

RÉSOLUTION OIV-OENO 589-2017

MÉTHODE DE DOSAGE DU PROPANE-1,2-DIOL ET DU BUTANE-2,3-DIOL

L'ASSEMBLÉE GÉNÉRALE,

VU l'article 2, paragraphe 2 iv de l'Accord du 3 avril 2001 portant création de l'Organisation internationale de la vigne et du vin,

SUR PROPOSITION de la Sous-commission « Méthodes d'analyse »,

DÉCIDE de compléter le *Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins et des moûts* avec la méthode suivante :

DOSAGE DU PROPANE-1,2-DIOL ET DU BUTANE-2,3-DIOL

Méthode de type IV

1. INTRODUCTION

Des quantités mesurables de propane-1,2-diol et de butane-2,3-diol se forment suite aux processus de fermentation. Ces composés sont pratiquement absents dans les moûts non fermentés, mais présents dans les vins dans certaines limites.

2. PRINCIPE

Les analytes et l'étalon interne sont extraits par l'utilisation d'éther éthylique. Leur transfert en phase organique est favorisé par l'augmentation de la force ionique dans la matrice vin ou moût de départ. C'est pour cette raison qu'une grande quantité de K_2CO_3 (« relargage ») est additionnée aux échantillons. Les extraits sont directement analysés par CG-SM sur colonne polaire. La détection est effectuée selon le temps de rétention et le spectromètre de masse.

3. CHAMP D'APPLICATION

La méthode est adaptée au dosage du propane-1,2-diol et du butane-2,3-diol dans les moûts et les vins dont la teneur en sucres est supérieure à 20 g/L et dont les concentrations en analytes sont comprises entre environ 1 mg/L et 500 mg/L.

4. ABREVIATIONS

C	Concentration
PG	Propane-1,2-diol
CG-SM	Chromatographe couplé à un détecteur à spectrométrie de masse
H ₂	Hydrogène
EI	Étalon interne butane-1,3-diol
m/z	Rapport masse/charge
RF	Facteur de réponse
ML	Niveau d'étalonnage de la matrice
SM	Solution mère
SE	Solution étalon
TR	Temps de rétention
SE	Solutions étalons pour la chromatographie en phase gazeuse
BG	Butane-2,3-diol
D	Vin avec une teneur en sucres > 20 g/L
M	Moût

5. RÉACTIFS

5.1. K₂CO₃ (CAS 584-08-7)

5.2. Éther éthylique (CAS 60-29-7)

5.3. Éthanol absolu (CAS 64-17-5)

- 5.4. Fructose (CAS 57-48-7)
- 5.5. Glucose (CAS 50-99-7)
- 5.6. Glycérol (CAS 56-81-5)
- 5.7. Propane-1,2-diol, pureté > 99 % (CAS 57-55-6)
- 5.8. Butane-2,3-diol, pureté > 99 %, mélange d'isomères (R,R) et (R,S) (CAS 513-85-9)
Estimer la quantité relative des formes (R,R) et (R,S) de la manière suivante :
 - 5.8.1. Préparer une solution à 100 mg/L en suivant les instructions des points 7.2.1 et 7.3 et en diluant le mélange d'isomères du butane-2,3-diol (5.8) dans de l'eau (5.10) plutôt que dans la solution modèle de la matrice ;
 - 5.8.2. Injecter dans le CG, selon les conditions décrites au point 7.6, et calculer le pourcentage de formes (R,R) et (R,S) à partir du pourcentage des aires des deux pics ;
 - 5.8.3. Prendre en compte la quantité relative de chacune des deux formes pour calculer la concentration des solutions étalon $C_{SE,i}$ utilisées dans le paragraphe 8.2.1 pour le calcul des RFi relatifs aux formes (R,R) et (R,S) ;
- 5.9. Butane-1,3-diol, pureté > 99 %, anhydre (ou déshydraté avec du sulfate de sodium pendant 24 heures) (CAS 107-88-0)
- 5.10. Eau purifiée pour laboratoire, de qualité certifiée EN ISO 3696
- 5.11. Azote

6. APPAREILLAGE

- 6.1. Matériel courant de laboratoire, dont fioles jaugées de 1000 mL, 200 mL, 100 mL de classe A
- 6.2. Balance analytique avec une résolution de $\pm 0,0001$ g
- 6.3. Centrifugeuse de laboratoire (au moins 4000 tours/min ou 2000 xg)
Note 1. « xg » désigne l'accélération subie par les particules qui se trouvent dans la centrifugeuse, alors que « tours/min » représente le nombre de tours réalisés par le rotor de la centrifugeuse en une minute. Il existe une relation entre ces deux unités de mesure : $xg = 1,1178 \cdot 10^{-3} \cdot n^2 \cdot r$. Dans le laboratoire qui a développé cette méthode, $r = 0,115$ m.
- 6.4. Chromatographe couplé à un détecteur à spectrométrie de masse avec injecteur split-splitless
- 6.5. Micropipettes de précision et pipettes Pasteur
- 6.6. Tubes à centrifuger de 30 mL résistants à l'éther et munis de bouchons
- 6.7. Bain thermostaté

6.8. Agitateur vertical de type vortex

7. MODE OPÉRATOIRE

7.1. Préparation des solutions modèle qui simulent la matrice

Pour obtenir une meilleure réponse au CG-SM au cours de la quantification, il convient de préparer différentes solutions qui simulent le plus possible la matrice de l'échantillon considéré, étant donné que la réponse à l'analyse des glycols est variable en fonction de la matrice dans laquelle ils ont été solubilisés.

Tab.1. : Préparation des solutions modèle dans des fioles jaugées de 1000 mL :

	Solution modèle	
	M	D
Fructose	100 g/L	50 g/L
Glucose	100 g/L	50 g/L
Glycérol	1 g/L	4 g/L
Éthanol absolu	1 % v/v	5 % v/v

7.2. Préparation des solutions de référence

7.2.1. SM : Solution mère de PG et BG

Avec une exactitude de 0,1 mg, peser environ 0,10 g de propane-1,2-diol (PG) et environ 0,10 g de butane-2,3-diol (BG) dans une fiole jaugée de 10 mL et compléter au trait de jauge avec de l'eau (5.10). Noter les poids. Fermer soigneusement la fiole et agiter.

La concentration de cette solution est d'environ de 10 mg/mL de PG et de 10 mg/mL de BG.

Si les quantités de PG et de BG diffèrent de 0,1 g, calculer les concentrations exactes en se basant sur les poids notés.

7.2.2. EI : Solution EI

Avec une exactitude de 0,1 mg, peser environ 0,10 g de butane-1,3-diol (EI) dans une fiole jaugée de 10 mL et compléter au trait de jauge avec de l'eau. Noter le poids. Fermer soigneusement la fiole et agiter.

La concentration de cette solution est de 10 mg/mL. Si la quantité d'EI diffère de 0,1 g, calculer la concentration exacte en se basant sur le poids noté.

7.3. Préparation de la solution étalon dans la matrice

Les solutions étalons se préparent de la manière suivante, en diluant la solution SM dans une solution modèle dont la composition se rapproche le plus possible de celle de l'échantillon à analyser (pour le vin doux, la solution modèle D ; pour le moût, la solution modèle M) :

Tab.2. : Préparation des solutions étalons (SE) dans des fioles jaugées de 100 mL :

	SE-M	SE-D
Solution SM	1 mL	1 mL
Pour atteindre un volume final de 100 mL, compléter avec :	Solution modèle M	Solution modèle D

Chaque solution étalon SE contient la matrice choisie et la concentration de PG et de BG est de 100 mg/L. L'étalon interne sera additionné avant l'extraction, comme décrit au paragraphe 7.5.

7.4. Préparation des échantillons

Si la concentration de l'analyte dans l'échantillon est supérieure à la concentration maximale prévue dans le champ d'application, diluer l'échantillon avec la solution modèle (7.1).

Homogénéiser l'échantillon avant d'en prélever une fraction de 10 mL à soumettre à l'extraction.

Dans le cas de moûts ou de vins troubles, prélever le vin limpide après filtration.

Dans le cas de vins mousseux ou pétillants, effectuer un dégazage, comme décrit dans la méthode OIV « Acidité totale » (OIV-MA-AS313-01, paragraphe 5.1).

Procéder à l'intégralité de la préparation et effectuer les essais en double.

7.5. Extraction

7.5.1. Addition de l'étalon interne EI à l'échantillon

Dans une fiole jaugée de 100 mL, préparer une solution contenant 5 mL de la solution étalon EI (7.2.2) et compléter au trait de jauge avec l'échantillon à analyser, puis bien agiter.

Cette solution contient 500 mg/L d'EI.

7.5.2. Moûts et vins avec une teneur en sucres > 20 g/L

7.5.2.1. Addition du K_2CO_3

Dans le tube à centrifuger (6.6), introduire 10 mL de la solution fraîchement préparée composée de l'échantillon à analyser et de la solution d'EI, puis additionner 10 g de K_2CO_3 (5.1) et attendre le refroidissement. Pour accélérer le refroidissement, il est possible d'utiliser un bain thermostaté à 20 °C (6.7).

7.5.2.2. Extraction avec de l'éther

Une fois refroidie, additionner 10 mL d'éther éthylique (5.2) et agiter le tout avec l'agitateur vertical de type vortex, puis centrifuger (6.3) à environ 3500 tours/min (ou 1500 xg) pendant 10 minutes.

7.5.3. Purification pour l'analyse CG-SM

Le liquide surnageant est recueilli avec une pipette Pasteur, transféré dans un ballon adapté et déshydraté sous flux d'azote. Le résidu est récupéré avec 1 mL environ d'éther éthylique et mis dans un flacon de CG fermé hermétiquement, prêt pour l'analyse en CG-SM.

7.5.4. Extraction des solutions étalon SE

Ce protocole doit être également effectué pour la solution étalon SE choisie (7.3). Les solutions SE doivent être considérées comme des échantillons en tous points, et donc traitées de façon analogue à l'échantillon à partir de l'addition de l'EI (7.5.1).

7.6. Analyse par CG-SM

À titre d'exemple, les paramètres spécifiques de l'analyse CG-SM sont fournis ci-dessous. Il est possible d'utiliser des systèmes alternatifs, s'ils présentent des prestations chromatographiques adaptées et permettant de séparer les pics chromatographiques avec une précision supérieure à 2.

7.6.1. Conditions type de CG

Colonne : DB-WAX 60 m x 0,25 mm x 0,25 µm

Gaz vecteur : He

Débit du gaz vecteur : 1,0 mL/min

Température de l'injecteur : 250 °C

Volume d'injection : 1 µL

Courant ionisant : 70 eV

Programmation de la température :

	Augmentation (°C/min)	Température (°C)	Temps (min)
Début		50	8.00
Rampe 1	4.0	220	
Rampe 2		220	40

7.6.2. Conditions spécifiques de la SM

Source : 230 °C

Détecteur SM : 150 °C scan 35,00 – 350,00 a.m.u.

Temps de départ : 10 min

Le temps d'acquisition pour chacune des masses est de 250 µs

Modalité d'acquisition : Full Scan

8. ÉVALUATION

8.1. Identification

L'identification est assurée par la comparaison du temps de rétention des étalons prévus à cet effet et du spectre de masse présent dans la librairie associée au CG-SM.

8.2. Calculs

Pour la quantification, la $m/z = 45$ est utilisée aussi bien pour l'EI que pour le PG ou les

deux formes de BG.

8.2.1. Détermination des facteurs de réponse

La quantification est effectuée à partir du facteur de réponse RF obtenu par l'analyse de la solution de référence :

$$RF_i = \frac{A_{EI}/C_{EI}}{A_{SE,i}/C_{SE,i}}$$

où :

A_{EI} est l'aire du pic de l'étalon interne et C_{EI} sa concentration ;

$A_{SE,i}$ est l'aire du pic du PG et de chacune des formes isomères du BG dans la solution étalon et $C_{SE,i}$ sa concentration.

8.2.2. Calcul des concentrations dans les échantillons

Une fois la valeur de RF calculée, il peut alors être procédé au calcul de la concentration en PG et de chacune des formes isomères du BG dans les échantillons selon cette formule :

$$C_i = RF_i \cdot C_{EI} \cdot \frac{A_i}{A_{RI}}$$

où :

A_i est l'aire du pic de PG ou de l'isomère de BG dans l'échantillon et C_i sa concentration.

8.3. Expression des résultats

Les résultats sont exprimés en mg/L sans décimale.

Exprimer le butane-2,3-diol comme étant la somme du butane-2,3-diol (R,R) et du butane-2,3-diol (R,S).

9. BIBLIOGRAPHIE

1. Carsten Fauhl, Reiner Wittkowski, Janice Lofthouse, Simon Hird, Paul

Brereton, Giuseppe Versini, Michele Lees et Claude Guillou, « Gas Chromatographic/Mass Spectrometric Determination of 3-Methoxy-1,2-Propanediol and Cyclic Diglycerols, By-Products of Technical Glycerol, in Wine: Interlaboratory Study » *JOURNAL OF AOAC INTERNATIONAL*, VOL. 87, NO. 5, 2004.

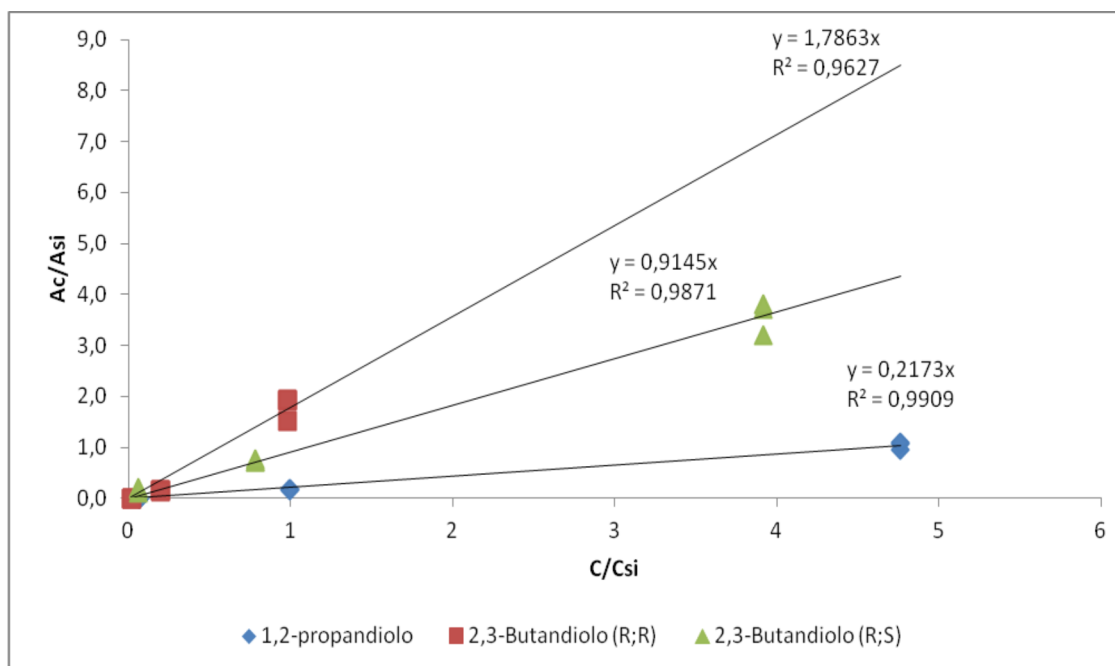
2. Di Stefano, R., García Moruno, E. et Borsa, D., « Proposta di un metodo di preparazione del campione per la determinazione dei glicoli dei vini » *VINI D'ITALIA*, 4, 1992, p. 61-64.
3. García Moruno, E. et Di Stefano, R., « La determinazione del glicerolo, del 2,3-butandiolo e dei glicoli nei vini », *VINI D'ITALIA*, 5, 1989, p. 41-46.
4. Di Stefano, R., Borsa, D. et García Moruno, E., « Glicoli naturalmente presenti nei vini », *VINI D'ITALIA*, 5, 1988, p. 39-44.

ANNEXE 1

PERFORMANCES DE LA MÉTHODE

1. Linéarité

Vérification de la linéarité de la réponse sur une solution sucrée à 200 g/L (de 100 g/L de glucose et 100 g/L de fructose). Chaque analyte a été additionné à des concentrations de 10, 100 et 500 mg/L, tandis que l'EI a été additionné à une concentration d'environ 100 mg/L. Les mesures ont été répétées à trois reprises.



Le facteur de réponse moyen est de :

propane-1,2-diol $RF = (C/C_{EI})/(A/A_{EI}) = 1/0,2173 = 4,60$

butane-2,3-diol (R,R) $RF = (C/C_{EI})/(A/A_{EI}) = 1/1,7863 = 0,56$

butane-2,3-diol (R,S) $RF = (C/C_{EI})/(A/A_{EI}) = 1/0,9145 = 1,09$

2. Répétabilité

La répétabilité a été évaluée sur deux échantillons de moût.

L'un a été analysé tel quel (Moût n° 1) et l'autre a été obtenu par addition à ce dernier de 100 mg/L de solution mère SM (Moût n° 2).

Le tableau suivant fait référence à 10 analyses répétées, et la répétabilité (r) est calculée selon la formule $r = 2,8 \cdot Sr$. (Sr = écart type de répétabilité, RSDr = écart type relatif de répétabilité).

Composé	Moût n° 1				Moût n° 2			
	Moyenne (mg/L)	Sr (mg/L)	RSDr (%)	r (mg/L)	Moyenne (mg/L)	Sr (mg/L)	RSDr (%)	r (mg/L)

Propane-1,2-diol	1,5	0,5	36	1,5	107	9	9	30
Butane-2,3-diol (R,R)	3,2	1,6	52	4,6	30	3	9	9,0
Butane-2,3-diol (R,S)	5,4	1,7	33	4,9	104	11	10	34

Évaluation de la fidélité de la limite de répétabilité selon l'équation d'Horwitz et du paramètre d'Horrat (r) :

Moût n° 1

	Moyenne (mg/L)	C ₀ 10 ⁶ (m/m)	PRSD (R)	R Horwitz	Horrat (r)	r _{min} H	r _{max} H
Propane-1,2-diol	1,5	1,5	15	0,6	2,40	0,2	0,8
Butane-2,3-diol (R,R)	3,2	3,2	13	1,2	3,87	0,3	1,6
Butane-2,3-diol (R,S)	5,4	5,4	12	1,9	2,64	0,5	2,5

La limite de répétabilité « r » n'est pas contenue dans la plage de validation prévue par l'équation d'Horwitz ($r_{\min} H < r < r_{\max} H$) à cause de la plus grande volatilité des mesures à basse concentration, proches de la limite de quantification établie au paragraphe 5 de l'annexe 1.

Moût n° 2

	Moyenne (mg/L)	C ₀ 10 ⁵ (m/m)	PRSD (R)	R Horwitz	Horrat (r)	r _{min} H	r _{max} H
Propane-1,2-diol	107	11	7,9	24	1,09	5,9	31,8
Butane-2,3-diol (R,R)	30	3	9,5	8	0,98	2,0	10,7

Butane-2,3-diol (R,S)	104	10	7,9	23	1,29	5,7	30,8
-----------------------	-----	----	-----	----	------	-----	------

La limite de répétabilité « r » n'est pas contenue dans la plage de validation prévue par l'équation d'Horwitz ($r \min H < r < r \max H$).

3. Taux de recouvrement

Le taux de recouvrement a été évalué sur le moût n°2 avant et après l'addition de la solution de mère SM, comme décrit au paragraphe 7.3 de la méthode.

Composé	C. dans le moût (mg/L)	C. Ajout (mg/L)	C. théorique (mg/L)	C. mesurée (mg/L)	Taux de recouvrement (%)
Propane-1,2-diol	0,7	99,5	100,2	107,5	107
Butane-2,3-diol (R,R)	12,6	21,7	34,3	29,9	87
Butane-2,3-diol (R,S)	11,4	86,8	98,2	103,7	106
<i>Butane-2,3-diol (R,R) + (R,S)</i>	<i>24,0</i>	<i>108,5</i>	<i>132,5</i>	<i>133,6</i>	<i>101</i>

Le taux de recouvrement est satisfaisant pour le propane-1,2-diol et pour le butane-2,3-diol évalué globalement comme la somme des deux formes.

4. Effet de la matrice sucrée sur les facteurs de réponse

Les RF obtenus dans des solutions sucrées équimolaires en glucose et fructose aux concentrations de 200 g/L et 2 g/L en sucres totaux ont été confrontés.

	Propane-1,2-diol		Butane-2,3-diol (R,R)		Butane-2,3-diol (R,S)	
Sucres	200 g/L	2 g/L	200 g/L	2 g/L	200 g/L	2 g/L

RF	4,60	5,90	0,55	0,56	1,08	1,09
$ \Delta RF \%$	22,0 %		1,8 %		0,9 %	

L'effet de la matrice sur le propane-1,2-diol est très marqué alors qu'il est négligeable pour les deux formes du butane-2,3-diol.

5. Limite de détection et limite de quantification

La limite de détection (LD) et la limite de quantification (LQ) dépendent de conditions de mesure particulières de l'analyse chimique et doivent être déterminées par tous ceux qui utilisent la méthode.

La limite de détection (LD) et la limite de quantification (LQ) ont été évaluées en utilisant le matériel et les conditions mentionnés précédemment (point 8) et en suivant les instructions de la résolution OENO 7-2000 (OIV-MA-AS1-10) « Estimation de la limite de détection et de quantification d'une méthode d'analyse » décrites dans le paragraphe 4.2 au sujet de l'approche graphique.

	Propane-1,2-diol	Butane-2,3-diol (R,R)	Butane-2,3-diol (R,S)
LD (mg/L)	0,2	0,2	0,2
LQ (mg/L)	0,6	0,7	0,8

Annexe 2

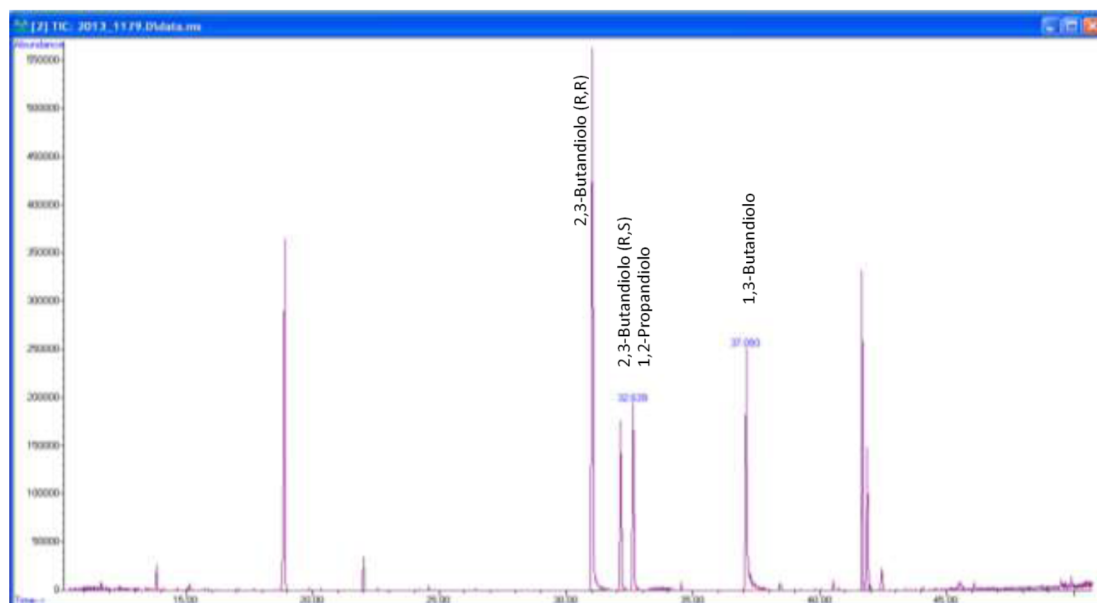


FIG. 1 Chromatogramme d'un vin.