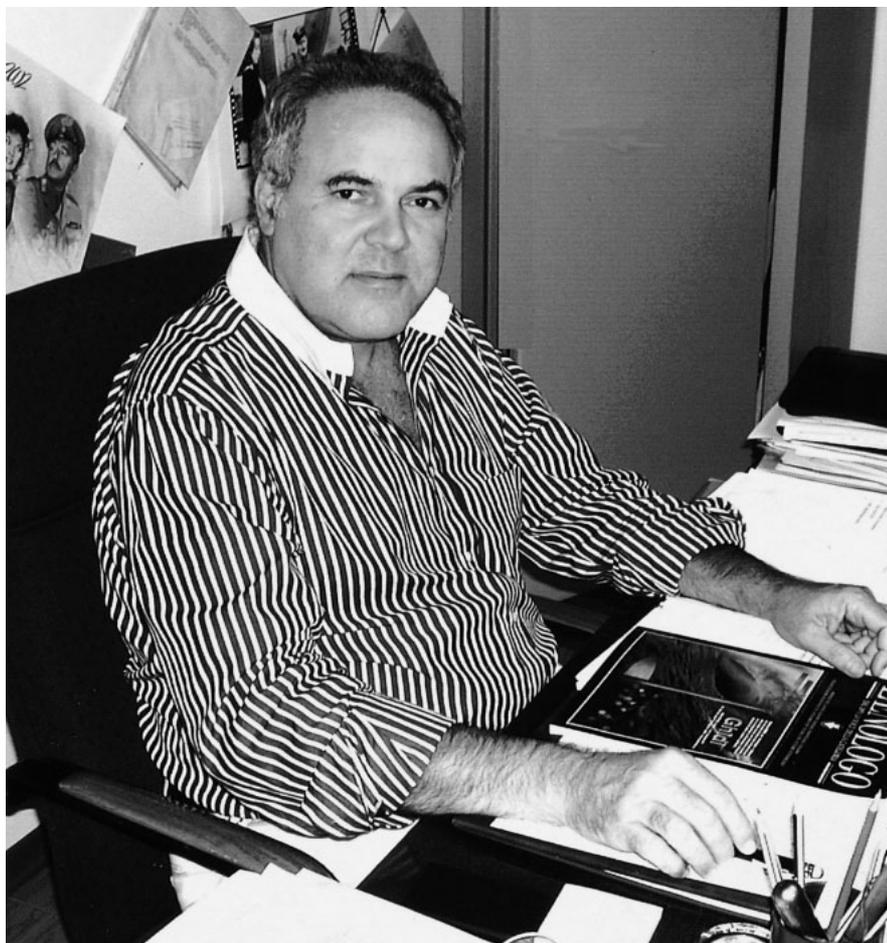


DOCUMENTO
TECNICO

Giacomo Dugo
Francesco Salvo
G. Loredana La Torre
Daniele Giuffrida
Teresa M. Pellicanò
Fortunato Vilasi

*Dip.to di Chimica Organica e
 Biologica, Università degli Studi
 di Messina, Facoltà di Scienze
 MM.FF.NN.*



G. Dugo

PROFILO POLIFENOLICO E MONITORAGGIO DELL'ATTIVITÀ ANTIOSSIDANTE IN VINI SICILIANI

È stata condotta un'indagine sulla frazione polifenolica in campioni di vino rosso siciliani del commercio a marchio I.G.T. Allo scopo, è stato utilizzato un metodo HPLC/MS recentemente messo a punto (1-3). Dalle analisi emerge che, il contenuto di flavan-3-oli totali, espresso in mg/L di(+)-catechina, risulta più alto rispetto le altre classi di composti antiossidanti determinate.

Introduzione

Studi epidemiologici confermano gli effetti benefici delle bevande alcoliche e come un consumo giornaliero, ma moderato, di vino rosso, abbassi i livelli di mortalità dovuti a malattie cardiovascolari (4-7).

La presenza di sostanze ad elevata attività di "scavenger" negli acini d'uva e nel vino, gioca un ruolo di primo piano contro l'ossidazione delle membrane cellulari e lo sviluppo dell'aterosclerosi.

Flavonoidi, catechine, antociani, resveratroli, acidi fenolici e cinnamici, oltre ad influenzare il colore e le qualità organolettiche del vino (8-10), risultano efficaci nel ridurre l'aggregabilità piastrinica, i livelli di fibrinogeno e di antitrombina, le patologie cardiovascolari, gli stati degenerativi dovuti all'invecchiamento (11-13).

Il loro contenuto è legato ad una serie di variabili come le condizioni pedoclimatiche, le tecniche di vinificazione, le varietà, le pratiche enolo-

giche di conservazione e di stabilizzazione (14).

Nel presente studio è stata condotta un'indagine sulla frazione polifenolica in 31 campioni di vini rossi siciliani del commercio a marchio I.G.T., prodotti nelle annate 1999-2002.

Parte sperimentale

Materiali. I solventi utilizzati: acetonitrile e H₂O per HPLC sono stati acquistati

*Parole chiave: vino, polifenoli,
 attività antiossidante, HPLC/MS.*



Tab.1 - Contenuto di polifenoli (mg/L) in vini siciliani da cv. miste

	A1 2000	B1 2001	B2 2001	C1 2000	D1 2000	E1 2001	E2 2000	F1 1999	F2 2000
Ac.Gallico	63,36	48,49	47,02	76,49	31,74	67,50	79,37	38,61	29,38
Ac. Protocatechico	1,18	3,27	0,63	2,88	1,24	0,68	1,95	1,63	1,21
Tirosolo	38,96	21,83	2,65	28,23	4,49	17,11	26,36	36,58	16,90
Ac. Vanillico	8,27	2,32	5,36	8,62	7,23	7,92	5,66	7,21	5,95
Ac. Siringico	3,57	9,18	5,12	4,81	2,85	2,01	4,81	3,06	2,60
Ac. Caffeico	5,64	11,24	12,50	5,10	2,89	2,79	2,99	1,82	1,69
Ac. Ferulico	0,37	0,87	0,12	1,90	0,92	0,77	0,23	0,45	0,16
Ac. <i>p</i> -Cumarico	0,51	1,69	0,38	1,17	0,36	0,45	0,62	0,15	0,09
Procianidina B1	37,55	31,58	8,80	51,96	16,75	35,40	45,41	13,78	10,20
Procianidina B2	13,54	28,37	12,21	26,47	3,97	15,33	23,21	5,09	4,81
(+)-Catechina	29,07	29,67	33,88	31,07	17,11	22,16	27,52	6,70	9,02
(-)-Epicatechina	39,58	29,64	43,99	43,67	29,52	33,48	36,60	14,63	13,02
Etilgallato	15,14	6,24	10,73	17,94	6,25	18,68	18,81	7,10	5,60
Rutina	4,25	2,02	3,49	2,40	14,83	20,75	5,15	8,72	5,70
Isoquercitrina	15,76	11,76	17,33	18,07	19,92	34,44	7,25	10,93	8,59
Isoramnetina-3-O-glucoside	1,83	5,70	1,19	0,90	0,92	2,66	2,71	0,13	n.d.
Kaempferolo-3-O-glucoside	8,45	n.d.	11,76	1,81	5,08	4,05	2,28	3,18	3,41
Miricetina	19,27	16,62	10,12	13,06	12,24	4,01	3,99	0,56	1,32
Quercetina	12,68	15,99	11,23	9,96	14,82	10,89	3,93	0,67	0,92
Kaempferolo	0,36	0,20	0,30	0,17	0,74	0,52	0,15	n.d.	0,06
Isoramnetina	0,49	0,95	0,54	0,43	0,29	0,26	0,11	n.d.	0,07
Ramnetina	0,07	n.d.	0,11	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<i>trans</i> -Resveratrolo	0,91	0,15	0,12	0,83	0,27	0,51	0,20	0,08	0,10
<i>cis</i> -Resveratrolo	0,13	0,02	0,02	0,24	0,11	0,18	0,17	0,07	0,01
<i>trans</i> -Piceid	2,62	1,05	0,17	2,96	2,24	1,28	1,64	1,30	0,64
<i>cis</i> -Piceid	0,19	0,13	0,13	0,29	0,21	0,27	0,25	0,07	0,04

dalla Carlo Erba Reagents. Gli standard di: acido formico, (-)-epicatechina, (+)-catechina, acido gallico, acido 3,4-diidrossibenzoico (acido protocatechico), acido 4-idrossi-3-metossibenzoico (acido vanillico), acido 4-idrossi-3,5-dimetossibenzoico (acido siringico), acido 3,4-diidrossicinnamico (acido caffeico), acido 4-idrossi-3-metossicinnamico (acido ferulico), acido 4-idrossicinnamico (acido *p*-cumarico), tirosolo (2-(4-idrossifenil)-etilalcol), *trans*-resveratrolo, Trolox (acido 6 idrossi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-carbossilico) e il reattivo di Folin-Ciocalteu sono stati forniti dalla Sigma-Aldrich.

Gli altri composti fenolici: procianidina B1, procianidina B2, etilgallato, quercetina, isoquercitrina (quercetina-3-O-glucoside), kaempferolo, kaempferolo-3-O-glucoside, ramnetina, isoramnetina, iso-

ramnetina-3-O-glucoside, rutina (quercetina-3-O-rutinoside) e miricetina sono stati acquistati dalla Extrasynthese. La *N,N*-dimetil-*p*-fenilendiamina (DMPD) è stata acquistata dalla Fluka.

Le soluzioni standard sono state preparate dissolvendo 100 mg di ciascuno standard in una miscela di acqua (pH=3 per acido formico) /metanolo (90:10).

La soluzione standard di *cis*-resveratrolo è stata ottenuta irradiando a 366 nm una soluzione metanolica di *trans*-resveratrolo per 120 min (15).

Tutte le soluzioni sono state conservate a + 4 °C e protette dalla luce. Prima di essere iniettate, tutte le soluzioni sono state filtrate attraverso un filtro da 0.45 µm (GMF Whatman).

Campioni analizzati. Sono stati analizzati 31 vini

commerciali siciliani a marchio I.G.T., prodotti da 15 aziende vitivinicole site nel territorio Trapanese. In particolare 22 campioni sono stati ottenuti da uve monovarietal (11 cv. Nero d'Avola, 5 cv. Merlot, 3 cv. Cabernet Sauvignon, 2 cv. Syrah, 1 cv. Petit Verdot) e 9 campioni da uvaggi misti sia alloctoni che autoctoni.

Dopo la campionatura, i campioni sono stati conservati al buio a 4°C. L'analisi è stata condotta senza alcuna purificazione del campione: un'aliquota è stata filtrata attraverso un filtro Whatman di 0.45 µm, prima dell'analisi HPLC.

Per ovvie ragioni di mercato, nelle tabelle di seguito riportate, si è ommesso il nome commerciale del singolo vino; in sua vece sono stati designati una lettera per indicare la cantina di provenienza ed un numero per contraddi-



Tab. 2 - Contenuto di polifenoli (mg/L) in vini siciliani da cv. Nero d'Avola

	B3 2000	C2 2000	G1 2000	H1 2000	I1 2000	L1 2001	C3 2001	M1 2001	N1 2001	O1 2001	C4 2002
Ac. Gallico	54,80	64,85	75,29	75,89	100,65	28,34	47,83	70,60	63,45	63,53	46,63
Ac. Protocatechico	2,80	1,67	2,67	1,64	0,90	1,90	1,19	0,85	3,19	2,48	2,60
Tirosolo	4,01	26,96	24,89	5,37	39,05	15,09	30,01	33,69	64,79	31,67	37,07
Ac. Vanillico	6,72	8,50	7,12	6,06	11,19	8,10	6,26	10,51	6,83	7,52	7,99
Ac. Siringico	4,59	4,80	4,13	3,62	4,65	4,11	4,07	5,08	4,86	7,46	4,17
Ac. Caffeiico	4,49	4,97	3,04	4,22	3,16	3,69	4,25	2,25	3,07	8,55	24,42
Ac. Ferulico	1,96	1,11	0,52	0,13	0,52	0,14	0,70	0,47	1,09	0,85	1,38
Ac. <i>p</i> -Cumarico	0,22	1,12	0,56	0,32	0,18	0,46	1,73	0,29	0,39	1,15	0,21
Procianidina B1	17,68	45,36	42,61	38,95	16,88	37,48	56,81	37,89	60,20	61,30	59,68
Procianidina B2	10,83	20,40	12,23	10,76	4,66	20,41	30,72	8,71	37,65	31,66	19,83
(+)-Catechina	19,56	24,68	21,44	32,37	17,72	22,53	29,24	26,53	24,16	41,87	38,63
(-)-Epicatechina	28,97	36,20	30,52	32,06	23,20	32,30	35,95	35,33	37,01	33,21	25,95
Etilgallato	11,71	15,17	17,37	17,54	18,84	6,37	12,58	16,08	13,78	13,48	7,27
Rutina	27,25	1,86	13,25	3,60	5,90	3,68	13,42	10,22	21,53	16,26	18,84
Isoquercitrina	15,76	14,71	23,58	22,11	9,06	11,96	14,75	17,54	21,32	21,63	25,59
Isoramnetina-3-O-glucoside	13,32	2,09	4,66	0,61	0,96	3,12	1,60	0,98	0,88	0,96	2,71
Kaempferolo-3-O-glucoside	44,86	27,63	5,58	1,22	3,94	5,70	4,07	6,88	5,96	7,35	2,59
Miricetina	6,18	15,26	8,29	10,09	6,11	24,37	11,94	12,62	4,72	2,86	8,02
Quercetina	7,43	12,65	12,39	11,92	6,87	11,08	11,82	11,64	6,42	3,54	12,02
Kaempferolo	0,32	0,39	0,41	0,37	0,22	0,35	0,33	0,57	0,39	0,14	0,38
Isoramnetina	0,17	0,47	0,32	0,32	0,23	0,38	0,35	0,41	0,14	0,16	0,33
Ramnetina	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,08	0,08	0,01	n.d.	n.d.	n.d.
<i>trans</i> -Resveratrolo	0,12	0,48	0,30	0,51	0,23	0,19	0,43	0,26	0,40	0,33	0,60
<i>cis</i> -Resveratrolo	0,04	0,21	0,24	0,05	0,11	0,08	0,11	0,07	0,14	0,09	0,09
<i>trans</i> -Piceid	0,41	2,16	1,50	1,27	1,43	0,25	1,43	1,57	2,15	1,51	0,90
<i>cis</i> -Piceid	0,05	0,27	0,25	0,43	0,33	0,17	0,23	0,34	0,25	0,37	0,21

stinguere, a parità di cantina, un diverso vino mentre è stato mantenuto l'anno di produzione.

Metodi analitici

Dosaggio dei polifenoli totali. Il contenuto in polifenoli totali è stato determinato mediante il reagente di Folin-Ciocalteu (16), usando il metodo descritto da Di Stefano e Guidoni (17), ed esprimendo i risultati come equivalenti di acido gallico (GAE).

Determinazione dell'attività antiossidante. È stata effettuata secondo il metodo descritto da Fogliano (18) usando una soluzione di N,N-dimetil-*p*-fenilendiamina (DMPD) resa radicalica da un forte ossidante (FeCl₃) ed inibita dal Trolox (acido 6

idrossi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-carbossilico). A 100 ml di tampone acetato 0.1 M a pH 5.25 è stato aggiunto 1 ml di una soluzione 100 mM di DMPD e 0.2 ml di FeCl₃ 0.05 M. L'assorbanza di tale soluzione (A₀), è stata misurata alla lunghezza d'onda λ di 505 nm e rappresenta il segnale non inibito. I campioni di vino sono stati diluiti 1:20 v/v; successivamente 100 μl sono stati aggiunti a 2 ml della soluzione precedentemente preparata e la miscela è stata mantenuta per 10 min a 25 °C in agitazione. Le letture spettrofotometriche sono state quindi eseguite a 505 nm. I risultati ottenuti sono stati espressi in equivalenti di Trolox (% TAEC).

Analisi HPLC/MS. Utilizzando una metodica HPLC/MS con interfaccia ESI, recentemente messa a punto (1-3), è stato possibile

identificare e dosare 24 componenti fenolici diversi per analisi diretta in meno di 60 min.

Le analisi sono state effettuate utilizzando un sistema HPLC Shimadzu dotato di due pompe LC10-AD, un system controller SCL-10A, un iniettore Rheodyne (model 7725i) con loop di 5 μL, un rivelatore a fotodiodi (DAD) SPD-M10Avp con cella semi micro. Le lunghezze d'onda d'esercizio erano comprese tra 200 e 600 nm. È stata utilizzata una colonna Supelco Discovery C18 (15 cm x 2.1 mm), con dimensione delle particelle di 5 μm, avente una precolonna dello stesso materiale. La fase mobile era composta da due solventi: acido formico in acqua (pH=3, solvente A) e acido formico in acetonitrile (pH=3, solvente B): 0.01-20.00 min 5% B isocratico; 20.01-50.00 min, 5-40% B;



Tab. 3 - Contenuto di polifenoli (mg/L) in vini siciliani da cv. Merlot

	B4 2000	P1 2001	Q1 2001	R1 2001	R2 2002
Ac.Gallico	79,15	101,16	58,13	84,86	107,83
Ac. Protocatechico	3,98	2,47	1,12	3,28	4,05
Tirosolo	25,51	23,30	33,03	40,33	43,77
Ac. Vanillico	4,60	8,00	6,07	6,57	9,46
Ac. Siringico	9,90	3,71	6,03	4,32	6,31
Ac. Caffaico	7,71	4,83	2,64	7,66	8,61
Ac. Ferulico	0,39	0,69	0,08	1,11	0,18
Ac. <i>p</i> -Cumarico	1,25	0,78	0,34	2,78	0,56
Procianidina B1	60,04	69,80	39,54	87,49	127,50
Procianidina B2	44,57	29,23	24,90	42,48	80,98
(+)-Catechina	64,04	43,13	14,24	62,14	78,67
(-)-Epicatechina	49,02	69,27	34,74	99,85	107,08
Etilgallato	16,75	31,83	17,53	16,54	16,76
Rutina	8,50	29,28	15,65	6,23	4,78
Isoquercitrina	58,44	50,44	17,26	21,15	23,21
Isoramnetina-3-O-glucoside	2,04	3,22	1,24	2,34	1,60
Kaempferolo-3-O-glucoside	6,89	11,96	12,46	4,76	9,14
Miricetina	6,74	1,91	8,91	8,43	11,87
Quercetina	11,05	3,19	13,37	13,14	16,70
Kaempferolo	0,44	0,17	0,54	0,33	0,45
Isoramnetina	0,27	0,10	0,52	0,53	0,90
Ramnetina	0,13	n.d.	n.d.	n.d.	0,22
<i>trans</i> -Resveratrolo	0,61	0,62	1,29	1,88	2,44
<i>cis</i> -Resveratrolo	0,09	0,11	0,27	1,45	1,81
<i>trans</i> -Piceid	1,48	2,20	2,35	2,95	3,70
<i>cis</i> -Piceid	0,22	0,73	0,31	1,53	1,97

50.01-55.00 min, 40-95% B; 55.01-60.00 min 95 % B isocratico. Il flusso era di 0.2 ml/min e le analisi sono state condotte a 20°C.

Tale sistema è stato accoppiato ad un rivelatore MS Shimadzu 2010 equipaggiato con interfaccia elettrospray (ESI). Quest'ultima è stata usata con ionizzazione negativa, a diverse tensioni di frammentazione. L'azoto è stato usato come gas nebulizzante.

L'acquisizione MS con l'interfaccia ESI è stata eseguita nelle seguenti condizioni: probe high voltage, 4 kV; flusso del gas nebulizzante (N₂), 4.5 L/min; curved desolvation line (CDL) voltage, 10 V; temperatura del CDL, 250 °C; tipo di acquisizione, SCAN, 50-700 *m/z* e deflector voltage a -20 e -80 V. Per la ricerca di particolari ioni si è lavorato in SIM (Selected Ion Monitoring).

L'analisi qualitativa dei polifenoli, nei diversi campioni di vino, è stata basata sui tempi di ritenzione e su informazioni ricavate dagli spettri di massa di ciascuno standard. L'analisi quantitativa è stata condotta usando il metodo della retta di taratura; questa è stata costruita iniettando quattro soluzioni standard, ottenute da soluzioni madre per diluizione. Le soluzioni a diversa concentrazione, sono state iniettate in successione per verificare la linearità della risposta strumentale e per valutare il limite di rivelabilità. Le analisi sono state eseguite in triplicato ed il risultato espresso è il valore medio. Il coefficiente di variazione (CV%) delle tre analisi è risultato sempre più basso del 5%.

Per l'analisi del resveratrolo totale, è stato utilizzato un metodo d'idrolisi enzimatica da noi precedentemente otti-

mizzato (19). I glucosidi del resveratrolo (*trans*- e *cis*-piceid), presenti nel vino, vengono così idrolizzati totalmente in ~ 9 ore dopo incubazione con β -glucosidasi a 50°C; gli agliconi *trans* e *cis* sono stati determinati per HPLC/MS.

Risultati e discussioni

Le Figg. 1 e 2 mostrano, rispettivamente, il profilo cromatografico ottenuto per la miscela dei 24 standard e per un campione di vino. Emerge come le condizioni sperimentali permettano una buona identificazione e separazione dei composti polifenolici presi in considerazione in questo studio.

Le Tabb. 1-4 riportano i dati relativi al contenuto dei singoli polifenoli nei campioni di vino commerciali,



Tab. 4 - Contenuto di polifenoli (mg/L) in vini siciliani da cv. alloctone

	B5 2000	R3 2002	O2 2001	R4 2002	B6 2000	R5 2002
Ac. Gallico	72,66	101,70	62,72	39,07	64,35	106,66
Ac. Protocatechico	2,57	1,30	1,48	1,22	2,07	2,18
Tirosolo	64,08	49,20	40,20	23,31	3,10	75,66
Ac. Vanillico	5,89	9,02	6,50	5,38	9,55	6,22
Ac. Siringico	4,35	5,52	7,35	4,53	3,76	5,64
Ac. Caffaico	4,26	8,34	19,65	6,51	6,12	7,48
Ac. Ferulico	0,04	1,05	1,06	1,02	0,73	1,34
Ac. <i>p</i> -Cumarico	0,30	2,42	1,67	1,52	0,29	2,75
Procianidina B1	55,67	102,38	77,95	42,67	8,06	73,42
Procianidina B2	36,64	58,61	36,38	21,26	17,54	57,58
(+)-Catechina	46,91	99,00	5,45	21,07	35,27	67,60
(-)-Epicatechina	72,46	136,01	52,46	31,65	46,23	109,97
Etilgallato	22,25	16,86	20,49	5,45	13,66	17,27
Rutina	29,75	8,52	22,17	5,06	5,93	6,24
Isoquercitrina	29,44	20,37	34,60	14,86	25,27	14,68
Isoramnetina-3-O-glucoside	21,89	3,61	2,05	5,45	6,10	4,84
Kaempferolo-3-O-glucoside	37,72	7,73	12,63	0,87	19,97	9,12
Miricetina	5,36	16,68	2,84	8,62	5,00	30,92
Quercetina	9,73	15,53	4,63	8,49	13,80	16,63
Kaempferolo	0,48	0,36	0,21	0,13	0,39	0,35
Isoramnetina	0,30	0,52	0,15	0,78	0,55	0,56
Ramnetina	0,11	n.d.	n.d.	0,11	n.d.	n.d.
<i>trans</i> -Resveratrolo	0,10	0,45	0,27	0,23	0,15	0,88
<i>cis</i> -Resveratrolo	0,05	0,28	0,05	0,19	0,06	0,17
<i>trans</i> -Piceid	0,36	3,35	3,74	3,01	1,14	3,27
<i>cis</i> -Piceid	0,18	0,24	0,09	0,16	0,21	0,54

suddivisi in varie tipologie secondo la varietà delle cultivar. Lo studio è stato condotto raggruppando i singoli polifenoli in quattro tipologie: acidi idrossibenzoici, idrossicinnamici ed esteri (acido gallico, protocatechico, vanillico, siringico, caffeico, *p*-cumarico, ferulico, etilgallato), flavanoli (catechina, epicatechina, procianidina B1 e procianidina B2), flavonoli (miricetina, quercetina, kaempferolo, ramnetina, isoramnetina, rutina, isoquercitrina, isoramnetina-3-O-glucoside, kaempferolo-3-O-glucoside) e stilbeni (*cis* e *trans*-resveratrolo, *cis* e *trans*-piceid). Nella Tab. 5 si mostra il contenuto totale relativo alle diverse tipologie di composti polifenolici considerati. I polifenoli semplici (acidi idrossibenzoici, cinnamici ed esteri) sono espressi in mg/L di acido gallico, i flavanoli (o flavan-3-oli) to-

tali in mg/L di catechina, i flavonoli totali in mg/L di miricetina mentre i resveratrololi sono riportati in mg/L di resveratrolo totale.

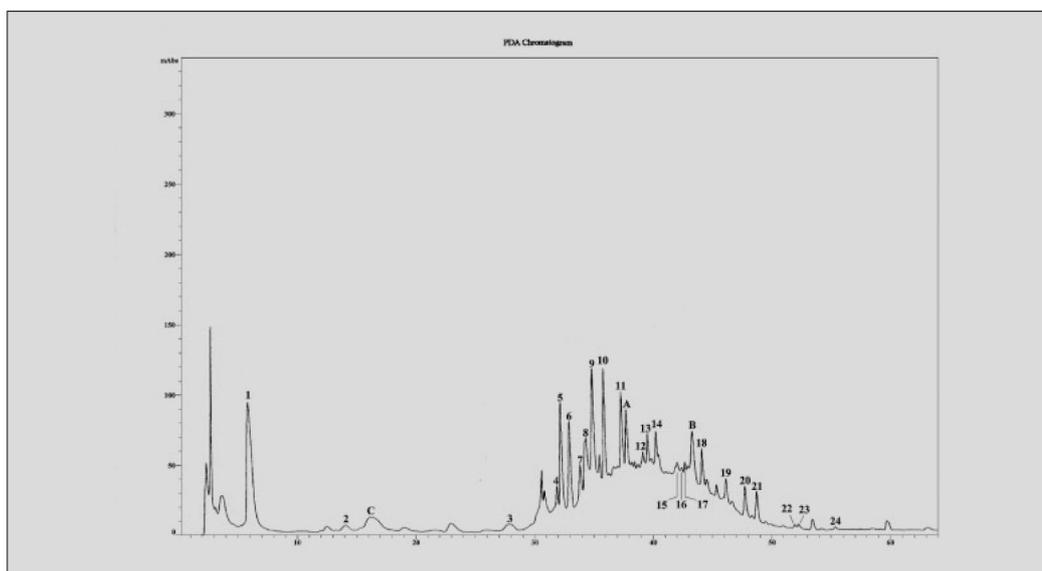
I dati riportati mostrano che nel complesso i campioni esaminati hanno una composizione qualitativa simile. Come può essere osservato, tra i composti polifenolici dosati, l'acido gallico e la procianidina B1 risultano generalmente presenti a livelli superiori in tutti i campioni, con un valore medio pari a 65.46 mg/L per il primo e 57.00 mg/L per il secondo. Seguono tirosolo (contenuto medio 35.46 mg/L), (-)-epicatechina (contenuto medio 39,30 mg/L), procianidina B2 (contenuto medio 29.50 mg/L) e (+)-catechina (contenuto medio 26.28 mg/L).

Tra i flavonoidi analizzati, sono stati trovati in quantità mediamente apprezzabili due glucosidi della quercetina

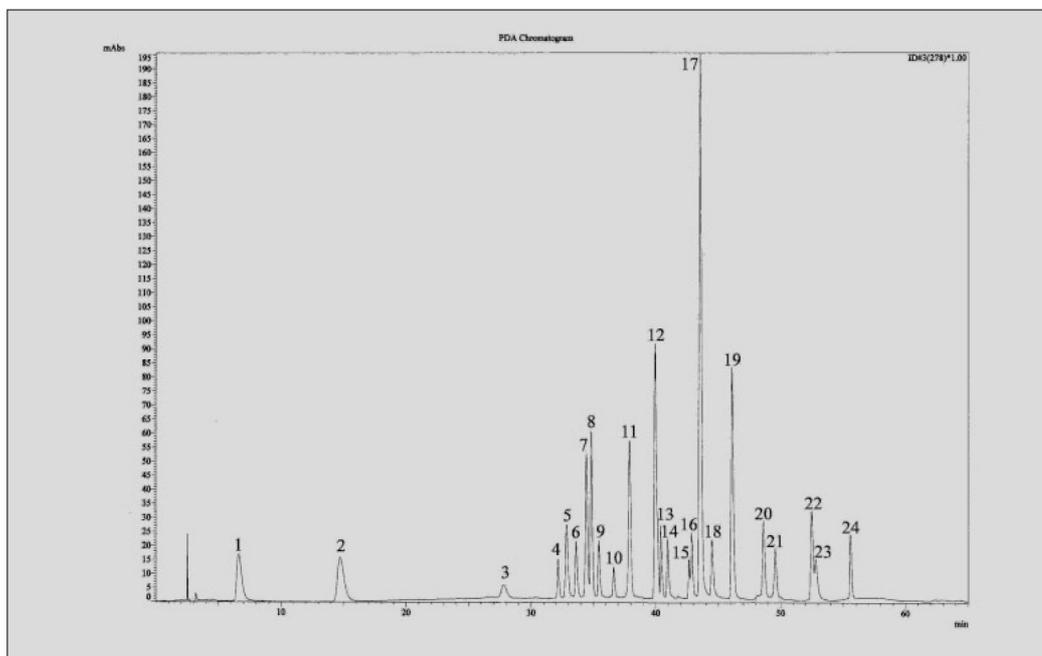
(rutina ed isoquercitrina) con un valore medio pari a 11.14 mg/L e 21.02 mg/L rispettivamente. Inoltre, come può essere osservato, nella maggior parte dei campioni analizzati non è stato possibile dosare la ramnetina, presumibilmente perché questo polifenolo risulta presente in questi vini in concentrazioni inferiori al limite di rivelabilità.

Il contenuto in resveratrolo totale, ma anche il rapporto tra le forme libere e glucosidiche, varia secondo la tipologia del prodotto e la varietà della cultivar. La determinazione quantitativa (Tab. 5) ha evidenziato che, tra tutti i vini, quelli prodotti da cv. Merlot, in particolare i campioni R1 ed R2 delle annate 2001 e 2002 rispettivamente, presentano valori di resveratrolo totale più alti (7.81 e 9.92 mg/L rispettivamente); seguono inoltre, tra i vini



Fig. 2 - Cromatogramma HPLC-UV-vis ($\lambda=278$) di un campione di vino

A. *trans*-Piceid; B. *cis*-Piceid; C. Acido cftarico

Fig. 1 - Cromatogramma HPLC-UV-vis ($\lambda=278$ nm) della soluzione di standard

1. Acido gallico; 2. Acido protocatechico; 3. Tiroso; 4. Acido vanillico; 5. Procianidina B1; 6. (+)-Catechina; 7. Acido caffèico; 8. Acido sirringico; 9. Procianidina B2; 10. (-)-Epicatechina; 11. Etilgallato; 12. Acido ferulico; 13. Rutina; 14. Isoquercitrina; 15. Kaempferol-3-O-glucoside; 16. Isoramnetina-3-O-glucoside; 17. Acido p-cumarico; 18. Miricetina; 19. *trans*-Resveratrolo; 20. Quercetina; 21. *cis*-Resveratrolo; 22. Kaempferol; 23. Isoramnetina; 24. Ramnetina

monovarietali, il Petit-Verdot R5 (4.86 mg/L) ed il Nero d'Avola C2 (3.12 mg/L).

Tra i campioni di vino ottenuti da cv. miste (Tab.1), il C1 presenta il più alto contenuto in resveratrolo totale pari a 4.32 mg/L, seguito dall'A1 (3.85 mg/L). I vini da cv. Nero d'Avola, mediamente, mostrano un tenore in resveratrolo totale analogo

per tutti i campioni di uguale tipologia, fanno eccezione il B3 e l'L1 poiché presentano un contenuto inferiore.

Tutti i campioni presentano un contenuto di flavan-3-oli totali più elevato rispetto al contenuto di flavonoli totali; soltanto il campione D1, ottenuto da cv. miste, mostra valori confrontabili mentre B3, tra i vini ottenuti da cv.

Nero d'Avola, presenta un andamento opposto. I vini Cabernet R3 e Merlot R2, rispetto tutta la campionatura, presentano i più alti valori per questa classe di composti; invece il campione R5 risulta il più ricco in polifenoli semplici totali.

I risultati relativi alla determinazione del contenuto in polifenoli totali e della ca-



Tab. 5 - Contenuto totale delle diverse tipologie di composti polifenolici considerati

Vini	Polifenoli semplici totali (mg/L ac. gallico)	Flavan-3-oli totali (mg/L catechina)	Flavonoli totali (mg/L miricetina)	Resveratrolo totale (mg/L resveratrolo)
cv. miste				
A1 2000	137,00	119,74	63,16	3,85
B1 2001	105,13	119,26	53,24	1,35
B2 2001	84,51	98,88	56,07	0,44
C1 2000	147,14	153,17	46,80	4,32
D1 2000	57,97	67,35	68,84	2,83
E1 2001	117,91	106,37	77,58	2,24
E2 2000	140,80	132,74	25,57	2,26
F1 1999	96,61	40,20	24,19	1,52
F2 2000	63,58	37,05	20,07	0,79
Nero d'Avola				
B3 2000	91,30	77,04	115,29	0,62
C2 2000	129,15	126,64	75,06	3,12
G1 2000	135,59	106,80	68,48	2,29
H1 2000	114,79	114,14	50,24	2,26
I1 2000	179,14	62,46	33,29	2,10
L1 2001	68,20	112,72	60,72	0,69
C3 2001	108,62	152,72	58,36	2,20
M1 2001	139,82	108,46	60,87	2,24
N1 2001	161,45	159,02	61,36	2,94
O1 2001	136,69	168,04	52,90	2,30
C4 2002	131,74	144,09	70,48	1,80
Merlot				
B4 2000	149,24	217,67	94,50	2,40
P1 2001	176,77	211,43	100,27	3,66
Q1 2001	124,97	113,42	69,95	4,22
R1 2001	167,45	291,96	56,91	7,81
R2 2002	197,53	394,23	68,87	9,92
Cabernet-Sauvignon, Petit-Verdot, Syrah				
B5 2000	176,40	211,68	134,78	0,69
R3 2002	195,41	396,00	73,32	4,32
O2 2001	161,12	172,24	79,28	4,15
R4 2002	88,01	116,65	44,37	3,59
B6 2000	103,63	107,10	77,01	1,56
R5 2002	225,20	308,57	83,34	4,86

pacità antiossidante sono riportati nella Tab. 6. Essi mostrano che il contenuto in polifenoli totali, espresso in equivalenti di acido gallico (GAE), varia da 4614 mg/L a 1794 mg/L di GAE (valore medio 3445.77 mg/L di GAE). L'attività antiossidante di questi campioni di vino varia da 27.2 mg/L di TEAC a 14.1 mg/L (valore

medio 21.2 mg/L di TEAC). Riportando in un diagramma il contenuto in polifenoli contro l'attività antiossidante, per tutti i vini analizzati, viene ottenuto un coefficiente di correlazione (r^2) pari a 0.1951, il che sta ad indicare che, per questi vini, sussiste una debole correlazione tra le due variabili considerate. Solo correlando questi due

parametri separatamente per i vini di cv. Nero d'Avola si ottiene un valore di r^2 pari a 0.6217, il che potrebbe suggerire che, in questo caso, le due variabili potrebbero essere moderatamente tra loro correlabili. Risultati meno soddisfacenti sono stati ottenuti provando a correlare il contenuto in polifenoli totali (calcolato con il metodo di



Tab. 6 - Contenuto di polifenoli totali ed attività antiossidante in vini Siciliani commerciali

Vini	Polifenoli totali (mg/L GA)	Attività antiossidante (mg/mL TEAC)
Nero d'Avola		
H1	4209	23,7
N1	4074	22,8
G1	3225	22,0
O1	3804	21,6
M1	4209	21,6
I1	3669	21,3
L1	3534	20,6
C3	3596	19,7
C4	3540	18,6
B3	2563	18,1
C2	3254	15,9
Merlot		
B4	3130	27,2
Q1	4074	26,9
P1	2995	25,3
R2	3540	21,1
R1	3251	14,1
R3	3663	25,7
O2	4614	24,5
B6	3900	21,1
R4	3110	20,6
B5	3521	20,1
R5	3387	20,1
Cabernet-Sauvignon, Petit-Verdot, Syrah		
R3	3663	25,7
O2	4614	24,5
B6	3900	21,1
R4	3110	20,6
B5	3521	20,1
R5	3387	20,1
cv. miste		
D1	3669	24,5
E2	3614	23,2
B2	2320	21,7
F2	3130	21,5
A1	4344	21,4
F1	2350	20,3
E1	3135	20,0
C1	3601	18,5
B1	1794	14,1

GA = Gallic Acid

TEAC = Trolox Equivalent Antioxidant Capacity

Folin) con il tenore in flavonoidi totali, con i polifenoli semplici e/o il resveratrolo totale.

Va inoltre osservato che,

anche se spesso viene riscontrata una correlazione tra il contenuto in polifenoli ed i valori di TEAC, tuttavia bisogna tener conto che la determinazione dei polifenoli totali con il reagente di Folin non è un metodo d'analisi selettivo poiché la sua risposta è determinata da ogni composto potenzialmente ossidabile, presente nel vino. Pertanto, anche se i valori relativi all'attività antiossidante dei vini esaminati non sono correlabili con il contenuto in fenoli totali, ciò suggerirebbe che alle proprietà antiossidanti del vino potrebbe essere associato un parametro non preso in considerazione in questa indagine.

Un fatto è certo: i vini analizzati possiedono buone proprietà antiossidanti.

Considerazioni conclusive

L'uso di una tecnica analitica in cui un HPLC è stato accoppiato ad uno spettrometro di massa, grazie alle informazioni fornite dal confronto con i tempi di ritenzione, i pesi molecolari ed eventuali frammentazioni con quelli di campioni autentici, ha consentito la raccolta di una prima serie d'informazioni sul profilo polifenolico dei vini commerciali siciliani, differenziando, così, le diverse tipologie.

In particolare è emerso che i vini da cv. Merlot, prodotti in Sicilia, così come quelli prodotti da altre uve di cv. alloctone, mostrano un contenuto dei singoli polifenoli mediamente più alto, il che fa supporre che da questa tipologia di uve si possano ottenere, in Sicilia, vini dotati di buone proprietà salutistiche.

Infine, considerati i risultati relativi all'attività antiossidante ed al contenuto in polifenoli, in una ricerca futura più dettagliata dovrebbe essere presa in considerazione un'indagine che permetta di spiegare il meccanismo che sta alla base del potere antiossidante del vino rosso.

Bibliografia

1. G.mo Dugo, V Convegno internazionale "Vino e salute", Marsala (TP), 8-11 maggio 2003.
2. G.mo Dugo, G.L. La Torre, P. Dugo, T.M. Pellicanò, F. Vilasi, R. Magnisi, L. Mondello, M. Lo Presti, *Drugs Exptl. Res. BIOSCIENCE* ed., (in stampa).
3. G.L. La Torre, M. Saitta, F. Vilasi, T. Pellicanò, G.mo Dugo, *J. Agric. Food Chem.* (inviato per la pubblicazione).
4. H. Wiseman, *Nutr. Biochem.* 7 (1996) 2.
5. A.S. St-Leger, A.L. Cochran, F. Moore, *Lancet* 1 (1979) 1017.
6. L.A. Friedman, A.W. Kimbal, *Am. J. Epidemiol.* 124 (1986) 481.
7. A.L. Klautsky, M.A. Armstrong, *Am. J. Epidemiol.* 73 (1993) 467.
8. J.L. Robichaud, A.C. Noble, *J. Sci. Food Agric.* 53 (1990) 343.
9. K.F. Pocor, M.A. Sefton, P.J. Williams, *Am. J. Enol. Vitic.* 45 (1994) 429.
10. J. Burns, P.T. Gardner, D. Matthews, G.G. Duthie, M.E.J. Lean, A. Crozier, *J. Agric. Food Chem.* 49 (2001) 5797.
11. E.N. Frankel, J. Kanner, J.B. German, E. Parks, J.E. KinSELLA, *Lancet* 341 (1993) 454.
12. P.L. Teissedre, E.N. Frankel, A.L. Waterhouse, H. Peleg, J.B. German, *J. Sci. Food Agric.* 70 (1996) 55.
13. A.J. Clifford, S.E. Ebel, J.D. Ebeler, N.D. Bills, S.H. Hinrichs, P.L. Teissedre, A.L. Waterhouse, *Am. J. Clin. Nutr.* 64 (1996) 748.
14. P. Viñas, C. Lòpez-erroz, J.J. Marin-Hernández, M. Hernández-Cordoba, *J. Chrom. A* 871 (2000) 85.
15. B.C. Trella, A.L. Waterhouse, *J. Agric. Food Chem.* 44 (1996) 1253.
16. V. L. Singleton, J. A. Rossi, *Am. J. Enol. Vitic.* 16 (1965) 144.
17. R. Di Stefano, S. Guidoni, *Vignevini* (1989) 47.
18. V. Fogliano, V. Verde, G. Randazzo, A. Ritieni, *J. Agric. Food Chem.* 47 (1999) 103.
19. G. L. La Torre, G. Laganà, E. Bellocco, F. Vilasi, F. Salvo, G. Dugo, *Food Chem.*, (2003 in stampa).

