resveratrolo è variato da 0,37 mg/L (Syrah) a 1,45 mg/L (Alicante Bouschet), mentre per quanto riguarda il *cis*-resveratrolo il Merlot ha presentato ancora il valore più elevato (0,40 mg/L) e la Syrah quello più basso (0,10 mg/L). Il resveratrolo totale è variato da 0,47 mg/L (Syrah) a 2,36 mg/L (Cabernet franc).

Le variazioni dei livelli di stilbeni nel vino, in funzione di alcuni fattori viticoli sono riportate nelle figure 3-10. La giacitura di pianura sembra aver favorito i livelli di stilbeni nei vini (fig. 3). Per quanto riguarda la tessitura del terreno si può notare che

Fig. 9 - Concentrazione di stilbeni in funzione della potatura verde.

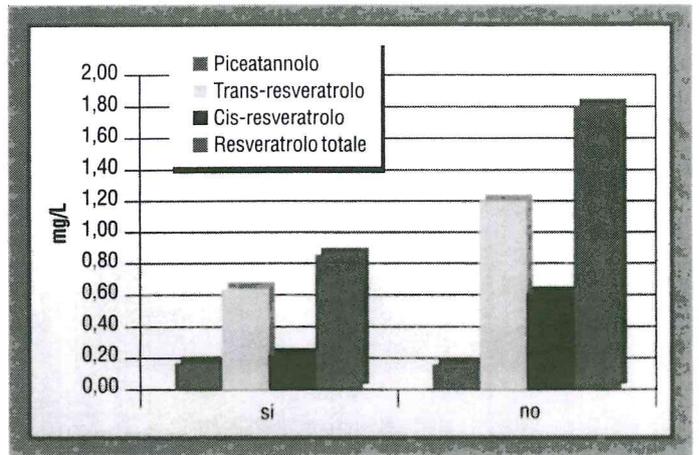
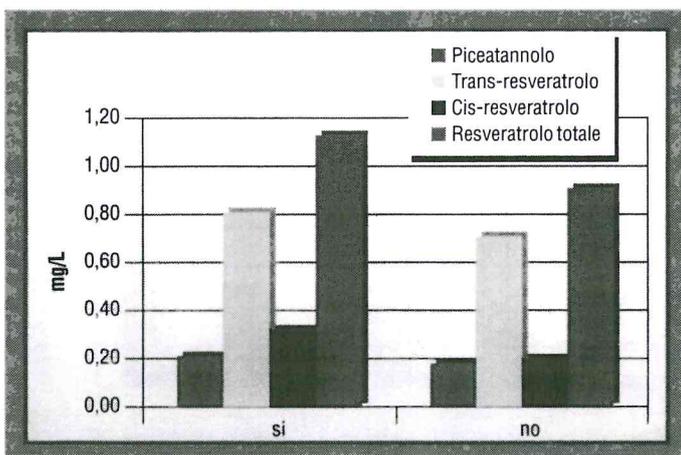


Fig. 8 - Concentrazione di stilbeni in funzione dell'irrigazione.

passando dai terreni sabbiosi a quelli argillosi diminuisce il resveratrolo, mentre il piceatannolo rimane stabile (fig. 4). I terreni calcarei, rispetto ai non calcarei, hanno depresso la presenza degli stilbeni (fig. 5), così come una elevata carica di gemme rispetto ad una bassa (fig. 6). Produzioni di uva via via crescenti hanno ridotto la produzione di sostanze stilbeniche nel vino (fig. 7). Il ricorso all'irrigazione sembra aver avuto un effetto negativo sul resveratrolo ed un effetto neutro sul piceatannolo (fig. 8), mentre potatura verde (fig. 9) e sfogliatura (fig. 10) non hanno indotto variazioni apprezzabili.

Le figure 11-15 riportano invece gli effetti di alcuni fattori di tecnica enologica sui livelli di stilbeni nei vini. Il tempo e la temperatura di macerazione hanno avuto un effetto diverso sui diversi stilbeni considerati (figg. 11 e 12), mentre la fermentazione malolattica ha aumentato i livelli di ciascun stilbene (fig. 13). La chiarificazione e la filtrazione hanno ridotto le concentrazioni sia di piceatannolo che di re-

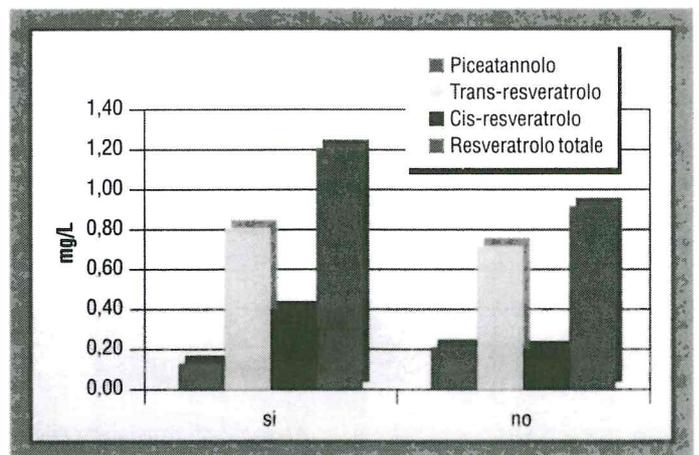
sveratrolo (figg. 14 e 15).

È stata infine calcolata una correlazione lineare positiva ($r = 0,61^*$) tra la concentrazione di *trans*-resveratrolo e piceatannolo.

Discussione

La ricerca in oggetto riporta per la prima volta nella letteratura la presenza di piceatannolo nel vino, ed in quantità apprezzabili. Come ricordato nell'introduzione, il piceatannolo è stato dosato per la prima volta nell'uva di Cabernet Sauvignon nel 2002 da Bavaresco *et al.*, e successivamente è stato individuato anche nelle bacche di Barbera (Bavaresco, dati in corso di pubblicazione). Considerando l'importante ruolo biologico della sostanza, il vino (nella fattispecie quello sici-

Fig. 10 - Concentrazione di stilbeni in funzione della sfogliatura.



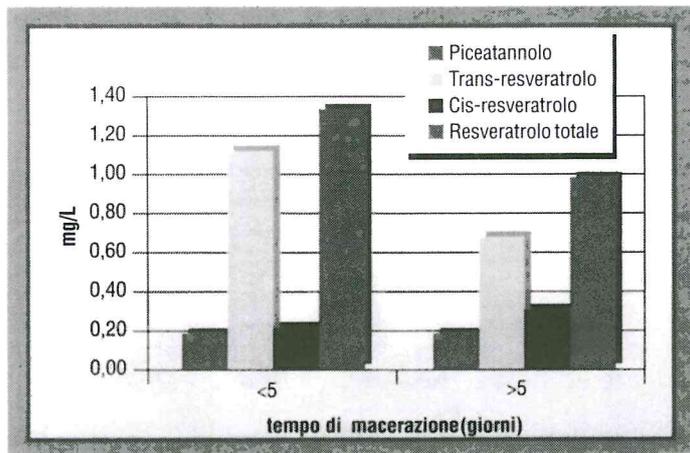


Fig. 11 - Concentrazione di stilbeni in funzione del tempo di macerazione.

te patologie. Sarà compito della scienza medica capire qual è il grado di assorbimento della sostanza nell'organismo umano, così da ipotizzare un suo reale effetto *in vivo*.

La concentrazione di piceatannolo nei vini sembra essere legata a diversi fattori viticoli ed enologici. Si fa presente che l'effetto di ciascuno di questi parametri sul piceatannolo, ma anche sul resveratrolo, ha una valenza relativa e non assoluta, perché si tratta di valori medi derivanti non da prove sperimentali opportunamente strutturate, ma da situazioni di campo e di cantina, non sempre omogenee tra loro. Premesso questo, si può notare come il fattore genetico (il vitigno) abbia un

Fig. 13 - Concentrazione di stilbeni in funzione della fermentazione malolattica.

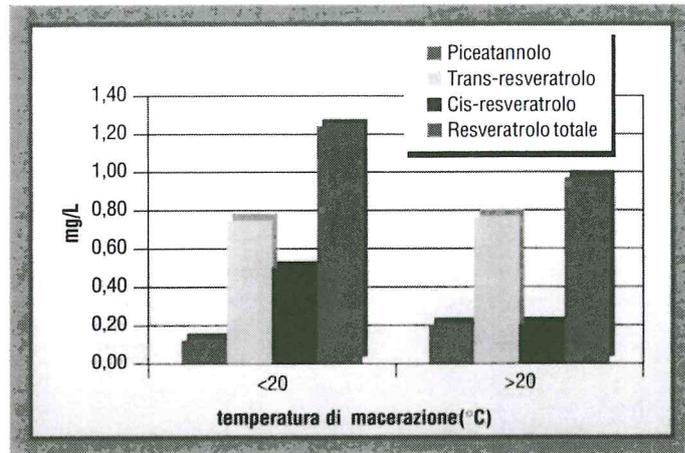
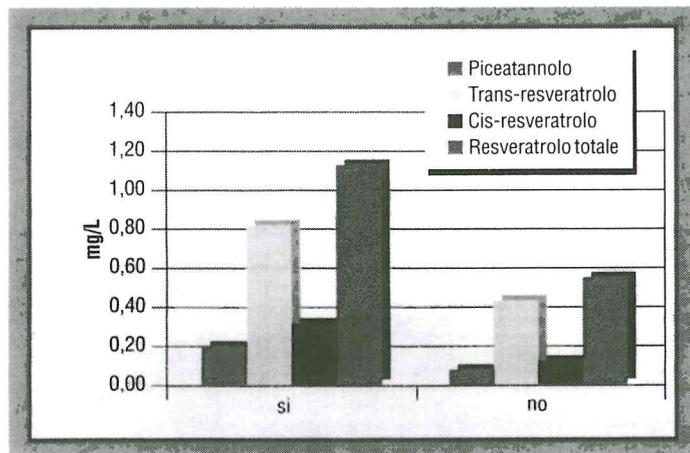


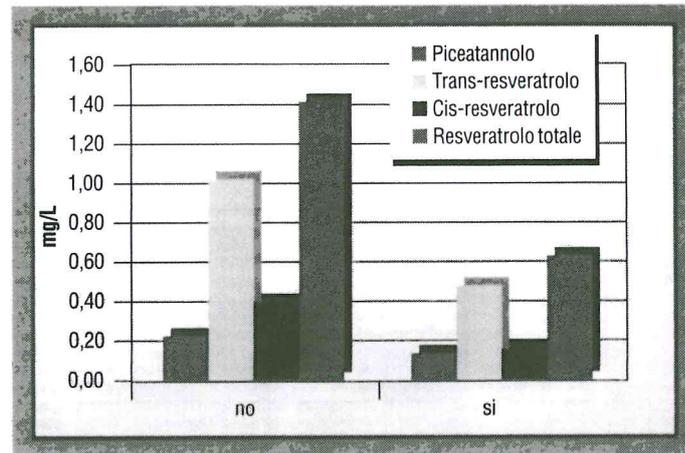
Fig. 12 - Concentrazione di stilbeni in funzione della temperatura di macerazione.

organolettico, ma anche più ricchi di sostanze positive per la salute.

Per quanto riguarda l'effetto della tecnica enologica sul livello di piceatannolo, si conferma il ruolo negativo della chiarificazione e filtrazione e quello positivo della fermentazione malolattica. Ovviamente la tecnica enologica applicata all'elaborazione di un vino rosso deve tener conto di diversi aspetti (e non solo della massimizzazione dei livelli di stilbeni), per cui praticamente si deve cercare un compromesso che permetta di avere un vino con ottime caratteristiche visive e gustative, stabilizzato, e con buoni livelli di sostanze polifenoliche utili alla salute.

Le concentrazioni di *trans*- e *cis*-resveratrolo sono apparse molto variabili in funzione del vitigno e mediamente diverse rispetto ad

Fig. 14 - Concentrazione di stilbeni in funzione della chiarificazione del vino.



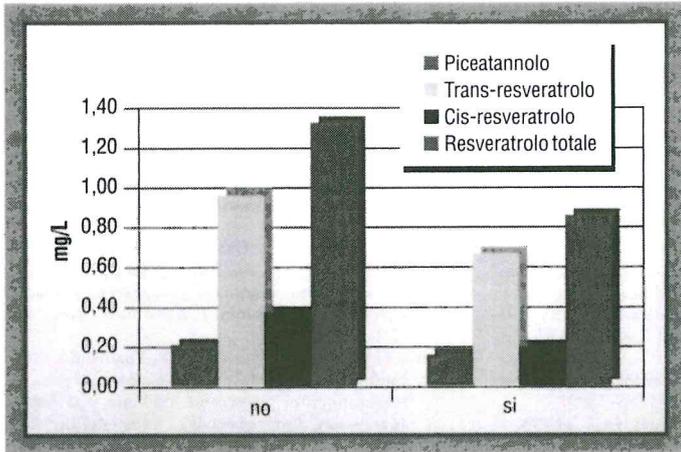


Fig. 15 - Concentrazione di stilbeni in funzione della filtrazione del vino.

altri dati riportati in letteratura (Nicolosi Asmundo *et al.*, 1999; Dugo *et al.*, 2000; 2001) per vini siciliani dei medesimi vitigni, ma di anni diversi, che sono variati da un minimo di 0,3 mg/L di resveratrolo totale (Syrah, annata 1999) ad un massimo di 7,75 mg/L (Syrah, annate 1993-1995). La diversità tra vitigni è un fatto assodato, mentre la diversità con altri vini siciliani, a parità di vitigno, risiede nell'effetto annata che è diversa tra i vini oggetto del presente studio (2000, 2001 e 2002) e quelli riportati in letteratura (1993-1999). Si potrebbero capire i motivi della diversità se si potessero conoscere i dati meteorologici delle diverse annate, soprattutto la piovosità e l'umidità dell'aria del periodo di maturazione, che sono correlati al livello di pressione dei patogeni nell'uva e di conseguenza all'induzione della sintesi di stilbeni (Jeandet *et al.*, 1995b). I valori di resveratrolo riscontrati nel presente lavoro si collocano su valori medio-bassi rispetto al panorama mondiale, il quale fa però riferimento ad annate antecedenti il 2000. Tra i vitigni, il Merlot si propone come genotipo tra i più interessanti per i livelli di piceatannolo, mentre il Cabernet franc si dimostra un buon produttore di resveratrolo totale; la Syrah, all'opposto, appare molto povera di sostanze stilbeniche. Riguardo al rapporto tra i due isomeri del resveratrolo (*trans-* e *cis-*), la letteratura riporta dati molto diversi tra loro, in funzione di diversi fattori, quali i metodi analitici (Trela e Waterhouse, 1986; Soleas *et al.*, 1997b), il vitigno e l'ambiente (Goldberg *et al.*,

1995; 1996), ma la maggioranza dei vini presenta maggiori concentrazioni dell'isomero *trans-* rispetto al *cis-*. Dall'analisi dei rapporti tra resveratrolo e parametri viticolo-enologici, cruciali sembrano i fattori pedologici e culturali, con effetti positivi dei terreni più poveri, delle produzioni ad ettaro più contenute e dell'assenza di irrigazione. Come già osservato per il piceatannolo, la viticoltura di qualità porta ad una maggiore concentrazione nell'uva (e quindi nel vino) non solo degli aromi e dei polifenoli in genere, ma anche degli stilbeni. Considerando infine le tecniche enologiche, l'effetto negativo della chiarificazione e filtrazione sulla concentrazione di resveratrolo è noto (Mattivi *et al.*, 1995; Vrhovsek *et al.*, 1997; Castellari *et al.*, 1998; Threlfall *et al.*, 1999) e quindi queste due pratiche debbono essere gestite secondo quanto già indicato a proposito del piceatannolo.

Conclusioni

Le principali conclusioni che si possono trarre dalla ricerca sono le seguenti:

- è stata riscontrata per la prima volta la presenza di piceatannolo nel vino;
- il Merlot è apparso il vino più ricco di piceatannolo (0,37 mg/L) ed il Cabernet Sauvignon il più povero (0,07 mg/L);
- basse cariche di gemme per pianta e basse rese di uva ad ettaro hanno favorito la presenza di piceatannolo e resveratrolo nei vini;
- l'adozione di un processo di vinificazione poco invasivo ha portato ad avere vini più ricchi di piceatannolo e resveratrolo

BIBLIOGRAFIA

Adrian M., Jeandet P., Breuil A.C., Levite D., Debord S., Bessis R. (2000) - Assay of resveratrol and derivative stilbenes in wines by direct injection High Performance Liquid Chromatography. *Am. J. Enol. Vitic.*, 51, 37-41.
 Aritomi M., Donnelly D.M.X. (1976) - Stilbene glu-

cosides in the bark of *Picea sitchensis*. *Phytochemistry*, 15, 2006-2008.
 Baderschneider B., Winterhalter P. (2000) - Isolation and characterization of novel stilbene derivatives from Riesling wine. *J. Agric. Food Chem.*, 48, 2681-2686.
 Bavaresco L., Fregoni C. (2001) - Physiological role and molecular aspects of grapevine stilbenic compounds. In *Molecular Biology and Biotechnology of the Grapevine*. K.A. Roubelakis-Angelakis (Ed.), 153-182, Kluwer Acad. Publ., Dordrecht, The Netherlands.
 Bavaresco L., Fregoni C., Cantù E., Trevisan M. (1999) - Stilbene compounds: from grapevine to wine. *Drugs Exptl. Clin. Res.*, XXV (2/3), 57-63.
 Bavaresco L., Cantù E., Fregoni M., Trevisan M. (1997a) - Constitutive stilbene contents of grapevine cluster stems as potential source of resveratrol in wine. *Vitis*, 36, 115-118.
 Bavaresco L., Fregoni C., Trevisan M., Fortunati P. (2000) - Effect of cluster stems on resveratrol content in wine. *It. J. Food Sci.*, 12, 103-108.
 Bavaresco L., Petegolli D., Cantù E., Fregoni M., Chiusa G., Trevisan M. (1997b) - Elicitation and accumulation of stilbene phytoalexins in grapevine berries infected by *Botrytis cinerea*. *Vitis*, 36, 77-83.
 Bavaresco L., Pezzutto S., Ragga A., Ferrari E., Trevisan M. (2001) - Effect of nitrogen supply on *trans*-resveratrol concentration in berries of *V. vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon. *Vitis*, 40, 229-230.
 Bavaresco L., Fregoni M., Trevisan M., Mattivi E., Vrhovsek U., Falchetti R. (2002) - The occurrence of the stilbene piceatannol in grapes. *Vitis*, 41, 133-136.
 Bertelli A.A.E., Giovannini L., Giannesi D., Migliori M., Bernini W., Fregoni M., Bertelli A. (1995) - Antiplatelet activity of synthetic and natural resveratrol in red wine. *Int. J. Tiss. React.*, XVII, 1-3.
 Bertelli A.A.E., Giovannini L., De Caterina R., Bernini W., Migliori M., Fregoni M., Bavaresco L., Bertelli A. (1996) - Antiplatelet activity of *cis*-resveratrol. *Drugs Exptl. Clin. Res.*, XXII (2), 61-63.
 Brinker A.M., Seigler D.S. (1991) - Isolation and identification of piceatannol as a phytoalexin from sugarcane. *Phytochemistry*, 30, 3229-3232.
 Calabrese G. (1999) - Non alcoholic compounds of wine: the phytoestrogen resveratrol and moderate red wine consumption during menopause. *Drugs Exptl. Clin. Res.*, XXV (2-3), 111-114.
 Carando S., Teissedre P.L., Waffo-Teguio P., Cabanis J.C., Deffieux G., Mérillon J.M. (1999) - High-performance liquid chromatography coupled with fluorescence detection for the determination of *trans*-astragalin in wine. *J. Chromatogr. A*, 849, 617-620.
 Castellari M., Spinabelli U., Riponi C., Amati A. (1998) - Influence of some technological practices on the quantity of resveratrol in wine. *Z. Lebensm. Unters. Forsch. A*, 206, 151-155.
 Creasy L.L., Coffee M. (1988) - Phytoalexin production potential of grape berries. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 113, 230-234.
 Dugo G., Bambara G., Salvo F., Saitta M., Lo Curto S. (2000) - Contenuto di resveratrolo in vini rossi da uve alloccone e autoctone prodotte in Sicilia. *L'Enologo* (dicembre), 79-84.
 Dugo G., Saitta M., Salvo F., Vilasi E., Ragusa M., Manzo G., Bambara G. (2001) - Caratterizzazione di vini siciliani. Nota 1. Determinazione di composti fenolici in vini rossi siciliani mediante un sistema HPLC-MS/MS. *Vigneti*, 10, 81-85.
 Falchetti R., Fuggetta M., Lanzilli G., Tricarico M.

- Ravagnan G. (2001) - Effects of resveratrol on human immune cell function. *Life Sciences*, 70, 81-96.
- Fauconneau B., Waffo-Teguo R., Huguet F., Barrier L., Decendit A., Mérillon J.M. (1997) - Comparative study of radical scavenger and antioxidant properties of phenolic compounds from *Vitis vinifera* cell cultures using *in vitro* tests. *Life Sciences*, 61, 2103-2110.
- Ferrero M.E., Bertelli A.A.E., Fulgenzi A., Pellegatta F., Corsi M.M., Bonfrate M., Ferrara F., De Caterina R., Giovannini L., Bertelli A. (1999) - Activity *in vitro* of resveratrol on granulocyte and monocyte adhesions to endothelium. *Am. J. Clin. Nutr.*, 68, 1208-1214
- Ferrigni N.R., McLaughlin J.L., Powell R.G., Smith C.R. Jr. (1984) - Use of potato disc and brine shrimp bioassay to detect activity and isolate piceatannol as the antileukemic principle from seeds of *Euphorbia lagascae*. *J. Nat. Prod.*, 47, 347-352.
- Frankel E.N., Waterhouse A.L., Kinsella J.E. (1993) - Inhibition of human oxidation by resveratrol. *Lancet*, 341, 1103-1104.
- Fregoni C., Bavaresco L. (2002) - Il resveratrolo nella vite e nel vino: un po' di storia. *Vignevini*, 4, 58-68.
- Fregoni M., Bavaresco L., Petegolli D., Trevisan M., Ghebboni C. (1994) - Indagine sul contenuto di resveratrolo in alcuni vini della Valle d'Aosta e del Colli Piacentini. *Vignevini*, 6, 33-36.
- Frémont L. (2000) - Biological effects of resveratrol. *Life Sciences*, 66 (8), 663-673.
- Geahlen R.L., McLaughlin J.L. (1989) - Piceatannol (3,4,3',5'-tetrahydroxy-*trans*-stilbene) is a naturally occurring protein-tyrosine kinase inhibitor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 165, 241-245.
- Goldberg D.M., Karumanchiri A., Ng E., Yan J., Diamandis E.P., Soleas G.J. (1995) - Direct gas chromatographic-mass spectrometric method to assay *cis*-resveratrol in wines: preliminary survey of its concentration in commercial wines. *J. Agric. Food Chem.*, 43, 1245-1250.
- Goldberg D.M., Tsang E., Karumanchiri A., Diamandis E.P., Soleas G., Ng E. (1996) - Method to assay the concentrations of phenolics constituents of biological interest in wines. *Anal. Chem.*, 68, 1688-1694.
- Jang M., Cai L., Udeani G.O., Slowing K.W., Thomas C.F., Beecher C.W.W., Fong H.H.S., Farnsworth N.R., King Horn A.D., Mehta R.G., Moon R.C., Pezzuto J.M. (1997) - Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes. *Science*, 275, 218-220.
- Jeandot P., Bessis R., Gautheron B. (1991) - The production of resveratrol (3,5,4'-trihydroxystilbene) by grape berries in different developmental stages. *Am. J. Enol. Vitic.*, 42, 41-46.
- Jeandot P., Bessis R., Sbaghi M., Meunier P. (1995a) - Production of the phytoalexin resveratrol by grapes as a response to *Botrytis* attack under natural conditions. *J. Phytopathol.*, 143, 135-139.
- Jeandot P., Bessis R., Sbaghi M., Meunier P., Trollat P. (1995b) - Resveratrol content of wines of different ages: relationships with fungal disease pressure in the vineyard. *Am. J. Enol. Vitic.*, 46, 1-3.
- Kimura Y., Baba K., Okuda H. (2000) - Inhibitory effect of active substances isolated from *Cassia garrettiana* heartwood on tumor growth and lung metastasis in Lewis lung carcinoma-bearing mice (Part 2). *Anticancer Res.*, 20, 2923-2930.
- Ko SungKwon., Ko S.K. (2000) - Effects of stilbene derivatives from *Rheum undulatum* on 5 alpha-reductase activity. *Korean J. Pharmacogn.*, 31, 245-248.
- Lumikanra O., Grimm C.C., Rodin J.B., Inyang I.D. (1996) - Hydroxylated stilbenes in selected American wines. *J. Agric. Food Chem.*, 44, 1111-1115.
- Landrault N., Larronde F., Mérillon J.M., Teissedre P.L. (1999) - Etude de stilbenes-*trans* (astringine, resvératrol, picéide) par CLHP-fluorimétrie au cours de la transformation du raisin en vin. *Ann. Fals. Exp. Chim.*, 92, 443-452.
- Landrault N., Larronde E., Delaunay J.C., Castagnino C., Vercauteren J., Merillon J.M., Gasc F., Cros G., Teissedre P.L. (2002) - Levels of stilbene oligomers and astilbin in French varietal wines and in grape during noble rot development. *J. Agric. Food Chem.*, 50, 2046-2052.
- Lee D., Cuendet M., Vigo J.S., Graham J.G., Cabieses F., Fong H.H., Pezzuto J.M., Kinghorn A.D. (2001) - A novel cyclooxygenase-inhibitory stilbenolignan from the seed of *Aiphanes aculeata*. *Org. Lett.*, 3, 2169-2171.
- Mannila E., Talvitie A. (1992) - Stilbenes from *Picea abies* bark. *Phytochemistry*, 31, 3288-3289.
- Mannila E., Talvitie A., Kolehmainen E. (1993) - Anti-leukaemic compounds derived from stilbene in *Picea abies* bark. *Phytochemistry*, 33, 813-816.
- Mattivi E., Nicolini G. (1993) - Influenza della tecnica di vinificazione sul contenuto di resveratrolo dei vini. *L'Enotecnico* (luglio/agosto), 81-88.
- 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.
- Mattivi E., Nicolini G., Reniero F. (1995) - Composti antiossidanti del vino: i resveratroli. *Vignevini*, 9, 59-62.
- Nicolosi-Asmundo C., Muratore G., Cataldi-Lupo M.C., Campisi S. (1999) - Il contenuto in resveratrolo di alcuni vini rossi di Sicilia. *Vignevini*, 4, 105-108.
- Nikfardjam M.P., Schnitt K., Rühl H.E., Patz C.D., Dietrich H. (2000) - Untersuchung rebsortenreiner Traubensäfte auf den Gehalt an Resveratrol-derivaten. *Deutsch Lebensmittel-Rundschau*, 96 (9), 319-324.
- Oliver J.M., Burg D.L., Wilson B.S., McLaughlin J.L., Geahlen R.L. (1994) - Inhibition of mast cell Fc ϵ R1-mediated signaling and effector function by the Syk-selective inhibitor, piceatannol. *J. Biol. Chem.*, 269, 29697-29703.
- Pezet R., Cuenat P. (1996) - Resveratrol in wine: Extraction from skin during fermentation and post-fermentation standing of must from Gamay grapes. *Am. J. Enol. Vitic.*, 47, 287-290.
- Potter G.A., Patterson L.H., Wanogho E., Perry P.J., Butler P.C., Ijaz T., Ruparella K.C., Lamb J.H., Farmer P.B., Stanley L.A., Burke M.D. (2002) - The cancer preventive agent resveratrol is converted to the anticancer agent piceatannol by the cytochrome P450 enzyme CYP1B1. *Br. J. Cancer*, 86, 774-778.
- Renaud S., De Lorgeril M. (1992) - Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease. *Lancet*, 339, 1523-1526.
- Ribeiro de Lima M., Waffo-Teguo P., Teissedre P.L., Pujolas A., Vercauteren J., Cabanis J.C., Mérillon M. (1999) - Determination of stilbenes (*trans*-astringine, *cis*- and *trans*-piceid, and *cis*- and *trans*-resveratrol) in Portuguese wines. *J. Agric. Food Chem.*, 47, 2666-2670.
- Romero-Perez A.I., Ibern-Gómez M., Lamuela-Raventós R.M., de la Torre-Boronat M.C. (1999) - Piceid, the major resveratrol derivative in grape juices. *J. Agric. Food Chem.*, 47, 1533-1536.
- Romero-Perez A.I., Lamuela-Raventós R.M., Buxaderas S., De la Torre-Boronat M. C. (1996) - Resveratrol and piceid as varietal markers of white wines. *J. Agric. Food Chem.*, 44, 1975-1978.
- Schmeda-Hirschmann G., Gutierrez M.I., Loyola J.I., Zuniga J. (1996) - Biological activity and xanthine oxidase inhibitors from *Scirpus californicus* (C.A. Mey.) *Stend. Phytoter. Res.*, 10, 683-685.
- Sgambato A., Ardito R., Faraglia B., Boninsegna A., Wolf E.L., Cittadini A. (2001) - Resveratrol, a natural phenolic compound, inhibits cell proliferation and prevents oxidative DNA damage. *Mutation Research*, 496, 171-180.
- Siemann, E.H., Creasy, L.L. (1992) - Concentration of phytoalexin resveratrol in wine. *Am. J. Enol. Vitic.*, 43, 49-52.
- Soleas G.J., Dam J., Carey M., Goldberg D.M. (1997a) - Toward the fingerprinting of wines: cultivar-related patterns of polyphenolics constituents in Ontario wines. *J. Agric. Food Chem.*, 45, 3871-3880.
- Soleas G.J., Grass L., Joseph P.D., Diamandis E.P., Goldberg D.M. (2002) - A comparison of the anticarcinogenic properties of four red wine polyphenols. *Bulletin O.I.V.*, 75 (857-858), 532-552.
- Soleas G.J., Goldberg D.M., Diamandis E.P., Karumanchiri A., Yan J., Ng E. (1995a) - A derivatized gas chromatographic-mass spectrometric method for the analysis of both isomers of resveratrol in juice and wine. *Am. J. Enol. Vitic.*, 46, 346-352.
- Soleas G.J., Goldberg D.M., Karumanchiri A., Diamandis E.P., Ng E. (1995b) - Influences of viticultural and oenological factors on changes in *cis*- and *trans*-resveratrol in commercial wines. *J. Wine Res.*, 6, 107-121.
- Soleas G.J., Goldberg D.M., Ng E., Karumanchiri A., Tsang E., Diamandis E.P. (1997b) - Comparative evaluation of four methods for assay of *cis*- and *trans*-resveratrol. *Am. J. Enol. Vitic.*, 48, 169-176.
- Su L., David M. (2000) - Distinct mechanisms of STAT phosphorylation via the interferon-alpha/beta receptor. Selective inhibition of STAT3 and STAT5 by piceatannol. *J. Biol. Chem.*, 275, 12661-12666.
- Threlfall R.T., Morris J.R., Mauromoustakos A. (1999) - Effect of variety, ultraviolet light exposure, and enological methods on the *trans*-resveratrol level of wine. *Am. J. Enol. Vitic.*, 50, 57-64.
- Trela B.C., Waterhouse A.L. (1996) - Resveratrol: isomeric molar absorptivities and stability. *J. Agric. Food Chem.*, 44, 1253-1257.
- Tsuruga T., Chun Y.T., Ebizuka Y., Sankawa U. (1991) - Biologically active constituents of *Melaleuca leucadendron*: inhibitors of induced histamine release from rat mast cells. *Chem. Pharm. Bull.*, 39, 3276-3278.
- Vrhovsek U., Wendelin S., Eder R. (1997) - Effects of various vinification techniques on the concentration of *cis*- and *trans*-resveratrol and resveratrol glucoside isomers in wine. *Am. J. Enol. Vitic.*, 48, 214-219.
- Waffo Teguo P., Decendit A., Krisa S., Deffieux G., Vercauteren J., Mérillon J.M. (1996) - The accumulation of stilbene glycosides in *Vitis vinifera* cell suspension cultures. *J. Nat. Prod.*, 59, 1189-1191.
- Wang Y., Catana F., Yanan Y., Roderick R., Van Breemen R.B. (2002) - An LC-MS method for analyzing total resveratrol in grape juice, cranberry juice, and in wine. *J. Agric. Food Chem.*, 50, 431-435.
- Waterhouse A.L., Lamuela-Raventós R.M. (1994) - The occurrence of piceid, a stilbene glucoside, in grape berries. *Phytochem.*, 37, 571-573.
- Wolter F., Clausnitzer A., Akoglu B., Stein J. (2002) - Piceatannol, a natural analog of resveratrol, inhibits progression through the S phase of the cell cycle in colorectal cancer cell lines. *J. Nutr.*, 132, 298-302.