



XXI ENCONTRO NACIONAL E
VII CONGRESSO LATINO AMERICANO DE ANALISTAS DE ALIMENTOS
CADEIA PRODUTIVA E SEGURANÇA ALIMENTAR: DESAFIOS E ESTRATÉGIAS
26 A 30 DE MAIO DE 2019
CENTRO DE CONVENÇÕES CENTRO SUL | FLORIANÓPOLIS | SC | BRASIL



DETERMINAÇÃO DE CIANETO LIVRE POR CROMATOGRÁFIA IÔNICA EM AMOSTRAS DE MANDIOCA

Bruno Rafael da Silva, Eulália Soler Sobreira Hoogerheide, Leonícia Goulart de Oliveira Silva, Poliana Elias Figueredo - EMBRAPA [Sinop - MT - Brasil]

Introdução

O cianeto (CN^-) é um íon altamente reativo, comumente encontrado na forma de cianeto de sódio (NaCN), cianeto de potássio (KCN) e na forma gasosa como ácido cianídrico (HCN). Diversas plantas contêm glicosídeos cianogênicos, que podem liberar cianeto para o meio através de biodegradação ou ingestão. Dentre as espécies de plantas, a mandioca, que é uma das bases da alimentação de pessoas de países tropicais, pode conter quantidades significativas de glicosídeos cianogênicos, oferecendo um risco do ponto de vista toxicológico (U.S. ASTDR, 2006).

Dentre outras formas, o cianeto pode ser absorvido via trato gastrointestinal e uma vez absorvido, o cianeto é rapidamente distribuído através do corpo. Os efeitos toxicológicos da absorção do cianeto atingem primeiramente os sistemas nervoso, respiratório e cardiovascular, em seguida o sistema endócrino (OMS, 2004).

No Brasil, o agricultor familiar está exposto ao risco de saúde por manipulação inadequada da raiz durante seu cultivo e/ou durante o processamento da farinha. Na mandioca, os compostos cianogênicos estão distribuídos em concentrações variáveis, conforme a parte da planta. Com a ruptura da estrutura celular da raiz o ácido cianídrico (HCN) é liberado, apresentando alta toxicidade pela ingestão e inalação, podendo representar risco à saúde do empreendedor da agroindústria familiar (CEREDA et al., 2002).

São classificadas como mandiocas bravas as que apresentam alta concentração de glicosídeos cianogênicos (superior a 100 mg de equivalente HCN/kg de polpa fresca de raiz) (VALLE et al., 2004). Alguns estudos indicam que o sabor amargo é perceptível a partir de 100 mg de equivalente HCN/kg de polpa fresca de raiz (LORENZI et al., 1993); no entanto, não há marcadores morfológicos que permitam com precisão a identificação (VALLE et al., 2004).

A determinação do teor de ácido cianídrico das mandiocas é importante para identificação e monitoramento dos riscos que tal atividade pode provocar aos agricultores, bem como classificar as mandiocas do acervo como mansas ou bravas.

Os métodos colorimétricos convencionais para determinação de cianeto em mandioca envolve a manipulação de reagentes e geração de resíduos de elevada toxicidade, como a piridina e o ácido pícrico. Com isso, o desenvolvimento de metodologias analíticas limpas e alternativas como a cromatografia iônica é de extrema importância, tanto do ponto de vista ocupacional, como para o meio ambiente, na mitigação de resíduos químicos de alta toxicidade gerados.

Material e métodos

As amostras de mandioca foram coletadas na comunidade São Benedito, localizada na cidade de Poconé, Mato Grosso. Após a colheita, as amostras (polpa da

raiz) foram congeladas (- 20°C) e levadas para a Embrapa Agrossilvipastoril para avaliação do teor de ácido cianídrico.

A metodologia proposta para a análise do teor de ácido cianídrico em amostras de mandioca expressa o resultado como cianeto livre, para determinação de cianeto potencial é necessário a utilização de enzima (linamarase).

Em um tubo cônico tipo falcon de 15 mL adicionou-se 2 g de amostra, em seguida 10 mL de solução extratora (NaOH 10 mM). As amostras foram agitadas em agitador tipo vórtex por 5 min e então sonicadas por 2 min. Após essa etapa, as amostras foram centrifugadas por 5 min a 5000 rpm. O sobrenadante foi filtrado em filtro de seringa de Nylon/Fibra de vidro e porosidade 0,45 µm, e transferido para vial de 5 mL. Para determinação do teor de cianeto livre, utilizou-se um cromatógrafo de íons Dionex ICS 2100 e hidróxido de potássio como eluente, em um gradiente de 10 mM de 0 a 8 min; 50 mM de 8 a 13 min e equilíbrio a 10 mM até 20 min. Empregou-se uma coluna cromatográfica IonPac AS19 (Thermo Scientific) de 2x250 mm a uma temperatura de 30°C. A temperatura da célula do detector condutimétrico foi mantida a 30°C e o tempo médio de retenção do cianeto foi de 5 min.

Foram avaliados os parâmetros de seletividade, linearidade, precisão, exatidão, robustez, limites de quantificação e detecção, de acordo com o Manual de Garantia da Qualidade Analítica do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2011)

O presente trabalho foi autorizado pelo Conselho de Gestão do Patrimônio Genético (CGEN-MMA. Processo nº 02000.003025/2013-13 – MMA deliberada em 28 de abril de 2015 e publicada no D.O.U de 13 de julho de 2015)

Resultados e discussão

A seletividade do método proposto foi avaliada a partir da análise do padrão de cianeto, em água e na matriz (mandioca), bem como na presença de outros ânions comumente encontrados em matrizes alimentícias (cloreto, fosfato, fluoreto, sulfato e nitrato).

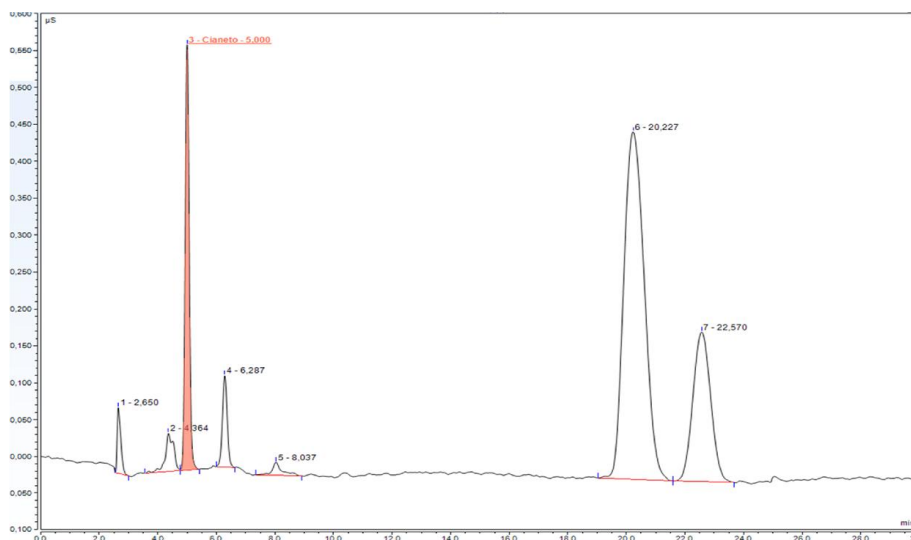


Figura 1. Cromatograma do padrão 10 ppm de cianeto na matriz e na presença de outros ânions.

A figura 1 mostra o cromatograma do padrão de 10 ppm de cianeto na matriz e na presença dos ânions fluoreto, cloreto, nitrato, sulfato e fosfato. Com tempo de retenção de 5,0 minutos o pico de cianeto apresentou boa resolução cromatográfica.

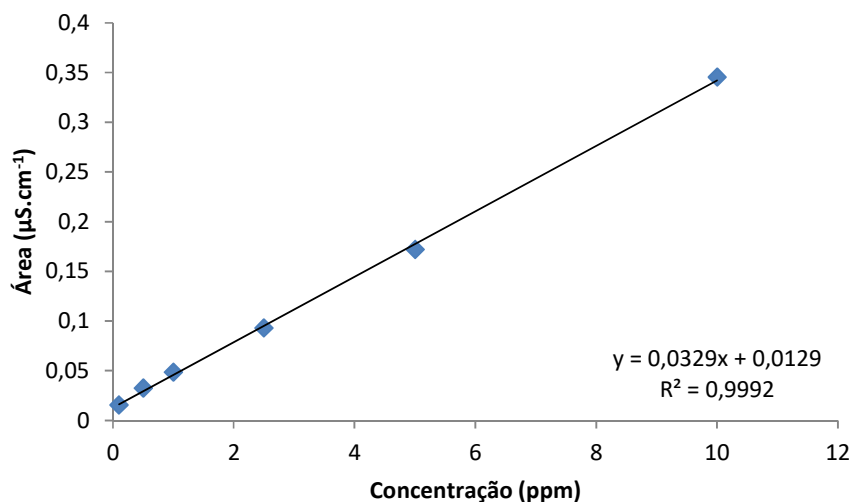


Figura 2. Curva de calibração do ácido cianídrico.

A curva de calibração de ácido cianídrico, figura 2, evidencia uma ótima linearidade do método na faixa de 0,1 a 10 ppm, com valor do coeficiente de correlação linear igual a 0,9992, superior a 0,99 conforme estabelecido no Manual de Garantia da Qualidade (BRASIL, 2011)

Tabela 1: Resultados da validação analítica (precisão, exatidão, recuperação, LQ e LD).

Parâmetro avaliado	Nível baixo (0,1 ppm)	Nível alto (10 ppm)
Precisão (%)	4,55	3,32
Exatidão (%)	98,5	99,1
Recuperação (%)	95,3	99,2
Limite de detecção (ppm)	0,05	
Limite de quantificação (ppm)	0,1	

A precisão e exatidão do método avaliadas em dois níveis de concentração (baixa e alta) apresentaram valores aceitáveis e satisfatórios (tabela 1). Contudo, o método proposto apresentou resultados confiáveis e com boa reprodutibilidade. O limite estabelecido do limite de quantificação foi de 0,1 ppm, garantindo uma determinação segura e avaliação de amostras de mandioca dentro dos limites estabelecidos pela Organização Mundial de Saúde (OMS, 2004).

O método foi submetido a pequenas e deliberadas interferências, como variação da concentração da solução extratora, tempo de agitação e temperatura do forno, para avaliação da robustez do método. Todos os parâmetros avaliados foram satisfatórios, pois apresentaram variação dentro da precisão estabelecida para o método.

As amostras de mandioca do acervo foram avaliadas para determinação do teor de ácido cianídrico.

Tabela 2: Resultados da análise de ácido cianídrico nas amostras de mandioca.

Amostra	Teor de HCN (mg.kg ⁻¹)
<i>baixinha</i>	218.83
<i>brava</i>	59.85
<i>broto roxo</i>	117.82
<i>cacau</i>	29.16
<i>carneiro</i>	52.10
<i>liberata</i>	110.33
<i>liberatona</i>	117.96
<i>mansa</i>	153.34
<i>talinho vermelho</i>	73.25

De acordo com os resultados obtidos, apresentados na tabela 2, nota-se que cinco variedades (*baixinha*, *broto roxo*, *liberata*, *liberatona* e *mansa*) apresentaram teores mais elevados de ácido cianídrico, sendo caracterizadas analiticamente como bravas (> 100 mg.kg⁻¹). Os resultados encontrados vão de encontro a caracterização etnobotânica levantada, pois as duas variedades classificadas como brava pelos agricultores são na verdade mansas, conforme resultado experimental. A identificação de variedades de mandioca com baixos teores de cianeto na polpa crua das raízes é necessária para aumentar a segurança alimentar e diminuir os riscos de intoxicação dos consumidores. Entretanto, na prática, a separação entre mandioca mansa e brava é feita pela degustação da polpa crua das raízes (BORGES et al. 2002). Em geral, as bravas são amargas e as mansas, doces. Porém, esse método é subjetivo e a correlação não é exata, o que limita muito o uso dessa classificação (LORENZI et al., 1993).

Conclusão

O método proposto é eficaz, seletivo e seguro do ponto de vista ocupacional para quantificação de ácido cianídrico em amostras de mandioca por cromatografia iônica possibilitando classificar as amostras do acervo da Embrapa quanto a sua toxicidade.

Referências

BORGES, M. F.; FUKUDA W. M. G.; ROSSETI A. G. Avaliação de variedades de mandioca para consumo humano. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 11, p. 1559-1565, 2002.



BRASIL. **Manual de Garantia da Qualidade Analítica**. 1. ed. Brasília, DF: MAPA ACS, 2011, 227 p.

CEREDA, M. P.; VILPOX, O.; PIZA, I. S. Identification and development of suitable varieties of cassava for food security for Guyana's hinterland. **Cassava Technology**, 2002.

LORENZI, J.O.; RAMOS, M.T.B.; MONTEIRO, D.A.; VALLE, T.L.; JÚNIOR, G.G. Teor de ácido cianídrico em variedades de mandioca cultivadas em quintais do Estado de São Paulo. **Bragantia**, Campinas, v. 52, n. 1, p. 1-5, 1993.

OMS. Hydrogen Cyanide and Cyanide: Human health aspects. Geneva, 2004, 67p.

US ASTDR. Toxicological Profile for Cyanide. **Agency for Toxic Substances and Disease Registry**. Atlanta, 2006.

VALLE, T.L.; CARVALHO, C.R.L.; RAMOS, M.T.B.; MUHLEN, G.S.; VILLELA, O.V. Conteúdos cianogênico em progênies de mandioca originadas do cruzamento de variedades mansas e bravas. **Bragantia**, Campinas, v. 63, n. 2, p. 221-226, 2004.