

CHROM. 3384

## Sur la séparation du paeonoside et du malvoside au moyen de la chromatographie sur papier et sur couche mince de cellulose

La séparation du malvoside et du paeonoside au moyen de la chromatographie sur papier présente des grandes difficultés. En effet, si l'on compare les résultats obtenus avec les différents solvants de développement, utilisés pour la chromatographie unidimensionnelle descendante, on constate l'identité des  $R_F$  des deux diglucosides mentionnés, les différences étant de l'ordre de quelques centièmes, tout au plus 0.04<sup>1-9</sup>.

Egalement la chromatographie à deux dimensions n'a pas réussi à les séparer nettement et rapidement<sup>10-12</sup>.

Comme nous l'avons déjà signalé<sup>13</sup>, notre technique de chromatographie unidimensionnelle multiple sur couche mince de cellulose, basée sur l'emploi des deux solvants (le premier acide acétique 2 %, le second alcool amylique tertiaire-acide acétique glacial-eau (6:0.1:94)) reste inefficace.

Par conséquent on peut dire que la séparation de ces diglucosides reste un problème analytique non résolu. Dans ces conditions il nous a paru intéressant de rechercher les moyens d'en trouver une solution acceptable.

### *Méthodes expérimentales et matériel utilisé*

Les constatations faites au cours des expérimentations précédentes nous ont permis de supposer que la séparation chromatographique des diglucosides du malvidol et du paeonidol nécessite en premier lieu l'utilisation de solvants peu rapides, permettant l'augmentation de la durée du développement; cette condition est valable pour la chromatographie sur couche mince et pour la chromatographie sur papier.

### *Chromatographie sur couche mince de cellulose*

*Appareillage et technique utilisés.* Pour effectuer la chromatographie, unidimensionnelle à développement multiple<sup>14</sup>, sur couche mince de cellulose nous avons fait appel à l'équipement de la Société DESAGA (Heidelberg), comprenant le dispositif pour préparation des couches de cellulose sans liant (Cellulose MN 300, Société Macherey et Nagel, Allemagne), de 0.5 mm d'épaisseur, sur plaques de 20 × 20 cm et les cuves parallépipédiques en verre.

*Anthocyanes utilisées.* L'expérimentation a été faite avec un vin obtenu à la suite de la vinification au laboratoire, sans emploi d'anhydride sulfureux, des raisins rouges du cépage hybride Seyve-Villard 18315 et avec les solutions des chlorhydrates de malvoside (Sté Fluka, Suisse) et de paeonoside. Le paeonoside a été extrait des pétales de fleurs de Pivoine rouge (*Paeonia*) par macération pendant 44 h dans une solution aqueuse d'acide chlorhydrique à 1 %<sup>15</sup>, suivie d'une précipitation à l'aide d'une solution aqueuse saturée d'acétate neutre de plomb selon BOCKIAN, KEPNER ET WEBB<sup>16</sup>. Comme nous l'avons montré<sup>17</sup>, ce réactif détermine seulement une précipitation partielle des diglucosides. La régénération du paeonoside était obtenue en traitant des sels de plomb par du méthanol chlorhydrique à 1 %.

### *Chromatographie sur papier*

La chromatographie descendante sur le papier Whatman No. 1 a été exécutée suivant les règles habituelles.

### *Résultats obtenus*

L'étude comparative préliminaire de différents solvants de développement a été faite à l'aide de la chromatographie sur couche mince de cellulose en utilisant le vin rouge de Seyve-Villard 18315.

À la suite de nombreux essais d'orientation, nous avons retenu trois solvants, tous utilisant, comme substance de base, de l'alcool amylique tertiaire ( $C_2H_5C(OH)(CH_3)_2$ , 2-diméthylbutanol-2) à savoir, l'alcool saturé d'eau ou de solution aqueuse d'acide acétique à 2 % ou de solution aqueuse d'acide chlorhydrique 2 *N*. On prépare ces solvants en mettant en contact, par agitation énergique, les volumes égaux de deux composants, on laisse reposer au moins une nuit (16 h) à 20° et on prélève la phase supérieure. La phase inférieure est utilisée pour effectuer l'humidification du papier dans l'enceinte chromatographique pendant 24 h lors de la chromatographie de partage sur papier.

Au cours de notre expérimentation l'emploi de l'alcool amylique tertiaire saturé d'eau a été restreint, à cause de son efficacité moindre. Par contre, l'utilisation de l'alcool amylique tertiaire saturé d'acide acétique ou d'acide chlorhydrique 2 *N* a permis d'obtenir une séparation nette de ces diglucosides à partir de leur mélange. Le premier développement avec de l'alcool amylique tertiaire saturé d'acide acétique à 2 % dure toute une journée, soit 7 h environ; le deuxième avec le même alcool saturé d'acide chlorhydrique 2 *N* demande une nuit (16-17 h). La tache du paeonoside se sépare nettement de celle du malvoside et se place au-dessus à une distance suffisante permettant l'élution de chaque tache. Les essais effectués ont montré que le malvoside commercial contiendrait une petite quantité d'une anthocyane, dont le  $R_F$  correspond à celle du paeonoside.

Les résultats obtenus rendent possible la séparation du malvoside et du paeonoside, après leur isolement suivant la technique préconisée par nous en 1964 (op. cit. 13). À cet effet il suffit d'extraire à l'aide du méthanol ou de l'éthanol, par exemple, ces diglucosides contenus dans une couche cellulosique correspondante et d'effectuer une nouvelle chromatographie sur couche mince de cellulose en employant les solvants indiqués précédemment.

En ce qui concerne la chromatographie descendante sur papier, les essais effectués ont montré qu'il est également possible d'obtenir, en utilisant, comme solvant de développement, de l'alcool amylique tertiaire saturé d'acide chlorhydrique 2 *N*, une séparation suffisamment nette du malvoside et du paeonoside, mais moins prononcée par rapport à la chromatographie sur couche mince de cellulose, malgré la même durée totale de développement (24 h).

Voici respectivement les  $R_F$  du malvoside et du paeonoside: 0.20-0.21 et 0.26-0.30; on remarquera la différence entre les moyennes de 0.08. Toutefois, le pouvoir séparateur de ce solvant est moindre par rapport à celui des deux solvants utilisés pour la chromatographie sur couche mince de cellulose. En effet, le malvoside commercial forme une seule tache au lieu de deux. Quant au pouvoir séparateur de l'alcool amylique tertiaire saturé d'eau, il est complètement nul dans les mêmes conditions.

### Conclusion

Les recherches effectuées ont abouti à la première solution du problème de la séparation chromatographique du malvoside et du paeonoside. Toutefois, le caractère préliminaire de notre expérimentation milite en faveur d'autres recherches à entreprendre afin de rendre moins longue la technique de séparation et de dosage du malvoside et du paeonoside.

Station Centrale de Technologie des Produits végétaux de  
l'Institut national de la Recherche Agronomique,  
Narbonne, Aude (France)

LÉONCE DEIBNER

- 1 E. BATE-SMITH, *Nature*, 161 (1948) 835.
- 2 E. BATE-SMITH, *Biochem. Soc. Symp. (Cambridge, Engl.)*, 3 (1949) 62.
- 3 E. BATE-SMITH ET R. WESTALL, *Biochim. Biophys. Acta*, 47 (1950) 417.
- 4 J. HARBORNE, *J. Chromatog.*, 1 (1958) 473.
- 5 K. HAYASHI ET Y. ABE, *Botan. Mag. (Tokyo)*, 69 (1956) 577.
- 6 K. HAYASHI, *Pharmazie*, 12 (1957) 245.
- 7 K. HAYASHI, dans T. GEISSMAN (Rédacteur), *The Chemistry of Flavonoid Compounds*, Pergamon, Oxford, 1962, p. 248.
- 8 D. SOMAATMADJA ET J. POWERS, *J. Food Sci.*, 28 (1963) 617.
- 9 M. VISINTINI-ROMANIN, *Nuovi Studi Staz. Chim. Agr. Sper. Udine*, No. 70 (1964) Nota 1, 22 pp.
- 10 P. RIBÉREAU-GAYON, *Rev. Gén. Botan.*, 66 (1959) 53.
- 11 A. ZAMORANI ET P. PIFFERI, *Riv. Viticolt. Enol.*, 17 (1964) 85, 115.
- 12 H. BIOL ET C. FOULONNEAU, *Ann. Technol. Agr.*, 10 (1961) 345.
- 13 L. DEIBNER, M. BOURZEIX ET M. CABIBEL-HUGUES, *Ann. Technol. Agr.*, 13 (1964) 359.
- 14 A. JEANES, C. WISE ET R. DIMLER, *Anal. Chem.*, 23 (1951) 415.
- 15 L. DEIBNER ET M. BOURZEIX, *Ann. Technol. Agr.*, 12 (1963) 287.
- 16 A. BOCKIAN, R. KEPNER ET A. WEBB, *J. Agr. Food Chem.*, 3 (1955) 695.
- 17 L. DEIBNER, M. BOURZEIX ET M. CABIBEL-HUGUES, *Ann. Fraudes Expert. Chim.*, 59 (1966) 39.

Reçu le 7 décembre 1967; modifié le 2 janvier 1968

*J. Chromatog.*, 34 (1968) 425-427