

文章编号 :1009-038X(2001)01-0065-03

薄层色谱法分离葡萄籽中的低聚原花青素

吕丽爽, 曹栋

(无锡轻工大学食品学院, 江苏无锡 214036)

摘要:通过对不同溶剂展开体系的选取,确定低聚原花青素分离的薄层色谱展开体系为 v (甲苯): v (丙酮): v (乙酸)=3:3:1.从原花青素中分离制备得到儿茶素的单体、二聚体、三聚体,运用高效液相色谱对其进行了分析验证.

关键词:薄层色谱;低聚原花青素;葡萄籽

中图分类号:S 663.1

文献标识码:A

Isolation of Oligomeric Proanthocyanidins from Grape Seed by TLC

LU Li-shuang, CAO Dong

(School of Food Science and Technology, Wuxi University of Light Industry, Wuxi 214036, China)

Abstract: The separation of Oligomeric Proanthocyanidins (OPC's) by TLC was studied. After the experiments of various ascending elutions, the chromatography was carried out using an ascending elution with toluene/acetone/acetic acid (3:3:1). HPLC was also employed to analyze the compose of each fraction obtained from TLC.

Key words: TLC; oligomeric proanthocyanidins; grape seed

低聚原花青素(Oligomeric Proanthocyanidins 简称 OPC's)是自然界中广泛存在的聚多酚类混合物,主要由儿茶素的单体、二聚体、三聚体……十聚体组合而成.有人将其归为生物类黄酮^[1],也有人将其归为缩合鞣质^[2].其特点为高效、低毒、高生物利用率,半致死量为 $LD_{50} = 3 \text{ g/kg}$ ^[3].据资料报导,OPC's 拥有较强的抗氧化、清除自由基能力和对人体微循环特殊改善的双重功效.在体内,其抗氧化能力是 V_E 的 50 倍, V_C 的 20 倍.近 10 年来在北美保健食品业和化妆品业得到广泛应用,年销售额超过 1 亿美元^[4].

目前国外已鉴定出 23 种不同结构的物质,其中

以二聚体的抗氧化性最强^[5].而国内对 OPC's 的分离研究尚未见报道.作者通过薄层色谱将 OPC's 中聚合度不同的组分分离并运用 HPLC 方法分析其中成分.

1 材料和方法

1.1 实验材料

白羽葡萄籽(青岛产);硅胶 G、硅胶 G_{F254} (200 目)所用试剂均为分析纯

1.2 实验方法

1.2.1 提取方法 将干葡萄籽筛分,用捣碎机磨

收稿日期 2000-03-16,修订日期 2000-11-07.

作者简介:吕丽爽(1975-),女,河北石家庄人,工学硕士.

万方数据

碎过筛(≤ 1 mm),用60%乙醇,以1:7的料液比,在50℃条件下,提取3次,洗涤残渣,合并提取液及洗涤液,减压浓缩,加NaCl饱和,过滤,并用3倍体积的乙酸乙酯萃取3次,减压浓缩萃取液,用3倍体积的石油醚沉淀2次,最终得到低聚原花青素^[6]。

1.2.2 OPC's 定量分析 见参考文献[7]。

1.2.3 薄层分析和制备

薄层:硅胶G+0.5%的羧甲基纤维素钠,展开体系1: v (甲苯): v (丙酮): v (甲酸)=3:6:1;展开体系2: v (甲苯): v (丙酮): v (乙酸)=3:3:1;展开体系3: v (乙酸乙酯): v (丁酮): v (甲酸): v (水)=5:3:1:1;展开体系4: v (甲苯): v (氯仿): v (丙酮)=40:25:35;显色剂:10%香草醛的盐酸溶液^[8]。

硅胶G_{F254}制取制备薄板(20 cm×20 cm),以 v (甲苯): v (丙酮): v (乙酸)=3:3:1为展开剂,将分离的3种组分(荧光检测),按色带刮下带有样品的硅胶,分别装柱,用无水甲醇洗脱,以三氯化铁-铁氰化钾检测至洗出液不变色为止,收集各组分,减压蒸馏,真空干燥,备用。

1.2.4 高效液相色谱分离 分别将制备薄层色谱分离的3条谱带配制成甲醇溶液,过滤后以相同进样量用HPLC分离。

2 结果与讨论

2.1 提取试验结果

最终产品经测定,低聚原花青素纯度达95%以上。

2.2 展开剂的选取

选择合适的展开剂是薄层色谱分离成功的关键,其选择的依据是吸附剂的活性、被分离样品的极性。在一个多元展开系统中,各溶剂起不同的作用,极性较大的溶剂可以使化合物在薄层上移动加快,极性较小的溶剂降低极性较大的溶剂的洗脱能力,使其 R_f 值降低,中等极性的溶剂使极性相关较大的溶剂混合均匀。在展开剂中加入少量的酸,可使某些极性物质的斑点集中,减少拖尾。根据上述原则,选择4种不同展开体系进行实验,各组分 R_f 值见表1。

由表1可以看出,展开体系3中被分离物质全部跑到溶剂前缘,表明展开体系极性过大;展开体系4中被分离物质停留在原点无展开,表明展开体系极性过小。体系1和2均能将其分离,但体系2分离效果更好。

表1 不同展开剂层析的 R_f 值

Tab.1 R_f of TLC

谱带	展开体系			
	1	2	3	4
I	0.9	0.75	层析后显示单个斑点,并接近溶剂前缘	层析后仍为单个斑点,并停留在原点
II	0.8	0.38	(无分离)	(无分离)
III	0.7	0.19	(无分离)	(无分离)

2.3 薄层层析组分的定性实验

表2为显色的初步定性分析,3种组分均为多酚类,带II、带III为缩合鞣质类^[2]。

表2 TLC色带的鉴定

Tab.2 Identigy of TLC Colour Zone

显色方式	带I	带II	带III
日光	无	无	无
紫外灯254 nm	暗斑	暗斑	暗斑
三氯化铁-铁氰化钾	蓝色	蓝色	蓝色
盐酸-香草醛	红色	红色	红色
新石灰水	无色	棕红	棕红
溴水	黄色	橙黄	橙黄
三氯化铁	墨绿色	绿色	绿色

2.4 HPLC进一步分离薄层制备的3种组分

以相同浓度等量进样,得到的HPLC图谱,分别为图1~3。

将各谱带中的不同组分进一步分离,对照标准图谱[8],谱带I中 $t_R = 22.028$ 为儿茶素, $t_R = 28.216$ 为表儿茶素;参照国外报道谱带II为二聚体的各种异构体和部分二聚体与没食子酸所成的酯(由质谱测得相对分子质量为700~900);谱带III为三聚体的混合物(质谱测得相对分子质量为1000~1200)。由于其中二聚体与三聚体的各种异构体的结构、种类非常复杂,各种组分出峰有待进一步探讨。

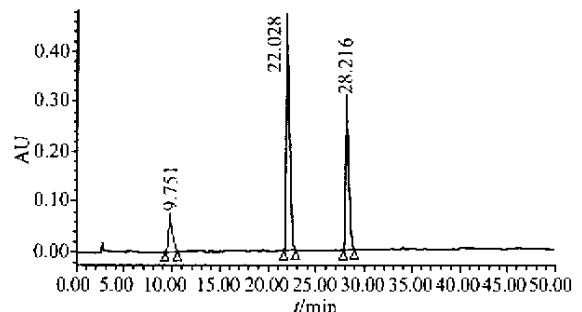


图1 薄层谱带I的HPLC图谱

Fig.1 HPLC of the TLC colour Zone I

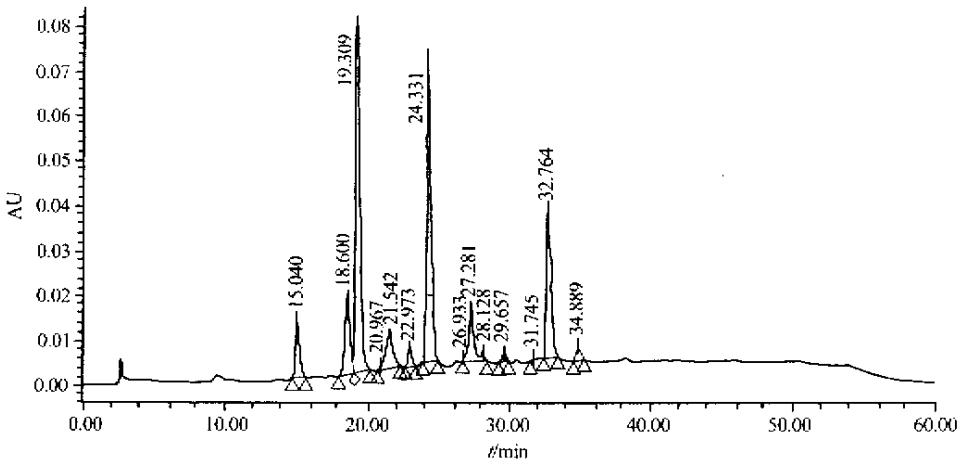


图 2 薄层谱带 II 的 HPLC 图谱

Fig.2 HPLC of the TLC colour zone II

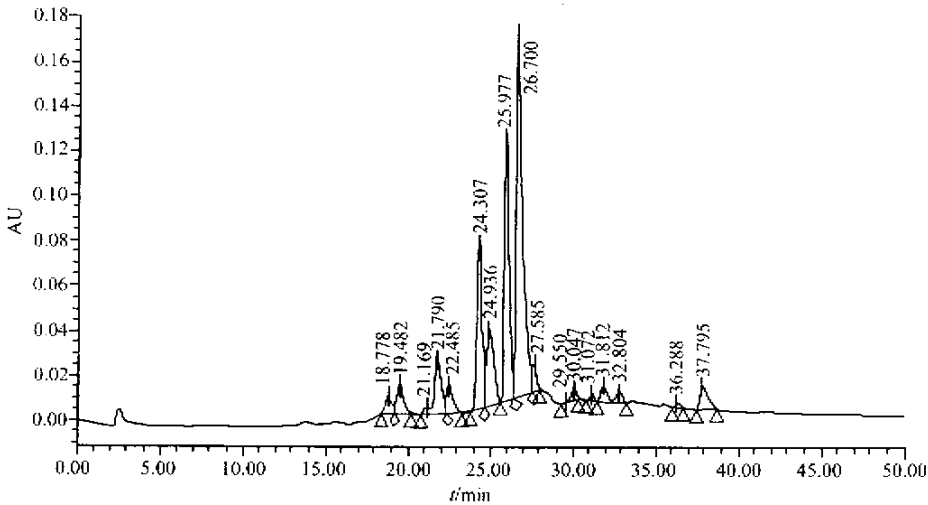


图 3 薄层谱带 III 的 HPLC 图谱

Fig.3 HPLC of the TLC colour zone III

3 结 论

作者运用薄层色谱通过一系列的实验,选取确定了溶剂展开体系为 α (甲苯): α (丙酮): α (乙酸)=

3:3:1,将 OPC's 以不同的聚合度加以分离,并通过 HPLC 色谱及质谱验证其分离效果良好.由此可以得到不同聚合度的产品,同时也为今后对 OPC's 各组分的结构、功能的进一步研究打下了基础.

参考文献:

[1] 王宪楷.天然药物化学[M].北京:人民卫生出版社,1985.
 [2] 北京医学院编.中草药成份化学[M].北京:人民卫生出版社,1980.

(责任编辑 朱 明)