

ESSAIS DE DOSAGES DE L'ACIDE CYANHYDRIQUE DANS DES VARIÉTÉS AMÈRES DE MANIOC

I Introduction

Le Journal officiel du 19/2/48 (décret du 15/2/48) fixe à 0,03 g pour 100 g de tubercule frais, le taux limite maximum au delà duquel le manioc ne peut être livré à la consommation, et est utilisé dans l'industrie (amidonnerie).

D'une manière générale la composition chimique du Tubercule frais de manioc doux se ramène aux chiffres suivants :

Eau 18-20 %

Cellulose 1,7

Amidon 65

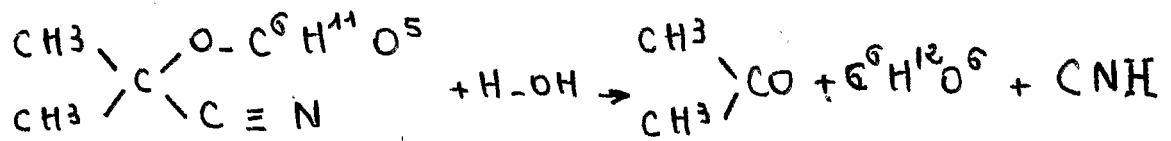
Protides 0,8

Lipides 0,3

0,15 Réducteurs
Glucoside

Le glucoside cyanogénétique du manioc (Ehancolinatoxide, ou dinamaronide) disparaît en partie au cours de la cuisson ou de la dénivation au soleil en donnant de l'acétone, du glucose et de l'Acide cyanhydrique.

Schématiquement on a :



On détermine en pratique, le taux de toxicité des manios, par une méthode colorimétrique, en comparant la coloration que prend une solution picrosodique, (réactif de Guignard) sous l'influence du CNH dégagé, à celle donnée par une solution étalon et stable de bichromate de potassium, cette dernière ayant la même teinte que celle qui correspond à un dégagement de 0,02 g de CNH par 100 g de produit anhydre.

Réactifs.

- Solution étalon de bichromate de K :

7,5 g de bichromate
10 cc H_2SO_4 concentré } pour 100 cc.

- Solution tampon de pH 5 dans laquelle on fait macérer le manioc broyé en présence d'émulsiore.

100 cc } 88 cc phosphate monopotassique à 9 g/litre
12 cc phosphate disodique à 12 g/litre

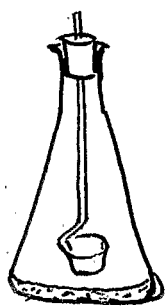
- Solution picrosodique

Acide picrique 5g
 Co_3Na_2 100g } pour 1000 cc

Méthode.

On pèse un poids P de manioc frais broyé (en procédant avec rapidité) environ 1g et on

(3)
l'introduit au fond d'un erlen avec 5^{cc} de solution tampon, et environ 10 mg d'émuline.



On bouche au moyen d'un bouchon portant une soufflette adaptée au bout d'un tube de verre, et dans laquelle on met 1^{cc} de solution ficrosdée. (schéma ci-contre)

On porte 4 heures à l'ébullition à 32-34° puis on transvase le contenu de la soufflette dans une fiole jaugée de 10^{cc}. On complète à l'eau distillée. Par ailleurs on étend un centimètre cube de la solution étalon de bichromate à 10^{cc} et on compare les colorations. Si la teinte obtenue avec le dégagement de CNH est plus sombre c'est que le manioc renferme plus de 20 mg de CNH par 100 g de produit anhydre.

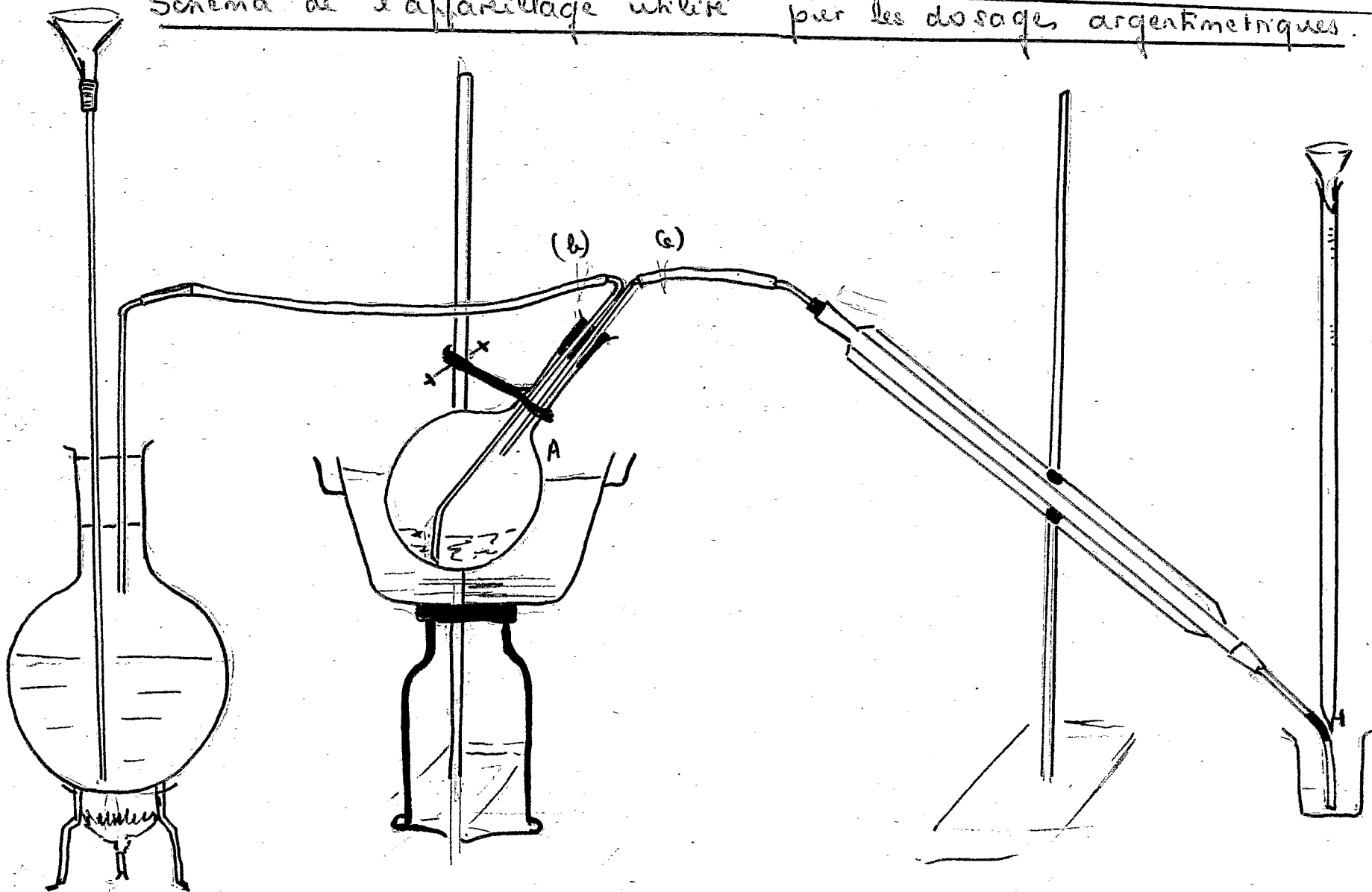
II DOSAGES cyanourgentimétriques sur des Variétés provenant du Lac Alaotra

des dosages cyanourgentimétriques de Denigès réalisés sur les variétés de manioc qui ont été expédiées par le Lac Alaotra ont donné des valeurs en CNH extrêmement faibles, parfois nulles. On est obligé d'en conclure, soit que ces variétés n'étaient pas amères (erreur de nomenclature) soit que le CNH a été perdu en presque totalité pendant la durée de conservation des tubercules au frigidaire. Mais cette hypothèse est peu probable car les dosages réalisés sur la variété Agbe Koumani provenant d'Adiopodoume, et dont les conditions de conservation étaient analogues, se sont avérés satisfaisants.

Méthode de Dosage -

Dosage classique de Liebig - Denigès adapté au cas particulier des maniocs -
Le problème le plus important est celui des pertes possibles de CNH, au cours des manipulations - j'ai essayé de le limiter au maximum en évitant les transvasements de matériel végétal, et en paraffinant chaque fois bouchons et joints de caoutchouc.

Schema de l'appareillage utilise' pour les dosages argentimetriques.



- 6
- Le dosage est fait sur 50 g de manioc frais (c'est-à-dire dans l'état où il est, après le voyage et une conservation d'environ 30 jours au frigidaire) broyé finement ou mixer et le plus rapidement possible placé dans le ballon (A) (voir schéma), à long col, après pesée -
 - Ajouter environ 100 mg d'émuline
 - et 200 cc d'une solution tampon pH = 6 (préparé comme indiqué page 2)
 - Reboucher soigneusement avec le bouchon de caoutchouc, traversé par 2 tubes de verre qui portent chacun un joint de caoutchouc rattachable à l'appareil à distiller et que 2 fines visées (b) et (c) bouchent hermétiquement
 - Serrage du bouchon lui-même.
 - Le ballon est ensuite placé à l'ébullition à $32-34^{\circ}$ pendant 24 heures.
 - Distillation: - Avant de commencer à distiller j'ai amené à ébullition l'eau du ballon-chaudière et préparé la solution alcaline avec le IK dans un bécher en ayant soin d'y faire plonger le tube à dégagement j'ai ensuite adapté le ballon (A) de sorte que la vapeur passe tout de suite pour entraîner le CSH. Il faut décrocher rapidement les 2 fines visées lorsque le ballon

est adapté pour éviter que la chaudière ne déborde
Je vois qu'en procédant ainsi on évite toute
perte de CNH.

Dosage : de CNH total et dosé en jusque
totalité sur les 100 premiers centimètres cubes distillés

Au bout de 150^{cc} environ le dosage est terminé
On laisse alors refroidir le ballon puis on
ajoute par l'une des 2 orifices du ballon 10^{cc}
de H₂SO₄ dilué au 1/2 et on distille de nouveau.

En fait dans tous les dosages que j'ai effectués
l'hydrolyse diéstanique a libéré tout le CNH.
L'hydrolyse acide ne constituait plus qu'un simple
contrôle.

N.B. Il est possible que pendant le
refroidissement il y ait des pertes de CNH
qui se dégagent au moment où l'appareil
est ouvert pour recevoir H₂SO₄. Il
faudrait pallier à cet inconvénient en
adaptant une tubulure à robinet par
laquelle on ferait descendre l'acide -
De toutes façons les dosages réalisés
par la suite ne permettent de penser
que j'ai bien dosé tout le CNH après
l'hydrolyse diéstanique -

Résultats obtenus

Manioc H 39 (Alastra)

Tous les dosages sont réalisés dans les conditions
que je viens de décrire.

NO^3Ag $\text{N}/10$ $1^{\text{cc}} \equiv 5,05 \text{ mg de CNH}$

Distillation de 50 g de matière fraîche, pendant 1h 30 \rightarrow environ 200 cc de distillat.

Quantité de NO^3Ag utilisée : 0,8 cc

Quantité de CNH / 100 g $0,8 \times 6,05 \times 2 = 9,7 \frac{\text{mg}}{100 \text{g}}$

Cette valeur est donc inférieure très nettement à celle qui définit un manioc amer (20 mg / 100 g)

Le contrôle du dégagement de CNH au papier picrorodé avait donné une réaction positive (rose)

Manioc H 43 (Alaotra)

- Distillation de 100 g de matière fraîche
- Résultat : Aucun dégagement de CNH n'a été décelé tant par la méthode argentimétrique (trouble à la première goutte) que par le papier picrorodé.

Manioc H 34

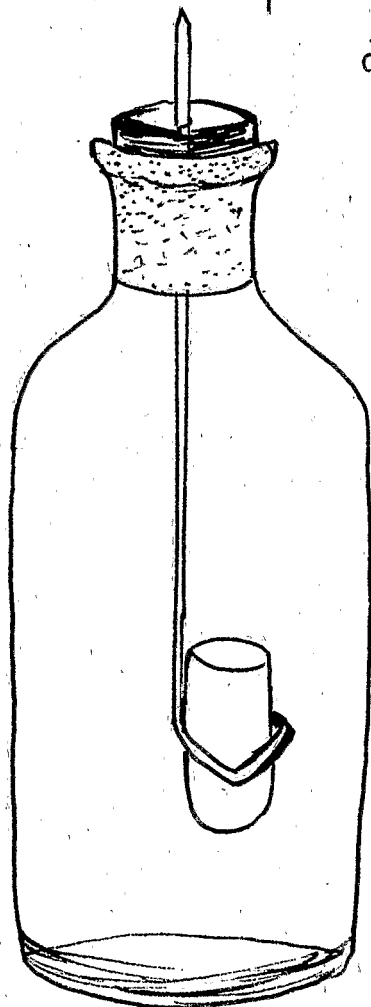
Distillation de 100 g de matière fraîche
Résultat négatif comme précédemment.

Plusieurs autres dosages effectués sur les autres racines reçues se sont avérés, comme ceux ci dessus, sans résultat.

III Essai de mise au point d'un dosage Colorimétrique.

1°) Matériel utilisé

- flacons de 250 (ici à vol rodé)
- Tubes à hémolyse soufés à environ 2 cm du bord de façon à obtenir un fond de tube susceptible de contenir 1 cc de solution picurodique (voir schéma)
- bouchon de liège fers dans lequel on fait passer une tige de verre flévie dont la base est courbée pour maintenir le tube à hémolyse - De la paraffine est coulée à l'endroit où le tube de verre fera le bouchon -
- fioles jaugées de 50 cc -



2°) Réactifs

- Solution picurodique
(Acide picrique 1% -
+ Co^{3+} Na^{2+} 10%)
- Emulsion
- Solution tampon de pH = 6
- Solution de KCN à
1 mg de CNH par cc
- ClH concentré.

- 3°) Etablissement de la gamme étalon.

Principe de la méthode:

La solution picosodique (Réactif de Guignard) se colore avec une intensité proportionnelle à la quantité d'acide cyanhydrique qui se dégage à partir d'une solution aqueuse de cyanure de K, sous l'influence de l'HCl concentré.

Manipulation

Préparation d'une gamme important :

0,1 mg
0,2
0,3
0,4
0,5

↔ limite de toxicité pour les manipulations

Verser respectivement au fond de chaque flacon $\frac{1}{10}^{cc}$, $\frac{2}{10}^{cc}$ etc. de la solution KCN - Par ailleurs verser au fond de la coupelle adapté au bouchon $\frac{1}{2}^{cc}$ mesure exactement de solution picosodique. puis rapidement déclencher la réaction en versant 3 à 4 gouttes de HCl concentré et reboucher immédiatement, en ayant soin de paraffiner le bouchon -

Au bout d' $\frac{1}{2}$ heure environ on voit se développer dans la solution picosodique une coloration rouge, due à la formation d'un isopurpurate. Comme nous allons le voir, la photocolorimétrie montre que cette coloration était pratiquement stable au bout de 24 heures, - Il vaut mieux la laisser apparaître à l'obscurité et à température de 30 à 35°. (En fait je pense que la question de température intervient peu dans le cas de la gamme étalon)

17

Au moment de colorimétrer, défaisaffiner le bouchon enlevé avec précaution le bouchon et son godet et verser en fioles jaugées de 50^{cc} (*) au dessus d'un petit entonnoir - Ajuster avec de l'eau distillée

Colorimétrie

Colorimètre - Heunier - Yolin -

- filtre vert

- Diaphragme 20.

- Blanc pour mettre à 0 = eau distillée

(au début le blanc était fait avec 1cc de solution picosodique amené à 50^{cc}, mais il fallait alors utiliser un filtre bleu, ce qui ne convenait plus pour l'orange - rouge obtenu - Il semble d'ailleurs inutile de parler d'une couleur jaune puisque les colorations obtenues avec le dégagement de CNH n'influent pas sur l'intensité du colorant de base, mais lui font subir une transformation. Il y a passage du jaune au rouge - orange -

(*) Il faut diluer à 50^{cc} pour ne pas être gêné par une trop grande intensité de coloration, qui empêche de colorimétrer - (tout au moins avec l'appareil qui a été utilisé)

Etude du développement de la coloration en fonction du temps

des nombreux essais qui ont été effectués pour déterminer le moment le plus favorable à la colorimétrie, ont montré que c'était après une attente de 24 heures que le dégagement de CNH était maximum.

des chiffres obtenus vont d'ailleurs nous montrer que la coloration qui en apparence a l'air totale au bout de 2 heures de réaction, se poursuit en fait pendant 24 heures puis après environ 30 heures diminue d'intensité.

Toutefois au cours d'un essai la coloration maximum était déjà apparue au bout de 16 heures dans le cas du dégagement de CNH produit par la fiole n°5 - (0,5 mg CNH)

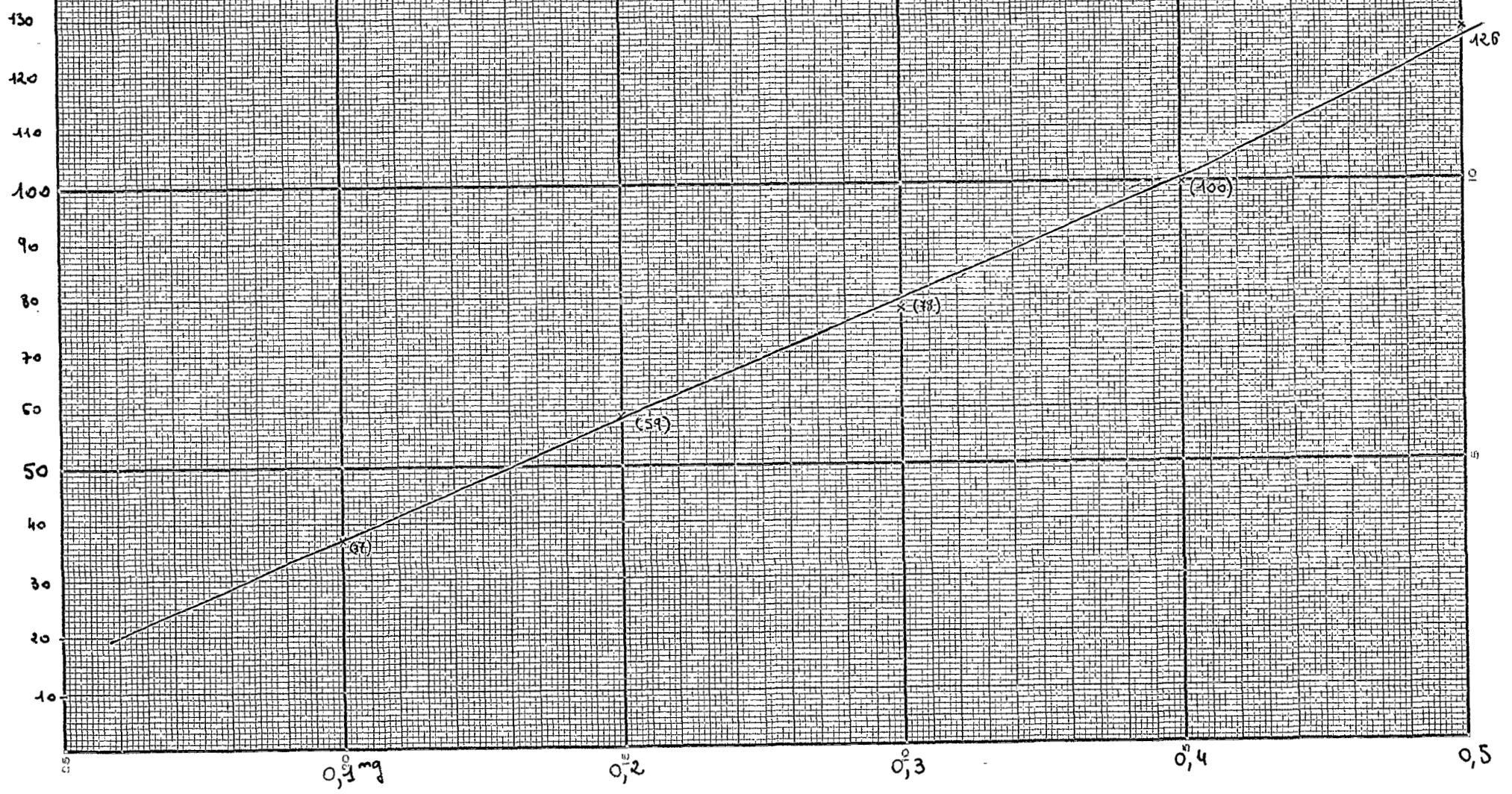
- La coloration maximum une fois déterminée est égale à elle-même environ 2 à 3 heures en fiole jaugée.
- La coloration définitive s'établit plus rapidement pour une faible quantité de CNH. Par exemple dans la première fiole au bout de 5 heures on arrive à la valeur 33 proche de la valeur adoptée dans l'échelle et qui est de 36 à 39. De la même façon cette coloration est plus lente à disparaître jusqu'à après 48 heures le colorimètre indique encore 37.

	duree de la réaction avant colorimétrie			
	2h	5h	16h	18h
fiole ① 0,1mg	22 24 23,5	33 31	36,5 36	35 36 33
② 0,2mg	41 41	48 48	54 53 56,5	52 53 57
③ 0,3mg	61 61	64 62	69,5 67	72 73
④ 0,4mg	(accident)	82 81	94 95	92 91
⑤ 0,5mg	94 95	92 93	122 122,5	118 117

	24 h (I)	24 h (II)	36 h	48 h
0,1	36 36,5 38	36 37 39	37 36,5	37 38
0,2	58 57 60	58 56 58	46 45,5 48	50 51 50
0,3	77,5 77,5 78	73,5 77 76	66,5 67	66 66,5
0,4	100,5 100	99,5 98,5	85,5 86	81 80
0,5	126,5 127	124 122 125	107,5 107	106 106,5

Echelle colorimétrique obtenue après 24 h

Graduation
du
Colorimètre



IV Dosages du CNH sur la Variété Agba Kounassi d'Adiopodoumé

Dosages comparatifs par argentimétrie et colorimétrie

(A) Dosages sur le 1^{er} Arrivage d'Adiopodoumé

DOSAGE I

1^o - Hydrolyse - Argentimétrie

Prélèvement 100 g de produit frais fait dans la partie centrale du tubercule (cicore + pulpe) -

Hydrolyse diastatique 24^h à 32.34° -

Distillation 2^h

No³ Ag → 4,1^{cc}

Hydrolyse acide : No³ Ag → 0^{cc}

Résultat → 24,8 mg / 100 g produit frais

2^o - Colorimétrie

1g produit frais introduit dans le flacon avec 5 cc de Tampon pH 6 et 10 à 20 mg d'émulsion - Dans le tube à témoin, bonne pour la gamme étalon 1^{cc} de solution fluorodée. Après 24^h à lecture 32.34°, étendue à 55^{cc} -

Colorimétrie →

56
54
54,5

 → 0,24 mg

→ 24 mg / 100 g frais -

Les 2 prélèvements pour les 2 dosages ont été faits sur le même tubercule - Le résultat donné par la colorimétrie est un peu moins précis et légèrement inférieur -

1° Hydrolyse - Argentimétrie

2ème Tubercule

- Prélèvement 100 g produit frais également dans la partie centrale -

Hydrolyse avec émulsion pendant 3 h 30 au bain marie à 34° dans 200 cc de solution tampon.

La distillation est faite pendant 1 h 30.

$\text{NO}_3 \text{Ag} \rightarrow 4,5 \text{ cc}$

Après refroidissement remise en contact avec émulsion pendant 1 nuit

Nouvelle distillation \rightarrow aucun dégagement de CNH n'a pu être caractérisé

Il résulte donc que l'acide cyanhydrique est dégagé au bout d'un temps relativement réduit - le glucose doit être attaqué par l'enzyme immédiatement et le CNH libéré peut être entraîné pendant le premier quart d'heure de distillation. Ceci a d'ailleurs été vérifié à tous les dosages. C'est ce fait dans les 100 premiers centimètres-cubes que j'ai fait tout le CNH . *

Résultat :

$27,2 \text{ mg} / 100 \text{ g}$ produit frais

- Prélèvement 100 g dans le autre, à côté du précédent :
 - Hydrolyse faite dans les mêmes conditions
 - Contrôle fait avec $64 \text{ ml}^2 \frac{1}{4}$ (20 cc)
- $\text{NO}_3 \text{Ag} \rightarrow 4,35$ (rien avec l'hydrolyse acide)

Résultat: $26,3 \text{ mg} / 100 \text{ g}$ produit frais.

Les 2 résultats diffèrent légèrement mais il est évident que la répartition du glucoside cyanogénétique n'est pas rigoureusement uniforme à l'intérieur d'un même tubercule. Nous verrons d'ailleurs plus loin les variations des quantités de CNH suivant le lieu des prélèvements.

2° - Colorimétrie

1g poids frais

59,5

60

61,5

→ $0,22 \text{ mg}$.

$22 \text{ mg} / 100 \text{ g}$ produit frais

DOSAGE III

1° - Hydrolyse argentimétrie - 3^{ème} Tubercule -
Prélèvement dans le centre du Tubercule.

24 h à 32°

1^{ère} Distillation 1 h 30

2^{ème} Distillation 30' après remise en contact avec Emulsion (plus de dégagement de CNH)

$\text{No}^3 \text{Ag} \equiv 4,8 \text{ cc}$

→ $29 \text{ mg} / 100 \text{ g}$ frais

2° - Colorimétrie

75

74

→ $28 \text{ mg} / 100 \text{ g}$ frais

Malgré la remarque faite à la page précédente (*) il convient de laisser l'hydrolyse faire 24 h dans le cas de la colorimétrie, car même si le dégagement de CNH est rapide, la stabilité de la coloration

de la solution ficrosodée n'est effectivement qu'au bout de 24h. (comme que nous l'avons vu dans le cas de la solution de KCN.

③ Dosages sur le 2^{ème} Envoi d'Adiosodoumé

Dans cette série de dosage j'ai essayé de déterminer la richesse relative en principe cyanogénique des différents parties d'un tubercule. Tous les dosages n'ont pas été faits sur le même tubercule mais lorsque cela a été possible je l'ai signalé.

I CNH dans l'ECORCE

Prélèvement de 50 g d'écorce externe broyée au mixer.
Hydrolyse avec emulsiue pendant 3h à 34-35° au bain marie

Distillation 1h 30

N^o Ag 4,6^{cc}

→ 55,74 mg / 100 g poids frais

A la fin du dégagement le ballon est refroidi puis le végétal mis de nouveau en contact avec l'enzyme et porté à l'ébullition 32° pendant 24h.

Nouvelle distillation → 0,9^{cc} N^o Ag

→ 2,4 mg / 100 g

Résultat :

58,14 mg / 100 g produit frais

Cette expérience confirme bien le fait que l'Acide cyanhydrique est bien libéré en totalité après hydrolyse de 3h à 34°.

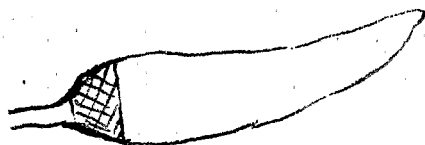
Ce dosage n'a rien donné par colorimétrie, (20 mg pour 100 g) Il est évident que l'écorce qui est très dure ne peut être lysée par l'eau. Il est nécessaire dans ce cas qu'elle soit soumise à une ébullition, et que le CNH soit dosé par distillation.

II CNH dans la partie proximale de la Racine

Les dosages montrent que c'est, après l'écorce, la partie de la Racine la plus riche en gluco-side.

1° - Hydrolyse argentimétrie

Prélèvement 100 g (emplacement indiqué sur le schéma.)



hydrolyse 5 heures au bain-marie 32-34°
par Distillation $\text{NO}_3\text{Ag} \rightarrow 5,45^{\text{cc}}$

Remise en contact avec l'enzyme 24h à l'ctive
par Distillation: Aucun dégagement

Résultat: 33 mg / 100 g produit frais

2° - Colorimétrie

77

79

80

→

0,31 mg / 1 g produit frais

31 mg / 100 g

des valeurs légèrement inférieures que l'on trouve dans les dosages colorimétriques peuvent être causées par la pesée (tribuchet pour le 100 g balance de précision dans le cas de 1 g à colorimétrie)

III CNH dans la partie centrale de la Racine 16

1° Argentimétrie

Prélèvement 100 g au centre de la Racine tubérisée -
- Hydrolyse 5 h à 32-34° en présence d'emulsi
Distillation 1 h 30.

$\text{NO}_3 \text{Ag} \rightarrow 4,6''$

- hydrolyse acide : plus de CNH dégagé

Résultat \rightarrow

27,8 mg / 100 g produit frais

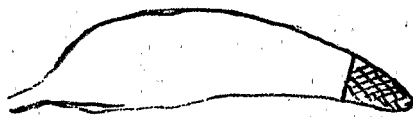
2° Colorimétrie

70
71,5 \rightarrow

26,5 mg / 100 g produit frais

IV CNH dans la partie distale de la Racine

1° Argentimétrie



Prélèvement 100 g à l'emplacement indiqué sur le schéma, sur le même tubercule que pour le prélèvement proximal

Hydrolyse 24 h à 32° avec Emulsi
Distillation 1 h 30.

$\text{NO}_3 \text{Ag} \rightarrow 2,8''$

Hydrolyse acide (10^9H^+)
seule distillation $\rightarrow 0,2''$

Résultat \rightarrow

12,18 mg / 100 g produit frais

2° Colorimétrie

52
51
54 $\rightarrow 0,18 \text{ mg}$

0,18 mg / 100 g produit frais

En conclusion, bien que donnant des valeurs dans la plupart des cas légèrement inférieures à celles du dosage argentimétrique, on peut convenir que le dosage colorimétrique, avec la facilité et la rapidité des manipulations qu'il représente, s'avère assez satisfaisant et peut permettre de passer dans un minimum de temps à de très de dosages.

ORSTOM Fonds Documentaire

N° : 29.682 ep. 1

Cote : B

J. Didier de S'Amant
juillet 1954