

Protezione dal danno ossidativo di un nuovo derivato (Liofenol), alcohol free, da uva rossa fermentata

XX Congresso Nazionale di Fitoterapia - Siena, 8 - 10 giugno 2012



Dario Rossi¹, Elisabetta Miraldi², Maddalena Corsini³, Claudio Mannari⁴, Daniela Giachetti²

1 Ingegnere, Azienda Agricola Ca' Novella

2 Università degli Studi di Siena, Dipartimento di Scienze Ambientali "G. Sarfatti", U.R. Biologia Farmaceutica

3 Università degli Studi di Siena, Dipartimento di Chimica

3 Università degli Studi di Pisa, Dipartimento di Neuroscienze, sezione di Farmacologia

Gli effetti benefici dell'uva rossa e del vino sulla salute umana sono noti già dall'antichità. Nella tradizione millenaria della dieta mediterranea si è sempre fatto riferimento al consumo della frutta a bacca rossa e, nel caso particolare dell'uva, alla sua fermentazione alcolica (vino) per avere una bevanda che si conservasse naturalmente nel tempo.

Soltanto però negli ultimi decenni si è dato a queste osservazioni una valenza scientifica, con la pubblicazione di centinaia di lavori sul cosiddetto "Paradosso Francese", ovvero come un moderato consumo di vino rosso agisca favorevolmente sul sistema cardiovascolare, anche in presenza di una dieta particolarmente ricca di cibi grassi di origine animale.

Questa attività è principalmente attribuita alla frazione polifenolica presente nei vini (in particolare quelli rossi), che apporta notevoli benefici, soprattutto per la sua spiccata attività antiossidante e antinfiammatoria.

Appurati dunque i notevoli benefici apportati da un modesto consumo di vino rosso, l'attenzione di alcuni produttori si è rivolta a quei soggetti che risultano intolleranti all'alcool o che, per motivi di salute, religiosi, o altro, non possono consumare bevande alcoliche.

L'Az. agric. Canovella, storico produttore vitivinicolo bio in Monferrato, ha messo a punto un processo di trasformazione proprietario che, a partire dall'uva biologica di propria produzione, con affinamento pluriennale in cantina ed estrazione finale sotto vuoto a bassa temperatura (liofilizzazione), consente di ottenere un estratto molle con gli stessi principi attivi del frutto di partenza, naturalmente concentrati: il tutto con controllo completo di ogni fase.

L'obiettivo di questo lavoro è stato quello di valutare e comparare l'attività protettiva contro il danno ossidativo del vino rosso di partenza con quella del nuovo preparato dealcoolato.

ATTIVITÀ ANTIRADICALICA

Il vino *in toto* (VG3) e il preparato dealcoolato (DG3) sono stati sottoposti alla valutazione dell'attività antiradicalica mediante il test spettrofotometrico del DPPH (Biagi et al., 2009).

La IC₅₀ calcolata è stata pari a:

2112 µg/ml per VG3

69,110 µg/ml per DG3 (secco dealcoolato).

Tali risultati evidenziano ancora una volta l'importanza di due parametri fondamentali per l'attività antiradicalica: l'alto tenore in polifenoli totali (nel campione di vino presenti per lo 0,182% e nel campione secco dealcoolato per il 15,30%) e l'alto tenore in antociani.

Il contenuto in resveratrolo non sembra invece essere direttamente correlato con la modulazione dell'attività.

ATTIVITÀ ANTIOSSIDANTE *in vitro*

L'attività antiossidante *in vitro*, è stata effettuata mediante test di voltammetria ciclica. Le misure elettrochimiche eseguite mediante voltammetria ciclica (Ciatti et al., 2010) hanno dimostrato che i campioni analizzati presentano un percorso redox molto simile e subiscono una singola ossidazione. Il loro potenziale di ossidazione è 0,38 V, un valore paragonabile a quello dell'acido gallico e dei componenti flavonoidici. La spiegazione di tale comportamento è facilmente riconducibile a quello dei maggiori costituenti dei vini rossi, acidi fenolici e composti flavonolici, presenti sia in VG3 che in DG3.

I dati elettrochimici forniscono una conferma immediata alle considerazioni scaturite dal test con il DPPH e si può concludere che il comportamento redox e antiradicalico dei campioni testati mette in evidenza una complessiva attività antiossidante molto spiccata.

CONCLUSIONI

I test effettuati hanno permesso di acquisire nuovi dati e di poter effettuare un paragone tra l'attività del vino rosso e quella del nuovo preparato dealcoolato.

Da questa preliminare indagine si può dedurre che il nuovo prodotto DG3 può essere considerato una valida alternativa al vino rosso, fermo restando la necessità di effettuare precisi test fitochimici per determinarne l'effettiva composizione, in particolare quella del profilo antocianosidico.

ATTIVITÀ ANTIOSSIDANTE *in vivo*

L'azione antiossidante dimostrata dai campioni nei test *in vitro* è ampiamente confermata nel test *in vivo*. L'azione protettiva dal danno ossidativo è stata saggiata mediante il test dello ioduro di propidio su una linea tumorale di cellule umane in coltura (HeLa) stimolate con perossido di idrogeno. In seguito alle modificazioni della morfologia cellulare successive al danno ossidativo (perdita di fluidità di membrana e potenziale di membrana), lo ioduro di propidio penetra all'interno della cellula e si intercala a livello del DNA; in seguito a tale legame lo ioduro diventa eccitabile e capace di emettere in fluorescenza; per correlare più correttamente le letture dello strumento con l'effettiva morte cellulare, è stata in parallelo effettuata una conta delle cellule morte col metodo del

Tripan Blu in un gruppo di cellule stimolate con H₂O₂ senza l'aggiunta di sostanze. Per questo test DG3 è stato solubilizzato in soluzione acquosa, in modo tale da rendere paragonabili le concentrazioni della frazione polifenolica e quindi più facilmente comparabili i risultati.

I due grafici riportati in figura 1 evidenziano che VG3, è in grado di inibire, in maniera concentrazione dipendente, il danno ossidativo provocato dal perossido di idrogeno e la massima diluizione significativamente attiva è 1:300. DG3 non ha mostrato di avere un'attività dipendente dalla concentrazione e sia dopo 4 che dopo 7 ore dallo stimolo, la minima concentrazione attiva coincide con la diluizione 1:500, superiore addirittura a quella del vino VG3. Il campione dealcoolato mantiene pressoché intatte le attività presenti nel vino *in toto* e si può ipotizzare che l'azione antiossidante si realizzi per mezzo della modulazione di enzimi citoplasmatici, come ad esempio la superossido-dismutasi, agendo quindi da scavenger, e per mezzo di una protezione delle membrane, poiché costituenti come gli antociani e i flavanoli riescono ad intercalarsi nelle membrane e proteggerle da danni di tipo ossidativo.

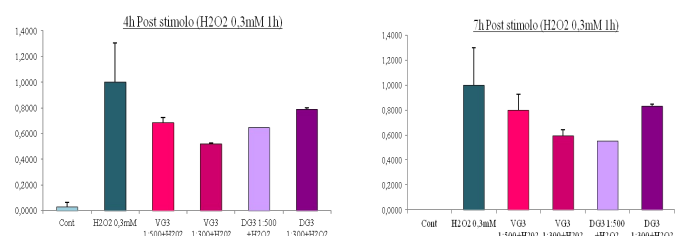


Fig. 1: Protezione delle membrane cellulari da parte di VG3 e DG3 su HeLa stimolate con perossido di idrogeno. I dati sono normalizzati sul controllo positivo e sono registrati dopo 4 ore e dopo 7 ore dallo stimolo.

Bibliografia

Ciatti S., Biagi M., Miraldi E., Taliani A., Corsini M., Mannari C., Giachetti D., Zanello P., "Attività antiradicalica e antiossidante dei vini rossi italiani", *Piante Medicinali*, 9: 85-86, 2010.
Biagi M., Miraldi E., Figura N., Giachetti D., "Antiradical Activity and *in vitro* Inhibition of *Helicobacter pylori* by Italian Red Wines", *Nat. Prod. Comm.*, 4(2): 255-260, 2009.