

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

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

Band: 43 (1952)

Heft: 1

Artikel: Méthode de dosage colorimétrique de l'acide malique dans les vins et les moûts

Autor: Nitschké, E.

DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-982636>

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: 08.02.2025

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

Méthode de dosage colorimétrique de l'acide malique dans les vins et les moûts

Par *E. Nitschké*

Laboratoire de l'Etat, Luxembourg

Parmi les acides du vin, l'acide malique occupe une position prépondérante. Acide des raisins insuffisamment mûrs, sa détermination dans les moûts et les vins jeunes permet au chimiste œnologue de fournir une indication sur le degré de maturité des raisins employés. C'est ainsi que nos vins de la récolte de 1947 ne contenaient que très peu d'acide malique, alors que les vins de qualité médiocre de l'année 1950 avaient des teneurs dépassant même 8 g par litre. Il est d'autre part très important de connaître le rapport acide malique / acide tartrique lorsqu'on veut savoir si une diminution de l'acidité peut être espérée (ou redoutée pour les vins à faible acidité initiale) par fermentation malo-lactique, qui transforme l'acide malique, qui est un di-acide, en un mono-acide, — l'acide lactique —, moins dissocié.

Les méthodes actuelles de dosage sont malheureusement très longues et compliquées, en sorte que pour les analyses courantes on ne dose pas ce constituant. On se contente d'une évaluation par différence. Cette évaluation est très grossière, et ne convient surtout pas pour les faibles concentrations, puisqu'on néglige d'une part les acides succinique, tanique et citrique, et d'autre part les ions K et Ca. Des calculs plus compliqués, basés sur le pH et les constantes de dissociation des différents acides, ne peuvent non plus prétendre à une exactitude suffisante.

La seule méthode acceptable au point de vue pratique que nous connaissions, est celle de *Rentschler* ¹⁾. *Rentschler*, en faisant agir une culture pure de bactérium gracile sur du vin à une température et un pH déterminés, le soumettant ainsi à une fermentation malo-lactique dirigée, mesure dans un appareil spécial le volume de CO₂ dégagé, et en calcule la teneur en acide malique initiale. Ce procédé, très élégant, a le défaut de nécessiter une culture bactérienne pure et active, qu'on n'a pas toujours sous la main, et qu'il est difficile de se procurer. De plus, il faut un appareillage coûteux. Avec la méthode classique de *von der Heide* ²⁾, qui ne peut être utilisée pour des analyses en série, un seul dosage dure environ 3 jours. Actuellement, la méthode de *Peynaud* ³⁾ semble être la plus employée. Elle est basée sur la production d'aldéhyde acétique par oxydation manganique modérée de l'acide malique. L'acétaldéhyde formé est distillé dans un appareil spécial, recueilli dans une solution de sulfite et titré par iodométrie. Elle est assez délicate, longue et est basée sur une réaction qui n'est pas tout à fait spécifique. Il faut faire des corrections pour l'acide tartrique et l'acide citrique. *Kunz* ⁴⁾ utilise la propriété de l'acide malique d'être facilement transformable en acide fumarique par chauffage au dessus de 100°. Récemment, *Hennig* et *Burckhardt* ⁵⁾ ont amélioré ce procédé en déterminant l'acide fuma-

rique par polarographie. Cette méthode n'est pas très rapide, et n'est pas utilisable pour des vins contenant plus de 10 g de glucose par litre. De plus, les analyses avec le polarographe ne sont pas encore à la portée des laboratoires ordinaires. Comme autres méthodes, on pourrait p. ex. envisager celles basées sur la propriété des sels d'uranium ou de molybdène de donner avec l'acide malique des complexes ayant un pouvoir rotatoire élevé ⁶⁾. La méthode américaine de l'Association of Agricultural Chemists ⁷⁾ est basée sur ce principe. Elle a l'avantage d'être applicable également pour les marmelades, les jus de fruits, etc. Mais les multiples précipitations et remises en solution la rendent fastidieuse et onéreuse, puisqu'il faut plus d'un demi-litre d'alcool pur par analyse. Par cette méthode on peut également doser l'acide malique racémique, en déterminant la somme: acide l-malique et racémique par permanganométrie, suivant une technique déjà indiquée par *Kolthoff* ⁸⁾.

Nous avons cherché une méthode plus rapide, permettant surtout le travail en série, et qui aurait par ailleurs l'avantage d'être bon marché. Il nous a semblé que seule une méthode colorimétrique pourrait remplir ces conditions. Comme réaction colorée, on pourrait songer à celle des oxy-acides avec des solutions diluées de chlorure ferrique, la séparation de l'acide malique des acides tartrique et lactique étant en effet aisée. Mais cette réaction n'est pas très sensible. D'autre part, il faudrait faire une correction pour l'acide citrique. Le manuel américain déjà cité ⁹⁾ indique cette méthode pour le dosage de l'acide lactique. *Ghimiescu* ¹⁰⁾ a élaboré un procédé basé sur l'action du β -naphthol en solution dans l'acide sulfurique sur différents oxy-acides (réaction de *Pinerua* ¹¹⁾). Pour l'acide malique

Tableau 1

	Avant dilution	Après dilution	Après alcalinisation
ac. malique	col. jaune-brun	jaune (fluor. verte)	rouge, très intense (fluor. jaune)
ac. tartrique	col. verte	brune, faible	brune, plus forte
ac. lactique	col. brune	brun-noir	brune, très intense
ac. succinique	incolore	incolore	incolore
ac. citrique	incolore	incolore	incolore
glucose	col. violette	brune, forte	brune, intense
saccharose	noir-violet	brune, forte	brune, intense
glycérine	jaune, faible	incolore	incolore
ac. tanique	suivant provenance: col. violette, rouge ou brune	brune, faible	brune, plus forte
gélatine (nous n'avons pas fait d'essais avec des protéides du vin)	col. lég. ^t brune	incolore	incolore

on obtient une coloration orange, persistant après dilution. Mais, ainsi que l'a déjà remarqué *Peynaud* (loc. cit.), cette réaction est peu sensible. Nous avons étudié cette réaction, en substituant au β -naphtol d'autres composés phénolés ou naphtolés. Nous avons trouvé que l' α -naphtol convenait très bien. Dans les mêmes conditions, il donne après dilution une coloration jaune (avec fluorescence verte) bien plus intense, *qui vire au rouge vif après addition d'alcali*. Ce comportement semble être spécifique pour l'acide malique. Les différents constituants du vin réagissent de la manière selon tableau 1.

Notre réaction permet donc de distinguer l'acide malique des autres acides organiques se trouvant dans les aliments. La sensibilité est bonne: en solution alcaline, on peut encore déceler 0,1 γ par cm^3 . Nous n'avons pas identifié le colorant formé. En solution acide, il est soluble dans l'alcool amylique, insoluble dans l'éther, le benzène, le chloroforme, etc. En solution alcaline, il est insoluble, même dans l'alcool amylique. Il peut donc être extrait de l'alcool amylique par agitation avec de l'eau rendue alcaline. Le virage jaune-rouge se fait au pH de 5,0. Par introduction de brome ou d'iode dans la molécule, on obtient des colorants rouges à teinte plus profonde, qui sont plus stables à la lumière.

L'intérêt de l'emploi de notre réaction pour un dosage colorimétrique réside dans le fait qu'on n'a pas besoin de séparer l'acide malique de l'acide succinique et de l'acide citrique. Il suffit de le séparer de la plus grande partie de l'acide tartrique, et surtout de l'acide lactique, des sucres et des substances tannoïdes.

Validité de la loi de Beer-Lambert

Nous utilisons le colorimètre photoélectrique de *Lange*, avec galvanomètre Multiflex, appareil d'une bonne sensibilité et d'un maniement aisé, ayant comme seul inconvénient de ne pas être muni d'écrans colorés suffisamment sélectifs. Il est regrettable que cet appareil, par ailleurs très à recommander, ne soit pas

Tableau 2

Concentrations	Extinction	K
0,5 mg pour 100 cm^3	0,124	7,3
0,7 »	0,172	7,3
1,0 »	0,223	6,8
1,5 »	0,300	5,9
2,0 »	0,368	5,4
2,5 »	0,415	4,9
3,0 »	0,445	4,5

muni de la série de 12 filtres du Pulfrich. Nous avons opéré avec les écrans verts VG 9 et les cuvettes de 100 cm³. Par suite de la trop large bande du spectre que ces écrans laissent passer, nous ne pouvions espérer trouver des valeurs constantes pour K.

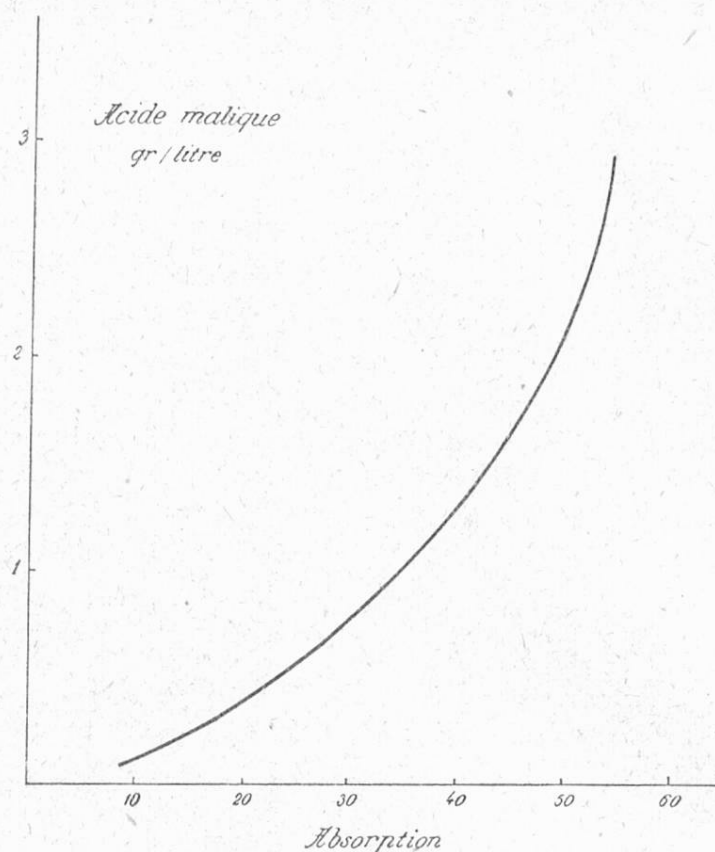
La loi de *Lambert-Beer* n'est donc valable que pour les très faibles concentrations; pour les valeurs plus élevées, il est nécessaire de dresser un diagramme. L'allure de la diminution de K fait présumer une courbe utilisable en colorimétrie.

Pour rendre les analyses plus expéditives, nous employons le filtrat provenant de la détermination de l'acide tartrique, suivant la méthode officielle suisse ou allemande, le dosage de l'acide tartrique allant normalement de pair avec celui de l'acide malique. Comme défécant nous utilisons le sulfate de zinc et la baryte suivant *Somogyi* ¹²⁾, parce que de cette manière nous n'introduisons pas d'autres ions dans notre solution, à part Ba⁺⁺, nécessaire à la précipitation ultérieure de l'acide malique comme malate de Ba en solution alcoolique. L'hydroxyde de zinc formé est d'ailleurs un bon précipitant pour les tanins et certains protéïdes. En général, 1 cm³ du filtrat est prélevé pour cette précipitation. Il faut donc séparer le précipité par centrifugation. Malgré des lavages répétés, il n'est jamais possible d'obtenir finalement avec l' α -naphthol une couleur pure, surtout dans les cas de faibles teneurs en acide malique, où on a un fond de couleur brunâtre, qui ne gênerait peut-être pas lorsqu'on travaille avec un spectrophotomètre, mais qui pour les colorimètres ou photomètres ordinaires donne des résultats erronés. En extrayant le colorant en solution acide avec de l'alcool iso-octylique (les autres alcools ne sont pas assez sélectifs), et en retirant le colorant ensuite de l'alcool octylique par agitation avec une solution alcaline, on obtient finalement une couleur rouge pure. En cas d'absence d'acide malique, la solution est alors pratiquement incolore, p. ex. pour les vins rouges vieux.

Pour établir le diagramme: concentration/absorption, nous recommandons de partir de vins artificiels, obtenus en ajoutant à une solution alcoolique: 2 g d'acide tartrique, 2 g d'acide lactique, 1 g d'acide succinique et 0,2 g d'acide tanique par litre, ainsi que des quantités exactement mesurées d'acide malique, variant de 0,1 à 2,0 g par litre. On peut indifféremment prendre de l'acide l-malique, ou un produit optiquement inactif. Cette manière d'opérer rend inutile le calcul d'un facteur de correction pour la solubilité du malate de Ba dans l'alcool. Elle nous dispense d'autre part de devoir fournir des analyses de contrôle à l'appui de notre méthode.

Avec le photomètre de *Lange*, en prenant les écrans verts VG 9, et les éprouvettes cylindriques, calibrées de 10 cm³, nous avons déterminé des valeurs représentées par le diagramme à la page suivante.

Nous voyons que la précision est assez bonne jusqu'à 2 g/l. Au dessus de 2 g/l la courbe se relève trop, ce qui indique une nette diminution de la sensibilité. Il est donc nécessaire, lorsque le degré d'acidité fait supposer une teneur plus élevée, de faire une dilution adéquate avant la précipitation par l'alcool.



Critique de la méthode

La précision est celle de la plupart des dosages colorimétriques, et du même ordre que celle des autres dosages des constituants du vin. Il est nécessaire d'opérer toujours d'une manière identique et d'employer les mêmes réactifs. Le colorant obtenu étant sensible à l'action de la lumière, surtout le colorant rouge final, il convient de prendre des précautions en conséquence.

Comme avantages de notre méthode nous relevons sa simplicité, la possibilité de faire des analyses en série, ainsi que, last but not least, le prix très modique du dosage. On consomme par analyse environ 10 cm³ d'alcool, l'alcool octylique pouvant être récupéré par distillation. Elle ne nécessite pas d'appareil spécial, et permet d'indiquer avec une précision suffisante les teneurs inférieures à 0,5 g/l, puisqu'elle est basée sur une réaction spécifique, contrairement à la méthode de *Peynaud* ou à la méthode américaine.

Quelques résultats

Pour fournir un exemple de l'utilité de la détermination courante de l'acide malique, nous donnons quelques résultats obtenus sur des vins de deux coopératives voisines. Chez l'une d'elles, la fermentation malo-lactique a été presque complète, alors que chez l'autre elle n'a pratiquement pas eu lieu. Les vins pro-

venant de cette dernière, surtout les Elbling, ont un goût acide trop prononcé, tandis que ceux de l'autre ont des acidités presque normales, compte tenu du degré de maturité insuffisant des raisins de l'année 1950.

	Acidité titrable	Ac. tartr.	Ac. lact.	Ac. malique
<i>Coopérative A</i>				
Elbling	6,8	2,3	3,7	1,1
Elbling	7,2	2,3	4,45	1,0
Elbling	6,6	2,4	4,45	0,7
RS	5,3	2,6	3,2	0,2
RS	5,6	1,9	3,6	0,75
Auxerrois	5,9	1,9	3,2	0,85
Auxerrois	5,4	1,85	3,8	0,15
Riesling	7,6	3,35	3,3	0,4
Traminer	6,5	2,3	3,2	1,3
<i>Coopérative B</i>				
Elbling	11,6	2,4	1,0	7,3
Elbling	10,8	2,4	1,0	6,4
RS	8,1	1,8	2,0	2,7
Ruländer	8,9	2,3	1,8	3,5
Riesling	9,6	2,9	0,9	2,7
Riesling	8,0	3,6	0,8	1,3 *
Riesling	9,5	3,3	1,1	1,5 *

* Ces Riesling ont été récoltés très tard. On voit l'influence du degré de maturité sur la teneur en acide malique.

Mode opératoire

Le filtrat obtenu après la séparation de l'acide tartrique (méthode officielle allemande et suisse pour la détermination de l'acide tartrique) correspondant à un volume initial de 100 cm³ de vin, est évaporé au bain-marie dans une capsule de porcelaine, jusqu'à un volume de 50 cm³ environ. Au liquide chaud, on ajoute 3 cm³ d'une solution de sulfate de zinc crist. à 10 %, qq. gouttes de phénolphtaléine et, à l'aide d'une pipette, de l'hydroxyde de baryum en solution saturée, chaude, jusqu'à la persistance de la couleur rouge, et ensuite encore 1 cm³ en excès. On transvase dans un ballon jaugé de 100 cm³, on refroidit et complète au trait. (Pour des teneurs supérieures à 2 g/l, on prend des ballons jaugés de 200, 250 cm³ ou même plus, suivant la teneur présumée d'après le degré d'acidité.) On filtre sur papier-filtre plissé. Ayant préparé des tubes de centrifugation de 10 cm³

environ, dans lesquels on a mis 4 cm³ d'alcool à 96 % et 4 gouttes d'une solution de BaCl₂ à 10 %, on pipette dans ces tubes exactement 1 cm³ du filtrat, mélange bien à l'aide d'une baguette de verre effilée, portant un renflement à son extrémité, laisse reposer 5 minutes et centrifuge. On verse le liquide surnageant et place les tubes, ouverture en bas, sur du papier filtre, laisse égoutter qq. minutes, essuie l'intérieur du tube avec du papier filtre, et y verse 5 cm³ d'alcool à 60 %, saturé de malate de Ba. A l'aide du tube effilé, on mélange intimement le précipité avec le liquide de lavage et repasse à la centrifuge. On répète cette opération encore une fois. On verse ensuite environ 5 cm³ d'eau bouillante, dissout le précipité en agitant avec la baguette de verre et verse le liquide dans une capsule de porcelaine ou de verre Pyrex à fond rond, rince 2 fois avec env. 2 cm³ d'eau chaude, et place les capsules sur le bain-marie. Dès que le point de siccité est atteint, on enlève du bain-marie et laisse refroidir. On verse 2 cm³ d'une solution d' α -naphthol à 2,5 % dans l'acide sulfurique (pro. anal. de 1,84 de densité), en ayant soin de mouiller tout le résidu sec et remet au bain-marie pour 15 minutes (le bain-marie ne doit bouillir que modérément) puis on laisse refroidir. Préparer des tubes de centrifugation d'une contenance de 40 à 50 cm³ (à défaut d'une centrifuge universelle, on peut employer ici la centrifuge servant à la détermination de la matière grasse du lait; les tubes servant à préparer le sérum au CaCl₂ pour la réfraction conviennent très bien). Dans ces tubes de centrifugation, on verse environ 25 cm³ d'eau dist. froide et ensuite, avec précaution, le contenu des capsules. On refroidit dans l'eau courante et ajoute exactement 10 cm³ d'alcool iso-octylique (méthyl-n-hexylcarbinol). A cause de la sensibilité à la lumière du colorant obtenu, il est nécessaire de travailler à la lumière diffuse. On agite bien et centrifuge. On prépare une nouvelle série de tubes, dans lesquels on met exactement 25 cm³ d'une solution de bicarbonate de sodium à 5 % env. De la couche octylique supérieure, contenant tout le colorant (f. jaune), on pipette 5 cm³ qu'on mélange énergiquement avec l'eau bicarbonatée, et centrifuge pendant 15 minutes. Le colorant rouge a passé intégralement dans la couche aqueuse, qui doit être absolument limpide, sinon on répète la centrifugation. Ne pas exposer à la lumière, et conserver à l'obscurité jusqu'au moment de la lecture au photomètre. Les valeurs pour l'acide malique sont lues sur une courbe, établie au préalable avec des vins artificiels, contenant 2 g d'acide tartrique, 2 g d'acide lactique, 1 g d'acide lactique, 0,2 g d'acide tanique, ainsi que des quantités d'acide malique de 0,1, 0,25, 0,5, 1,0, 1,5 et 2,0 g par litre.

Dans le cas de l'emploi du photomètre électrique de *Lange*, avec galvanomètre Multiflex, on peut se servir de notre diagramme, établi avec filtres verts VG 9, éprouvettes cylindriques de 10 cm³, et lampe 4 V 5 W.

La méthode est également applicable pour les moûts non fermentés.

Résumé

On décrit une méthode de dosage colorimétrique de l'acide malique dans les vins et les moûts. Cette méthode, qui est économique et relativement rapide, permet d'exécuter des analyses en série. Elle est basée sur la constatation de l'auteur que l'acide malique et ses sels donnent, par chauffage avec de l' α -naphthol, en milieu d'acide sulfurique concentré, une coloration jaune-brun qui devient intensément jaune par dilution, en présentant une fluorescence verte, et qui vire au rouge vif après addition d'alcali. On extrait le colorant jaune avec de l'alcool iso-octylique, le remet en solution aqueuse — sous sa forme rouge — par traitement avec une solution de NaHCO_3 , et examine cette solution au colorimètre.

Zusammenfassung

Es wird eine Methode beschrieben, die es gestattet, die Äpfelsäure in Weinen und Mosten kolorimetrisch zu bestimmen. Die Methode ist relativ schnell, gestattet die Ausführung von Reihenuntersuchungen und ist billig. Sie fusst auf unserer Feststellung, dass die Äpfelsäure und ihre Salze mit α -Naphthol in konz. Schwefelsäure erhitzt, eine braungelbe Farbe ergibt, die nach dem Verdünnen intensiv gelb mit grüner Fluoreszenz wird und nach Alkalisierung in ein leuchtendes Rot umschlägt.

Das Filtrat der Weinsäurebestimmung wird teilweise eingedampft, mit ZnSO_4 und Ba(OH)_2 geklärt. Von diesem Filtrat wird bei Mengen von weniger als 2 g im Liter 1 cm^3 (entsprechend 1 cm^3 Wein) in einem Zentrifugenröhrchen mit 4 cm^3 Alkohol gefällt, zweimal mit 60 %igem Alkohol (mit Bariummalat gesättigt) gewaschen und der Niederschlag in heissem Wasser gelöst. Die Lösung wird bis eben zur Trockne eingedampft, sodann werden 2 cm^3 einer 2,5 %igen α -Naphthollösung in konz. Schwefelsäure hinzugefügt, 15 Minuten auf dem Wasserbad erhitzt und mit Wasser verdünnt. Der gelbe Farbstoff wird mit Iso-Oktylalkohol ausgeschüttelt, mit einer NaHCO_3 -Lösung wieder (in roter Form) in die wässrige Phase gebracht und kolorimetriert.

Littérature

- 1) Ces Travaux 1948, 30.
- 2) Z. 17, 291 (1909).
- 3) Ann. Fr. et Fals. 31, 332 (1938).
- 4) Z. 6, 728 (1905).
- 5) Z.U.L. 4, 245 (1951).
- 6) Auerbach und Krüger, Z. 46, 97 et 177 (1923).
- 7) Off. a. Tent. Methods of Anal. of the Assoc. of Agric. Chem. 6th edition, 1945, 394.
- 8) Kolthoff, Die Massanalyse, Ed. 1928, p. 328.
- 9) Voir 7) p. 304.
- 10) Ghimiescu, Ann. sci. Univ. Jassy 21, 321 (1935).
- 11) Z. an. Chemie 36, 713 (1897).
- 12) The Chemical Analysis of Foods and Foodproducts, by Morris B. Jacobs, van Nostrand Comp. Inc. N-Y. II. ed. p. 564.