

commission du codex alimentarius



ORGANISATION DES NATIONS
UNIES POUR L'ALIMENTATION
ET L'AGRICULTURE

ORGANISATION
MONDIALE
DE LA SANTÉ



F

BUREAU CONJOINT: Viale delle Terme di Caracalla 00153 ROME Tél: +39 06 57051 www.codexalimentarius.net Email: codex@fao.org Facsimile: 39 06 5705 4593

Point 9(c) de l'ordre du jour

CX/CF 09/3/11
Décembre 2008

PROGRAMME MIXTE FAO/OMS SUR LES NORMES ALIMENTAIRES COMITÉ DU CODEX SUR LES CONTAMINANTS DANS LES ALIMENTS

Troisième session

Rotterdam, Pays-Bas, 23 mars – 27 mars 2009

DOCUMENT DE TRAVAIL SUR LES GLYCOSIDES CYANOGENIQUES

Soumis par les membres du Groupe de travail électronique (Australie, Nouvelle Zélande, Pays Bas, Brésil, Communauté européenne, Indonésie, Danemark, Ghana, Thaïlande, Tonga, Vanuatu, FAO, OMS et Nigeria).

Champ d'application

1. Le présent document de travail a pour but de présenter un aperçu des données disponibles sur les glycosides cyanogéniques. Le document se concentre sur la fourniture de l'information générale relative aux glycosides cyanogéniques, les niveaux qui ont été signalés dans les aliments, les questions de santé et de salubrité publiques, à la fois à caractère chronique et aigu, la terminologie, les méthodes d'analyse et le régime d'emploi homologué pour les glycosides cyanogéniques contenus dans les aliments. De façon plus précise, le but du document de travail est de rassembler et d'examiner quelles données sont actuellement disponibles, pour que le JECFA puisse re-examiner ces données et fournir des avis sur les conséquences en matière de santé publique liées aux glycosides cyanogéniques présents dans les aliments. Une nouvelle évaluation par le JECFA des glycosides cyanogéniques permettrait au CCCF d'examiner les options de gestion des risques appropriées pour les glycosides cyanogéniques contenus dans les aliments.

Historique

2. La Commission du Codex Alimentarius (CCA) a fait sienne la recommandation formulée à la 59^{ème} session du Comité exécutif^c d'adopter l'avant-projet de norme pour le manioc amer, tel qu'élaboré par le Comité sur les fruits et légumes frais (CCFFV)^d, à l'étape 5 et est convenu que le Comité sur les contaminants dans les aliments (CCCF) examinerait séparément les niveaux de sécurité du cyanure d'hydrogène (HCN) proposés dans la norme, en vue d'une ré-évaluation des glycosides cyanogéniques par le JECFA.

3. La Commission (4 juillet 2008) a renvoyé le projet de norme pour le manioc amer au CCFFV pour travaux supplémentaires (étape 6) axés sur l'étiquetage et la transformation du manioc amer en raison des problèmes de salubrité reconnus quand le manioc est consommé sans avoir subi de transformation adéquate, en vue de le porter devant le Comité du Codex sur l'étiquetage des denrées alimentaires (CCFL) pour un nouvel examen.

4. Les niveaux proposés pour le HCN sont indiqués dans la note de bas de page 2 de l'avant-projet de norme pour le manioc amer et sont comme suit *en italique*:

^c Alinorm 07/30/3 para.30

^d Alinorm 07/30/35 para. 73-82 et annexe VI

[Les variétés amères du manioc sont celles qui contiennent plus de 50 mg/kg mais moins de 200 mg/kg de HCN (sur la base du poids du produit frais). Dans tous les cas, le manioc doit être épluché et entièrement cuit avant d'être consommé.]

5. Le CCCF à sa deuxième session tenue en avril 2008 a examiné la nécessité d'une nouvelle évaluation des glycosides cyanogéniques par le JECFA.

6. Parmi les considérations relatives à la salubrité du manioc amer et doux, il est capital de savoir si les instructions actuelles concernant leur préparation garantissent adéquatement la consommation sans risque de ces aliments. Il est difficile de dire quel niveau de transformation est nécessaire pour les différents niveaux initiaux des glycosides cyanogéniques dans le manioc amer. Par exemple, on ne sait pas dans quelle mesure, après épluchage et cuisson, d'autres techniques de préparation sont nécessaires pour réduire adéquatement le risque lié au manioc contenant 50 mg/kg de HCN (sur la base du poids du produit frais) par rapport au manioc contenant 200 mg/kg de HCN (sur la base du poids du produit frais).

7. Le CCCF a noté que l'exposition alimentaire excessive potentielle aux glycosides cyanogéniques, principalement due au manioc mais également à d'autres produits, a été évaluée à la 39^{ème} réunion du JECFA (1992) et que, faute d'information toxicologique et épidémiologique quantitative à ce moment-là, le JECFA n'a pas pu établir un niveau sans risque d'exposition alimentaire pour cette substance toxique naturellement présente. Par contre, le JECFA (OMS 1993) a également conclu qu'un niveau de HCN atteignant jusqu'à 10 mg/kg dans la norme pour la farine comestible de manioc (CODEX STAN 176-1989) n'entraîne pas de toxicité aiguë. La révision de l'information disponible par l'Autorité européenne de sécurité des aliments en 2004 a donné la même conclusion.

8. Il y a un certain nombre de publications de la FAO qui traitent des bonnes pratiques agricoles et de fabrication relatives à la culture et à la transformation du manioc, y compris d'autres travaux en cours sur la question, pour aider les pays à cultiver, transformer et manipuler ce produit^e. Cette information devrait être prise en compte s'il s'avère nécessaire d'élaborer un Code d'usages ou un niveau maximal (NM) pour les glycosides cyanogéniques dans le futur.

9. Le CCCF est convenu qu'un groupe de travail électronique, dirigé par l'Australie, préparerait un document de travail qui contiendrait une vue d'ensemble de l'information disponible sur les glycosides cyanogéniques en vue d'une ré-évaluation possible par le JECFA.

10. Le présent document de travail met l'accent sur trois aspects clés qu'il est nécessaire d'examiner avant que le CCCF puisse envisager des options de gestion des risques liés au HCN et aux glycosides cyanogéniques contenus dans les aliments:

- les conséquences sanitaires potentielles liées au HCN et aux substances dérivées contenues dans les aliments suite à l'exposition alimentaire au HCN (par ex., les glycosides cyanogéniques et les cyanohydrines). Notamment les risques alimentaires chroniques et aigus pour les consommateurs;
- l'incohérence des limites réglementaires et de la terminologie actuelle relatives aux glycosides cyanogéniques et aux cyanohydrines dans les aliments, y compris dans les normes Codex existantes ou à l'état de projet; et
- la nécessité d'un examen par le JECFA des limites pour les glycosides cyanogéniques et les cyanohydrines sur la base de toutes les données actuelles disponibles.

Introduction

Information générale sur les glycosides cyanogéniques

^e Alinorm 08/31/41

<http://www.fao.org/docrep/006/y0169e/y0169e00.htm>

<http://www.fao.org/docrep/009/a0154e/a0154e00.htm>

<http://www.fao.org/docrep/009/y1177e/y1177e00.htm>

<ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/007/y5271e/y5271e00.pdf>

<ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/007/y2413e/y2413e00.pdf>

<http://www.fao.org/docrep/007/y5287e/y5287e00.htm>

<ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/007/y5548e/y5548e00.pdf>

<http://www.fao.org/docrep/009/x4007e/x4007e00.htm>

11. Les glycosides cyanogéniques sont présents dans au moins 2000 espèces végétales dont un grand nombre sont utilisées dans les aliments. Les principaux aliments de consommation humaine contenant des glycosides cyanogéniques sont résumés ci-dessous:

Glycoside cyanogénique	Nom commun	Nom latin
Linamarine	Manioc	<i>Manihot esculenta</i> <i>Manihot carthaginensis</i>
	Haricots de Lima	<i>Phaseolus lunatus</i>
Dhurrine	Sorgho	<i>Sorghum album</i> <i>Sorghum bicolor</i>
Amygdaline	Amandes	<i>Prunus amygdalus</i>
Lotaustraline	Manioc	<i>Manihot carthaginensis</i>
	Haricots de Lima	<i>Phaseolus lunatus</i>
Prunasine	Fruits à noyau	<i>Prunus species</i> (<i>P. avium</i> , <i>P. padus</i> , <i>P. persica</i> , <i>P. macrophyl</i>)
Taxiphylline	Pousses de bambou	<i>Bambusa vulgaris</i>
Linustatine	Graines de lin	<i>Linum usitatissimum</i>
	Manioc	Information nécessaire?
Neolinustatine	Graines de lin	<i>Linum usitatissimum</i>
Sambunigrine	Baies de sureau	<i>Sambucus nigra</i>

Le manioc est également connu sous le nom de manihot ou de yucca. Le manioc est originaire d'Amérique latine et a été introduit plus tard en Asie et en Afrique (FSANZ 2004).

13. Alors qu'il existe approximativement 1200 espèces de bambou, seules quelques-unes d'entre elles sont utilisées pour la consommation humaine en Asie et en Australie (communication personnelle avec l'Australian Commercial Bamboo Corporation Ltd. en 2004). Celles qui sont actuellement utilisées en Australie, à la connaissance de l'organisme pour les normes alimentaires en Australie et en Nouvelle-Zélande (FSANZ), comprennent:

- *Dendrocalamus asper*;
- *Dendrocalamus latiflorus*;
- *Bambusa oldhamii*; et
- *Phyllostachys pubescens*.

Dendrocalamus asper est l'espèce la plus importante pour la production des pousses en Thaïlande alors que *Dendrocalamus latiflorus* et *Bambusa oldhamii* sont les plus importantes à Taiwan. Les différentes espèces de bambou contiennent aussi des niveaux différents de cyanure (FSANZ 2004).

http://www.foodstandards.govc.au/_srcfiles/Cyanogenic%20glycosides.doc

14. Les glycosides cyanogéniques peuvent être chimiquement définis comme des glycosides d' α -hydroxynitriles et sont des métabolites secondaires produits par les végétaux. Ils sont des éléments d'origine végétale issus des aminoacides. Les précurseurs biosynthétiques des glycosides cyanogéniques sont différents L-aminoacides. Ces aminoacides sont hydroxylés, ensuite les acides *N*-hydroxylamino sont convertis en aldoximes qui sont converties à leur tour en nitriles et hydroxylées en α -hydroxynitriles et ensuite glycosylées en glycosides cyanogéniques (Vetter, 2000; d'après FSANZ, 2004). Tous les glycosides cyanogéniques connus sont liés en bêta, principalement avec le D-glucose. Il y a au moins 2650 espèces de végétaux qui produisent les glycosides cyanogéniques et généralement une enzyme hydrolytique correspondante (bêta-glycosidase). L'enzyme et les glycosides cyanogéniques s'unissent quand la structure cellulaire de la plante est désorganisée et se décompose ensuite en saccharide et une cyanohydrine. La cyanohydrine peut ensuite se décomposer rapidement en HCN et un aldéhyde ou un cétone (Hosel, 1981; Moller et Seigler, 1999; d'après FSANZ, 2004).

15. La linamarine et dans un moindre degré, la lotaustraline sont les principaux glycosides cyanogéniques contenus dans le manioc. Dans les conditions appropriées, la linamarine est convertie en acétone cyanohydrine et en glucose, et la cyanohydrine d'acétone se décompose pour former l'acétone et l'acide hydrocyanique. Dans les conditions appropriées, la lotaustraline est convertie en cyanohydrine de butanone et en glucose, et la cyanohydrine de butanone se décompose en butanone et en acide hydrocyanique.

16. Les principaux glycosides cyanogéniques rencontrés dans les parties comestibles des végétaux et leur structure sont résumés au tableau 1 (**pièce jointe 1**; Cheeke, 1989; OMS, 2003; AESA, 2004). La source de certaines substances aromatisantes contient des glycosides cyanogéniques, y compris l'amygdaline, la sambunifrine et la prunasine (AESA, 2004).

17. La libération de HCN à partir des glycosides cyanogéniques a lieu suite à l'hydrolyse enzymatique par les β -3-glucosidases qui résultent de la macération des tissus végétaux, ou par la microflore intestinale (OMS, 1993; AESA 2004).

Tout au long du présent document de travail, les termes « cyanure d'hydrogène totale (HCN) » et « acide hydrocyanique total » seront utilisés pour décrire le cyanure d'hydrogène issu des glycosides cyanogéniques, des cyanohydrines et du cyanure d'hydrogène « libre ».

Réglementation relative aux niveaux des glycosides cyanogéniques contenus dans les aliments

18. La Commission du Codex Alimentarius a élaboré et publié les normes pour le manioc doux, la farine comestible de manioc et le gari (produit obtenu à partir de la transformation des tubercules de manioc).

Les principaux aspects de ces normes sont:

- le manioc doux est défini comme un produit brut contenant moins de 50 mg/kg de « cyanure d'hydrogène »;
- la farine comestible de manioc est définie comme un produit adapté à la consommation humaine directe et le niveau d' « acide hydrocyanique total » dans la farine ne doit pas dépasser 10 mg/kg; et
- pour le gari, autre produit de consommation humaine directe, l'« acide hydrocyanique total » ne doit pas dépasser 2 mg/kg en tant qu'acide hydrocyanique « libre ».

Australie et Nouvelle-Zélande

19. Le code relatif aux normes alimentaires en Australie et en Nouvelle-Zélande (le Code) stipule l'interdiction de la vente de manioc autre que le « manioc doux » (norme 1.4.4 – Végétaux et champignons interdits et réglementés). Conformément à la norme Codex existante, le « manioc doux » est défini dans le Code (norme 1.1.2 – Autres définitions des aliments) comme « ces variétés de racines de manioc cultivé à partir de *Manihot esculenta* Crantz de la famille des *Euphorbiaceae* qui contiennent moins de 50 mg par kg de HCN (sur la base du produit frais) ». Le Code stipule que le manioc doux cru doit être étiqueté ou accompagné d'une déclaration indiquant que le manioc doux doit être épluché et entièrement cuit avant d'être consommé (norme 1.2.6 – Instructions d'utilisation et d'entreposage). La norme 1.2.6 stipule aussi que les pousses de bambou doivent être entièrement cuites avant d'être consommées. La documentation qui décrit le développement de ces mesures de réglementation alimentaire pour le manioc et les pousses de bambou est disponible sur le lien suivant: <http://www.foodstandards.gov.au/standardsdevelopment/proposals/proposalp257preparationofcassava21august2002/index.cfm>

20. Le Code contient aussi les niveaux suivants pour l'acide hydrocyanique contenu dans les aliments suivants auxquels ont été ajoutés des aromatisants: 25 mg/kg dans la confiserie; 5 mg/kg dans les jus de fruits à noyau; 50 mg/kg dans le massépain; 1 mg/kg pour 1% d'alcool dans les boissons alcoolisées.

Union européenne

21. Dans l'Union européenne, l'annexe II de la directive 88/388 sur les aromatisants fixe les niveaux maximaux autorisés pour le HCN dans les denrées alimentaires et les boissons auxquelles ont été ajoutées des aromatisants ou autres ingrédients alimentaires ayant des propriétés aromatisantes: 1 mg/kg dans les denrées alimentaires, 1 mg/kg dans les boissons, à l'exception de 50 mg/kg dans le nougat, le massépain ou succédanés ou produits similaires, 1 mg par pourcentage d'alcool dans les boissons alcoolisées et 5 mg/kg dans les fruits à noyau en conserves (CEE 1998).

22. Au Royaume-Uni, le niveau maximal de cyanure/acide hydrocyanique est fixé par la *réglementation de 1992 sur les aromatisants dans les aliments*. Autrement, la teneur des aliments en cyanure/acide hydrocyanique n'est pas vraiment réglementée si ce n'est par l'application du Food Safety Act 1990 qui reconnaît comme infraction le fait de vendre ou de posséder pour la vente des aliments préjudiciables pour la santé.

Santé et salubrité publiques

23. La toxicité d'une plante cyanogénique dépend principalement du potentiel lié à sa consommation qui produira une concentration de HCN toxique chez les personnes exposées. Si la plante cyanogénique n'est pas adéquatement détoxifiée pendant la transformation ou la préparation des aliments, les glycosides cyanogéniques dans l'aliment sont toxiques. Si la plante cyanogénique est consommée directement, le bêta-glycosidase est libéré et est alors actif jusqu'à ce que le pH bas de l'estomac désactive l'enzyme, en rejetant au moins une partie du HCN issu des glycosides cyanogéniques. Il est possible qu'une partie de la fraction d'enzyme soit réactivée dans le milieu alcalin de l'intestin, libérant davantage de HCN à partir des glycosides cyanogéniques (OMS, 1993). Concernant le manioc, les comptes rendus antérieurs ont laissé entendre que l'ingestion des racines de manioc mal transformées est associée à l'incidence de la neuropathie ataxique (konzo) dans les pays africains. Qui plus est, la teneur négligeable en protéines et aminoacides essentiels (notamment les aminoacides contenant du soufre) dans le manioc est connue pour altérer les mécanismes de détoxification du cyanure dans le corps (Teles, 2002).

24. Peu d'études ont été faites sur la toxicité des glycosides cyanogéniques depuis l'évaluation par le JECFA à sa 39^{ème} réunion en 1993. Un aperçu des principales études technologiques du HCN et des glycosides cyanogéniques est détaillé en **pièce jointe 2**. Le principal seuil toxicologique préoccupant de l'exposition aiguë au HCN est l'inhibition de l'oxydation mitochondriale due au blocage par le HCN de la chaîne de transport des électrons de la membrane interne de la mitochondrie (Cheeke, 1989). Les ions de cyanure inhibent les enzymes associées à l'oxydation cellulaire et entraînent la mort par perte d'énergie. Les symptômes, qui apparaissent en l'espace de quelques minutes, comprennent les maux de tête, la nausée, les vomissements, les vertiges, les palpitations, l'hyperpnée puis la dyspnée, la bradycardie, la perte de conscience et les convulsions violentes, suivis de la mort (AES 2004).

25. L'ingestion chronique d'acide hydrocyanique, à doses toxiques subaiguës, peut avoir lieu dans la pathogenèse de certaines conditions y compris les troubles de la fonction thyroïdienne et les neuropathies. Les populations humaines consommatrices de manioc présentent des symptômes ophtalmologiques et neurologiques qui sont liés à l'exposition à l'acide hydrocyanique, même s'il est probable que d'autres carences nutritionnelles ou métaboliques affectant le mécanisme de détoxification du cyanure interviennent également (par ex., les carences en sulfate et en zinc). On a également examiné plusieurs études épidémiologiques menées dans les populations consommatrices de manioc, qui ont établi un lien entre l'exposition au cyanure et la paraparèse spasmodique, l'ataxie amblyobique ou la neuropathie ataxique tropicale (TAN) et éventuellement l'apparition d'un goitre. Cependant, les données sont considérablement déformées par d'autres facteurs nutritionnels et environnementaux. Il n'y a pas d'études de la toxicité à long terme chez les animaux dont le régime alimentaire contient de l'acide hydrocyanique ou de la linamarine (JECFA, 1993; Abuye et al, 1998; Teles 2002).

26. Dans l'ensemble, la base de données sur la toxicité de l'acide hydrocyanique et des glycosides cyanogéniques est incomplète et limitée notamment concernant l'ingestion chronique bien que les données soient suffisantes pour établir une dose de référence aiguë (ARfD).

Terminologie

27. La teneur des aliments en glycosides cyanogéniques est généralement indiquée en mg/kg de HCN contenu dans les aliments. Cela montre la teneur en « acide hydrocyanique total » de l'aliment, qui est généralement déterminée en mesurant le HCN libéré lors de l'hydrolyse de l'enzyme ou de l'acide des glycosides cyanogéniques et des cyanohydrines apparentés. Certains documents renvoient à l'« acide hydrocyanique total » comme « potentiel cyanogénique » de l'aliment ou comme acide hydrocyanique « lié » ou aussi « libre et combiné ».

28. Le terme « HCN » est le terme recommandé par l'Union internationale de chimie pure et appliquée pour le cyanure d'hydrogène. Les normes Codex pour le manioc « doux » et « amer » renvoient aux niveaux de « cyanure d'hydrogène dans les aliments bruts ou sur la base du « poids du produit frais ». Cependant, les

autres normes Codex renvoient à l' «acide hydrocyanique total » (farine comestible de manioc) et à l'«acide hydrocyanique total » « déterminé en tant qu'acide hydrocyanique » libre (gari). Les critères généraux Codex pour les aromatisants naturels renvoient à l'«acide hydrocyanique total (libre et combiné) ». Par conséquent, même dans les normes Codex, il semble qu'il n'y ait pas de terme qui soit utilisé de façon cohérente pour décrire le HCN total y compris le cyanure d'hydrogène issu de tous les glycosides cyanogéniques.

29. L'Australie a récemment examiné la terminologie dans le cadre des travaux entrepris sur le HCN total dans les chips de manioc prêtes à consommer^f.

http://www.foodstandards.gov.au/_srcfiles/P1002%20Hydrocyanic%20acid%20in%20cassava%20chips%20AppR%20FINAL.pdf#search=%22p1002%22

La définition suivante est considérée comme appropriée pour l'«acide hydrocyanique, total » contenu dans les chips de manioc prêtes à consommer, pour permettre le suivi de la réglementation sur le HCN:

L'acide hydrocyanique, total renvoie à tout acide hydrocyanique y compris l'acide hydrocyanique issu de la linamarine, lotaustraline, cyanohydrine d'acétone et cyanohydrine de butanone durant ou après l'hydrolyse de l'enzyme ou l'hydrolyse de l'acide, exprimée en milligrammes d'acide hydrocyanique par kilogramme de chips de manioc prêtes à consommer.

Méthodes analytiques pour la détection des glycosides cyanogéniques

30. Les niveaux maximaux pour le HCN total contenus dans certains aliments sont fixés par des réglementations précises dans certains pays. Certaines de ces réglementations sont en place depuis des années.

31. Certaines méthodes publiées pourraient être efficacement utilisées pour mesurer le HCN total contenu dans les aliments (AESA 2007). Les méthodes actuelles qui servent à détecter le HCN consistent en:

- La colorimétrie (Essers et al. 1993);
- La chromatographie en phase gazeuse (Murphy et al., 2006; Shibata et al., 2004);
- Le papier imprégné de picrate (Yeoh and Sun, 2001);
- Les biosenseurs (Mak et al., 2005; Keusgen et al., 2004); et
- La fluorimétrie (Sumuyoshi et al., 1995; Sano et al., 1992)

32. Bien que la méthode de l'hydrolyse acide soit applicable à tous les végétaux, on a appris qu'elle est beaucoup plus difficile à utiliser et moins exacte que la méthode du papier imprégné de picrate qui permet une meilleure détermination de la teneur totale en HCN de tout végétal ou aliment (Haque et Bradbury 2002). Une nouvelle méthode est en cours d'élaboration par le comité CEN/TC327 sur les denrées de consommation animale, qui remplacera la méthode décrite dans la réglementation de la Communauté européenne 71/250/CEE.

Niveaux des glycosides cyanogéniques dans les aliments

33. Une série de niveaux de HCN total dans les végétaux comestibles et dans les ingrédients alimentaires aux propriétés aromatisantes a été signalée dans la documentation (OMS, 1993; AESA, 2004; **pièce jointe 3**) et ces niveaux peuvent varier selon les méthodes de transformation employées. Il est nécessaire d'interpréter prudemment les résultats sur le HCN total contenu dans les aliments car on signale que certaines méthodes analytiques ne garantissent pas toujours l'hydrolyse complète des glycosides cyanogéniques et des cyanohydrines.

Manioc

^f « les chips de manioc prêtes à consommer » sont des aliments qui contiennent du manioc et qui sont définis comme des snacks alimentaires propres à être consommés dans le même état où ils sont vendus, à savoir, sans autre préparation et prêt à la consommation. Ces aliments sont généralement appelés chips, cracottes, crackers, crackers végétariens ou par d'autres termes d'aliments de grignotage. Ce terme n'inclut pas les aliments à base de manioc transformé qui ne sont pas considérés comme des aliments de grignotage comme les desserts, par ex., le pouding ou tapioca.

34. Le manioc pousse bien en climat tropical et est consommé en Afrique et dans les pays insulaires du Pacifique, en Amérique du Sud et dans certaines régions d'Asie y compris l'Indonésie (Knudsen et al 2005). Le manioc est consommé sous différentes formes: en farine, en tranches de racine, en racine râpée (cuite au four, à la vapeur ou frites), en racine entière cuite à la vapeur et en perles de tapioca en dessert (Knudsen et al 2005). Le manioc transformé est l'une des denrées de base de la population de la République démocratique du Congo (RDC) et fournit plus de 60% des besoins énergétiques journaliers (Ngudi et al 2002).

35. Il existe un certain nombre de variétés de manioc, chacune d'entre elles contenant un niveau différent de HCN total, selon l'altitude, la situation géographique et les conditions saisonnières et de production (Oluwole et al 2007). En période de sécheresse, la teneur en HCN total augmente en raison du stress hydrique (Cardoso et al 2005). On signale des valeurs allant de 15 à 400 mg HCN total/kg de produit frais dans les racines de manioc (FSANZ 2004), bien que certains rapports indiquent des niveaux bien supérieurs^g (Oluwole et al, 2007; Cardoso et al 2005) selon la localisation de la culture. Les variétés douces du manioc (à faible teneur en acide hydrocyanique total) contiennent généralement environ 15 à 50 mg/kg de HCN total sur la base de l'aliment brut ou du « poids du produit frais ». Les variétés douces du manioc peuvent être transformées adéquatement par épluchage et cuisson (par ex., torréfiées, cuites au four ou bouillies), alors que les variétés amères du manioc (à teneur en HCN total élevée) exigent une transformation plus poussée, à l'aide de techniques comme la fermentation en tas qui dure plusieurs jours (FSANZ 2004). Des échantillons de racines de manioc transformées (appelées « cossettes ») prélevées sur divers marchés en RDC ont montré des niveaux de HCN total <10 mg/kg (Ngudi et al, 2002). On signale que les variétés amères ne sont généralement pas commercialisées (Knudsen et al 2005); cependant, le manioc étant maintenant une culture de base essentielle dans un certain nombre de pays, il est probable qu'on assiste à une hausse du commerce des variétés de manioc amer.

36. Pendant la transformation de la farine de manioc, la teneur en cyanure a été évaluée (Chiste et al 2005). Dans les racines épluchées, les racines râpées, la masse pressée et la farine, la teneur en cyanure total est respectivement de 154,40, 167,68, 66,59, 5,19 mg HCN/kg. La baisse de la teneur en cyanure des racines par rapport à la farine est due au procédé thermique employé pendant la phase de transformation.

37. Le cyanure total compte de 55,58 à 157,7 mg HCN/kg dans le « tucupi » (produit liquide issu de la fermentation de la masse pressée de manioc amer). 60% des échantillons contiennent plus de 100mg/kg de HCN, pourtant ce produit est soumis à une température élevée avant d'être consommé par les humains (Chiste et al, 2007).

38. La « multimistura » se compose de 5% de feuilles de manioc, de son de blé et de riz, de farines de maïs et de blé et autres ingrédients. Cet aliment est utilisé en supplément aux autres aliments chez les enfants atteints de malnutrition. La teneur en cyanure total de la poudre de feuilles de manioc est de 85 mg/kg. Cette concentration est obtenue quand les feuilles sont écrasées et pétries avant le séchage (Helbig et al, 2008). Conformément à la législation brésilienne, le niveau maximal de HCN autorisé dans la « multimistura » est de 4mg/kg (Brésil, 2000).

Bambou

39. Les pousses de bambou peuvent contenir jusqu'à 1000 mg/kg de HCN, ce qui est généralement supérieur aux quantités signalées dans les tubercules de manioc, cependant, la teneur en HCN total diminue considérablement après la récolte. Les pousses de bambou vendues commercialement en tant qu'aliment sont transformées de façon adéquate en les faisant bouillir avant de les consommer (FSANZ 2004).

Lin

40. Les niveaux normaux de HCN total en mg/kg contenus dans les graines de lin (*Linum usitatissimum* L.) peuvent ne pas dépasser 500 mg/kg comme signalé précédemment (voir la **pièce jointe 3**). Une étude allemande menée sur 48 échantillons de 11 variétés montre un niveau situé entre 217 et 541 mg/kg (Schilcher & Wilkens-Sauter 1986). Haque & Bradbury (2002) signalent des niveaux allant de 140 à 370 mg/kg dans les échantillons prélevés en Australie, en Nouvelle-Zélande et au Canada.. Oomah et al (1992) signalent des niveaux de HCN dans les graines provenant du Canada allant de 266 à 363 mg/kg et

^g <http://online.anu.edu.au/BoZo/CCDN/one.html>

Wanasundara et al. (1999) signalent un niveau de 373 mg HCN/kg de graines dans un échantillon unique de graines provenant du Canada.

41. Les principaux glycosides signalés dans le lin ne sont pas la linamarine mais les diglycosides linustatine et néolinustatine (Niedzwiadz-Siegien 1998, Schilcher & Wilkens-Sauter 1986). Cependant, Omah et al. (1992) signalent de faibles quantités de linamarine dans 8/10 des échantillons de lin et Schilcher & Wilkens-Sauter (1986) signalent des traces de linamarine dans certains échantillons.

Transformation des aliments pour réduire le HCN total

42. La transformation adéquate des aliments contenant des glycosides cyanogéniques réduira les risques pour les consommateurs. Concernant le manioc, le niveau de HCN total dépend de la variété de tubercule de manioc, des conditions culturales et des méthodes de transformation. Le niveau relatif de chaque élément cyanogénique dépend à son tour de la voie de la réaction cyanogénique aux différents stades du procédé, tel que l'illustre la figure 1. La cyanogenèse commence quand le tissu végétal est endommagé. Si une des étapes de la transformation n'a pas lieu ou est interrompue, le manioc final pourrait contenir des niveaux de HCN total élevés inacceptables. Pour davantage de détails, voir la **pièce jointe 4**.

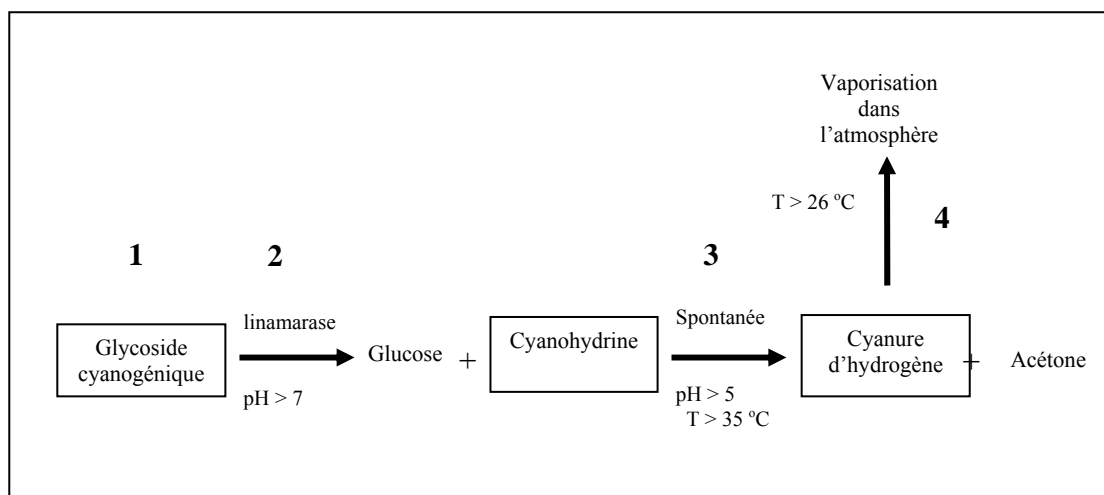


Figure 1: Voie de la réaction de cyanogenèse et étapes de la transformation du manioc. 1: nature du tubercule; 2: râpage, trempage, fermentation; 3: séchage au soleil/au four; 4: séchage solaire, procédé de fabrication à la chaleur (vapeur, friture).

43. Les méthodes de transformation généralement adoptées pour le manioc comprennent l'épluchage, le trempage, la fermentation, l'ébullition ou la cuisson, le séchage, et le concassage/broyage (Padmaja 1995). Cependant, les différentes variétés de manioc affichent des profils d'élimination cyanogène différents pendant la cuisson des racines de manioc. Il semble aussi qu'il existe des différences de stabilité à la chaleur de l'activité du β -glucosidase contenu dans les racines de manioc qui protège l'enzyme contre la désactivation totale pendant la cuisson (Ravi et Padmaja 1997). Les « cossettes » (racines de manioc transformées), un des produits dérivés du manioc le plus populaire dans la République démocratique du Congo, sont transformées par trempage ou immersion des racines de manioc amer frais (entier ou épilé) dans l'eau stagnante ou courante pendant au moins trois jours pour leur permettre de fermenter jusqu'à ce qu'elles se ramollissent. Les racines fermentées sont ensuite retirées de l'eau, épluchées et séchées au soleil sur des claies, ou sur les toits des maisons, pendant deux à cinq jours (Hahn; cité dans Ngudi et al 2002).

44. Il a été signalé que le séchage et la fermentation en tas sont inadéquats pour faire baisser les niveaux de HCN contenu dans le manioc dans la province de Nampula au Mozambique au niveau fixé par l'OMS de 10 ppm (Cardoso et al 2005). La réduction des niveaux de HCN dans le manioc est accomplie en mélangeant bien la farine de manioc et l'eau et en laissant macérer le manioc dans un récipient ouvert pendant cinq

heures avant de procéder à la cuisson, bien que cette méthode soit dépendante d'une quantité adéquate de linamarase pour que la linamarine puisse se décomposer (Bradbury 2006).

45. Le processus de séchage semble réduire le niveau de cyanure tout en affectant l'activité enzymatique. Le séchage solaire est plus efficace que le séchage au four à 60° C pour réduire le niveau de cyanure (82 à 94% contre 68 à 76%, respectivement). On observe que la grande part du cyanure présent dans les feuilles séchées au soleil se compose de cyanure libre (62 à 77%), alors que pour les feuilles séchées à 60 ° C, il n'y a seulement que 24 à 36% de cyanure libre (Gómez et Valdivieso 1985). Une autre étude évalue l'effet de trois températures de séchage (45°C, 60°C et 75°C) sur le niveau de cyanure contenu dans les feuilles de cinq variétés différentes de manioc. On observe que les niveaux les plus bas sont notés dans les feuilles séchées à 60°C, et sont de 7,7 à 15 mg/100 g de matière sèche (Padmaja, 1989).

CONCLUSIONS

46. Une grande diversité caractérise les niveaux signalés pour les glycosides cyanogéniques et leurs dérivés contenus dans les végétaux comestibles et les aliments dérivés de ces végétaux. La toxicité des glycosides cyanogéniques et de leurs dérivés dépend de la libération du HCN contenu dans les tissus végétaux ou de l'action de la microflore intestinale chez les animaux ou les humains. Le JECFA a conclu qu'un niveau allant jusqu'à 10 mg/kg de HCN dans la norme pour la farine comestible de manioc (CODEX STAN 176-1989) n'entraîne pas de toxicité aiguë (OMS, 1993). Une étude des données disponibles auprès de l'Autorité européenne de sécurité des aliments (journal de l'AESA) en 2004 a abouti à la même conclusion.

47. Faute d'information quantitative toxicologique et épidémiologique au moment de son évaluation en 1993, le JECFA n'a pas pu établir de niveau sans risque pour l'ingestion des glycosides cyanogéniques. La base de données sur la toxicité de l'acide hydrocyanique et des glycosides cyanogéniques est incomplète et limitée, notamment concernant l'ingestion chronique. Les études menées par les autres organismes réglementaires (le comité du Royaume-Uni sur la toxicité et l'AESA) ont laissé entendre qu'il n'existe aucune étude à long terme chez les animaux ou chez les humains traités soit avec le HCN soit les glycosides cyanogéniques permettant d'établir une DJTP. Par conséquent, il serait approprié de solliciter davantage de données quantitatives sur l'exposition chronique des animaux ou des humains soit au HCN soit aux glycosides cyanogéniques pris individuellement, en vue d'établir une DJTP. Davantage d'information est également nécessaire sur la toxicocinétique des glycosides cyanogéniques. Compte tenu des implications aiguës potentielles des glycosides cyanogéniques et de leurs métabolites en matière de santé publique, il serait souhaitable de rassembler et d'examiner les données disponibles sur la toxicité des glycosides cyanogéniques et d'actualiser l'évaluation toxicologique réalisée en 1993 par le JECFA.

48. La toxicité associée aux glycosides cyanogéniques et à leurs dérivés contenus dans les aliments peut être réduite par la préparation appropriée de la matière végétale avant sa consommation. Cependant, il est difficile de dire quelles mesures sont suffisantes pour réduire le potentiel de toxicité chez les humains lié à la consommation des glycosides cyanogéniques, notamment des aliments qui contiennent des niveaux élevés par ex., le manioc amer, les amandes amères et les noyaux d'abricots. C'est pourquoi il serait approprié de rassembler les méthodes de préparation et de transformation disponibles et d'envisager la nécessité d'établir un Code d'usages pour la production et la transformation des aliments contenant des glycosides cyanogéniques, y compris pour des aliments donnés.

49. Pour permettre un examen approfondi des implications en matière de santé publique associées au HCN total contenu dans les aliments, les données sur le HCN total dans les aliments doivent être rassemblées ainsi que les méthodes analytiques utilisées pour produire ces données. Pour compléter ces données, l'information sur les limites réglementaires qui sont appliquées dans des pays ou régions donnés permettrait aussi d'interpréter les données sur le HCN total.

50. Faute de terme universellement acceptable pour le HCN total, il est nécessaire d'examiner le besoin éventuel d'un descripteur approprié pour le HCN total contenu dans les aliments, y compris les glycosides cyanogéniques et les cyanohydrines. Cela comprendrait l'examen de la base du descripteur et la forme de l'aliment auquel s'applique le descripteur, à savoir « tel quel » ou « sur la base du poids du produit sec », « sur la base de l'aliment brut » ou « sur la base du produit frais ». Cela supposerait d'examiner les différents termes utilisés pour indiquer les glycosides cyanogéniques, les cyanohydrines et le cyanure d'hydrogène dans les aliments et déterminer si un terme universellement acceptable peut être retenu. Cela pourrait alors se poursuivre par l'étude des termes existants utilisés dans les normes Codex pertinentes afin de remédier aux incohérences actuelles contenues dans ces normes.

51. Pour faciliter la cohérence du suivi du HCN dans les aliments, l'information sur les méthodes utilisées doit être rassemblée et examinée. Cela pourrait faire partie de l'examen de tout Code d'usages ou niveau maximal futurs pour les glycosides cyanogéniques contenus dans les aliments.

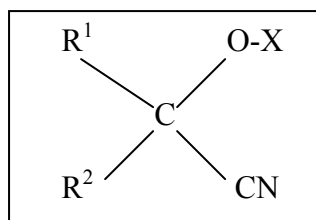
RECOMMANDATIONS

52. Suite à la demande du CCCF d'examiner les données disponibles sur les glycosides cyanogéniques, et le problème récemment posé par les chips de manioc prêtes à consommer en Australie, le groupe de travail électronique formule les recommandations suivantes:

- Le JECFA est invité à ré-examiner les données disponibles sur les glycosides cyanogéniques et de fournir des avis sur les implications en matière de santé publique des glycosides cyanogéniques et de leurs dérivés dans les aliments. Notamment, s'il y a des données suffisantes pour établir une norme sanitaire appropriée, comme une dose de référence aiguë ou une limite journalière tolérable, pour les glycosides cyanogéniques et leurs dérivés présents dans les aliments.
- Le JECFA est invité à examiner si le niveau actuel d'un maximum de 10mg/kg de HCN dans la norme pour la farine comestible de manioc est encore ou non un niveau qui n'entraîne pas de toxicité aiguë et qui peut être appliqué à tout autre aliment contenant du HCN.
- Le JECFA est invité à examiner quels niveaux de glycosides cyanogéniques et de leurs dérivés sont appropriés dans les aliments, y compris les niveaux qui sont appropriés pour minimiser les risques pour la santé publique liés à la consommation des aliments contenant des glycosides cyanogéniques et leurs dérivés.
- Le JECFA est invité à examiner quel pourrait être le descripteur approprié pour le HCN total contenu dans les aliments.
- En prenant en considération toute évaluation par le JECFA, le CCCF envisagera d'élaborer un Code d'usages pour la production, la transformation et la commercialisation des aliments qui pourraient contenir des glycosides cyanogéniques ou leurs dérivés. En consultation avec le CCFL, cela comprendrait aussi la nécessité éventuelle d'information supplémentaire sur ces aliments pour assurer la transformation adéquate par les consommateurs des aliments contenant des glycosides cyanogéniques avant consommation.
- Suite à la soumission de tout avis d'évaluation des risques par le JECFA, le CCCF et le CCMAS doivent examiner les normes Codex actuelles concernées pour assurer que ces normes sont cohérentes concernant toute limite établie pour les glycosides cyanogéniques et leurs dérivés dans les aliments.

Pièce jointe 1

HCN

Tableau 1. Structure générale des glycosides cyanogéniques

Nom	Formule moléculaire masse numéro CAC	R ¹	R ²	X	Configuration	Occurrence*
Amygdaline	C ₂₀ H ₂₇ NO ₁₁ 457.4334 29883-15-6	Phényle	H	Gentiobiose	R	Noyaux d'amande, pêche, abricot, prune, cerise, pomme et coing
Linamarine	C ₁₀ H ₁₇ NO ₆ 247.2474 554-35-8	Méthyle	Méthyle	Glucose	-	Manioc, haricots de Lima, (graines de lin)
Prunasine	C ₁₄ H ₁₇ NO ₆ 295.29 99-18-3	Phényle	H	Glucose	R	Fougères, par ex., fougères grand aigle, cormes
Linustatine	C ₁₆ H ₂₇ NO ₁₁ 409.39 72229-40-4	Méthyle	Méthyle	Gentiobiose	-	Graines de lin, manioc
Lotaustraline	C ₁₁ H ₁₉ NO ₆ 261.272 534-67-8	Méthyle	Ethyle	Glucose	R	Haricots de Lima, (manioc), (graines de lin)
Neolinustatine	C ₁₇ H ₂₉ NO ₁₁ 423.42 7229-42-6	Méthyle	Ethyle	Gentiobiose	R	Graines de lin
Sambunigrine	C ₁₄ H ₁₇ NO ₆ 295.29 138-53-4	Phényle	H	Glucose	S	Baies de sureau
Taxiphylline	C ₁₄ H ₁₇ NO ₇ 311.29 21401-21-8	p- Hydroxy- phényle	H	Glucose	R	Pousses de bambou
Dhurrine	C ₁₄ H ₁₇ NO ₇ 311.29 499-20-7	p- Hydroxy- phényle	H	Glucose	S	Durra, (sorgho)

*les sources moins importantes sont indiquées entre parenthèses

Dans l'hydrolyse, un gramme de chacun des glycosides cyanogéniques peut libérer respectivement les quantités suivantes de HCN: amygdaline, 59,1mg HCN (équivalent à 56,9mg de glycosides cyanogéniques), linamarine 109,3mg HCN (équivalent à 105,2mg de glycosides cyanogéniques) et prunasine 91,5mg HCN (équivalent à 88,1mg de glycosides cyanogéniques).

Pièce jointe 2

TOXICOLOGIE

L'Australie a récemment examiné la toxicologie du HCN et de glycosides cyanogéniques précis suite aux niveaux élevés de HCN détectés dans les chips de manioc prêtes à consommer. <http://www.foodstandards.gov.au/srcfiles/P1002%20Hydrocyanic%20acid%20in%20cassava%20chips%20AppR%20FINAL.pdf#search=%22cassava%20chips%22>

Après administration orale, le HCN est facilement absorbé et se répand rapidement dans le corps, et on sait qu'il se combine avec le fer à la fois dans la méthémoglobine et l'hémoglobine présentes dans les érythrocytes (OMS, 1993; USEPA, 1993; AESA, 2004). Suite à l'administration orale, une partie de la linamarine ingérée est absorbée et excrétée inchangée dans l'urine (Barrett *et al.*, 1977; Hernandez *et al.*, 1995; Carlsson *et al.*, 1999). Le reste est converti enzymatiquement en acide hydrocyanique par les micro-organismes du tractus gastro-intestinal (Frakes *et al.*, 1986a; Carlsson *et al.*, 1999). L'acide hydrocyanique absorbé dans l'intestin est métaboliquement converti en thiocyanate moins toxique (Carlsson *et al.*, 1999). Les autres voies de détoxification comprennent l'association avec la vitamine B12 ou certains aminoacides contenant du soufre (Askar, 1983; Ludwig *et al.*, 1975; Freeman, 1988). La toxicité aiguë est atteinte quand le taux d'absorption de l'acide hydrocyanique est tel que la capacité de détoxification métabolique du corps est dépassée.

Le principal seuil toxicologique préoccupant concernant le HCN est l'inhibition de l'oxydation mitochondriale qui, si le niveau de l'exposition au HCN dépasse la capacité des mécanismes de détoxification physiologique normaux, peut entraîner rapidement la mort (Gettler & Baine, 1938; OMS, 1993; NTP, 1993; AESA, 2004). Les manifestations cliniques de l'empoisonnement aigu au cyanure, notamment les doses non létales, sont généralement aspécifiques et rappellent essentiellement celles du manque d'apport d'oxygène au cœur et au cerveau. Généralement, ces effets comprennent les maux de tête, les vertiges, les douleurs d'estomac, ou la confusion mentale (Montgomery, 1969; Gosselin *et al.*, 1976). Comme ces symptômes ressemblent étroitement à ceux des troubles légers du tractus gastro-intestinal ou dus à des excès, et que la courbe dose-réponse est abrupte, les individus exposés à des niveaux élevés de HCN peuvent ne pas reconnaître les symptômes d'alerte avant de consommer une dose létale. Il est probable que cela soit particulièrement le cas chez les jeunes enfants (Geller *et al.*, 2006). On signale des morts chez les humains à partir de doses aussi faibles que 0,58 mg/kg p.c.

Le HCN est un élément normal de la physiologie des mammifères, et des mécanismes efficaces de détoxification sont présents. La clairance du cyanure est rapide et sa demi-vie est courte, 14 minutes chez les rats. Pour la toxicité aiguë, l'exposition systémique maximum (C_{max}) est le déterminant principal de la toxicité au lieu de l'exposition moyenne dans le temps (AUC). Un individu qui consomme une dose quasi létale en quelques minutes par exemple, aura des niveaux de fond de cyanure sanguin normaux environ 2 heures après (soit 6 demi-vies). Ainsi, la valeur de référence toxicologique appropriée doit exprimer la toxicité aiguë plutôt que cumulative, et l'exposition alimentaire doit exprimer les ingestions ponctuelles et non les moyennes sur des périodes prolongées.

Les valeurs pour la toxicité aiguë de l'acide hydrocyanique chez la souris, le rat, le lapin et le chien sont relativement identiques aux doses orales létales médianes (50% de mort) estimées à 3-4 mg de cyanure/kg p.c. chez les rats et les lapins. Chez les chiens, la dose létale médiane est de 2 mg de cyanure/kg p.c. alors que chez les souris, elle est de 6 mg de cyanure/kg p.c. avec le cyanure de potassium (Conn, 1979). Sur la base des analyses des teneurs en cyanure dans les tissus et dans le tractus gastro-intestinal résultant des cas d'empoisonnement fatal (et la cinétique comparée chez les chiens), Gettler & Baine (1938) estiment que la mort par suicide a lieu après absorption d'une moyenne de 1,4 mg d'acide hydrocyanique/kg p.c.; la dose fatale absorbée la plus faible est de 0,58 mg d'acide hydrocyanique/kg p.c. Cependant, les doses orales létales d'acide hydrocyanique dans quatre cas de suicide signalés par Gettler & Baine calculées à partir de la quantité totale d'acide hydrocyanique absorbé par le corps au moment du décès, et celles calculées à partir de la quantité d'acide hydrocyanique trouvé dans le tractus digestif, étaient considérablement différentes (calculées en mg d'acide hydrocyanique): 1450 (62,5 kg p.c.), 556,5 (74,5 kg p.c.), 296,7 (50,7 kg p.c.), et 29,8 (51 kg p.c.). Cela correspond à des doses allant de 0,58 mg/kg p.c. à 23 mg/kg p.c.

Les signes de tératogénicité chez les fœtus des hamsters traités avec 120 ou 140 mg de linamarine/kg p.c. (équivalent à 13,1 et 15,3 mg d'acide hydrocyanique/kg p.c., respectivement) au jour 8 de la gestation n'ont montré que des doses de toxicité maternelle (Frakes *et al.*, 1986b).

Les données expérimentales sur la toxicité chronique et la cancérogénicité ne sont pas disponibles. Dans l'ensemble, les tests de mutagénicité menés avec l'acide hydrocyanique et les cyanures au niveau des gènes et/ou des chromosomes n'ont pas révélé de potentiel génotoxique (De Flora, 1981, cité dans EPA, 1993; Kushi *et al.*, 1983, cité dans EPA, 1993; Leuschner *et al.*, 1989). L'EPA américain considère qu'il n'entre pas dans la catégorie des cancérogènes (US EPA, 1993).

L'empoisonnement au cyanure par ingestion d'aliments contenant un glycoside cyanogénique comme le manioc semble être très rare dans les régions où ils sont une composante majeure du régime alimentaire, mais il est plus fréquent chez les enfants des pays tropicaux, où ces aliments sont des composantes plus importantes du régime alimentaire. De nombreux cas d'empoisonnement aigu au cyanure après ingestion de manioc ont été signalés chez les enfants dans les pays tropicaux (Dawood, 1969; Cheok, 1978; Akintonwa, 1992; Arrifin, 1992; Espinoza *et al.*, 1992; Ruangkanhasetr *et al.*, 1999).

Les enfants semblent être plus susceptibles que les adultes à l'empoisonnement par ingestion des aliments cyanogéniques comme le manioc et développent une toxicité plus forte que les adultes qui ingèrent simultanément le manioc. La vulnérabilité d'apparence plus grande chez les enfants à l'empoisonnement par les aliments cyanogéniques est probablement due au fait que leur masse corporelle est inférieure.

La consommation à long terme de manioc contenant des niveaux élevés de glycosides cyanogéniques, constituant généralement la source principale de calories, et associée à la malnutrition et aux carences en protéines et en vitamines, est liée aux maladies neurologiques comme la neuropathie ataxique tropicale et la paraparèse spasmodique endémique. Dans les régions où l'ingestion d'iode est faible, le développement de l'hypothyroïdie et d'un goitre, parfois accompagnés de maladies neurologiques, est également associée au manioc (JECFA, 1993; Abuye *et al.*, 1998). Alors que l'exposition journalière au cyanure a été estimée à 15–50 mg/jour dans les régions endémiques, en raison des limites des données sur l'exposition, qui risquent d'être fort variables, et l'impact potentiel des facteurs de confusion, comme la malnutrition généralisée, la faible teneur protéique du régime alimentaire, et le niveau de l'iode, les données disponibles ne fournissent pas d'information probante sur la dose-réponse pour le cyanure.

Toxicité aiguë

Concernant la toxicité aiguë, le concept d'une dose journalière admissible (DJA) ou dose journalière tolérable (DJT) ne semble pas approprié. Pour la toxicité aiguë, la valeur de référence appropriée est la dose de référence aiguë (ARfD), quantité maximum qui peut aussi bien être consommée sans risque dans un seul repas ou dans un seul jour.

Pour ce qui est d'établir une norme sanitaire fixant la dose sans risque de la consommation de noyaux d'abricot amer, le comité sur la toxicité du Royaume-Uni signale que la base de données sur la toxicité du cyanure et des glycosides cyanogéniques chez les humains est incomplète. Il reconnaît que la dose orale létale signalée pour le cyanure chez les humains est de l'ordre de 0,5 à 3,5 mg/kg p.c. Il applique un facteur de sécurité de 100 (10 pour exprimer la variabilité inter-individuelle et 10 pour extrapoler d'un niveau avec effet à un niveau sans effet, en tenant compte de la courbe abrupte de la relation dose-réponse) à la dose létale la plus faible (0,5 mg/kg p.c.). Cela indique qu'il est peu probable que la dose de 0,005 mg/kg p.c. ne produise d'effets aigus, c'est une dose de référence aiguë (ARfD) « nominale ».

La dose létale estimée pour l'acide hydrocyanique (0,5 mg/kg p.c.) utilisée pour établir cette dose de référence aiguë nominale est basée sur un seul individu qui a ingéré une préparation de sel de cyanure non spécifiée pour se suicider (Gettler & Baine, 1938). En revanche, il y a peu de doute que cette norme sanitaire fournit la protection nécessaire, mais elle pourrait être trop prudente car elle ne tient aucun compte des différentes toxicocinétiques pour l'amygdaline (le glycoside cyanogénique présent dans les noyaux d'abricot) qui suppose la conversion enzymatique bactérienne en acide hydrocyanique une fois ingéré. Inversement, l'acide hydrocyanique ingéré est rapidement absorbé inchangé dans le tractus gastro-intestinal.

Dans une étude toxicocinétique par Frakes *et al.*, (1986a) 4 sur 20 des hamsters auxquels on a administré une dose de 0,44 mmol d'amygdaline/kg p.c. (201 mg/kg p.c.) sont morts. Les concentrations de cyanure sanguin suite au traitement à l'amygdaline ont atteint leur niveau le plus élevé (130 nmol/mL) 1 h après administration et sont restées élevées 3 heures après le traitement. Cette concentration de cyanure dans le

sang est identique à celle obtenue après l'administration orale de 0,44 mmol de linamarine /kg p.c.(108 mg/kg p.c.), à savoir 116 µmol/L et elle correspondent aussi étroitement aux concentrations dans le sang connues pour être létales chez les humains, soit 100 à 115 µmol/L (Geller *et al.*, 2006).

Lors d'une étude développementale, une dose unique de linamarine administrée par gavage des hamsters au jour 8 de la gestation a permis d'identifier un niveau sans effet nocif observé (NOAEL) possible de 70 mg/kg p.c. (Frakes *et al.*, 1985). Cette étude portait sur le potentiel tératogénique après ingestion d'une dose unique de linamarine de 70, 100, 120 ou 140 mg/kg p.c. le jour 8 de la gestation. Bien qu'aucune mort n'ait été observée à la dose suivante supérieure à 100 mg/kg p.c. dans l'étude de la tératogénicité, une étude toxicocinétique de suivi par les mêmes chercheurs sur un nombre plus grand de hamsters non gravides a révélé que la mort et les signes cliniques se produisent à 108 mg/kg p.c. (Frakes *et al.*, 1986a). Cette information sème le doute quant au fait que la valeur de 70 mg/kg p.c. soit le « vrai » NOAEL (niveau sans effet nocif observé) parce qu'un nombre plus grand de hamsters par groupe montrerait une incidence significative des signes cliniques.

Sur la base d'un NOAEL de 70 mg/kg p.c. et en appliquant un facteur de sécurité de 100, on obtient une dose de référence aiguë (ARfD) de $70/100 = 0,7$ mg de linamarine/kg p.c. Le facteur de sécurité de 100 pourrait être appliqué pour tenir compte de la variabilité intraspécifique de la sensibilité et de l'extrapolation interspécifique. La dose de référence aiguë (ARfD) de la linamarine équivaut à une ARfD pour le HCN de 0,08 mg/kg p.c. Comme la dose absorbée fatale signalée la plus faible pour le HCN est de 0,58 mg/kg p.c., la ARfD pour l'acide hydrocyanique fournit une marge d'exposition de 7 qui, compte tenu de la courbe abrupte de la dose-réponse pour la toxicité du HCN, est considérée comme appropriée.

Une confirmation supplémentaire de l'utilisation du hamster comme substitution pertinente dans l'évaluation des risques pour l'homme vient de l'observation que, chez les humains adultes, le niveau de cyanure sanguin qui est considéré comme « toxique » et qui produit des signes cliniques suite à l'exposition aiguë est généralement considéré comme étant ≥ 1 mg/L (39 µmol/L), alors que la concentration « fatale » est généralement considérée comme supérieure à 2,6 à 3 mg/L (100 – 115 µmol/L) (Geller *et al.*, 2006). Ces concentrations qui sont considérées comme létales chez les humains montrent une correspondance remarquable avec les niveaux qui ont causé la mort chez les hamsters après ingestion d'une dose orale de 0,44 mmol de linamarine/kg p.c. La concentration de cyanure dans le plasma à la suite d'un traitement à la linamarine atteint un maximum de 116 µmol/L.

La dose de référence aiguë de 0,7 mg de linamarine/kg p.c. est aussi confirmée par l'absence d'effets indésirables chez les bénévoles suite à l'ingestion alimentaire de linamarine contenue dans le porridge à base de manioc à des doses allant de 1 à 2,5 mg de linamarine/kg p.c. (Carlsson *et al.*, 1999). Cette étude du destin métabolique chez les humains ne permettra sans doute pas d'établir une dose de référence aiguë en raison de la marge inadéquate des paramètres cliniques mesurés et signalés. Par ailleurs, l'utilisation de la dose la plus élevée testée dans cette étude sur des bénévoles entraînerait en une dose de référence aiguë inférieure une fois que le facteur de sécurité de 10 pour la variabilité intraspécifique sera appliqué. Les signes cliniques et les symptômes de toxicité aiguë au cyanure chez les humains sont subtils et les études conçues pour surveiller les effets exigent des protocoles qui tiennent compte du suivi des maux de tête, des vertiges, des douleurs de l'estomac, ou de la confusion mentale. L'étude par Carlsson *et al.* (1999) n'indique pas si ce suivi a eu lieu.

Dose journalière tolérable provisoire

Le tableau 4 montre les niveaux de DJTP qui ont été établis par plusieurs organes de réglementation. Les valeurs de la DJTP vont de 0,02 mg/kg p.c./jour à 0,108 mg/kg p.c./jour.

Tableau 4: Normes sanitaires (DJTP) établies par d'autres organes de réglementation

Organisation*	Année	Étude du NOAEL	NOAEL (mg HCN/kg p.c./jour)	DJTP (mg HCN/kg p.c./jour)
JMPR	1965	Étude de deux ans sur des rats; (Howard & Hanzal, 1955)	5	0,05
US EPA	1993	Étude de deux ans sur des rats; (Howard & Hanzal, 1955)	10,8	0,108

		Hanzal,1955)		
JECFA	1993	-	-	Aucune donnée disponible pour permettre d'établir une DJTP
AESA	2004			
UK COT	2006			
CoE	2000	Plusieurs études épidémiologiques	0,19	0,02
CoE	2005	Étude de trois mois sur des rats; (NTP, 1993)	4,5	0,023
ATSDR	2006	Étude de trois mois sur des rats; (NTP, 1993)	5	0,05
OMS	2004	Étude de six mois sur des porcs. (Jackson, 1988)	1,2	0,012
OMS	2007	Étude de trois mois sur des rats; (NTP, 1993)	4,5	0,045

* JMPR, réunion conjointe FAO/OMS sur les résidus de pesticides; US EPA, Agence de protection environnementale américaine; JECFA, Comité mixte FAO/OMS d'experts des additifs alimentaires; AESA, Autorité européenne de sécurité des aliments; UK COT, Comité sur la toxicité du Royaume Uni; CoE, Comité d'experts du Conseil de l'Europe sur les matières aromatisantes; ATSDR, Agence pour le registre des substances toxiques et maladies; OMS, Organisation mondiale de la santé.

Le JECFA, l'AESA et le Comité sur la toxicité du Royaume-Uni ont conclu que faute d'études quantitatives probantes sur la toxicité à long terme chez les animaux traités avec le HCN ou les glycosides cyanogéniques, ils ont été incapables d'établir une DJTP.

Pièce jointe 3

Sources et niveaux normaux de HCN total contenus dans les végétaux comestibles et dans les ingrédients alimentaires aux propriétés aromatisantes (AESA, 2004; OMS 1993)

Végétal	Parties contenant du HCN	Niveaux normaux de HCN total en mg/kg	Type de glycoside
Manioc	Racine (doux)	10-20	Linamarine
	Racine (amer)	15-1120	
Haricot de Lima	Graine	100 à 3000 (selon la variété de graine)	Linamarine
Haricot de jardin	Graine	20	Linamarine
Amande amère	Graine, noyau	300 to 3400	Amygdaline
	Dans l'huile d'amande	800 to 4000	
Abricot	Graine, noyau	120-4000	Prunasine
Pêche	Graine, noyau	470	Prunasine
Petits pois	Graine	20	Aucune information
Soja	Coque	1,240	Aucune information
Lin	Graine	>500	Linamarine

Produit alimentaire	Niveaux normaux de HCN total dans les aliments
Amandes pilées (poudre)	1,4 mg/kg
Massepain et autres produits similaires à base de noyau d'abricot	15-50 mg/kg
Massepain fantaisie	<0,8 mg/kg
Pâte d'amande	3 mg/kg
Jus de cerise	0,5 à 12 mg/L
Jus de prune	0,33 à 1 mg/L
Jus d'abricot	>0,1 à 7,8 mg/L
Jus de pêche	2,3 à 5,9 mg/L
Fruits à noyau en conserve	0,18 mg/kg
Fruits à noyau en boîte	Jusqu'à 4 mg/kg
Kirsch (61% alcool; distillation des cerises)	<10 mg/L
Calvados (40% alcool, distillation des pommes)	<0.5 mg/L
Eau-de-vie de fruits à noyau	<3mg/L
Confiserie et produits de boulangerie contenant des amandes et/ou du massepain	Jusqu'à 40 mg/kg
Massepain enrobé de chocolat	1, mg/kg

Indonésie

Données sur le niveau de HCN total contenu dans les produits à base de manioc en Indonésie

Produit	Fourchette du niveau de HCN total	Méthode utilisée pour les tests
Manioc brut	23,65 – 50,65 ppm	Picrate Spectrophotomètre (J.Sci Food Agric. 1997)
Produits à base de manioc (produits à base de farine de manioc et chips de manioc)	0,42 – 16,24 ppm	Picrate Spectrophotomètre (J.Sci Food Agric. 1997)

Brésil

Dans le tableau ci-dessous, figurent les niveaux des glycosides cyanogéniques contenus dans les feuilles de manioc, jeunes et matures, la farine de manioc brut et torréfié, la farine de manioc fermenté et non fermenté (Santana et al, 2008). Ces niveaux ont été déterminés par les méthodes utilisant le picrate et l'hydrolyse acide (Haque et Bradbury; 2002).

Niveaux contenus dans les feuilles de manioc et les produits à base de manioc

Produits	Niveaux de glycosides cyanogéniques (ppm)			
	Échantillon 1	Échantillon 2	Échantillon 3	Échantillon 4
Feuilles de manioc jeunes (moins d'un an)	261,60	235,54	220,41	239,18
Feuilles de manioc matures (plus d'un an)	356,44	337,95	325,04	339,81
Farine de manioc brut Marque 1	0,95	0,24	5,66	2,28
Farine de manioc brut Marque 2	14,45	1,43	0,80	5,56
Farine de manioc torréfié Marque 1	3,17	0,20	26,14	9,83
Farine de manioc torréfié Marque 2	4,47	2,14	3,33	3,31
Farine de manioc non fermenté Marque 1	1,90	1,90	2,50	2,10
Farine de manioc non fermenté Marque 2	6,10	0,12	1,50	2,57
Farine de manioc fermenté Marque 1	0,20	0,36	2,06	0,87
Farine de manioc fermenté Marque 2	0,40	0,08	4,16	1,54

Pièce jointe 4

Transformation du manioc visant à réduire la teneur en HCN total

La production normale de farine ou d'amidon de manioc, notamment dans les usines de production commerciale à grande échelle, assure que les étapes et les paramètres visant à éliminer le HCN total du manioc sont efficaces. L'amidon de manioc, connu aussi sous le nom d'amidon de tapioca, est un des amidons les plus couramment utilisés dans la fabrication des aliments et dans les fonctions d'épaississeur, d'émulsifiant, ou comme ingrédient dans la confiserie. Les niveaux de HCN total dans certains amidons modifiés pourraient être aussi faibles que 0,01 mg/kg.

Les tubercules de manioc, une fois récoltés, sont généralement fermentés ou séchés pour inhiber les changements physiologiques de détérioration et la croissance microbologique. Les principales étapes de la transformation, telles que portées en figure 1, sont étudiées par rapport aux quatre étapes de la voie de cyanogénèse, par examen des paramètres et des techniques qui sont les plus efficaces à éliminer le HCN total et à assurer la qualité des produits finis. Des niveaux élevés inacceptables de HCN total détectés dans les produits à base de manioc seront très probablement dus à une défaillance dans l'une de ces étapes.

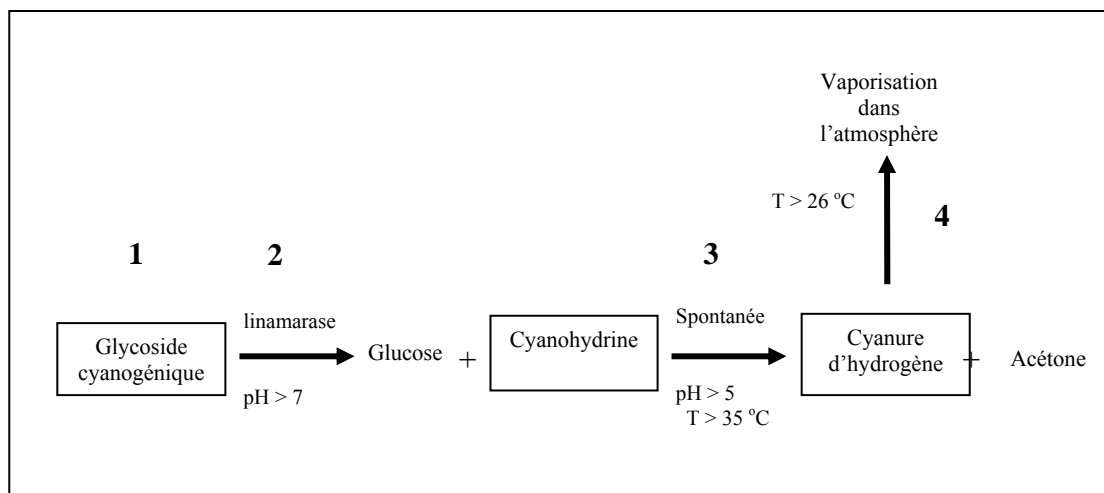


Figure 1: Voie de la réaction de cyanogénèse et étapes de la transformation du manioc. 1: nature du tubercule; 2: râpage, trempage, fermentation; 3: séchage au soleil/au four; 4: séchage solaire, procédé de fabrication à la chaleur (vapeur, friture).

Étape 1: Nature du tubercule de manioc. Si les tubercules contiennent des niveaux élevés de glycosides cyanogéniques, il est difficile de réduire ces niveaux à un niveau acceptable par les procédés de transformation normale pour les produits à base de manioc. Les tubercules de manioc amer contiennent des niveaux de glycosides cyanogéniques bien plus élevés que les variétés de manioc doux et parmi les variétés de manioc doux, la fourchette des niveaux des glycosides cyanogéniques contenus dans les tubercules est large. Le stress lié à la sécheresse engendre la production et l'accumulation de niveaux élevés de glycosides cyanogéniques dans le manioc.

Étape 2: Râpage, trempage et fermentation. La libération d'enzymes (par ex., la linamarase) des parois cellulaires écrasées dans des conditions appropriées pour que les enzymes réagissent avec les glycosides cyanogéniques est critique. Si cette étape de la transformation est écourtée ou modifiée, par exemple pour empêcher la croissance microbienne ou le brunissement du manioc brut, des niveaux élevés de glycosides cyanogéniques pourraient rester dans les produits finis.

Par conséquent, la taille des morceaux de manioc râpé ou tranché, le temps accordé à la fermentation ou au trempage et la température et le pH du produit déterminent chacun la quantité de glycosides cyanogéniques

qui sera éliminée. Si une température élevée est utilisée immédiatement après avoir râpé ou tranché le manioc, par exemple, pour la friture des chips de manioc tranché ou le séchage à four chaud, l'enzyme sera inactive et les produits à base de manioc cuit contiendront des niveaux élevés de glycosides cyanogéniques. Si des conservateurs à pH faible, comme l'acide acétique et les métrasulfites de sodium, sont utilisés dans cette étape, il est possible que cela affecte la conversion des glycosides cyanogéniques.

Étape 3: Séchage solaire/au four. L'action des enzymes se poursuit ici, ainsi que la décomposition spontanée des cyanohydrines en cyanure d'hydrogène, avec un pH supérieur à 5 et une température supérieure à 35°C. Le produit final de cette voie de cyanogenèse est le cyanure d'hydrogène volatil, qui se vaporise à 26°C. Par conséquent, si le manioc en morceaux, en purée ou en tranches est suffisamment fin et s'étale bien pour l'étape du séchage, le cyanure d'hydrogène se libère plus facilement dans l'atmosphère. L'utilisation de fours chauds pour accélérer le processus du séchage, ou quand le séchage solaire n'est pas disponible, peut dénaturer l'enzyme ou piéger l'enzyme dans la matrice de manioc sec et empêcher la conversion des glycosides cyanogéniques en cyanure d'hydrogène volatil. Par conséquent, les produits à base de manioc qui ont été séchés trop rapidement contiendront des éléments cyanogéniques, de cyanohydrine et de cyanure piégés dans la matrice de manioc.

Étape 4: Processus final de fabrication du produit alimentaire. Si le cyanure d'hydrogène est piégé dans les produits à base de manioc séché (amidon, farine ou chips brutes), une transformation supplémentaire de ces produits pourrait permettre au cyanure d'hydrogène d'être libéré (si la température pendant le processus est supérieure à 26°C). Si le cyanure est encore sous la forme de glycoside cyanogénique, un processus de vaporisation à température inférieure à 100°C permet aux enzymes (par ex., la linamarase) d'être réactivées et d'hydrolyser les glycosides, libérant ainsi le cyanure d'hydrogène. Cependant, si le produit à base de manioc (tranches ou chips) est soumis à une température élevée pendant la friture, le glycoside cyanogénique restera

dans

le

produit.

http://www.foodstandards.gov.au/_srcfiles/P1002%20Hydrocyanic%20acid%20in%20cassava%20chips%20AppR%20FINAL.pdf#search=%22cassava%20chips%22

REFERENCES

- Abuye C, Kelbessa U, & Wolde-Gebriel S (1998) Health effects of cassava consumption in south Ethiopia. *East African Medical Journal*, 75: 166–170.
- Akintonwa A, & Tunwashe OL. Fatal cyanide poisoning from cassava-based meal. *Hum Exp Toxicol*. 1992;11 :47 –49
- Ariffin WA, Choo KE, & Karnaneedi S. (1992) Cassava (ubi kayu) poisoning in children. *Med J Malaysia*. 47: 231–234.
- Askar, A. & Morad M.M. (1983). *Lebensmittelvergiftigung 1. Toxine in natürlichen Lebensmittel*. Alimenta. 19, 59-66.
- ATSDR (2006) Toxicological Profile for Cyanide; Chapter 3 - Health Effects. Available at <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp8.html>
- Barrett M.D., Hill D.C., Alexander J.C. & Zitnak A. (1977). Fate of orally dosed linamarin in the rat. *Can. J. Physiol. Pharmacol*. 55, 134-136.
- Bradbury HJ (2006) Simple wetting method to reduce cyanogen content of cassava flour. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19, 388-393.
- Brazil. Resolução RDC n.53 de 15/06/2000. Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Mistura à base de Farelos de Cereais. Aprovado pelo Decreto 3.029, de 16 de abril de 1999. *Diário Oficial da União*. 2000 19 jun.
- Carlsson, L., Mlingi, M., Juma, A., Ronquist, G. & Rosling, H. (1999) Metabolic fates in humans of linamarin in cassava flour ingested as stiff porridge. *Fd. Chem. Toxicol*. 37; 307-312.
- Cardoso PA, Mirione E, Ernesto M et al (2005) Processing of cassava roots to remove cyanogens. *Journal of Food Composition and Analysis*, 18, 451-460.
- Codex Standard for Edible Cassava Flour (1989). *Codex Stan*, 176 (1): 1-4
- (CoE) Council of Europe (2000). Committee of Experts on Flavouring Substances 46th meeting - RD 4.13/1-46. Datasheet on HCN.
- Cheeke PR. (1989) Toxicants of plant origin. Volume II. Glycosides. CRC Press Inc.
- Cheok SS. Acute cassava poisoning in children in Sarawak. (1978) *Trop Doct*. 8: 99 –101
- Chiste RC, Cohen KO and Oliveira SS (2005). Determinação de cianeto durante as etapas de processamento da Farinha de mandioca do grupo seca. http://artigo cientifico.uol.com.br/uploads/artc_1166151172_39.pdf
- Chiste RC, Cohen KO and Oliveira SS (2007). Estudo das propriedades físico-químicas do tucupi - Study of tucupi physicochemical properties. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, 27(3): 437-440, jul.-set. <http://www.scielo.br/pdf/cta/v27n3/a02v27n3.pdf>
- Committee on toxicity. (2006) Chemicals in food, consumer products and the environment. Statement on cyanogenic glycosides in bitter apricot kernels. Available at <http://cot.food.gov.uk/pdfs/cotstatementapricot200615.pdf>
- Conn E.E. (1979) Cyanide and cyanogenic glycosides. In Rosenthal, G.A. & Janzen, D.H. (eds). *Herbivores: Their interaction with secondary plant metabolites*, Academic Press, Inc., New York - London, pp 387-412.
- Correa AD et al. (2002) Farinha de folhas de mandioca – efeito da secagem das folhas sobre a atividade da linamarase. *Ciênc. agrotec.*, Lavras, v.26, n.2, p.368-374, mar./abr
- Dawood MY. Acute tapioca poisoning in a child. (1969) *J Singapore Paediatr Soc*. 11: 154 –158
- EEC (1988) Council Directive 88/388/EEC of 21 June 1988 on the approximation of the laws of the member States relating to flavourings for use in foodstuffs and to source materials for their production. *Official Journal of the European Communities*, 15.7.1988, L184/61-67.
- EFSA (2004) Opinion of the Scientific Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food (AFC) on hydrocyanic acid in Flavourings and other Food Ingredients with Flavouring

Properties. Question no EFS-Q-2—3-0145. EFSA Jornal (2004)105.
http://www.efsa.europa.eu/EFSA/Scientific_Opinion/afc_op_ej103_hydrocyanic%20acid_opinion_en_rev1.0.pdf

EFSA (2007) Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a Request from the Commission Related to Cyanogenic Compounds as Undesirable Substances in Animal Feed. The EFSA Journal (2007) 434, 1 – 67

Espinoza OB, Perez M, Ramirez MS. (1992) Bitter cassava poisoning in eight children: a case report. Vet Hum Toxicol. 34: 65

Essers, A.J.A., Bosveld, M., van der Grift, R.M. Voragen, A.J.G. (2003) Studies on the quantification of specific cyanogens in cassava products and introduction of a new chromogen. J. Sci. Food Agric, 83, 836-841.

Food Standards Australia New Zealand (FSANZ). Cyanogenic glycosides in cassava and bamboo shoots. A Human Health Risk Assessment. Technical report Series No. 28, July 2004.
http://www.foodstandards.gov.au/_srcfiles/28_Cyanogenic_glycosides.pdf

Frakes R.A., Sharma R.P. & Willhite C.C. (1985) Development toxicity of the cyanogenic glycoside linamarin in the golden hamster. Teratology 31: 241-246.

Frakes R.A., Sharma R.P., & Willhite C.C. (1986a) Comparative metabolism of linamarin and amygdalin in hamsters. Fd Chem. Toxic. 24: 417-420

Frakes R.A., Sharma R.P., Willhite C.C. & Gomez O. (1986b) Effect of Cyanogenic glycosides and protein content in cassava diets on hamster prenatal development. Fund.Appl. Toxicol. 7: 191-198.

Freeman A. (1988). Optic neuropathy and chronic cyanide intoxication: a review. Arch. J. Royal Soc. Med., 81, 103-106.

Geller R.J., Barthold C., Saiers J.A. & Hall A.H. (2006) Pediatric cyanide poisoning: causes, manifestations, management, and unmet needs. Pediatrics 118; 2146-2158.

Gettler AO, & Baine JO (1938) The toxicity of cyanide. Am. J. Med. Sci., 195:182–198

Gomez G and Valdivieso M (1985) Cassava foliage: chemical composition, cyanide content and effect of drying on cyanide elimination. Journal of Food and Agriculture, 36: 433-441.

Gosselin R.E., Gleason M.N. and Hodge H.C. (1976). "Clinical Toxicology of Commercial Products", 4th Ed. Williams & Wilkins, Baltimore, Maryland.

Haque RM and Bradbury HJ (2002) Total cyanide determination of plants and foods using the picrate and acid hydrolysis methods. Food Chemistry, 77, 107-114.

Helbig E, Buchweitz MRD and Gigante DP (2008). Análise dos teores de ácidos cianídrico e fítico em suplemento alimentar: multimistura. Rev. Nutr., Campinas, 21(3):323-328, maio/jun.
<http://www.scielo.br/pdf/rn/v21n3/a07v21n3.pdf>

[Hernández T](#), [Lundquist P](#), [Oliveira L](#), [Pérez Cristiá R](#), [Rodriguez E](#), & [Rosling H](#). (1995) Fate in humans of dietary intake of cyanogenic glycosides from roots of sweet cassava consumed in Cuba. [Nat Toxins](#). 1995; 3(2):114-7.

Hosel, W. (1981) The enzymatic hydrolysis of cyanogenic glucosides. In B. Vennesland, E. E. Conn, C. J. Knowles, J. Westley, & F. Wissing (Eds.), Cyanide in biology (pp. 217-232). London: Academic Press.

Jackson LC (1988) Behavioural effects of chronic sublethal dietary cyanide in an animal model: implications for humans consuming cassava (*Manihot esculenta*). *Human Biology* 60 597 -614.

JECFA (1993) Cyanogenic glycosides. In: *Toxicological evaluation of certain food additives and naturally occurring toxicants*. Geneva, World Health Organization, 39th Meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (WHO Food Additives Series 30). Available at <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v30je18.htm>.

JMPR (1965) Report of the second joint meeting of the FAO Committee on Pesticides in Agriculture and the WHO Expert Committee on Pesticide Residues, FAO Meeting Report No. PL/1965/10; WHO/Food Add./26.65.

Keusgen, M., Kloock, J.P., Knobbe, D.-T., Juenger, M., Krest, I., Goldbach, M., Klein, W., Schoening, M.J. (2004) Direct determination of cyanides by potentiometric biosensors. *Sensors and Actuators B2004*, 103, 380-385.

Knudsen I, Søborg I, Eriksen F, Pilegaard K, Pedersen J. Risk assessment and risk management of novel plant foods. Concept and principles. *Tema Nord 2005*: 588. pp. 47-49.

Leuschner F. & Neumann B.W. (1989). *In vitro* mutation assay of KCN in Chinese hamster cells. Unpublished study, Laboratory of Pharmacology and Toxicology, July 1989, submitted by Detia Freyberg GmbH.

Ludwig R. & Lohs K. (1975). *Akute Vergiftungen*. P116. Gustav Fischer Verlag

Mak, K.K.W., Yanase, H., Renneberg, R. (2005) Cyanide fishing and cyanide detection in coral fish using chemical tests and biosensors. *Biosensor and Bioelectronics*, 20, 2581-2593.

Moller, B.L. and Seigler, D.S. (1999) Biosynthesis of cyanogenic glycosides, cyanolipids and related compounds. In B.K. Singh (Ed.), *Plant amino acids biochemistry and biotechnology* (pp. 563-609) Marcel Dekker.

Montgomery R.D. (1969). In "Toxic Constituents of Plant Foodstuffs". I.E. Liener, ed., pp 143-157, Academic Press, New York.

Murphy, K.E., Schantz, M.M., Butler, T.A., Benner, B.A., Wood, L.J., Turk, G.C. (2006) Determination of cyanide in blood by isotope-dilution gas chromatography-massspectrometry. *Clin. Chem* 52, 4558-4567.

Ngudi DD, Kuo Y-H, Lambein F. Food safety and amino acid balance in processed cassava "cossettes". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50: 3042-3049.

Niedzwiedz-Siegien I (1998) Cyanogenic glucosides in *Linum usitatissimum*. *Phytochem*, 49: 59-63.

NTP (1993) National Toxicology Program. *Technical Report on Toxicity Studies of Sodium Cyanide (CAS No 143-33-9) Administered in Drinking Water to F344/N Rats and B6C3F1 Mice*, NTIS No PB94-194693, US Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institutes of Health.

Oamah BD, Mazza G, Kenaschuk EO (1992) Cyanogenic compounds in flaxseed. *J Agric Food Chem*, 40: 1346-1348.

Oluwole OSA, Onabolu AO, Mtunda K and Mlingi N (2007) Characterization of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) varieties in Nigeria and Tanzania and farmers perception of toxicity of cassava. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20, 559-567.

Padmaja G (1989) Evaluation of techniques to reduce assayable tannin and cyanide in cassava leaves. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 37: 712-716.

Padmaja G. (1995) Cyanide detoxification in cassava for food and feed use. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 35 (4): 229-339.

Ravi S, Padmaja G.(1997) Mechanism of cyanogen reduction in cassava roots during cooking. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 75: 427-432.

Ruangkanchanasetr S, Wananukul V & Suwanjutha S. (1999) Cyanide poisoning, 2 case reports and treatment review. *J Med Assoc Thai*. 82 (suppl 1):S162 –S171

Sant'ana AF and Domene SMA. Teores de glicosídeos cianogênicos em derivados de mandioca determinados por protocolo adaptado ao laboratório de micronutrientes Anais do XIII Encontro de Iniciação Científica da PUC-Campinas - 21 e 22 de outubro de 2008. ISSN 1982-0178Co

Sano, A., Takimoto, N., Takitani, S. (1992) High performance liquid chromatographic determination of cyanide in human red blood cells by pre-column fluorescence derivatization. *J. Chrom.* 582, 131-135.

Schilcher H von, Wilkens-Sauter M (1986) Quantitative Bestimmung cyanogener Glykoside in *Linum usitatissimum* mit Hilfe der HPLC. *Fette Seifen Anstrichmittel* 88: 287-290.

Shibata, M., Inoue, K., Yoshimura, Y., Akazawaand, H., Seto, Y. (2004) Simultaneous determination of hydrogen cyanide and volatile aliphatic nitriles by headspace gas chromatography, and its application to an in vivo study of the metabolism of acylonitrile in the rat. *Arch Toxicol.* 78, 301-305.

Sumiyoshi, K., Yagi, T., Namakura, H (1995) Determination of cyanide by high-performance liquid chromatography using postcolumn derivatization with 0-phthalaldehyde. *J. Chrom. A* 690, 77-82.

Standards for cassava products. Food and Agriculture organization of the United Nations. <http://www.fao.org/docrep/X5032E/x5032E09.htm>. Accessed on 20 May 2008

Teles FFF. (2002) Chronic poisoning by hydrogen cyanide in cassava and its prevention in Africa and Latin America. *Food and Nutrition Bulletin* 23: 407-412.

US EPA (1993) HCN (CASRN 74-90-8). US Environmental Protection Agency, Integrated Risk Information System. Available at <http://www.epa.gov/iris/subst/0060.htm>.

Vetter, J. (2000) Plant cyanogenic glycosides. *Toxicon* 38, pp 11-36.

Wanasundara PKJPD, Shahidi F, Brosnan ME (1999) Changes in flax (*Linum usitatissimum*) seed nitrogenous compounds during germination 65: 289-295.

World Health Organization (WHO) (1993) Cyanogenic glycosides. In: *Toxicological evaluation of certain food additives and naturally occurring toxicants*. Geneva, World Health Organization, 39th Meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (WHO Food Additives Series 30). Available at <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v30je18.htm>

WHO (1985) *Diabetes mellitus. Report of a WHO Study Group*. Geneva, World Health Organization, 131 pp. Available at http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_727.pdf (WHO Technical Report Series 727).

WHO (2003) Water quality guidelines http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/chemicals/cyanide.pdf

WHO (2007) Water quality guidelines http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/chemicals/second_addendum_cyanide_short_term%204.pdf.

Yeoh, H.H., Sun, F (2000) Assessing cyanogen content in cassava-based food using the enzyme-dipstick method. *Food Chem Tox*, 39, 649-653.