

CHROM. 6990

Note

Isolement quantitatif du monoglucoside du malvidol du vin rouge ou d'extraits méthanoliques de marc de raisins

MICHEL BOURZEIX et NICOLAS HEREDIA

Station d'Oenologie et de Technologie Végétale (I.N.R.A.), 11104 Narbonne (France)

et

DRAGAN NATCHKOV

Institut Supérieur des Industries Alimentaires, Plovdiv (Bulgarie)

(Reçu le 10 juillet 1973)

Il est impossible, actuellement, de se procurer dans le commerce, même en petite quantité, des anthocyanes sous forme monoglucoside. Jusqu'à présent, pour établir des gammes-étalon ou avoir des témoins chromatographiques, il fallait isoler quelques grammes de ces monoglucosides par chromatographie préparative sur papier, suivie de l'élution à partir des bandes correspondantes. Cette méthode est très longue et peu commode.

En utilisant la chromatographie sur colonne de Polyclar A.T. (General Aniline Corp. Dyestuff and Chemical Division, 435, Hudson Street, New York, N.Y., É.U.), nous sommes parvenus à isoler facilement le monoglucoside du malvidol à partir de vins ou d'extraits méthanoliques de pellicules de carignan noir. Or, il se trouve que ce monoglucoside est le principal colorant rouge de cépages très répandus¹⁻⁷. Il peut donc être choisi comme anthocyane de référence.

Jusqu'à présent le Polyclar A.T. a été employé surtout pour éliminer l'ensemble des polyphénols des milieux enzymatiques. On l'a utilisé aussi pour purifier l'ensemble des anthocyanes des fraises avant leur séparation chromatographique⁸. Andersen et Sowers⁹ ont étudié la spécificité de rétention sur Polyclar. Plus récemment (1973), Marigo¹⁰ a montré que les acides quinique, shikimique et ascorbique, les sucres (glucose, fructose, saccharose) et des acides aminés ne sont pas retenus.

MODE OPÉRATOIRE

On utilise une colonne de 20 mm de diamètre intérieur, obturée dans sa partie inférieure par une plaque frittée P₁. Une suspension de 3 g Polyclar A.T. dans 30 ml d'eau distillée, homogénéisée par une agitation magnétique d'une quinzaine de minutes, est versée dans cette colonne.

Ensuite, séparément, on mélange 5 ml de vin ou d'extrait à 0.3 g de Polyclar. Le magmat ainsi obtenu est introduit avec précaution de façon à ce que la surface de séparation avec la colonne soit bien horizontale; 5 ml d'eau du bécber sont joints. Un pré-lavage est fait, par petites affusions, avec 10 ml de méthanol R.P. Les anthocyanes et les tanins restent fixés sur la partie de Polyclar correspondant au magmat.

Pour l'élu-tion, on utilise le mélange méthanol R.P.-éthanol absolu R.P.-HCl 12 N (33:66:1).

Le monoglucoside du malvidol se détache le premier et se sépare nettement des autres anthocyanes monomères par un blanc de 1 à 2 cm; les polymères ne migrent pas. Ensuite, l'éluat correspondant au monoglucoside du malvidol doit être déshydraté avant évaporation à sec, sinon l'eau introduite avec l'acide chlorhydrique (solution aqueuse 12 N) reste en dernier; au cours de l'évaporation l'acide s'y concentre à nouveau et provoque une hydrolyse partielle du monoglucoside en aglucone. Une façon commode de déshydrater consiste à recevoir l'éluat dans un récipient contenant un tamis moléculaire (Merck, 3 ou 4 Å) (proportion 1 g pour 10 ml d'éluat). Après une nuit de contact avec le tamis moléculaire, l'éluat est recueilli (décantation), puis évaporé à sec sous vide à température ambiante. Le monoglucoside du malvidol est obtenu sous forme pulvérulente chromatographiquement pure (CCM de cellulose alcool amylique primaire-acide formique-HCl N/10, 8:4:1.5).

La régénération du Polyclar est obtenue de la façon suivante: À l'aide d'une tige de verre, on mélange le Polyclar du magmat à celui du dessous. On lave par 30 ml d'eau distillée pour éliminer le solvant d'élu-tion. On transvase l'ensemble du Polyclar dans un bécher à l'aide de 50 ml de solution aqueuse de CO_3Na_2 à 10% et on chauffe à environ 80° pendant 3 min. Après centrifugation, le culot est repris par 50 ml d'eau distillée, chauffé à nouveau, puis soumis à une nouvelle centrifugation; cette opération est renouvelée une fois. Le liquide surnageant est rejeté.

Après un nouveau mélange avec 30 ml d'eau distillée, le Polyclar est transvasé dans la colonne placée sous une hotte ventilée. Après écoulement de l'eau, on lave avec 20 ml de mélange, à volumes égaux d'HCl 12 N et HNO_3 concentré. Un nouveau lavage par 30 ml d'eau distillée (petites affusions) chasse ces acides en produisant des bulles. La teinte du Polyclar passe du jaune au blanc. On lave abondamment par l'eau sur colonne (trompe à vide). Lorsque le pH de l'eau de lavage se situe entre 5 et 6, la régénération est terminée. En fait, à ce pH la teinte devient légèrement ocre mais l'expérience montre que cette régénération convient parfaitement. Grâce à elle, le Polyclar peut être utilisé plusieurs fois (cinq fois et plus). L'isolement du monoglucoside du malvidol est toujours aussi convenable après plusieurs régénérations; tout au plus le débit d'élu-tion diminue-t-il légèrement du fait du colmatage plus rapide de la plaque de verre fritté (auquel on remédie grâce à un lavage par HNO_3 concentré) et du plus grand tassement de la colonne.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 D. Somaatmadja et J. J. Powers, *J. Food Sci.*, 28 (1963) 617.
- 2 G. Guetov, *Hortic. Vitic. Sci. Sofia*, 3 (1966) 537.
- 3 C. L. Hsia et P. U. Frei, *Amer. J. Enol. Vitic. (Résumés des conférences, Congrès annuel 1966 de la Soc. amér. d'Oenol.)*.
- 4 B. H. Koeppen et D. S. Basson, *Phytochemistry*, 5 (1966) 183.
- 5 W. B. Robinson, L. D. Weirs, J. J. Bertino et L. R. Mattick, *Amer. J. Enol. Vitic.*, 17 (1966) 178.
- 6 D. Boubals, P. Truel, M. Bourzeix, V. Kovac et T. Giosanu, *Ann. Technol. Agr.*, 17 (1968) 257.
- 7 D. E. Gueffroy, R. E. Kepner et A. D. Webb, *Phytochemistry*, 10 (1971) 813.
- 8 R. E. Wrolstad et T. B. Pujnam, *J. Food Sci.*, 34 (1969) 154.
- 9 R. A. Andersen et J. A. Sowers, *Phytochemistry*, 7 (1968) 293.
- 10 G. Marigo, *Analysis*, 2 (1973) 106.