

**Zeitschrift:** Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène

**Band:** 80 (1989)

**Heft:** 4

**Artikel:** Détermination simultanée du glycérol et du méso- et lévo-butanediol-2,3 dans les vins par chromatographie liquide à haute performance = Simultaneous quantitation of glycerol and meso- and levo-2.3-butanediols in wines using high performance liquid chrom...

**Autor:** Beaud, P. / Maire, J. / Aubort, J.-D.

**DOI:** <https://doi.org/10.5169/seals-983613>

### **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

### **Conditions d'utilisation**

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

### **Terms of use**

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

**Download PDF:** 06.10.2024

**ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>**

## Détermination simultanée du glycérol et du méso- et lévo-butanediol-2,3 dans les vins par chromatographie liquide à haute performance

Simultaneous Quantitation of Glycerol and meso- and levo-2.3-Butanediols in Wines Using High Performance Liquid Chromatography

*P. Beaud, J. Maire et J.-D. Aubort*  
Laboratoire cantonal, Epalinges-Lausanne

### Introduction

Le vin contient, de manière constante, plusieurs polyols, dont le glycérol et le butanediol-2,3 qui sont des produits secondaires importants de la fermentation alcoolique, présents dans les vins à des concentrations de l'ordre de 5 à 10 g/l (jusqu'à 20 g/l dans les vins issus de vendanges attaquées par la pourriture noble, *Botrytis cinerea*), respectivement 0,3—1,3 g/l (1).

Avec un pouvoir sucrant de 0,8 (saccharose = 1,00), le glycérol contribue aux propriétés sensorielles du vin en apportant douceur et «moelleux» (2). La tentation peut donc être grande d'en ajouter pour améliorer les qualités gustatives de vins de piètre qualité. Par contre, l'adjonction de butanediol-2,3 présente moins d'intérêt à cause de sa saveur à la fois sucrée et amère. Son dosage apporte toutefois un paramètre supplémentaire dans l'appréciation de la composition d'un vin.

Dans les laboratoires de contrôle, des méthodes spectrophotométriques de dosage du glycérol et du butanediol-2,3, basées sur l'oxydation des polyols par l'acide périodique (3—5), sont traditionnellement utilisées. En Suisse, la méthode du Manuel suisse des denrées alimentaires (6) est dérivée de la méthode originale de *Rebelein* (3). La préparation de l'échantillon ainsi que le développement de la réaction colorée sont longues et fastidieuses. Cette méthode présente par contre l'avantage de pouvoir quantifier le glycérol et le butanediol-2,3 dans le même extrait.

Récemment, d'autres techniques plus sélectives ont été proposées à l'analyste. Les méthodes enzymatiques, très spécifiques, permettent un dosage efficace du glycérol (7, 8), mais il n'existe pas de méthode applicable à celui du butanediol-2,3. La chromatographie en phase gazeuse est proposée dans de nombreux travaux, soit après dérivatisation (9), soit par injection directe (10—13). En ce qui concerne la chromatographie liquide à haute performance (HPLC), des techniques de dosage du glycérol à côté de l'éthanol, des sucres et des acides organiques

ont été publiés (14–19), mais elles ne permettent pas la quantification du butanediol-2,3.

Le but du présent travail est de proposer une méthode simple et rapide pour le dosage simultané du glycérol et du butanediol-2,3 par HPLC. Accessoirement, la méthode permet de quantifier le méso-érythritol, autre polyol présent dans le vin.

## Partie expérimentale

### *Réactifs*

Résine échangeuse d'ions DOWEX-1, X8, 50/100 mesh, fortement basique, forme Cl<sup>-</sup> (Fluka 44330)

Solution d'hydroxyde de sodium 1 mol/l

Solutions d'acide sulfurique 2 mol/l et 0,001 mol/l

Glycérol anhydre puriss p. a. (Fluka 49770)

Butanediol-2,3 99% (Aldrich B8, 490-4)

(2R, 3R)-(-)-butanediol-2,3 98% (Aldrich 23, 763-9)

(2S, 3S)-(+)-butanediol-2,3 99% (Aldrich 30, 034-9)

Ethanediol-1,2, puriss (Fluka 11463)

Acide L(+)-tartrique p. a. 99% (Merck 804)

Lactate de sodium purum 99% (Fluka 71718)

Ethanol absolu p. a. (Merck 983)

Solution d'étalonnage: peser avec exactitude environ 800 mg de glycérol, 100 mg de butanediol-2,3, 200 mg d'acide tartrique et 200 mg de lactate de sodium dans un ballon jaugé de 100 ml et compléter au trait de jauge avec de l'éthanol à 10% vol.

Solution d'étalon interne: peser avec exactitude environ 800 mg d'éthanediol-1,2 dans un ballon jaugé de 100 ml et compléter au trait de jauge avec de l'éthanol 10% vol.

### *Equipement*

Colonne de chromatographie en verre avec fritte de porosité 1 (100–160  $\mu$ m), diamètre interne 10 mm

Filtre membrane type HA, porosité 0,45  $\mu$ m (Millipore HAWP 01300)

Chromatographe HPLC: pompe Merck Hitachi 655A-12 avec LC controller L-5000, injecteur Rheodyne, modèle 7125 avec «loop» de 20  $\mu$ l, détecteur à indice de réfraction Erma ERC-7510, enregistreur-intégrateur Merck Hitachi D-2000, four pour colonne Jones Chromatography, modèle 7930.

Colonne HPLC: voir sous conditions chromatographiques.

## Mode opératoire

### Conditionnement de la résine échangeuse d'ions

Introduire une couche de 35 mm de résine DOWEX-1 dans une colonne de chromatographie.

Faire passer 20 ml de solution d'hydroxyde de sodium 1 mol/l.

Laver la colonne avec de l'eau (env. 50 ml) jusqu'à pH neutre de l'éluat.

### Traitement de l'échantillon

Ajouter 1,0 ml de solution d'étalon interne à 5,0 ml de vin. Faire passer cette solution sur la colonne de résine conditionnée.

Eluer avec de petites portions d'eau jusqu'à obtention d'environ 15 ml d'éluat.

Récolter cet éluat dans un tube à essai gradué contenant 3 gouttes (env. 100  $\mu$ l) de solution d'acide sulfurique 2 mol/l.

Filtrer une prise d'extrait sur filtre membrane avant injection.

### Solution d'étalonnage

Procéder comme pour l'échantillon à partir de 5,0 ml de solution étalon à laquelle on a ajouté 1,0 ml de solution d'étalon interne.

### Conditions chromatographiques

Colonne	AMINEX HPX-87H, 300 $\times$ 7,8 mm (Bio Rad)
Phase mobile	Acide sulfurique 0,001 mol/l
Débit d'éluat	0,6 ml/min
Température de la colonne	45 °C
Température du détecteur	35 °C
Volume injecté	20 $\mu$ l

## Résultats et discussion

La technique d'injection directe du vin en chromatographie HPLC, après dilution éventuelle, ne s'est pas révélée applicable car la quantification des diastéréoisomères du butanediol-2,3 était fortement compromise par l'interférence d'une substance à fonction acide non identifiée. D'autre part, le chevauchement des pics des acides organiques est tel qu'il rendait impossible un dosage simultané du glycérol, du butanediol-2,3 et des acides organiques. Il a été nécessaire d'éliminer les acides carboxyliques et autres substances à fonction acide par passage sur une résine d'échange d'ions en s'inspirant de la méthode décrite par *Goiffon* (20). L'utilisation d'un étalon interne — éthanediol-1,2 — améliore nettement la fiabilité du dosage. En effet, le volume d'éluat de l'éthanediol-1,2 à travers

la colonne d'échangeur d'ions DOWEX-1 est semblable à celui du glycérol et du butanediol-2,3 (fig. 1), ce qui ne rend pas nécessaire une mesure précise du volume de l'éluat. Dans les vins, les teneurs naturelles en éthanediol-1,2 sont de l'ordre de quelques milligrammes par litre (21-23). Cette teneur naturelle est négligeable car la quantité d'étalon interne ajoutée à l'échantillon est équivalente à une concentration de l'ordre de deux grammes par litre.

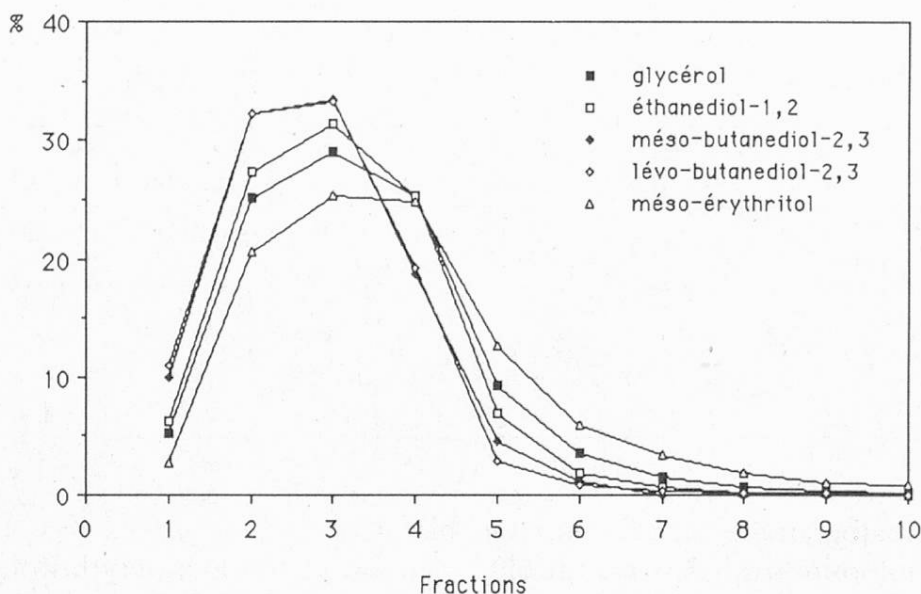


Fig. 1. Pour-cent de substances éluées à travers la colonne d'échangeur d'ions DOWEX-1 en fonction du volume d'éluat (fractions de 2 ml d'eau)

La figure 2 présente le chromatogramme d'un extrait de vin ainsi obtenu. Dans les conditions chromatographiques utilisées, le glycérol (temps de rétention: 13,4 min) et les diastéréoisomères méso- et lévo-butanediol-2,3 (temps de rétention: 18,2 min, respectivement 19,1 min) sont aisément quantifiables. Les énantiomères d- et l- ne sont pas séparés mais, dans le vin, seul le lévo-butane- diol-2,3 est présent (12).

La calibration s'effectue au moyen d'une seule solution d'étalonnage après avoir contrôlé la linéarité de la réponse du détecteur pour les concentrations habituelles de travail, soit de 2 à 20 g/l de glycérol (coefficient de corrélation: 0,9998) et de 0,05 à 2,0 g/l de méso- et de lévo-butanediol-2,3 (coefficients de corrélation: 0,9998, respectivement 0,9999). La quantification, au moyen d'un intégrateur, en utilisant la hauteur des pics chromatographiques, donne une meilleure reproductibilité des résultats qu'en mesurant la surface de ces pics.

Le butanediol-2,3 du commerce est un mélange des diastéréoisomères méso- et dl-. Les facteurs de réponse des énantiomères d- et l- étant identiques, la proportion de méso- (non disponible dans le commerce) est calculée après avoir déterminé la proportion de mélange racémique. Dans le présent travail, l'étalon utilisé contenait 16% d'isomère méso.

Cette méthode de dosage simultané du glycérol et du butanediol-2,3 par HPLC étant originale, il importait de comparer les résultats avec ceux obtenus à

l'aide des méthodes enzymatique (7) et chimique (3). Les méthodes par chromatographie en phase gazeuse sur colonne remplie (10, 11) n'ont pas été retenues, la résolution des deux stéréoisomères du butanediol-2,3 étant insuffisante, voire nulle.

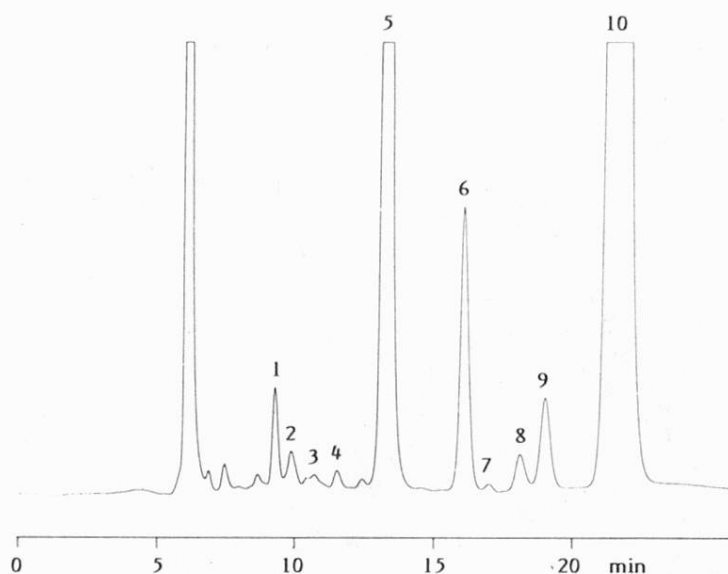


Fig. 2. Chromatogramme HPLC d'un vin blanc  
 (1 = méso-inositol; 2 = mannitol; 3 = arabitol; 4 = méso-érythritol; 5 = glycérol; 6 = éthanediol-1,2 (étalon interne); 7 = propanediol-1,2; 8 = méso-butanediol-2,3; 9 = lévo-butanediol-2,3; 10 = éthanol)

Sur le tableau 1 sont indiqués la moyenne, l'écart-type et le coefficient de variation de 8 déterminations successives du glycérol et du butanediol-2,3 dans un même vin blanc et dans un même vin rouge par les méthodes enzymatique, chimique et HPLC. La précision des résultats par la méthode HPLC est équivalente à celle des deux autres méthodes pour le glycérol. Elle est par contre supérieure à la méthode chimique pour le dosage du butanediol-2,3.

Tableau 1. Ecart-type et coefficient de variation pour les dosages du glycérol et du butanediol-2,3 par les méthodes HPLC, chimique et enzymatique

	Glycérol (g/l)			Butanediol-2,3 (g/l)			
	HPLC	Chimique	Enzym.	méso-	HPLC lévo-	total	Chimique
<i>Vin blanc</i>							
moyenne	6,06	5,95	6,00	0,151	0,492	0,643	0,721
écart-type	± 0,06	± 0,04	± 0,03	0,004	0,005	0,006	0,023
coeff. variation (%)	± 0,94	± 0,72	± 0,42	2,70	1,02	0,93	3,20
<i>Vin rouge</i>							
moyenne	8,72	8,48	8,73	0,162	0,532	0,694	0,818
écart-type	0,06	0,10	0,06	0,011	0,011	0,020	0,042
coeff. variation (%)	0,64	1,20	0,63	6,80	2,10	2,90	5,10

Les résultats comparés de 10 vins (5 vins rouges et 5 vins blancs) obtenus à l'aide des trois mêmes méthodes sont présentés dans le tableau 2. Par rapport à la méthode enzymatique de dosage du glycérol, la méthode HPLC donne de meilleurs résultats que la méthode chimique. En ce qui concerne le butanediol-2,3, la méthode HPLC tend à donner des résultats plus faibles que la méthode chimique.

Tableau 2. Dosages comparatifs du glycérol et du butanediol-2,3 dans 5 vins blancs (no 1 à 5) et 5 vins rouges (no 6 à 10) par les méthodes HPLC, chimique et enzymatique

Echant. no	Glycérol (g/l)			Butanediol-2,3 (g/l)			
	HPLC	Chimique	Enzym.	méso-	HPLC lévo-	total	Chimique
1	5,8	5,9	5,8	0,17	0,51	0,68	0,76
2	7,0	6,9	6,6	0,17	0,53	0,70	0,72
3	9,7	9,5	9,4	0,29	0,87	1,16	1,18
4	6,2	6,3	6,4	0,10	0,33	0,43	0,49
5	6,0	6,0	6,0	0,15	0,48	0,63	0,70
6	7,8	7,6	7,5	0,13	0,44	0,57	0,64
7	8,7	8,4	8,6	0,20	0,66	0,86	0,93
8	12,1	11,7	12,3	0,31	0,96	1,27	1,30
9	9,1	8,6	8,5	0,31	0,90	1,21	1,19
10	8,7	8,5	8,8	0,15	0,52	0,67	0,80

Parmi les divers autres polyols présents dans le vin, seul le méso-érythritol peut être dosé par la présente méthode. Pour les autres, les concentrations sont trop faibles ou la séparation est insuffisante pour permettre un dosage précis (tableau 3). Par contre, l'obtention d'une «empreinte chromatographique» des polyols du vin permet, par exemple, de caractériser des problèmes survenus en cours de vinification.

La figure 3 représente le chromatogramme d'un vin ayant subi une fermentation mannitique dont la teneur élevée en mannitol (0,73 g/l) est accompagnée d'une concentration anormale en propanediol-1,3. La figure 4 représente le chromatogramme d'un vin atteint de la maladie de l'amertume caractérisée par la dégradation du glycérol (0,8 g/l) en propanediol-1,3 (2,7 g/l). Dans ces circonstances rares, le propanediol-1,3 interfère avec le méso-butanediol-2,3 et perturbe son dosage.

La méthode décrite a été appliquée à l'analyse de 268 vins élaborés dans le canton de Vaud (Suisse), soit 150 vins blancs de cépage chasselas et 118 vins de cépage gamay, pinot noir ou assemblage pinot noir gamay des millésimes 1986 et 1987. Les résultats sont reportés dans le tableau 4. Les vins contiennent moins de

méso-butanediol-2,3 que de lévobutanediol-2,3, ce qui confirme les résultats de *Postel* (11) et de *Smedt* (9). En moyenne,  $26,6\% \pm 2,4\%$  du butanediol-2,3 est présent sous la forme méso dans les vins blancs et  $25,4\% \pm 2,1\%$  dans les vins rouges. Quant à la teneur en glycérol, elle est de  $6,54 \pm 1,09$  g/l dans les vins blancs et de  $7,48 \pm 0,73$  g/l dans les vins rouges.

D'autre part, la teneur en méso-érythritol a été déterminée dans 23 vins blancs et 38 vins rouges de la même origine mais du millésime 1988. Les vins blancs en renferment de 40 à 100 mg/l et les vins rouges de 40 à 120 mg/l. Ces valeurs sont en accord avec celles citées dans la littérature, soit de 30 à 250 mg/l (1).

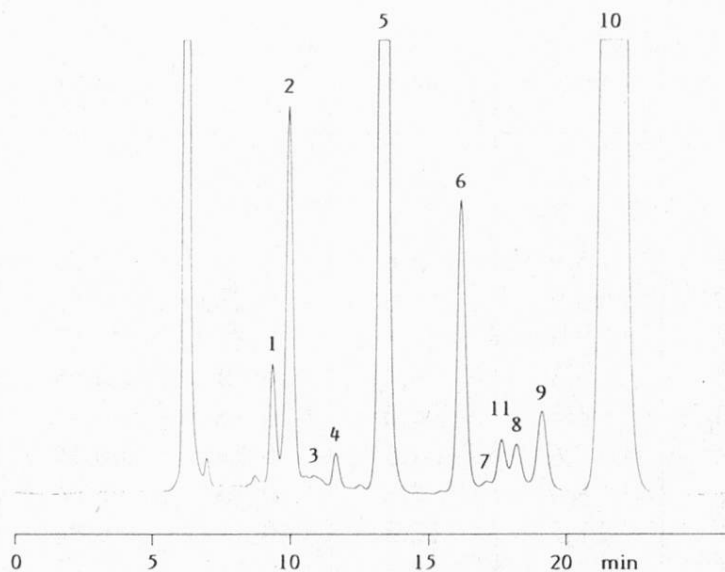


Fig. 3. Chromatogramme HPLC d'un vin présentant des teneurs anormalement élevées en mannitol et en propanediol-1,3 (pics 1 à 10: voir légende de la figure 2; 11 = propanediol-1,3)

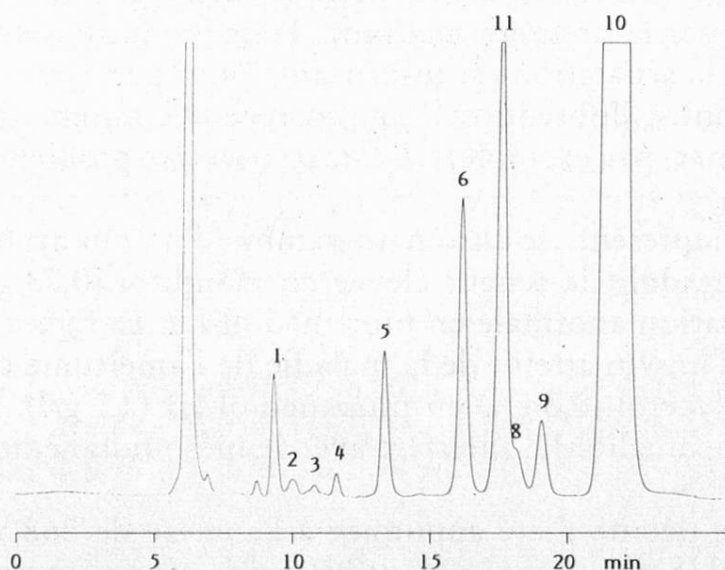


Fig. 4. Chromatogramme HPLC d'un vin atteint de la maladie de l'amertume (pics 1 à 10: voir légende de la figure 2; 11 = propanediol-1,3)



*Tableau 3.* Chromatographie HPLC de quelques polyols et sucres (conditions chromatographiques: voir partie expérimentale)

	Valeurs indicatives des temps de rétention (min)
Saccharose	7,59
Glucose	9,02
méso-Inositol	9,43
Fructose	9,84
Mannitol	10,03
Sorbitol	10,19
Adonitol (ribitol)	10,56
Arabitol	10,89
Xylitol	11,15
méso-Erythritol	11,69
dl-Erythritol	12,16
Glycérol	13,42
Ethanediol-1,2	16,24
Diéthylèneglycol	16,80
Propanediol-1,2	17,10
Propanediol-1,3	17,68
méso-Butanediol-2,3	18,24
Butanediol-1,3	19,05
lévo-Butanediol-2,3	19,14
Ethanol	21,70
Butanediol-1,4	21,80

*Tableau 4.* Teneurs en glycérol et en butanediol-2,3 de vins blancs (n = 150) et de vins rouges (n = 118) vaudois des millésimes 1986 et 1987

	Vins blancs vaudois		Vins rouges vaudois	
	moyenne	écart-type	moyenne	écart-type
Glycérol (g/l)	6,54	1,09	7,48	0,73
m-Butanediol-2,3 (g/l)	0,158	0,046	0,171	0,035
l-Butanediol-2,3 (g/l)	0,439	0,133	0,502	0,107
proportion m-Butanediol-2,3%	26,6	2,4	25,4	2,1

### Résumé

Une méthode est décrite pour le dosage du glycérol et des diastéréoisomères méso- et lévo- du butanediol-2,3 dans les vins par HPLC sur colonne d'échangeur d'ions avec détection réfractométrique. La méthode permet également le dosage du méso-érythritol. Les résultats de l'analyse de 268 vins blancs et rouges élaborés dans le canton de Vaud (Suisse) sont présentés.

Cette méthode permet de mettre en évidence des vins ayant subi une fermentation mannitique ou atteints de la maladie de l'amertume.

### *Zusammenfassung*

Eine Methode zur Bestimmung von Glycerol sowie der Diastereomeren meso- und levo-2,3-Butandiol in Wein durch HPLC auf einer Ionenaustauschersäule mit refraktometrischem Nachweis wird beschrieben. Die Methode erlaubt ebenfalls die Bestimmung von meso-Erythritol. Die Resultate der Analyse von 268 Weiss- und Rotweinen aus dem Kanton Waadt (Schweiz) werden dargestellt.

Diese Methode eignet sich für den Nachweis von Weinen, die eine Mannitgärung durchgemacht haben oder von der Bitterkeit befallen sind.

### *Summary*

A method is proposed for the determination of glycerol, meso- and levo-2.3-butane-diols in wines by HPLC using a column of ion-exchange resin and a refractive index detector. This technique allows the simultaneous determination of meso-erythritol. The results of the investigation of 268 white and red wines made in the canton of Vaud (Switzerland) are presented.

This method is suitable for the detection of the spoilage of wines by mannite fermentation and amertume.

### *Bibliographie*

1. Ribéreau-Gayon, J., Peynaud, E., Sudraud, P. et Ribéreau-Gayon, P.: Sciences et techniques du vin. Traité d'oenologie, tome 1. Analyse et contrôle des vins. Dunod, Paris 1982.
2. Noble, A. C. and Bursick, G. F.: The contribution of glycerol to perceived viscosity and sweetness in white wine. Amer. J. Enol. Vitic. **35**, 110–112 (1984).
3. Rebelein, H.: Vereinfachtes Verfahren zur Bestimmung des Glycerins und Butylenglykols in Wein. Z. Lebensm. Unters. -Forsch. **105**, 296–311 (1957).
4. Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins, p. 209–223. Office international de la vigne et du vin. Paris 1978.
5. Official methods of the AOAC, method 11.015, 14th edition, Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA 1984.
6. Manuel suisse des denrées alimentaires, 5ème édition, volume 2, chapitre 30A, p. 53–60. Office central fédéral des imprimés et du matériel, Berne 1974.
7. Methoden der enzymatischen Lebensmittel-Analytik mit Test-Combination, p. 31–32. Boehringer Mannheim GmbH, 1984.
8. Walter, E. und Kohler, P.: Ringversuch für die enzymatische Bestimmung von Glycerin. Z. Lebensm. Unters. -Forsch. **180**, 121–125 (1985).
9. De Smedt, P., Liddle, P. A. P., Cresto, B. et Bossard, A.: Application de la CPG sur colonne capillaire à l'analyse des composés fixes du vin. Ann. Fals. Exp. Chim. **72**, 633–642 (1979).

10. *Martin, G. E., Dyer, R. H. and Figert, D. M.*: Gas chromatographic determination of diols and glycerol in flavor bases and flavored wines. *J. Assoc. Off. Anal. Chemists* **58**, 1147–1149 (1975).
11. *Postel, W., Adam, L. und Rustler, M.*: Gaschromatographische Bestimmung von Glycerin und 2,3-Butandiol in Wein. *Dtsch. Lebensm. Rdsch.* **78**, 170–172 (1982).
12. *Guymon, J. F. and Crowell, E. A.*: Direct gas chromatographic determination of levo- and meso-2,3-butanediols in wines and factors affecting their formation. *Amer. J. Enol. Vitic.* **18**, 200–209 (1967).
13. *Ureta, F. C. y Brinnkman, C. E.*: Contenido de glicerol, 2,3-butanodiol y alcoholes amilicos en vinos chilenos. Utilizacion de un metodo por cromatografia de gases. *Agric. Tec. (Chile)* **46**, 429–434 (1986).
14. *Rapp, A., Bachmann, O. und Ziegler, A.*: Bestimmung von Zucker, Glycerin und Äthanol im Wein mit Hilfe der Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie. *Dtsch. Lebensm. Rdsch.* **71**, 345–348 (1975).
15. *Goiffon, J.-P., Blachere, A., Perez, J.-L. et Portal, E.*: Dosage du glycérol dans les vins par chromatographie en phase liquide, comparaison avec différentes méthodes. *Ann. Fals. Exp. Chim.* **73**, 17–24 (1980).
16. *Bazard, D., Lipus, G. et Moll, M.*: Détermination des glucides, de l'éthanol et du glycérol dans le moût et la bière par chromatographie liquide à haute performance. *Ind. Aliment. Agric.* **98**, 1033–1038 (1981).
17. *Kupina, S. A.*: Simultaneous quantitation of glycerol, acetic acid and ethanol in grape juice by high performance liquid chromatography. *Amer. J. Enol. Vitic.* **35**, 59–62 (1984).
18. *Bonn, G.*: High-performance liquid chromatography of carbohydrates, alcohols and diethyleneglycol on ion-exchange resins. *J. Chromatogr.* **350**, 381–387 (1985).
19. *Pfeiffer, P. und Radler, F.*: Hochleistungsflüssigchromatographische Bestimmung von organischen Säuren, Zuckern, Glycerin und Alkohol in Wein an einer Kationenaustauschersäule. *Z. Lebensm. Unters. -Forsch.* **181**, 24–27 (1985).
20. *Goiffon, J. P., Blachere, A. et Reminiac, C.*: Dosage des acides organiques du vin par chromatographie en phase liquide. *Analisis* **13**, 218–225 (1985).
21. *Gaetano, G. e Matta, M.*: Ricerca e determinazione del glicole etilenico nei vini. *Vini d'Italia* **1**, 7–10 (1987).
22. *Herzberger, E., Kapol, R., Pfeiffer, P. und Radler, F.*: Abbau von Diolen und Bildung von Ethylenglycol durch verschiedene Hefen. *Z. Lebensm. Unters. -Forsch.* **188**, 309–313 (1989).
23. *Di Stefano, R., Borsa, D. e Moruno, E. G.*: Glicoli naturalmente presenti nei vini. *Vini d'Italia* **5**, 39–44 (1988).

P. Beaud  
J. Maire  
Prof. Dr J.-D. Aubort  
Laboratoire cantonal  
Les Croisettes  
CH-1066 Epalinges