ISVV

DOSAGE COMPLEXOMETRIQUE RAPIDE DU CALCIUM DANS LES MOUTS ET LES VINS

J. BLOUIN (1), L. LLORCA (2) et P. LEON (1) avec la collaboration technique de Mme R. LASSUS, M. PERONNEAU et J.C. GILLES,
(1) Chambre d'Agriculture de la Gironde.
(2) Centre d'Etudes et d'Informations Œnologiques, Cadillac-Podensac.

Malgré sa simplicité théorique, le dosage du calcium dans les moûts et les vins demeure délicat, particulièrement pour les moûts, les vins rouges et les vins sucrés. Dans ces conditions on néglige souvent cette détermination, alors qu'une bonne connaissance des taux de calcium permettrait de mieux prévoir les risques de précipitations de tartrate de calcium. En disposant d'une méthode simple, on pourrait ainsi mieux cerner — et donc mieux combattre — le principal problème de stabilité des vins blancs.

Nous nous sommes attachés à mettre au point une méthode rapide, simple, sûre, susceptible d'être mise en œuvre sans équipement ni personnel très spécialisés. La précision recherchée est la « précision technique» permettant une interprétation correcte.

RAPPELS

On dose le calcium par diverses méthodes trés variées.

Méthode chimique usuelle (1) : Précipitation de l'oxalate de calcium et manganimétrie de l'oxalate. Cette méthode traditionnelle en œnologie est bonne mais les filtrations sont souvent longues et délicates, particulièrement pour les moûts et vins rouges ou sucrés.

La précision et la justesse sont accrues si l'on effectue le dosage sur les cendres, mais la méthode devient très longue. De même on peut fixer le calcium sur échangeurs de cations et éluer (1). Les résultats sont satisfaisants mais ici encore la méthode est longue.

Photométrie d'émission de flamme : méthode très simple, rapide et précise mais exigeant un photomètre perfectionné et de prix relativement élevé.

Photométrie par absorption atomique : méthode de choix mais exigeant un matériel très perfectionné et très coûteux.

Dosages complexométriques : en milieu simple il est facile de doser le calcium par complexométrie. En présence d'un indicateur coloré bien choisi, on titre le calcium par une solution d'acide éthylène diamine tétracétique di-sodique (EDTA, Na_2H_2), ou complexon III, jusqu'à changement de couleur correspondant au complexage complet des ions Ca^{++}. Parmi une très longue liste d'indicateurs utilisés (5) on peut citer : murexide, noir d'ériochrome T, acide calcone carbonique, calcone, bleu noir d'ériochrome B, bleu d'ériochrome SE, calcéine, glyoxal bis, acide chloranilique... Ces indicateurs sont plus ou moins sensibles, spécifiques (interférence de magnésium en particulier) et faciles d'emploi. Il est parfois nécessaire de bloquer les métaux lourds, d'isoler les cations.

ETUDE DE LA METHODE

Nous avons adopté comme base de travail la méthode de PATTON et REEDER telle que décrite par la « Fiche de documentation RL. 203 des Laboratoires BIOTROL » (3).

Principe : en milieu alcalin, on titre le calcium par le complexon III. L'indicateur de PATTON et REEDER vire du rose en présence de Ca^{++} au bleu en son absence.

Indicateur : l'indicateur de PATTON et REEDER est l'acide calcone-carbonique (ou acide hydroxy-2 (hydroxy-2-sulfo-4-naphtylazo-1) 1-naphtoïque-3). On peut l'utiliser en trituration à 1 % dans le sulfate de sodium anhydre ou plus simplement en solution à 0,2 % dans le méthanol.

Virage de l'indicateur : le virage de l'indicateur du rose au bleu est très net en solution simple de calcium. La teinte obtenue sert de **référence visuelle.** En titrage direct dans un milieu complexe comme le vin, le virage est fuyant avec des nuances vertes. On améliore le virage par un éclairage latéral convenable mais les résultats sont trop irréguliers et entachés de coefficients personnels. Le volume de réactif nécessaire pour un bon changement de coloration varie de 0,2 à 0,5 ml (pour un volume total de 35 ml) selon l'âge de la solution de réactif.

Purification du milieu à doser : dans le milieu alcalin nécessaire au titrage, la couleur propre du vin interfère fortement. Le virage est impossible à percevoir dans les vins rouges. Dans le cas des vins blancs, ce

virage est fuyant, vraisemblablement parce que le calcium est plus ou moins complexé par les anions organiques.

Cas des vins blancs :

En nous inspirant d'une autre méthode de dosage du calcium (4) nous avons adopté la purification sur colonne d'échangeurs d'anions.

On fait passer le vin sur un échangeur d'anions base forte (ex. Amberlite IRA-400, Dowex 1, Dowex 2...) sous forme chlorure. Les anions du vin sont fixés et il y a libération des ions Cl^-.Le calcium et les autres cations, se trouvent alors sous forme minérale où il est facile à doser car le virage de l'indicateur est alors net. Cette méthode originale de purification d'une solution de cations par un échangeur d'anions est très satisfaisante. En particulier il est inutile d'effectuer une élution quantitative comme avec un échangeur de cations. Un simple lavage suffit.

Cas des vins rouges :

L'échangeur d'anions ne fixe pas les polyphénols et les anthocyanes qui passent dans l'éluat où l'on ne peut plus apprécier le virage de l'indicateur. Avant de pratiquer l'échange d'ions, il faut déféquer le moût ou le vin rouge par un minimum de charbon décolorant ne **cédant pas de calcium.** Il faut utiliser des charbons décolorants sans cendres (ex. Prolabo - Charbon végétal N° 22.634) ou vérifier qu'ils ne cèdent pas de calcium par agitation dans le vin.

En effectuant plusieurs dosages sur un même vin blanc avec et sans défécation au charbon (à 1 g pour 100 ml, soit environ 2 fois la quantité nécessaire pour décolorer un vin rouge très foncé) nous avons trouvé les résultats ci-dessous :

— sans charbon : 114, 114, 114, 116, 110 moyenne 114 mg de calcium par litre.

— avec charbon : 118, 114, 112 moyenne 114 mg de calcium par litre.

Le charbon utilisé ne cède ni ne fixe de calcium, même à très forte dose.

Alcalinité de la solution à doser : l'indicateur ne vire correctement qu'en milieu alcalin. Le tableau ci-dessous donne le volume de réactif de titration nécessaire au virage en fonction de l'alcalinité du milieu à doser (alcalinisation par KOH N).

Alcalinité	Volume de réactif
0,12 N	1,95
0,21 N	1,70
0,29 N	1,50
0,35 N	1,44
0,40 N	1,40
0,57 N	1,40

Il faut donc que le milieu à titrer soit au moins N/2 en KOH.

Spécificité : la littérature indique que l'acide calcone-carbonique est rigoureusement spécifique du calcium. En particulier il n'y a aucune interférence du magnésium en large excès comme le montre le tableau ci-dessous.

Influence du magnésium sur le dosage complexométrique du calcium en présence d'acide calcone-carbonique.
(teneur en Ca^{++} exprimée en mg par l).

N° échantil.	Vin témoin (1)	Vin + 100 mg/l de Mg (2)	Ecart (1) — (2)
1	118	124	— 6
2	115	115	0
3	142	132	+ 10
4	135	134	+ 1
5	115	115	0
6	116	116	0
Moyennes	123,5	122,6	— 0,8

Comparaison avec la méthode à l'oxalate :

Sur 21 échantillons de vins et moûts, nous avons dosé simultanément le calcium par complexométrie et par la méthode usuelle à l'oxalate d'ammonium et manganimétrie.

50 ml de moût ou vin + 5 ml d'acide acétique 1/4. On porte à l'ébullition, on ajoute 5 ml de solution saturée d'oxalate d'NH_4. On maintient à ébullition pendant 5 minutes. On laisse refroidir 1 heure. On filtre sur filtre sans cendres, on lave soigneusement.

On reprend le filtre avec son précipité, on acidifie par 10 ml d'H_2SO_4 1/10, on ajoute environ 25 ml d'eau et on titre à chaud par K Mn 0_4 N/10. Soit **n** ml versés. La teneur en calcium est n x 40 mg par litre.

Le tableau joint donne les résultats bruts observés que l'on peut résumer ainsi :

— Teneurs en calcium des échantillons analysés : de 70 à 140 mg de Ca^{++} par litre

— Ecarts maximum entre les méthodes : 14 mg

— Ecart moyen entre les méthodes : 4,7 mg

— Valeur moyenne sur 21 échantillons :

A - méthode à l'oxalate	103,90 mg par litre
B - méthode complexométrique	104,33 mg par litre
Ecart :	0,43 mg par litre.

— Coefficient de corrélation linéaire entre les méthodes A et B :

$$r = 0{,}894 \text{ avec } r = \frac{\Sigma\ (x - \bar{x})\ .\ (y - \bar{y})}{\Sigma\ (x - \bar{x})^2\ .\ \Sigma\ (y - \bar{y})^2}$$

où x, y et $\bar{x}$, $\bar{y}$, sont les valeurs individuelles et moyennes observées avec chacune des deux méthodes A et B.

$$t = \frac{r\sqrt{n-2}}{\sqrt{1-r^2}}$$

On a ici : t = 8,693 soit une valeur très supérieure à la valeur 3,883 correspondant à une probabilité de 99,9 %. Il y a donc une **corrélation hautement significative** entre la méthode traditionnelle et la méthode nouvelle.

MODE OPERATOIRE

Réactifs et matériels :

— Solution d'acide calcone-carbonique (ex. BAKER, BDH, FLUKA, PROLABO, TOUZART et MATIGNON) à 0,2 % dans le méthanol. Cette solution se conserve quelques semaines.

— Solution de complexon III (= Titriplex III...) M/400 : 0,9306 g de sel disodique de l'acide éthylènediamine - tétracétique (EDTA-NA_2H_2, 2 H_2O) par litre. On peut préparer cette solution diluée à partir d'une

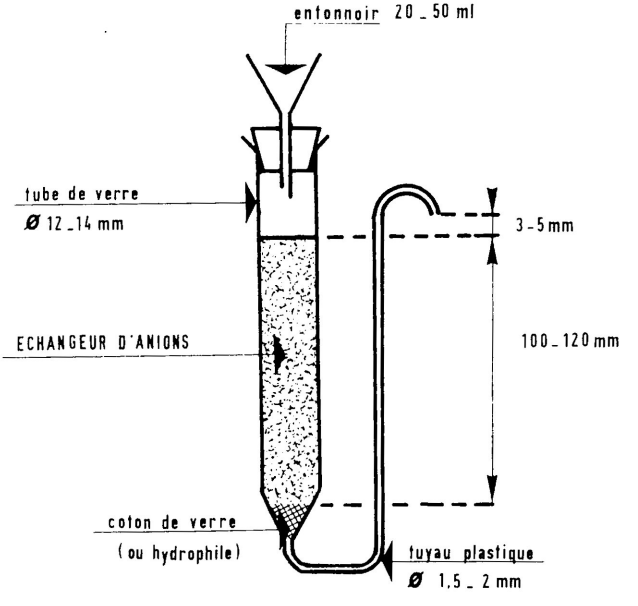
solution mère M/10 (37,224 g par litre) ou utiliser des solutions titrées prêtes à l'emploi.

— Solution de potasse N : 56,104 g de KOH par litre.

— Solution étalon de calcium à 100 mg de Ca^{++} par litre : dissoudre 2,5 g de $Ca\,CO_3$ p.a. dans 1 litre d'HCl 1 % ; diluer au 1/10 pour avoir la solution à 100 mg par litre.

Toutes ces solutions sont à conserver dans des récipients en matière plastique afin d'éviter tout enrichissement ou échange de calcium avec la verrerie.

— Echangeur d'anions-base forte : Amberlite IRA-400, Dowex 1, Dowex 2 de type analytique, granulation 20-50 mesh. Cette résine est mise sous forme de chlorure par passage d'environ 10 volumes d'HCl N et rinçage jusqu'à neutralité (papier pH). Pour le dosage, on adopte une colonne à niveau constant, on peut constituer une batterie de colonnes si nécessaire.



Une même colonne peut servir environ 5 fois avant d'être régénérée par un cycle ou deux : NaOH N — eau — HCl N —eau.

— Burette au 1/20 de ml

— Agitateur magnétique

Résultats comparés du dosage du calcium dans les moûts et les vins par la méthode à l'oxalate et par complexométrie.

N°	Calcium mg par l.)			N°	Calcium mg par l.)			N°	Calcium mg par l.)		
	Oxalate	Complex.	Ecart		Oxalate	Complex.	Ecart		Oxalate	Complex.	Ecart
1	86	88	+ 2	8	92	96	+ 4	15	106	92	− 14
2	108	100	− 8	9	94	96	+ 1	16	102	114	+ 6
3	118	119	+ 1	10	128	125	− 3	17	116	112	− 4
4	110	112	+ 2	11	84	91	+ 7	18	92	88	+ 4
5	128	134	+ 6	12	82	72	− 10	19	88	92	+ 8
6	70	74	+ 4	13	126	128	+ 2	20	116	124	+ 4
7	94	99	+ 5	14	140	138	− 2	21	96	98	+ 2
									103,90	104,33	+ 0,43

— Verrerie usuelle soigneusement **débarrassée de traces de calcium** par nettoyage à l'acide chlorydrique 1/10 ou mélange sulfochromique et rinçage à l'eau distillée ou désionisée.

Mode opératoire : Pour les moûts et vins rouges, on les décolore par un minimum de charbon décolorant **sans calcium** et une filtration sur filtre sans cendres.

On verse doucement **5 ml** de moût ou de vin au sommet de la colonne sous laquelle est placée un erlenmeyer de 150 ml. On rince 2 fois par 5 ml d'eau en recueillant le tout dans l'erlenmeyer. Dans le cas de liquides très troubles il est recommandé de clarifier par centrifugation ou filtration sommaire afin d'éviter le colmatage des résines

On ajoute 25 ml de KOH N et 0,3 — 0,5 ml de réactif.

On titre aussitôt après, avec agitation magnétique, par le Complexon III M/400 jusqu'à disparition de la coloration rose et apparition de la coloration bleu franc. On compare la teinte à celle obtenue par un titrage de la solution étalon de calcium. On améliore la précision en comparant la teinte avec celle obtenue dans le cas d'un vin de teneur en calcium parfaitement connue. L'appréciation parfaite de ce virage demande un certain entrainement.

Calcul : Sachant qu'une mole d'EDTA correspond à 40 g de calcium, on en déduit le calcul ci-dessous :

$$\frac{n \times 40 \times 1000}{400 \times 5} = \underline{n \times 20 \text{ mg de calcium par litre}}$$

Pour une sensibilité satisfaisante, il faut une burette au 1/20^{e} de ml (soit 1 mg de Ca^{++} par graduation) avec pointe suffisamment effilée pour délivrer au moins 40 gouttes par ml. La simplicité et la rapidité de cette méthode (10 mn environ, moins si on travaille en série) permet de travailler en double ce qui accroît la précision et réduit les incertitudes.

CONCLUSIONS

L'acide calcone-carbonique — indicateur de PATTON et REEDER — est un bon indicateur de titrage complexométrique du calcium. Il peut être employé pour les moûts et les vins après purification de ceux-ci par simple passage sur échangeurs d'anions sous forme chlorure et défécation préalable au charbon pour les vins rouges. Le virage est net et les résultats de

ce dosage sont concordants avec la méthode usuelle à l'oxalate d'ammonium. Cette méthode rapide, simple et sûre donne des résultats techniquement satisfaisants pour le dosage du calcium dans les moûts et vins. On apprécie la teneur en calcium à ± 3 mg par litre sur un seul dosage et la précision devient excellente par dosage en double.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

(1) RIBÉREAU-GAYON J. et PEYNAUD E, 1958. **Analyse et Contrôles des Vins.** Béranger ed., Paris.

(2) Recueil des Méthodes Internationales d'Analyse des Vins. Office International de la Vigne et du Vin.

(3) Fiche de documentation RL. 203. Laboratoires BIOTROL, Paris.

(4) BITTENCOURT V.C., CATAN R.A. et BERGAMIN FILHO H., 1967. **Revue Agric. Brasil, 42** (1), 29-35.

(5) Méthodes d'analyses complexométriques par les Titriplex. E.G. MERCK, 3e Edit.