

OFFICE DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE
OUTRE-MER

REPUBLIQUE FEDERALE
DU
CAMEROUN

LE CUIVRE DANS LES ALIMENTS DU CAMEROUN

Dr. C. CAVELIER - J.C. FAVIER - G. GALLON - J. LAURE

O R S T O M
B.P. 193 YAOUNDE

1971

O.R.S.T.O.M. Fonds Documentaire
N° 6239
Cote B

Les aliments dont nous donnons la teneur en cuivre ont été pour la plupart prélevés sur les marchés de Yaoundé et cultivés aux alentours dans un rayon excédant rarement 100 kms, à l'exception du mil provenant du Nord Cameroun (Station IRAT), de certains maïs et tubercules venant du pays hamiléké, du poisson et des crevettes provenant du Littoral. Nous avons recueilli un ou plusieurs lots autant que possible représentatifs de l'espèce. Notre choix a été guidé par les critères suivants :

- diversité des aspects :
 - taille, volume et forme
 - couleurs - igname : jaune blanc - papaye : rouge, jaune - avocat : mauve ou vert.
- diversité des provenances :
 - nord Cameroun (mils, arachides)
 - pays Bamileké (maïs, igname)
 - centre Sud (maïs, feuilles, tubercules, papaye, bananes, gombo, arachides etc...)
 - littoral (poissons, crevettes).

Tous ont été traités comme suit (avant et après épluchage écorçage ou émondage suivant le cas).

1. lavage à l'eau courante, à l'eau filtrée, à l'eau permutée et un dernier rinçage avec de l'eau bidistillée.
2. quand la quantité de produit est très importante, plantain, tubercules par exemple, les parties extrêmes et centrales sont seules conservées, elles sont découpées en dés, en rondelles ou lamelles que l'on dispose sur plateaux le tout est placé au congélateur pour lyophilisation.
3. la lyophilisation a duré de 20 à 30 heures selon les produits et la matière des plateaux utilisés (inox, aluminium ou verre), les températures extrêmes observées pendant les différentes opérations étaient de - 35 à + 45° C.

4. les graines sont lyophilisées, à l'exception du maïs et des sorghos ne contenant que 10 % d'eau au moment du prélèvement.
5. les produits, une fois séchés, sont broyés une première fois au mortier en porcelaine quand ils sont très durs, une seconde fois au broyeur à disques cannelés BULHER position 5, finesse moyenne.

III. Chaque échantillon, une fois séché et réduit en poudre est minéralisé (voir méthode) plusieurs fois de telle sorte que l'on obtienne un résultat moyen cohérent, (les résultats sont testés par la méthode de DIXON).

Les résultats sont rassemblés dans les tableaux suivants ; en annexe figure la méthode de dosage employée.

DENOMINATION	LIEU ET DATE DU PRELEVEMENT	PROVENANCE	QUANTITE PRELEVEE - CARACTERISTIQUES ET PREPARATION DE L'ECHANTILLON	POIDS DE MATIERE MINERALISEE SN : SULFO-NITRIQUE C : CENDRES A 460°	CU mg/100 g SEC	FE mg/100 g SEC
--------------	-----------------------------------	------------	---	--	-----------------------	-----------------------

CEREALES
MAIS (Zea Mays)

Dur n° 57	Yaoundé 1969	Ouest Cameroun	séché au soleil - broyeur à disques cannelés	15 g SN	0,23 (3)	
Dur blanc n° 58 du Sud		Sud Cameroun		20 g SN 10 g C	0,25 (3) 0,21 (5)	

SORGHOS DE SAISON DES PULES (Sorghum spp.)

Djigari	Nord Cameroun 1968-69	Station I.R.A.T.	séché sur pied - broyeur à disques cannelés	10 g SN	0,30 (2)	3,2 (2)
Damougari					0,26 (2)	2,9 (2)

SORGHOS REPIQUES (sorghum spp.)

MUSKWARI

Bourgouri n° 1	Nord Cameroun	Station I.R.A.T.	séché sur pied - broyeur à disques cannelés	10 g SN	0,45 (2)	8,1 (2)
Bourgouri n° 9					0,37 (4)	7,4 (2)
Madjeri n° 38					0,32 (4)	6,0 (2)

SABOURI

Wale-Mansan n° 57				10 g SN	0,26 (2)	6,2 (2)
-------------------	--	--	--	---------	----------	---------

RACINES - TUBERCULES - FRUITS A FEULE

MANIOC (Manihot spp.)

n° 1	Yaoundé 1969		Tubercules de taille variable - lavés - épluchés - dessiccation à l'étuve à 110° - broyeur à disques cannelés.	15 g SN	0,22 (6)	0,61 (2)
n° 2		MFOU		15 g SN C	0,13 (27) 0,11 (5)	0,45 (18)
n° 3		OBALA		15 g SN	0,11 (7)	0,49 (2)
n° 4					0,34 (8)	0,71 (2)
n° 5					15 g SN	0,23 (12)
n° 5				analysés frais coupés en dés	30 g SN	0,22 (2)

IGNAME (Dioscorea spp.)

n° 16	Yaoundé 1969	SAA	Tubercules de taille variable - lyophilisés - broyés au mortier.	15 g SN	0,84 (6)	
n° 18		FOUMBOT		10 g C	0,72 (4)	
				15 g SN	0,46 (7)	
				10 g C	0,41 (5)	

MACABO (Xanthosoma spp.)

n° 13	Yaoundé 1969	DJENG (AKONOLINGA)	blanc	Tubercules de taille variable - lyophilisés - broyeur à disques cannelés.	15 g SN	0,50 (6)
n° 14		bassa	rouge			0,87 (6)
n° 15		eton	blanc		10 g C	0,61 (6) 0,55 (5)

TARO (Colocasia spp.)

n° 10	Yaoundé 1969	BAFIA	Tubercules de taille variable - lavés - épluchés - lyophilisés - broyeur à disques cannelés	15 g SN	0,75 (5)
n° 11		bassa		10 g C	0,86 (5)
				15 g SN	1,19 (5)
n° 12	ewondo	10 g C	1,15 (5)		
		15 g SN	1,13 (7)		
		10 g C	1,16 (5)		

DENOMINATION	LIEU ET DATE DU PRELEVEMENT	PROVENANCE	QUANTITE PRELEVEE - CARACTERISTIQUES ET PREPARATION DE L'ECHANTILLON	POIDS DE MATIERE MINERALISEE SN : SULFO-NITRIQUE C : CENDRES A 460°	CU mg/100 g SEC	FE mg/100 g SEC
--------------	-----------------------------	------------	--	---	-----------------------	-----------------------

RACINES - TUBERCULES - FRUITS A FECULE (suite)

PATATE DOUCE (*Ipomea batatas* spp.)

jaune n° 19		MFOU	Tubercules de taille variable - lavés, épluchés-lyophilisés - broyés au mortier.	15 g SN	0,41 (6)	
jaune n° 20		SAA		10 g SN C	0,35 (4) 0,31 (5)	
blanche n° 21		OBALA		15 g SN	0,23 (4)	

BANANE PLANTAIN (*Musa paradisiaca* spp.)

mboe (ewondo) n° 51	Yaoundé 1969		Bananes lavées, épluchées lyophilisées - broyées au mortier.	10 g SN	0,26 (5)	
eban n° 52					0,39 (4)	
eban n° 53					0,23 (4)	
eson n° 54					0,22 (4)	

SOUCHE - amande de terre (*Cyperus esculentus*)

	MOKOLO 1967	MOKOLO	séché au soleil broyeur à disques cannelés	10 g SN	0,36 (2)	
--	----------------	--------	---	---------	----------	--

LEGUMINEUSES

ARACHIDE (*Arachis hypogea* spp.)

n° 27	Yaoundé 1969	eton	lyophilisée - broyée au mortier	15 g SN	0,85 (4)	
Pellicule n° 27				1 à 3 g SN	12,01 (2)	

Pellicule n° 28	Yaoundé 1969		lyophilisée - broyée au mortier.	1 g SN	10,02 (4)	
Pellicule n° 29				1 g SN	11,05 (2)	

HARICOT DOLIQUE (Lablab niger)

58-87	Nord Cameroun	Station IRAT		3 à 4 g SN	0,95 (3)	5,8 (2)
-------	------------------	--------------	--	------------	----------	---------

HARICOT NIEBE (Vigna inguiculata)

5924	Nord Cameroun	Station IRAT	séchés au soleil - broyeur à disques cannelés	3 à 6 g SN	0,72 (4)	6,6 (2)
------	------------------	--------------	--	------------	----------	---------

HARICOT TEPARY (Phaseolus acutifolius)

63-16	Nord Cameroun	Station IRAT		3 à 5 g SN	1,09 (4)	9,7 (2)
-------	------------------	--------------	--	------------	----------	---------

FEUILLES

MACABO ROUGE

n° 39	Yaoundé 1969	MFOU	lavées - émouées lyophilisées broyées au mortier	8 g C	2,85 (5)	
MANIOC n° 23		MONATELE			0,96 (5)	
<u>OKOK</u> (Ngnetum Bucholzianum) liane						
n° 35	YAOUNDE	1969		7 g C	0,65 (5)	
<u>OSEILLE DE GUINEE</u>						
n° 36	Yaoundé 1969			10 à 15 g SN	0,61 (3)	
n° 38				8 g C	1,12 (5)	
<u>ZOM</u> (Solanée à feuilles potagères)						
n° 44	Yaoundé 1969			broyeur à disques cannelés	10 à 15 g SN	1,29 (2)

DENOMINATION	LIEU ET DATE DU PRELEVEMENT	PROVENANCE	QUANTITE PRELEVEE - CARACTERISTIQUES ET PREPARATION DE L'ECHANTILLON	POIDS DE MATIERE MINERALISEE SN : SULFO-NITRIQUE C : CENDRES A 460°	CU mg/100 g SEC	FE mg/100 g SEC
--------------	-----------------------------	------------	--	---	-----------------------	-----------------------

AVOCAT (persea spp.)

FRUITS

vert n° 7	Yaoundé 1969	YAOUNDE	lavés - épluchés lyophilisés - broyés au mortier	15 g SN	1,14 (5)	
mauve n° 8				10 g SN	1,09 (3)	
vert n° 9				10 g SN	0,95 (6)	

BANANE DOUCE (Musa sapientum)

n° 47	YAOUNDE	Analysées fraîches	25 g SN	0,46 (4)	
n° 48				0,32 (4)	
n° 49				0,43 (5)	
n° 50				0,39 (4)	

PAPAYE (Carica papaya spp.)

Jaune n° 44	Yaoundé 1969	OROLA	lavées - épluchées lyophilisées	10 g SN	0,30 (4)	
Jaune allongée n° 45		OBALA			0,19 (3)	
Jaune ronde n° 46		MFOU			0,26 (2)	
Rouge ronde n° 46					0,46 (4)	

POISSONS - CREVETTES - ALGUES

ALOSSES (*Ethmalosa dorsalis*)

bilolo jeune n°243	Cap Cameroun 1969		20 g SN	0,78 (3)
			5 g C	1,08 (5)
n° 263			20 g SN	0,54 (2)
			5 g C	0,78 (4)
adulte bonga n° 110			20 g SN	0,22 (2)
			5 g C	0,50 (5)

MERLU (*Merluccius capensis*)

n° 53	DOUALA 1968	large du GABON	Salage de filets de merlus congelés - mixeur	20 g SN	0,12 (2)
				5 g C	0,11 (5)

CREVETTES (*Palaemon hastatus*)

njanga n° 48 (petite crevette)	WOURI (Mars 1969)		crevettes entières- longueur moyenne 3,5 cm antennes non comprises - séchés fumés artisanalement au feu de bois - mixeur	5 g SN	8,82 (3)
n° 331				10 g C	10,57 (5)
n° 341				3 g SN	2,45 (3)
				5 g C	2,30 (5)
				5 g SN	1,47 (4)
				10 g C	2,64 (5)

ALGUES SPIRULINES (*Spirulina platensis*) - dihé -

n° 31	TCHAD	LAC OUNA TCHAD	séchées au soleil sur le sable	20 g SN	0,11 (3)
				5 à 10 g C	0,29 (5)
n° 42	FORT-LAMY avril 1969	KANEM TCHAD		15 g SN	0,07 (3)
				10 g C	0,19 (5)

DOSAGE DU CUIVRE DANS LES PLANTES ET LES ALIMENTS
ANALYSE COLORIMETRIQUE.

I. PRINCIPE

La méthode consiste à digérer l'échantillon par l'acide nitrique et l'acide sulfurique. Le Cuivre est isolé et déterminé colorimétriquement à pH 8,5 avec le diethyldithiocarbamate en présence de l'agent chelateur l'acide ethylène-diaminetétracétique, sel disodique (EDTA).

Le Bi et le Te aussi donnent une coloration avec le carbamate à pH 8,5 mais sont décomposés et décolorés avec NaOH 1N, le complexe du Cuivre est stable. Ce dosage est valable pour des concentrations en cuivre de 0 à 50 ug Cu. (Dans la méthode AOAC on dit: le blanc correspond approximativement à 1 ug Cu ; or nous trouvons une absorption moyenne de 0,012 pour 1 ug Cu, celle-ci mesurée par rapport à notre témoin V.)

II. REACTIFS:

a) - Diethyldithiocarbamate de sodium:

Dissoudre 1 g de ce produit dans 100 ml d'eau bi. Conserver au réfrigérateur. Préparer cette solution chaque semaine.

b) - Solution. Citrate d'ammonium + EDTA.

. Dissoudre 200 g citrate d'ammonium dans 600 ml eau bi. (si coloration + une pincée de noir norit lavé à HCl, agiter et filtrer sur papier sans cendres).

. + 50 g EDTA. dissoudre et ajuster à 1000 en fiole jaugée.

(Extraire s'il y a lieu les traces de Cu par addition de 0,1 ml solution carbamate et extraction par 10 ml CHCl₃, répéter jusqu'à CHCl₃ incolore).

c) - Dissoudre 0,3929 g CuSO₄ · 5 H₂O (MERCK) dans H₂O bi. + 5 ml H₂SO₄ conc. ajuster à 1 l et mélanger.

Prélever 20 ml de cette solution + 5 ml H₂SO₄ diluer à 1 l et mélanger (1 ml = 2 ug Cu)

d) - Solution ammoniacale 6N.

Diluer au demi l'ammoniacale concentré de densité 0,92.

e) - Thymol bleu indicateur 0,1 % dissoudre 100 mg thymol bleu dans de l'eau bi. additionner NaOH 0,1N jusqu'au virage au bleu puis ajuster à 100 ml avec de l'eau bi en fiole jaugée.

III. COURBE D'ETALONNAGE.

Prélever de 0 à 25 ml de la solution étalon, compléter à 25 ml quand nécessaire avec H_2SO_4 2,0 N. et procéder comme indiqué dans "détermination du Cuivre" (VIII °).

- Si la lecture se fait en densité optique tracer la courbe sur papier graphique ordinaire (absorption en fonction du taux de cuivre).

--Si la lecture se fait en % transmission tracer la courbe sur papier semilog, placer les transmissions sur l'ordonnée graduée en $\log.F(Cu)$ lire les valeurs obtenues pour les échantillons sur cette partie linéaire de la courbe.

IV. SPECTRE D'ABSORPTION. (Voir graphique.)

V. COEFFICIENT D'EXTINCTION. $E_{436\text{ nm}} = 13.150.$

VI. LOI DE BEER LAMBERT VERIFIEE : entre 0 et 50 ug Cu dans 20 ml $CHCl_3$

VII. PREPARATION DE L'ECHANTILLON:

1. Sur un échantillon généralement conservé lyophilisé, ce qui, par ailleurs, facilite l'homogénéisation, on mesure la teneur en eau résiduelle qui est constamment inférieure à 2 %. On pèse une quantité comprise entre 5 et 20 g. selon l'échantillon; on recueille dans un matras de 300 ml et on ajoute la quantité d'eau nécessaire pour atteindre une humidité finale de 75%.

+ 20 ml HNO_3

+ 5 ml H_2SO_4

On minéralise sur rampe électrique.

Maintenir une oxydation constante dans le matras durant la digestion en ajoutant avec précaution de petites quantités de HNO_3 à chaque fois que le mélange tourne au brun. Continuer la digestion jusqu'à ce que la matière organique soit détruite et que les fumées de SO_3 se soient copieusement dégagées. La solution finale devra être incolore ou plus généralement jaune paille.

Quand la réaction est tranquille, chauffer avec précaution et de temps en temps faire subir une rotation au matras pour prévenir une prise en masse de l'échantillon sur la partie du verre exposée à la chaleur.

Quand l'échantillon contient une grande quantité de matières grasses, faire une digestion partielle avec HNO_3 jusqu'à les insolubiliser. Refroidir, retenir sur filtre la matière grasse libre, la laver avec H_2O bi; add. H_2SO_4 au filtrat et compléter la digestion comme ci-dessus.

2. Faire un témoin en respectant les quantités d'acide mises pour les échantillons ainsi que les mêmes conditions de chauffage et de filtration.
3. Après la digestion transvaser le minéralisat refroidi dans une fiole jaugée de 100 ml. , rincer le matras en plusieurs fois avec 75 ml. d'eau bi. Si après refroidissement de la matière insoluble est présente filtrer sur filtre sans cendres, rincer le filtre à l'eau bi. Ajuster à 100 ml avec eau bi.

VIII. DETERMINATION DE LA TENEUR EN CUIVRE.

- Pipeter 25 ml de la solution minéralisée de l'échantillon, du témoin ou de la solution étalon dans un bécher de 100 ml.
- + 10 ml solut. citrate + EDTA.
- + 3 gouttes solution bleue de thymol.
- + NH_4OH 6N goutte à goutte jusqu'à coloration gris bleue.
- Refroidir puis ajuster à pH 8,5 au pH mètre avec NH_4OH

- + 1 ml solution carbamate.
- verser dans une ampoule à décanter de 250 ml.
- rincer le bécher avec 3 x 5 ml H₂O bi ; l'eau de rinçage est ajoutée dans l'ampoule à décanter.

1ère extraction : + 10 ml CHCl₃

.agiter vigoureusement 2 mn.puis couler sur du coton hydrophile placé au dessus d'une fiole jaugée de 20 ml.

2ème et 3ème extractions: + 5 ml CHCl₃

- procéder de la même manière
- ajuster à 20 ml avec CHCl₃
- la solution doit être limpide sinon la refiltrer (si elle contient beaucoup d'eau,mettre sur le coton un peu de Na₂SO₄ anhydre).

Déterminer l'absorption à l'EPENDORF à 436 nm.Fente. 1 x 4.cuve 1 cm.

Si un taux de Cu supérieur à 50 ug est contenu dans les 25 ml de solution prélevée, utiliser un volume aliquote et diluer à 25 ml avec H₂SO₄ 2N.

La plus grande sensibilité du dosage se situe aux environs de 25 ug Cuivre (absorption environ 0,3 dans une cuve de 1 cm.)

- IX.
- tester la présence du Bi et Te, reverser la solution CHCl₃ dans une ampoule à décanter, add. 10 ml solution KCN 5%, agiter 1 mn. Si la couche CHCl₃ devient incolore Bi et Te sont absents.
 - Si le test est positif, développer la coloration voir VIII avec une autre prise d'essai de 25 ml (sans KCN). Couler la couche colorée CHCl₃ dans une seconde ampoule à décanter,

+ 10 ml NaOH N

agiter 1 mn.

Laisser se séparer les couches et couler CHCl_3 dans une 3ème ampoule à décantier. A nouveau laver CHCl_3 avec 10 ml NaOH N.

Déterminer absorption ou transmission de la solution CHCl_3 ainsi traitée et convertir en ug Cu à l'aide de la courbe étalon.

X. CALCUL DU TAUX DE CUIVRE:

Formule générale.
$$\frac{C \times S \times 100}{V \times p}$$

C. conc. en ug/ml lue sur la courbe étalon.

S. (ml) solution contenant le minéralisat de l'échantillon.

Si $S = 100$ ml
 $V = 25$ ml $\frac{400 C}{p}$

V. (ml) volume de S pipeté (en principe 25 ml)

p. (g) poids d'échantillon minéralisé

Resultat exprimé en ug Cu/100 g d'échantillon.

XI. SENSIBILITE, PRECISION :

La sensibilité et la précision de la méthode ont été testées à partir de 27 dosages effectués sur un même échantillon de manioc broyé et séché. Les résultats ont été les suivants :

Prise d'essai n°	Cu/ug/100 g d'échantillon séché
1	148
2	117
3	117
4	116
5	136
6	145
7	126
8	128
9	133
10	135
11	120
12	119
13	118
14	116
15	125
16	119
17	124
18	118
19	122
20	114
21	109
22	113
23	112
24	120
25	113
26	111
27	118

$$\bar{x} = \frac{3292}{27} = 121,93$$

(soit 132,8 ug/Cu pour
100 g de poids sec)

$$\sigma^2 = \frac{2567,9}{26} = 98,76$$

$$\sigma = 9,94 ; t = 2,056$$

$$\sigma t = 20,44 \quad 101,5 \leq \bar{x} \leq 142,4$$

- Précision d'un résultat : (écart type)

$$\sigma = 9,94$$

coefficient de variation % = 8,15

- Précision de la moyenne : (écart moyen)

$$\sigma_m = 1,91$$

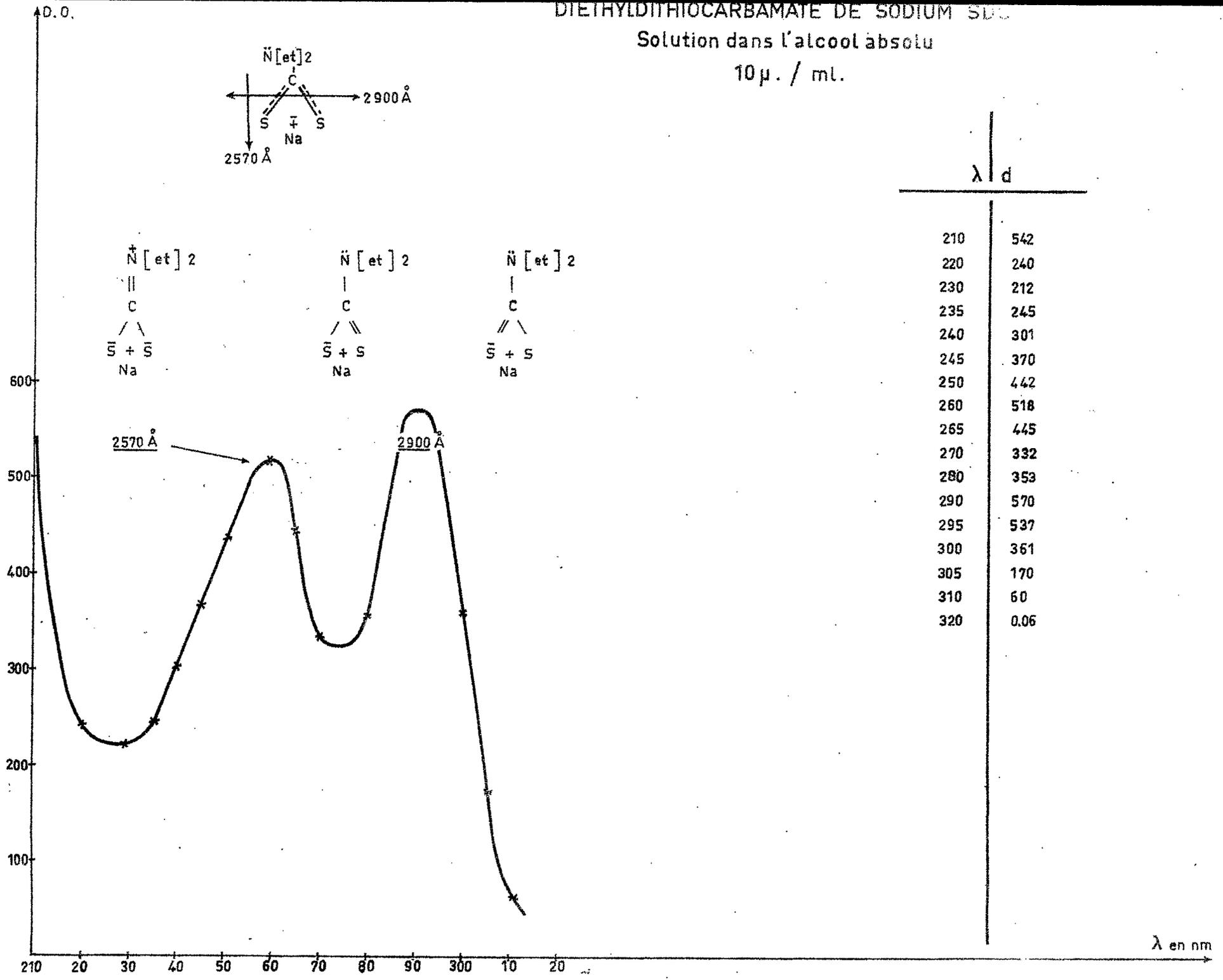
erreur relative sur la moyenne :

$$\frac{\sigma_m \times 100}{\bar{x}} = 3,22 \%$$

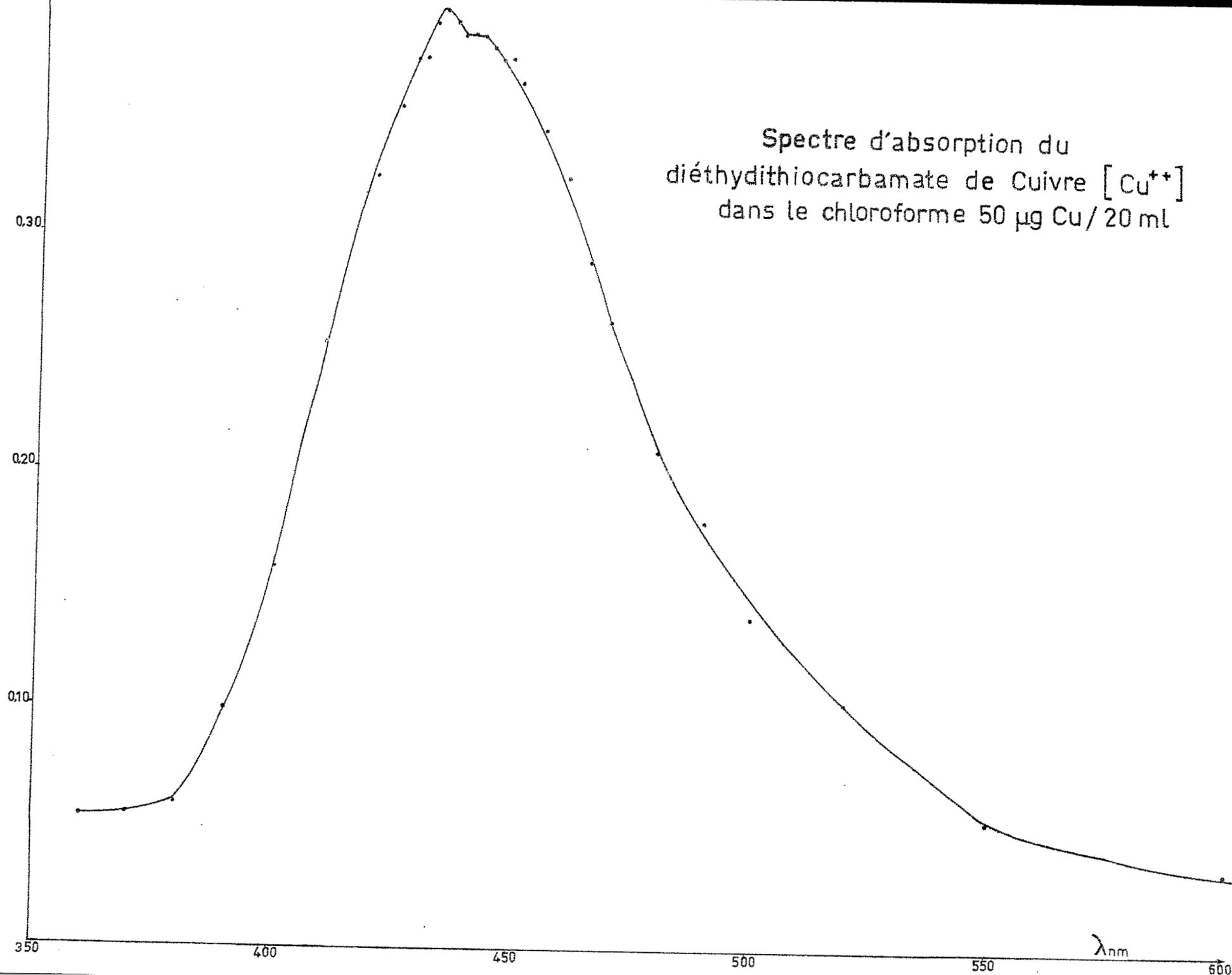
DIETHYLDITHIOCARBAMATE DE SODIUM SDS

Solution dans l'alcool absolu

10 μ. / ml.



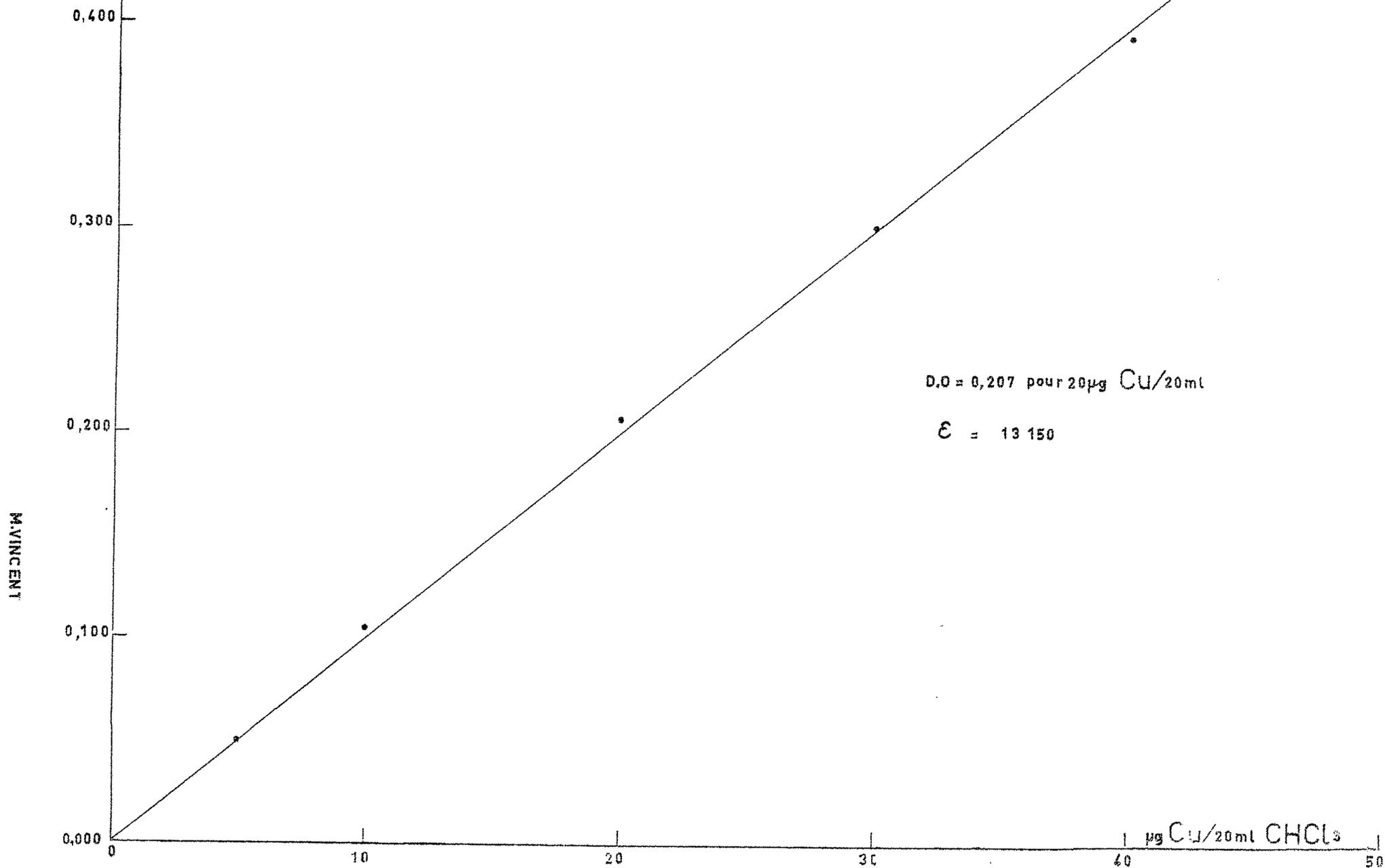
Spectre d'absorption du
diéthyldithiocarbamate de Cuivre [Cu⁺⁺]
dans le chloroforme 50 µg Cu/20 ml



COURBE ETALON -Cu²⁺

DIETHYLDITHIOCARBAMATE DE CUIVRE

DANS LE CHLOROFORME



25-8-69