

comisión del codex alimentarius



ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES
UNIDAS PARA LA AGRICULTURA
Y LA ALIMENTACIÓN

ORGANIZACIÓN
MUNDIAL
DE LA SALUD



OFICINA CONJUNTA: Viale delle Terme di Caracalla 00153 ROMA Tel: 39 06 57051 www.codexalimentarius.net Email: codex@fao.org Facsimile: 39 06 5705 4593

Tema 9(c) del programa

CX/CF 09/3/11
Diciembre de 2008

PROGRAMA CONJUNTO FAO/OMS SOBRE NORMAS ALIMENTARIAS COMITÉ DEL CODEX SOBRE CONTAMINANTES DE LOS ALIMENTOS

Tercera reunión

Róterdam, Países Bajos, 23 – 27 de marzo de 2009

DOCUMENTO DE DEBATE SOBRE LOS GLUCÓSIDOS CIANOGENICOS

Preparado por los miembros del Grupo de trabajo por medios electrónicos (Australia, Brasil, Comunidad Europea, Dinamarca, Ghana, Indonesia, Nigeria, Nueva Zelandia, Países Bajos, Tailandia, Tonga, Vanuatu, la FAO y la OMS)

Ámbito de aplicación

1. El presente documento de debate trata de proporcionar una visión general de los datos disponibles sobre los glucósidos cianogénicos. El documento se concentra en proporcionar información general sobre los glucósidos cianogénicos, niveles que se han señalado en los alimentos, cuestiones de salud pública e inocuidad, tanto crónicas como agudas, terminología, métodos de análisis y la situación reglamentaria de los glucósidos cianogénicos en los alimentos. El propósito específico del documento de debate es recopilar y examinar los datos disponibles actualmente, a fin de que el JECFA pueda reconsiderarlos y aconsejar sobre las consecuencias para la salud pública de los glucósidos cianogénicos en los alimentos. Si el JECFA evaluara de nuevo los glucósidos cianogénicos, el CCCF estaría en condiciones de examinar opciones apropiadas para la gestión de riesgos de los glucósidos cianogénicos en los alimentos.

Información general

2. La Comisión del Codex Alimentarius (CAC) estuvo de acuerdo con la recomendación del 59º período de sesiones del Comité Ejecutivo¹ de aprobar en el Trámite 5 el Anteproyecto de Norma para la Yuca (Mandioca) Amarga, elaborado por el Comité del Codex sobre Frutas y Hortalizas Frescas (CCFFV)², y que, el Comité sobre Contaminantes de los Alimentos (CCCF) debía considerar, como cuestión aparte, los niveles de seguridad del cianuro de hidrógeno (CNH) propuestos en la norma, con vistas a que el JECFA realice una nueva evaluación de los glucósidos cianogénicos (GC).

3. La CAC (4 de julio de 2008) remitió al CCFFV el Proyecto de Norma para la Yuca (Mandioca) Amarga para mayor elaboración (Trámite 6) sobre el etiquetado y procesado de la yuca amarga debido a las preocupaciones reconocidas sobre la inocuidad si la yuca se consume sin procesarla adecuadamente, con vistas a remitirlo al Comité del Codex sobre Etiquetado de los Alimentos (CCFL) para su reconsideración.

4. Los niveles propuestos para el CNH se indican en la nota 2 del Proyecto de Norma para la Yuca (Mandioca) Amarga y son los siguientes *en cursiva*:

¹ Alinorm 07/30/3 párr.30

² Alinorm 07/30/35 párrs. 73-82 y Apéndice VI

[Las variedades amargas de yuca (mandioca) son aquellas que contienen entre 50 y 200 mg/kg de cianuro de hidrógeno (sobre la base de peso de producto fresco). En todos los casos, la yuca (mandioca) deberá pelarse y cocerse completamente antes de su consumo.]

5. El CCCF, en su segunda reunión celebrada en abril de 2008, examinó la necesidad de que el JECFA efectúe una nueva evaluación de los glucósidos cianogénicos.

6. Un factor esencial en las consideraciones sobre la inocuidad de la yuca dulce y amarga es si las instrucciones de preparación actuales son adecuadas para garantizar el consumo seguro de estos alimentos. No está claro el nivel de procesado que se requiere para diferentes niveles iniciales de glucósidos cianogénicos en la yuca amarga. Por ejemplo, no está claro hasta qué punto se necesitan técnicas de preparación adicionales después del pelado y cocinado, para reducir adecuadamente el riesgo de CNH en 50 mg/kg (sobre la base de peso de producto fresco) para la yuca, en comparación con 200 mg/kg de CNH (sobre la base de peso de producto fresco).

7. El CCCF señaló que la posible exposición alimentaria excesiva a los glucósidos cianogénicos de la yuca principalmente, pero también de otros productos, se había examinado en la 39ª reunión del JECFA (1992) y que, debido a la falta de información epidemiológica y toxicológica cuantitativa en aquellos momentos, el JECFA no pudo llegar a una conclusión sobre un nivel inocuo de exposición alimentaria para esta sustancia tóxica natural. No obstante, el JECFA (OMS 1993) concluyó también que un nivel de CNH hasta 10 mg/kg en la Norma para la Harina de Yuca (Mandioca) Comestible (CODEX STAN 176-1989) no estaba asociado con la toxicidad aguda. En un examen de los datos disponibles realizado por la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria en 2004 se llegó a una conclusión similar.

8. Existe un número de publicaciones de la FAO que aborda las buenas prácticas de fabricación y agrícolas para el cultivo y el procesado de la yuca, incluido el trabajo en curso en este ámbito, para ayudar a los países en el cultivo, procesado y manipulación de este producto³. Esta información debería tenerse en cuenta si en el futuro se considera necesario un código de prácticas o un nivel máximo (NM) para los glucósidos cianogénicos.

9. El CCCF acordó que un grupo de trabajo por medios electrónicos (GTe), bajo la dirección de Australia, preparase un documento de debate que incluyera una visión general de los datos disponibles sobre los glucósidos cianogénicos con vistas a someterlos a una posible nueva evaluación por el JECFA.

10. El presente documento de debate se concentra en tres aspectos clave que es necesario abordar antes de que el CCCF pueda examinar opciones de gestión de riesgos con respecto al CNH y los glucósidos cianogénicos en los alimentos:

- Las posibles consecuencias para la salud del CNH y las sustancias en los alimentos que pueden dar lugar a una exposición alimentaria al CNH (es decir glucósidos cianogénicos y cianohidrinas). En particular el riesgo agudo y crónico a través de la dieta para los consumidores;
- Los límites normativos y terminología actuales para los glucósidos cianogénicos y cianohidrinas en los alimentos, inclusive en normas actuales y normas propuestas del Codex que no concuerdan entre sí; y
- La necesidad de que el JECFA revise los límites para los glucósidos cianogénicos y cianohidrinas de conformidad con el examen de todos los datos disponibles actualmente.

³ 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>

Introducción

Información general sobre los glucósidos cianogénicos

11. Los glucósidos cianogénicos se dan en 2000 especies de plantas por lo menos, muchas de las cuales se utilizan en alimentos. A continuación sigue un resumen de los principales alimentos con glucósidos cianogénicos utilizados para el consumo humano:

Glucósido cianogénico	Nombre común	Nombre latino
Linamarina	Yuca	<i>Manihot esculenta</i> <i>Manihot carthaginensis</i>
	Frijoles de lima	<i>Phaseolus lunatus</i>
Durrina	Sorgo	<i>Sorghum album</i> <i>Sorghum bicolor</i>
Amigdalina	Almendras	<i>Prunus amygdalus</i>
Lotaustralina	Yuca	<i>Manihot carthaginensis</i>
	Frijoles de lima	<i>Phaseolus lunatus</i>
Prunasina	Frutas de hueso	<i>Prunus species (P. avium, P. padus, P. persica, P. macrophyl)</i>
Taxifilina	Brotos de bambú	<i>Bambusa vulgaris</i>
Linustatina	Semillas de linaza	<i>Linum usitatissimum</i>
	Yuca	<i>¿se necesita información?</i>
Neolinustatina	Semillas de linaza	<i>Linum usitatissimum</i>
Sambunigrina	Bayas de saúco	<i>Sambucus nigra</i>

La yuca se conoce también por otros nombres comunes: manioca, manihot y mandioca. Tiene sus orígenes en América Latina y posteriormente fue introducida en Asia y África (FSANZ 2004).

13. Pese a que existen aproximadamente 1200 clases de bambú, en Asia y Australia solamente se han utilizado como alimento humano unas pocas clases (mensaje personal de Australian Commercial Bamboo Corporation Ltd. en 2004). Entre las que actualmente se utilizan en Australia de que tiene conocimiento Food Standards Australia New Zealand (FSANZ) se encuentran:

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

Dendrocalamus asper es la clase más importante para la producción de brotes en Tailandia mientras que *Dendrocalamus latiflorus* y *Bambusa oldhamii* son las más importantes en Taiwán. Las distintas clases de bambú tienen también niveles diferentes de cianuro (FSANZ 2004).

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

14. Químicamente los glucósidos cianogénicos (GC) pueden definirse como glucósidos de los α -hidroxinitrilos y son metabolitos secundarios producidos por las plantas. Son constituyentes de plantas derivados de aminoácidos. Los precursores biosintéticos de los GC son distintos L-aminoácidos. Estos aminoácidos son hidroxilados, seguidamente los *N*-hidroxilaminoácidos son convertidos en aldoximes que a su vez se convierten en nitrilos y son hidroxilados en α -hidroxinitrilos, y después glucosilados en GC (Vetter, 2000; en FSANZ, 2004). Todos los GC conocidos tienen un enlace β , generalmente con D-glucosa. Existen por lo menos 2650 clases de plantas que producen GC y normalmente una enzima hidrolítica correspondiente (beta-glucosidasa). La enzima y el GC se juntan cuando la estructura de la célula de la planta se rompe con la subsiguiente descomposición en sacárido y una cianohidrina. Entonces la cianohidrina se puede descomponer rápidamente en CNH y un aldehído o una cetona (Hosel, 1981; Moller y Seigler, 1999; en FSANZ, 2004).

15. La linamarina y, en menor medida, la lotaustralina son los glucósidos cianogénicos principales en la yuca. En condiciones apropiadas, la linamarina se convierte en cianohidrina de acetona y glucosa, y la cianohidrina de acetona se descompone para formar acetona y ácido hidrocianico. En condiciones apropiadas, la lotaustralina se convierte en cianohidrina de butanona y glucosa, y la cianohidrina de butanona se descompone para formar butanona y ácido hidrocianico.

16. En el Cuadro 1 (**Anexo 1**; Cheeke, 1989; OMS, 2003; EFSA, 2004) hay un resumen de los principales glucósidos cianogénicos encontrados en las partes comestibles de las plantas y sus estructuras. Las bases de algunas sustancias aromatizantes contienen glucósidos cianogénicos, incluida la amigdalina, sambunifrina y prunasina (EFSA, 2004).

17. La liberación de CNH de los glucósidos cianogénicos puede producirse debido a hidrólisis enzimática por β -3-glucosidasas después de la maceración del tejido de la planta o por la microflora intestinal (OMS, 1993; EFSA 2004).

En el presente documento de debate los términos “total de cianuro de hidrogeno (CNH)” y “total de ácido hidrocianico” se utilizarán para describir el cianuro de hidrogeno de los glucósidos cianogénicos, cianohidrinas y cianuro de hidrogeno “libre”.

Reglamentación de los niveles de glucósidos cianogénicos en los alimentos

18. La Comisión del Codex Alimentarius ha elaborado y publicado normas para la yuca dulce, harina de yuca comestible y gari (un producto que se obtiene del procesado de tubérculos de yuca) (escrito también como “garri”).

Los aspectos clave de estas normas son:

- La yuca dulce se define como un producto crudo que contiene menos de 50 mg/kg de “cianuro de hidrógeno”;
- La harina de yuca comestible se define como un producto apropiado para el consumo humano directo y el nivel “total de ácido hidrocianico” en la harina no debe exceder de 10 mg/kg; y
- Para el gari, otro producto para el consumo humano directo, el “total de ácido hidrocianico” no debe exceder de 2 mg/kg como ácido hidrocianico “libre”.

Australia y Nueva Zelanda

19. El Código de Normas Alimentarias de Australia y Nueva Zelanda (el Código) contiene una prohibición de la venta de yuca que no sea "yuca dulce" (Norma 1.4.4 – Plantas y hongos prohibidos y restringidos). De conformidad con la norma del Codex vigente, en el Código la yuca dulce se define como “aquellas variedades de raíces de yuca que se cultivan de *Manihot esculenta* Crantz de la familia de *Euphorbiaceae* que contienen menos de 50 mg por kg de CNH (sobre la base de peso de producto fresco)” (Norma 1.1.2 – Definiciones suplementarias para los alimentos). El Código incluye el requisito de que la yuca dulce cruda esté etiquetada o vaya acompañada de una indicación que diga que la yuca dulce debe pelarse y cocinarse completamente antes de consumirla (Norma 1.2.6 – Instrucciones de uso y almacenamiento). La Norma 1.2.6 incluye también el requisito para los brotes de bambú de que deben cocinarse completamente antes de consumirlos. A través del siguiente enlace se puede encontrar documentación donde se describe la elaboración de estas medidas normativas alimentarias para la yuca y los brotes de bambú: <http://www.foodstandards.gov.au/standardsdevelopment/proposals/proposalp257preparationofcassava21august2002/index.cfm>

20. El Código incluye también los siguientes niveles para el ácido hidrocianico en los alimentos siguientes a que se han añadido aromatizantes: 25 mg/kg en confitería; 5 mg/kg en zumos (jugos) de frutas de hueso; 50 mg/kg en el mazapán; 1 mg/kg por 1% de alcohol en las bebidas alcohólicas.

Unión Europea

21. En la Unión Europea, Anexo II de la directiva 88/388 sobre aromatizantes, se fijan los siguientes niveles máximos permitidos de CNH en los alimentos y bebidas a que se han añadido aromatizantes u otros ingredientes de alimentos con propiedades aromatizantes: 1 mg/kg en los alimentos, 1 mg/kg en las bebidas, a excepción de 50 mg/kg en el turrón, mazapán, o sus sucedáneos o productos similares, 1

mg por ciento de alcohol en las bebidas alcohólicas y 5 mg/kg en las frutas de hueso enlatadas (CEE 1998).

22. En el Reino Unido el NM de cianuro/ácido hidrocianico está regulado bajo las condiciones de *The Flavourings in Food Regulations 1992*. En otras circunstancias el contenido de cianuro/ácido hidrocianico de los alimentos no está regulado específicamente excepto bajo las condiciones de la Food Safety Act de 1990 que convirtió en infracción la venta o posesión para la venta de alimentos perjudiciales para la salud.

Salud y seguridad pública

23. La toxicidad de una planta cianogénica depende principalmente de la posibilidad de que su consumo produzca una concentración de CNH que sea tóxica para las personas expuestas. Si la planta cianogénica se detoxifica inadecuadamente durante el procesado o la preparación del alimento, el GC en el alimento puede ser tóxico. Si la planta cianogénica se consume directamente, se puede liberar la beta-glucosidasa y entonces se activa hasta que el bajo pH del estómago desactive la enzima, liberando al menos algo del CNH del GC. Es posible que parte de la fracción de la enzima pueda ser reactivada en el entorno alcalino del intestino liberando más CNH del GC (OMS, 1993). Con respecto a la yuca, informes previos han aducido que la ingestión de raíces de yuca procesadas deficientemente está asociada con la aparición de neuropatía atáxica (konzo) en países africanos. Además, también se sabe que el contenido insignificante de proteínas y aminoácidos esenciales (en particular aminoácidos que contienen azufre) en la yuca daña los mecanismos corporales para detoxificar el cianuro (Teles, 2002).

24. Desde la evaluación por el JECFA en su 39º período de sesiones en 1993 se han realizado pocos estudios sobre la toxicidad de los glucósidos cianogénicos. En el **Anexo 2** se expone una visión general de los estudios toxicológicos clave sobre el CNH y los glucósidos cianogénicos. El principal efecto final toxicológico de preocupación de una exposición aguda al CNH es la inhibición de la oxidación mitocondrial a través de la detención por el CNH de la cadena de transporte de electrones de la membrana interna mitocondrial (Cheeke, 1989). El ión de cianuro inhibe las enzimas asociadas con la oxidación celular y causa la muerte a través de la pérdida de energía. Los síntomas, que se producen en unos minutos, pueden ser dolor de cabeza, náuseas, vómitos, vértigo, palpitaciones, hiperpnea y seguidamente disnea, bradicardia, inconsciencia y convulsiones violentas, seguido de la muerte (EFSA 2004).

25. La ingestión crónica de ácido hidrocianico, a dosis tóxicas subagudas, puede estar implicada en la patogénesis de ciertas afecciones, incluida la alteración de la función tiroidea y neuropatías. Las poblaciones que consumen yuca presentan síntomas oftalmológicos y neurológicos que están asociados con la exposición al ácido hidrocianico, si bien es probable que estén también implicadas otras deficiencias de alimentación o metabólicas que afecten al mecanismo de detoxificación del cianuro (p.ej. deficiencias de sulfato y zinc). Se han considerado también varios estudios epidemiológicos en poblaciones que consumen yuca, que establecieron una asociación entre la exposición al cianuro y la parapesia espástica, ataxia ambliopia o neuropatía atáxica tropical (TAN) y posiblemente bocio. No obstante, los datos están muy mezclados con otros factores nutritivos y medioambientales. Se carece de estudios de toxicidad a largo plazo en animales alimentados con una dieta que contenga ácido hidrocianico o linamarina (JECFA, 1993; Abuye et al, 1998; Teles 2002).

26. En general, la base de datos relativa a la toxicidad del ácido hidrocianico y glucósidos cianogénicos es incompleta y limitada, en particular con respecto a la ingestión crónica, si bien puede haber suficientes datos para establecer una dosis de referencia aguda (DRA).

Terminología

27. El contenido de glucósidos cianogénicos de los alimentos suele indicarse como mg/kg de CNH en el alimento. Esto refleja el contenido "total de ácido hidrocianico" del alimento que suele determinarse midiendo el CNH emitido después de la hidrólisis enzimática o ácida del glucósido cianogénico y cianohidrinadas relacionadas. Algunos textos se refieren a "total de ácido hidrocianico" como el "potencial cianogénico" de un alimento o como "ligado" o también como ácido hidrocianico "libre y combinado."

28. El término "CNH" es el término recomendado para el cianuro de hidrógeno por la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada. Las normas del Codex para la yuca "dulce" y "amarga" se refieren a los niveles de "cianuro de hidrógeno" en base a un alimento crudo o "peso de producto

fresco”. No obstante, otras normas del Codex se refieren al “total de ácido hidrocianico” (harina de yuca comestible) y el “total de ácido hidrocianico” “determinado como ácido hidrocianico libre” (Gari). Los requisitos generales del Codex para aromatizantes naturales se refieren al “total de ácido hidrocianico (libre y combinado)”. Por tanto, incluso en las normas del Codex, no parece haber ningún término que se utilice de manera concordante para describir el total de CNH incluyendo el cianuro de hidrógeno de todos los glucósidos cianogénicos.

29. Recientemente Australia ha examinado la terminología como parte del trabajo realizado en relación con el total de CNH en hojuelas de yuca listas para el consumo⁴.

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

La siguiente definición se consideró apropiada para el “ácido hidrocianico, total” para hojuelas de yuca listas para el consumo a fin de ayudar a facilitar el seguimiento del cumplimiento del CNH:

Ácido hidrocianico, total significa todo ácido hidrocianico, incluido el ácido hidrocianico emitido por la linamarina, lotaustralina, cianohidrina de acetona y cianohidrina de butanona durante la hidrólisis enzimática o después, o bien la hidrólisis ácida, expresado como miligramos de ácido hidrocianico por kilogramo de hojuelas de yuca listas para el consumo.

Métodos analíticos para la detección de glucósidos cianogénicos

30. En algunos países se han prescrito en normas específicas niveles máximos para el total de CNH en determinados alimentos. Algunas de dichas normas se han utilizado durante muchos años.

31. Hay métodos publicados que podrían ser utilizados eficazmente para medir el total de CNH en los alimentos (EFSA 2007). Los métodos de que se dispone actualmente, utilizados para detectar el CNH son los siguientes:

- Colorimetría (Essers et al. 1993);
- Cromatografía de gases (Murphy et al., 2006; Shibata et al., 2004);
- Juegos de papel de picrato (Yeoh y Sun, 2001);
- Biosensores (Mak et al., 2005; Keusgen et al., 2004); y
- Fluorimetría (Sumuyoshi et al., 1995; Sano et al., 1992)

32. Pese a que el método de hidrólisis ácida es aplicable a todas las plantas, se ha alegado que es mucho más difícil de utilizar y menos exacto en comparación con el método de picrato que puede permitir determinar mejor el contenido total de CNH de cualquier planta y alimento (Haque y Bradbury 2002). El comité CEN/TC327 de alimentos para animales está desarrollando un nuevo método que reemplazará al método descrito en el reglamento de la CE 71/250/CEE.

Niveles de glucósidos cianogénicos en los alimentos

33. En la bibliografía (OMS, 1993; EFSA, 2004; **Anexo 3**) se ha señalado una gama de niveles del total de CNH en las plantas comestibles y en ingredientes de alimentos con propiedades aromatizantes, y esos niveles pueden variar dependiendo de los métodos de procesamiento empleados. Los resultados del total de CNH deben interpretarse con precaución puesto que se ha señalado que algunos métodos analíticos pueden no garantizar siempre la hidrólisis completa de los GC y cianohidrinias.

Yuca

34. La yuca crece bien en un clima tropical y se consume en África, países isleños del Pacífico, Sudamérica y regiones de Asia, incluida Indonesia (Knudsen et al 2005). La yuca se consume de una serie de formas: harina, rodajas de raíz, raíz rallada (horneada, al vapor o frita), raíz entera al vapor y

⁴ Hojuelas de yuca listas para el consumo son aquellos alimentos que contienen yuca y se presentan como alimentos de aperitivo apropiados para el consumo en el mismo estado en que se venden, es decir, sin ninguna preparación ulterior y listos para el consumo inmediato. Frecuentemente estos alimentos se presentan como “hojuelas”, “chips”, “crackers”, “crackers vegetarianos” o con otros términos de aperitivos. Este término no comprende los alimentos de yuca procesada que no se considerarían como aperitivos, tales como postres, p.ej. pudín de tapioca.

perlas de tapioca preparadas como un pudín (Knudsen et al 2005). La yuca procesada es uno de los principales alimentos básicos consumidos por la población de la República Democrática del Congo (RDC) y puede proporcionar más del 60% de la energía que se necesita diariamente (Ngudi et al 2002).

35. Existe una serie de variedades de yuca y cada una de ellas tiene niveles totales diferentes de CNH de acuerdo con la altitud, ubicación geográfica y circunstancias relativas a la temporada y producción (Oluwole et al 2007). En condiciones de sequía el contenido total de CNH se incrementa debido al estrés hídrico (Cardoso et al 2005). En la bibliografía (FSANZ 2004) se han notificado valores que varían entre 15 y 400 mg/kg en base al peso de producto fresco del total de CNH en las raíces de yuca, si bien dependiendo de la ubicación de los cultivos se han señalado incluso niveles más altos⁵ (Oluwole et al, 2007; Cardoso et al 2005). Las variedades dulces de yuca (bajo contenido total de ácido hidrocianico) contendrán normalmente aproximadamente un total de CNH entre 15 y 50 mg/kg en base al alimento crudo o “peso de producto fresco”. Las variedades dulces de yuca se pueden procesar adecuadamente pelándolas y cocinándolas (p.ej. asadas, al horno o hervidas), mientras que las variedades amargas (alto contenido total de CNH) requieren un procesado mayor, incluyendo técnicas como la fermentación en montones que tiene una duración de varios días (FSANZ 2004). Se ha comprobado que muestras de raíces de yuca procesada (denominadas “cossettes”) de una serie de mercados en la RDC tenían niveles totales de CNH <10 mg/kg (Ngudi et al, 2002). Se ha señalado que las variedades amargas normalmente no se comercian (Knudsen et al 2005); sin embargo, debido a que la yuca es ahora un cultivo básico esencial en un número de países, es probable que se dé un incremento del comercio de las variedades de yuca amarga.

36. Durante el procesado de la harina de manioca se examinó el contenido de cianuro (Chiste et al 2005). En las raíces peladas, ralladas, masa prensada y harina el contenido total de cianuro era de 154,40, 167,68, 66,59, 5,19 mg de CNH/kg, respectivamente. Una de las razones por las que el contenido de cianuro se redujo de las raíces a la harina se debió al procesado térmico empleado durante la fase de procesado.

37. El total de cianuro oscilaba entre 55,58 y 157.17 mg de CNH/kg en el “tucupi” (un producto líquido obtenido de una fermentación de masa prensada de yuca amarga). El sesenta por ciento (60%) de las muestras contenían más de 100 mg/kg de CNH, si bien este producto se somete a una temperatura elevada antes de que el ser humano lo consuma (Chiste et al, 2007).

38. La “multimistura” está compuesta de un 5% de hojas de yuca, salvado de trigo y arroz, maíz y harinas de trigo, y otros ingredientes. Este alimento se utiliza como complemento a otros alimentos para los niños con desnutrición. El contenido total de cianuro en el polvo de hojas de yuca era de 85 mg/kg. Esta concentración se obtiene cuando las hojas se rompen y se amasan antes del proceso de secado (Helbig et al, 2008). Según la legislación brasileña, el nivel máximo permitido de CNH en la “multimistura” es de 4 mg/kg. (Brazil, 2000)

Bambú

39. Los brotes de bambú pueden contener hasta un total de 1000 mg/kg de CNH, que generalmente es más elevado que los contenidos citados en los tubérculos de yuca, sin embargo se ha señalado que el contenido total de CNH disminuye considerablemente después de la cosecha. Los brotes de bambú que se venden comercialmente como alimento se pueden procesar adecuadamente hirviéndolos antes de su consumo (FSANZ 2004).

Linaza

40. Los niveles habituales del total de mg/kg de CNH en la linaza (linaza, semillas de linaza (*Linum usitatissimum* L.) pueden no ser mayores a 500 mg/kg tal como se ha propuesto anteriormente (véase el **Anexo 3**). Un estudio alemán de 48 muestras de 11 variedades señaló un nivel entre 217 y 541 mg/kg (Schilcher & Wilkens-Sauter 1986). Haque & Bradbury (2002) encontraron niveles entre 140 y 370 mg/kg en muestras de Australia, Nueva Zelanda y Canadá. Oomah et al (1992) señalaron niveles de CNH en semillas de Canadá que varían entre 266 y 363 mg/kg y Wanasundara et al. (1999) han señalado un nivel de 373 mg de CNH/kg en una sola muestra de semillas de Canadá.

⁵ <http://online.anu.edu.au/BoZo/CCDN/one.html>

41. Los principales glucósidos señalados en las semillas de linaza no es la linamarina sino los diglucósidos linustatina y neolinustatina (Niedzwiedz-Siegien 1998, Schilcher & Wilkens-Sauter 1986). Sin embargo, Omah et al. (1992) encontraron pequeñas cantidades de linamarina en 8/10 muestras de semillas de linaza y Schilcher & Wilkens-Sauter (1986) encontraron trazas de linamarina en algunas muestras.

Procesado de los alimentos para reducir el total de CNH

42. El procesado adecuado de los alimentos que contienen glucósidos cianogénicos reducirá el riesgo para los consumidores. Con respecto a la yuca, el nivel del total de CNH depende de la variedad del tubérculo de yuca, las condiciones de cultivo y los métodos de procesado. A su vez, el nivel relativo de cada componente cianogénico depende de la trayectoria de reacción cianogénica en los diferentes estadios del procesado, como se ilustra en la Figura 1. La cianogénesis se inicia cuando se daña el tejido de la planta. Si alguno de los pasos de procesado no se realiza o se interrumpe, la yuca final puede contener niveles inaceptablemente elevados de CNH total. Para más información véase el **Anexo 4**.

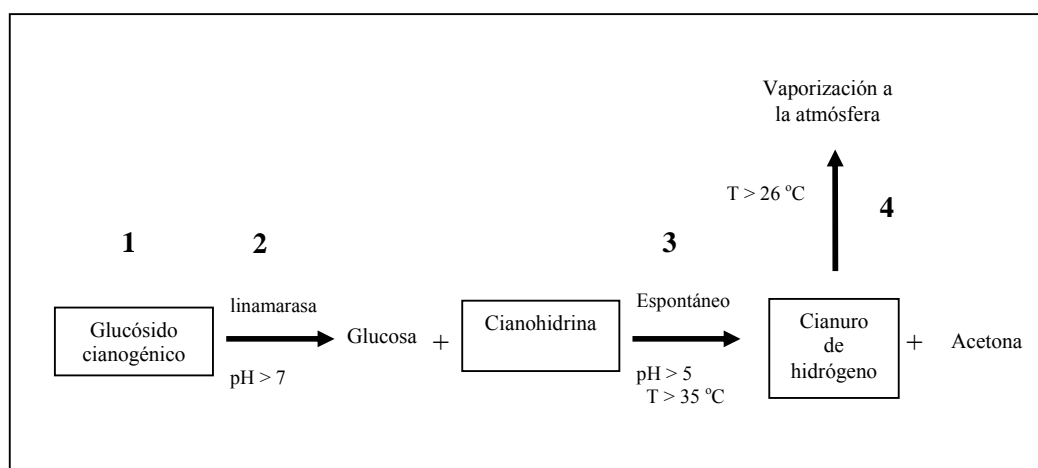


Figura 1: Trayectoria de la reacción cianogénica y pasos en el procesado de la yuca. 1: naturaleza del tubérculo; 2: rallado/raspado, remojo, fermentación; 3: secado al sol/horno; 4: secado al sol, procedimiento de elaboración en caliente (al vapor, freír).

43. Los métodos de procesado generalmente adoptados para la yuca comprenden pelado, remojo, fermentación, hervir o cocer, secar y triturar/moler (Padmaja 1995). Sin embargo, se ha comprobado que las distintas variedades de yuca tienen perfiles distintos de eliminación cianogénica durante el cocinado de las raíces de yuca. También parece haber diferencias en la estabilidad del calor de la actividad β -glucosidasa de las raíces de yuca que protege la enzima de la desactivación total durante el cocinado (Ravi y Padmaja 1997). Las “cosettes” (raíces de yuca procesadas), uno de los productos de yuca más populares en la República Democrática del Congo, se procesan mediante el remojo o inmersión de las raíces frescas de yuca amarga (enteras o peladas) en agua en corriente o agua inmóvil durante 3 días al menos, para permitir que fermenten hasta que se ablanden. Las raíces fermentadas se sacan, se pelan y se secan al sol en enrejados y techos de casas lo cual puede durar entre 2 y 5 días (Hahn; citado en Ngudi et al 2002).

44. Se ha aducido que el secado al sol y la fermentación en montones eran inadecuados para reducir los niveles de CNH en la yuca en la provincia de Mozambique Nampula al nivel de 10 ppm de la OMS (Cardoso et al 2005). Se han logrado reducciones de los niveles de CNH en la yuca mezclando la harina de yuca completamente con agua y permitiendo que esté en un recipiente abierto durante 5 horas antes de cocinarla, si bien este método depende de que haya una cantidad adecuada de linamarasa para que se produzca la descomposición de linamarina (Bradbury 2006).

45. El proceso de secado parece reducir el nivel de cianuro además de afectar a la actividad enzimática. El secado al sol es más efectivo en la reducción del nivel de cianuro si se compara con el secado al horno a 60° C (82% a 94% versus 68% a 76%, respectivamente). Se ha observado que la mayoría del cianuro presente en las hojas que se secan al sol estaba compuesto de cianuro libre (62% a 77%), mientras que las hojas se secaron a 60° C; había sólo 24% a 36% de cianuro libre (Gómez y Valdivieso 1985). En otro estudio se evaluó el efecto de tres temperaturas de secado (45° C, 60° C y 75° C) sobre el nivel de cianuro de cinco variedades de yuca. Se observó que los niveles más bajos se habían encontrado en las hojas secadas a 60° C, variando desde 7,7 a 15 mg/100 g de materia seca (Padmaja, 1989).

CONCLUSIONES

46. Se ha señalado una gran variedad de niveles de glucósidos cianogénicos y sus derivados en las plantas comestibles y los alimentos derivados de dichas plantas. La toxicidad de los glucósidos cianogénicos y sus derivados depende de la liberación de CNH del tejido de la planta o la acción de la microflora intestinal en los animales o el ser humano. El JECFA concluyó que un nivel hasta 10 mg/kg de CNH en la Norma para la Harina de Yuca Comestible (CODEX STAN 176-1989) no estaba asociado con toxicidad aguda (OMS, 1993). En un examen de los datos disponibles por la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA Journal) en 2004 se llegó a una conclusión similar.

47. Debido a la falta de información toxicológica y epidemiológica cuantitativa en aquellos momentos, en 1993 el JECFA no pudo establecer un nivel inocuo de ingestión para los glucósidos cianogénicos. La base de datos relativa a la toxicidad del ácido hidrocianico y los glucósidos cianogénicos es incompleta y limitada, en particular en lo referente a la ingestión crónica. Exámenes realizados por otros órganos reglamentarios (el Comité sobre Toxicidad del Reino Unido y la EFSA) han aducido que no hay ningún estudio a largo plazo apropiado en animales o el ser humano tratados con CNH o bien glucósidos cianogénicos para establecer una ingestión diaria tolerable provisional (IDTP). Por consiguiente, sería conveniente que se buscaran más datos cuantitativos sobre la exposición crónica en los animales o el ser humano con el CNH o bien los glucósidos cianogénicos con vistas a establecer una IDTP. También se necesita más información sobre la toxicocinética de los glucósidos cianogénicos. Dadas las posibles graves implicaciones para la salud pública de los glucósidos cianogénicos y sus metabolitos, sería conveniente recopilar y examinar los datos disponibles sobre la toxicidad de los glucósidos cianogénicos y actualizar la evaluación toxicológica del JECFA de 1993.

48. La toxicidad asociada a los glucósidos cianogénicos y sus derivados en los alimentos se puede reducir preparando adecuadamente el material de la planta antes del consumo. Sin embargo, no está claro qué medidas serían suficiente para reducir la posible toxicidad en el ser humano después de consumir glucósidos cianogénicos, en particular alimentos que pueden contener altos niveles, p.ej. yuca amarga, almendras amargas y huesos de albaricoques (damascos). Por esta razón, sería conveniente recopilar las medidas de preparación y procesado disponibles, y sopesar la necesidad de elaborar un código de prácticas para la producción y procesado de alimentos que contienen glucósidos cianogénicos, también para alimentos específicos.

49. A fin de poder examinar plenamente las implicaciones para la salud pública asociadas con el total de CNH en los alimentos, deberían recopilarse datos sobre el total de CNH en los alimentos junto con los métodos analíticos utilizados para generar esos datos. Para complementar esos datos, la información sobre los límites normativos que son aplicables en países o regiones específicos, permitiría interpretar también los datos sobre el total de CNH en los alimentos.

50. Debido a la falta de un término de aceptación universal para el total de CNH, es necesario considerar si se necesita un descriptor apropiado para el total de CNH en los alimentos, incluidos los glucósidos cianogénicos y cianohidrininas. Esto debería comprender también considerar la base del descriptor y la forma del alimento a que el descriptor debería aplicarse, p.ej. “tal como es” o “en base a peso de producto seco”, “en base a alimento crudo” o “en base a peso de producto fresco”. Supondría considerar los distintos términos que se utilizan para indicar los glucósidos cianogénicos, cianohidrininas y cianuro de hidrógeno en los alimentos, y determinar si se puede desarrollar un término

de aceptación universal. Esto impulsaría a revisar los términos existentes utilizados en las normas del Codex pertinentes para abordar las faltas de concordancia actuales en dichas normas.

51. Para facilitar la supervisión de forma concordante del total de CNH en los alimentos, se debería recopilar y examinar información sobre los métodos utilizados para supervisar el total de CNH en los alimentos. Esto podría formar parte de las consideraciones en cualquier código de prácticas futuro o nivel máximo para los glucósidos cianogénicos en los alimentos.

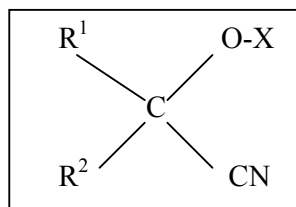
RECOMENDACIONES

52. Como consecuencia de la petición del CCCF de examinar los datos disponibles sobre los glucósidos cianogénicos y las cuestiones recientes con respecto a las hojuelas de yuca listas para el consumo en Australia, el GTe recomienda lo siguiente:

- Se ha pedido al JECFA que examine de nuevo los datos disponibles sobre los glucósidos cianogénicos y aconseje sobre las implicaciones para la salud pública de los glucósidos cianogénicos y sus derivados en los alimentos. En particular, si existen suficientes datos para establecer un estándar sano apropiado, como una dosis de referencia aguda o límite diario tolerable, para los glucósidos cianogénicos o sus derivados presentes en los alimentos.
- El JECFA examine si el nivel actual hasta 10 mg/kg de CNH en la Norma para la Harina de Yuca Comestible es todavía un nivel apropiado o no, que no está asociado con la toxicidad aguda, y si ese nivel sería aplicable a cualquier otro alimento que contiene CNH.
- El JECFA examine los niveles de estos glucósidos cianogénicos y sus derivados que pueden ser apropiados en los alimentos, incluidos los niveles que son apropiados para minimizar cualquier riesgo para la salud pública por el consumo de alimentos que contienen glucósidos cianogénicos y sus derivados.
- El JECFA examine qué podría ser un descriptor apropiado para el total de CNH en los alimentos.
- Teniendo en cuenta cualquier evaluación realizada por el JECFA, que el CCCF considere elaborar un código de prácticas para producir, procesar y comercializar alimentos que pueden contener glucósidos cianogénicos o sus derivados. En consulta con el CCFL, esto incluiría también si se necesitan más requisitos relativos a la información para estos alimentos a fin de garantizar el procesado adecuado de los alimentos que contienen glucósidos cianogénicos por los consumidores antes de su consumo.
- Tras el recibo de cualquier consejo de evaluación de riesgos del JECFA, el CCCF y el CCMAS deberían examinar las normas actuales pertinentes del Codex para garantizar que esas normas son concordantes con cualquier límite para los glucósidos cianogénicos y sus derivados en los alimentos.

Anexo 1

CNH

Cuadro 1. Estructura general de los glucósidos cianogénicos

Nombre	Fórmula Mas. mol. Número CAC	R ¹	R ²	X	Configuración	Presencia*
Amigdalina	C ₂₀ H ₂₇ NO ₁₁ 457,4334 29883-15-6	Fenilo	H	Gentiobiosa	R	Almendras, melocotones (duraznos), albaricoques (damascos), ciruelas, cerezas, manzanas y huesos de membrillo
Linamarina	C ₁₀ H ₁₇ NO ₆ 247,2474 554-35-8	Metilo	Metilo	Glucosa	-	Yuca, frijoles de lima, (semillas de linaza)
Prunasina	C ₁₄ H ₁₇ NO ₆ 295,29 99-18-3	Fenilo	H	Glucosa	R	Helechos, p.ej. helecho pteridum, serbas
Linustatina	C ₁₆ H ₂₇ NO ₁₁ 409,39 72229-40-4	Metilo	Metilo	Gentiobiosa	-	Semillas de linaza, yuca
Lotaustralina	C ₁₁ H ₁₉ NO ₆ 261,272 534-67-8	Metilo	Etilo	Glucosa	R	Frijoles de lima, (yuca), (semillas de linaza)
Neolinustatina	C ₁₇ H ₂₉ NO ₁₁ 423,42 7229-42-6	Metilo	Etilo	Gentiobiosa	R	Semillas de linaza
Sambunigrina	C ₁₄ H ₁₇ NO ₆ 295,29 138-53-4	Fenilo	H	Glucosa	S	Bayas de saúco
Taxifillina	C ₁₄ H ₁₇ NO ₇ 311,29 21401-21-8	p-hidroxifenilo	H	Glucosa	R	Brotos de bambú
Dhurrina	C ₁₄ H ₁₇ NO ₇ 311,29 499-20-7	p-hidroxifenilo	H	Glucosa	S	Sorgo

*las fuentes secundarias se indican entre paréntesis

En la hidrólisis, un gramo de los glucósidos cianogénicos respectivos puede liberar las siguientes cantidades de CNH: amigdalina, 59,1 mg de CNH (equivalente a 56,9 mg de CN), linamarina 109,3 mg de CNH (equivalente a 105,2 mg de CN) y prunasina 91,5 mg de CNH (equivalente a 88,1 mg de CN).

TOXICOLOGÍA

Australia ha revisado recientemente la toxicología del CNH y glucósidos cianogénicos específicos a la luz de los elevados niveles de CNH detectados en hojuelas de yuca australianas listas para el consumo. http://www.foodstandards.gov.au/_srcfiles/P1002%20Hydrocyanic%20acid%20in%20cassava%20chips%20AppR%20FINAL.pdf#search=%22cassava%20chips%22

Tras la administración oral el CNH es absorbido sin demora y distribuido rápidamente en el cuerpo, y se sabe que se combina con el hierro, tanto en la metahemoglobina como hemoglobina presentes en los eritrocitos (OMS, 1993; USEPA, 1993; EFSA, 2004). Después de la administración oral, una proporción de la linamarina ingerida es absorbida y excretada sin modificar en la orina (Barrett *et al.*, 1977; Hernandez *et al.*, 1995; Carlsson *et al.*, 1999). El resto es convertido enzimáticamente en ácido hidrocianico por microorganismos en el tubo digestivo (Frakes *et al.*, 1986a; Carlsson *et al.*, 1999). El ácido hidrocianico absorbido del intestino es convertido metabólicamente en el tiocianato menos tóxico (Carlsson *et al.*, 1999). Otras trayectorias de detoxificación comprenden una combinación con la vitamina B12 ó algunos aminoácidos que contienen azufre (Askar, 1983; Ludwig *et al.*, 1975; Freeman, 1988). La toxicidad aguda se produce cuando el porcentaje de absorción del ácido hidrocianico es tal que la capacidad de detoxificación metabólica del cuerpo se excede.

El principal efecto final toxicológico de preocupación para el CNH es la inhibición de la oxidación mitocondrial, que puede llevar rápidamente a la muerte si el nivel de exposición al CNH excede la capacidad de los mecanismos fisiológicos normales de detoxificación (Gettler & Baine, 1938; OMS, 1993; NTP, 1993; EFSA, 2004). Las manifestaciones clínicas de envenenamiento agudo de cianuro, especialmente las dosis no mortales, suelen ser no específicas y reflejan principalmente la pérdida de oxígeno del corazón y el cerebro. Normalmente estos efectos incluyen dolores de cabeza, desvanecimiento, dolor de estómago o confusión mental (Montgomery, 1969; Gosselin *et al.*, 1976). Como estos síntomas se parecen en gran medida a los de exceso de alimentos o leve trastorno del tubo digestivo, y la curva de dosis respuesta es pronunciada, las personas expuestas a altos niveles de CNH pueden no reconocer los síntomas de aviso antes de consumir una dosis mortal. Probablemente esto es particularmente cierto para los niños pequeños (Geller *et al.*, 2006). En el ser humano se han señalado muertes por dosis de CNH tan bajas como 0,58 mg/kg de peso corporal.

El CNH es un componente normal de la fisiología de los mamíferos, y hay presentes mecanismos eficientes para su detoxificación. La eliminación del cianuro es muy rápida y su semivida es breve, en las ratas 14 minutos. Para toxicidad aguda el principal determinante de la toxicidad es la exposición sistémica máxima (C_{max}) antes que la exposición media durante un período de tiempo (AUC). Una persona que consuma una dosis casi mortal en unos minutos tendría por ejemplo niveles generales normales de cianuro en la sangre en aproximadamente 2 horas (unas 6 hemividas). Por tanto, el valor de referencia toxicológico apropiado debe reflejar la toxicidad aguda en vez de acumulativa, y la exposición alimenticia debe reflejar ingestiones durante una sola sesión en vez de las medias durante períodos más largos.

La toxicidad aguda del ácido hidrocianico en ratones, ratas, conejos y perros es bastante similar a las dosis orales mortales 50% (50% de muerte) que se estiman entre 3 y 4 mg de cianuro/kg de peso corporal en las ratas y los conejos. En los perros la dosis mortal 50% fue de 2 mg de cianuro/kg de peso corporal mientras que en los ratones de 6 mg de cianuro/kg de peso corporal con cianuro potásico (Conn, 1979). En base a análisis del contenido de cianuro en tejidos y en el contenido del tubo digestivo de casos de envenenamiento mortal (y cinética comparativa en perros), Gettler & Baine (1938) estimaron que la muerte en casos de suicidio se produjo tras la absorción de una media de 1,4 mg de ácido hidrocianico/kg de peso corporal; la dosis absorbida mortal más baja fue de 0,58 mg de ácido hidrocianico/kg de peso corporal. Sin embargo, la dosis oral mortal de ácido hidrocianico en los cuatro casos de suicidio mencionados por Gettler & Baine que fueron calculados a partir de la cantidad total de ácido hidrocianico absorbido en el cuerpo en el momento de muerte, y de la cantidad de ácido hidrocianico encontrado en el tubo digestivo, diferían considerablemente (calculado como mg de ácido hidrocianico): 1450 (62,5 kg de peso corporal), 556,5 (74,5 kg de peso corporal), 296,7 (50,7 kg de

peso corporal), y 29,8 (51 kg de peso corporal). Lo cual se corresponde con dosis que varían desde 0,58 mg/kg de peso corporal a 23 mg/kg de peso corporal.

Indicaciones de teratogenia en las crías de hámsteres tratadas con 120 ó 40 mg/kg de peso corporal de linamarina (equivalente a 13,1 y 15,3 mg de ácido hidrocianico/kg de peso corporal, respectivamente) en el 8º día de la gestación sólo se observaron a dosis tóxicas durante la maternidad (Frakes *et al.*, 1986b).

No se dispone de datos experimentales sobre la toxicidad crónica y carcinogenia. Por lo general, los ensayos de mutagenia realizados con ácido hidrocianico y cinauro a nivel de gen y/o cromosoma no revelaron un potencial genotóxico (De Flora, 1981, citado en EPA, 1993; Kushi *et al.*, 1983, citado en EPA, 1993; Leuschner *et al.*, 1989). La Agencia de Protección Ambiental de EE.UU. (EPA) considera que no es clasificable como carcinógeno (US EPA, 1993).

El envenenamiento de cianuro por ingestión de alimentos que contienen un glucósido cianogénico tales como la yuca, parece ocurrir muy raramente en las regiones en que forman un componente principal de la dieta, pero se ha señalado con más frecuencia en los niños en países tropicales, donde tales alimentos son partes más importantes de la dieta. Se han señalado numerosos casos de envenenamiento agudo de cianuro tras la ingestión de yuca en los niños en países tropicales (Dawood, 1969; Cheok, 1978; Akintonwa, 1992; Arrifin, 1992; Espinoza *et al.*, 1992; Ruangkanhasetr *et al.*, 1999).

Los niños parecen ser más susceptibles que los adultos al envenenamiento por la ingestión de alimentos cianogénicos como la yuca y con frecuencia desarrollan una toxicidad más grave que los adultos que ingieren igualmente yuca. La aparentemente mayor vulnerabilidad de los niños al envenenamiento por alimentos cianogénicos se debe probablemente a su menor masa corporal.

El consumo a largo plazo de yuca que contiene altos niveles de glucósidos cianogénicos, normalmente cuando constituye la fuente principal de calorías y está asociada con desnutrición y deficiencias de proteínas y vitaminas, se ha asociado con enfermedades neurológicas que implican neuropatía atáxica tropical y paraparesia espástica endémica. En zonas con baja ingestión de yodo, el desarrollo de hipotiroidismo y bocio, acompañados a veces de enfermedades neurológicas, se ha asociado también con la yuca (JECFA, 1993; Abuye *et al.*, 1998). Mientras que la exposición diaria al cianuro se ha estimado entre 15 y 50 mg/día en zonas endémicas, debido a las limitaciones de los datos sobre la exposición, que es probable que sea bastante variable, y el posible impacto de confusiones, como desnutrición general, bajo contenido proteínico de la dieta y estatus de yodo, los datos disponibles no proporcionan información significativa sobre una dosis-respuesta para el cianuro.

Toxicidad aguda

El concepto de una ingestión diaria aceptable (IDA) o ingestión diaria tolerable (IDT) puede no ser apropiado para la toxicidad aguda. El valor de referencia apropiado para la toxicidad aguda es la dosis de referencia aguda (DRA), la cantidad máxima que se puede consumir inocuamente con confianza en una sola comida o un solo día.

Para establecer un estándar sano a fin de determinar una dosis segura para el consumo de huesos amargos de albaricoques (damascos) el Comité del Reino Unido sobre Toxicidad señaló que la base de datos relativa a la toxicidad del cianuro y glucósidos cianogénicos en el ser humano era incompleta. Reconoció que la dosis oral mortal aguda señalada para el cinauro en el ser humano estaba entre 0,5 y 3,5 mg/kg de peso corporal. Aplicó un factor de seguridad multiplicado por 100 (10 para justificar la variabilidad entre individuos y 10 para extrapolar de un nivel de efecto a un nivel de no efecto, teniendo en cuenta la pendiente de la relación dosis-respuesta) a la dosis mortal más baja (0,5 mg/kg de peso corporal). Esto indicó que no sería probable que una dosis de 0,005 mg/kg de peso corporal causara efectos graves, es decir una dosis de referencia aguda (DRA) “nominal”.

La dosis mortal estimada del ácido hidrocianico (0,5 mg/kg de peso corporal) utilizada para establecer esa dosis de referencia aguda “nominal” está basada en una persona solamente que ingirió una preparación no especificada de sal de cianuro para suicidarse (Gettler & Baine, 1938). No obstante, existen pocas dudas de que este estándar sano sea protector pero puede ser demasiado conservador porque no toma en consideración las distintas toxicocinéticas para la amigdalina (el glucósido cianogénico presente en los huesos de albaricoque) que implica conversión enzimática bacteriana en

ácido hidrocianico una vez ingerida. Por contraposición, el ácido hidrocianico ingerido es absorbido rápidamente del tubo digestivo sin cambiar.

En un estudio toxicocinético realizado por Frakes *et al.*, (1986a) murieron 4/20 hámsteres que se les había dosificado oralmente 0,44 mmol/kg de peso corporal de amigdalina (201 mg/kg de peso corporal). Las concentraciones de cianuro en la sangre después del tratamiento con amigdalina alcanzaron el nivel más alto (130 nmol/mL) 1 h después de la dosificación y permanecieron altas hasta 3 horas después del tratamiento. Esta concentración de cianuro en la sangre es similar a la lograda después de la administración oral de 0,44 mmol/kg de peso corporal de linamarina (108 mg/kg de peso corporal), a saber 116 μ mol/L y se corresponde exactamente con las concentraciones en la sangre que se sabe que son mortales en el ser humano, es decir entre 100 y 115 μ mol/L (Geller *et al.*, 2006).

En un estudio del desarrollo de una sola dosis de linamarina administrada por cebadura a hámsteres en el 8° día de la gestación se identificó un posible nivel sin efectos adversos observables (NOAEL) de 70 mg/kg de peso corporal (Frakes *et al.*, 1985). Este estudio investigó el potencial teratogénico después de una sola dosis de 70, 100, 120 ó 140 mg/kg de peso corporal de linamarina en el 8° día de la gestación. Pese a que en el estudio de teratogenia no se observaron muertes a la dosis de ensayo siguiente más alta de 100 mg/kg de peso corporal, un estudio toxicocinético complementario realizado por los mismos investigadores utilizando un mayor número de hámsteres que no estaban en estado de gestación reveló que las muertes y signos clínicos ocurrieron a 108 mg/kg de peso corporal (Frakes *et al.*, 1986a). Esta información pone en duda si 70 mg/kg de peso corporal puede ser un “verdadero” NOAEL porque un número mayor de hámsteres por grupo puede revelar una incidencia significativa de signos clínicos.

Utilizando un NOAEL de 70 mg/kg de peso corporal y aplicando un factor de seguridad multiplicado por 100 se obtiene una dosis de referencia aguda (DRA) de $70/100 = 0,7$ mg de linamarina/kg de peso corporal. Un factor de seguridad multiplicado por 100 se podría aplicar para justificar la variabilidad en sensibilidad entre especies y una extrapolación entre especies. La DRA de la linamarina equivale a una DRA para el CNH de 0,08 mg/kg de peso corporal. Como la dosis absorbida mortal más baja señalada para el CNH es 0,58 mg/kg de peso corporal, la DRA para el ácido hidrocianico proporciona un margen de exposición de 7 que, dada la pronunciada curva de dosis-respuesta para la toxicidad del CNH se considera que es apropiada.

Apoyo adicional para el uso de hámsteres como un sustituto pertinente para la evaluación de riesgos para el ser humano procede de la observación que, en el ser humano adulto, el nivel de cianuro en la sangre que se considera como “tóxico” y que causa signos clínicos después de la exposición aguda se considera generalmente que es ≥ 1 mg/L (39 μ mol/L), mientras que una concentración “mortal” se considera generalmente que excede de 2,6 a 3 mg/L (100 – 115 μ mol/L) (Geller *et al.*, 2006). Estas concentraciones que se consideran mortales en el ser humano muestran una concordancia extraordinariamente buena con los niveles que causaron la muerte en los hámsteres después de una dosis oral de 0,44 mmol de linamarina/kg de peso corporal. La concentración de cianuro en el plasma después del tratamiento de linamarina alcanzó un máximo de 116 μ mol/L.

La DRA de 0,7 mg de linamarina/kg de peso corporal también es apoyada por la ausencia de algún efecto adverso en voluntarios después de la ingestión alimenticia de linamarina en unas gachas a base de yuca a dosis que varían entre 1 y 2,5 mg de linamarina/kg de peso corporal (Carlsson *et al.*, 1999). Este estudio del destino metabólico en el ser humano puede no ser apropiado para establecer una DRA debido a la gama inadecuada de parámetros clínicos medidos y comunicados. Además, el uso de la dosis de ensayo más elevada en este estudio en voluntarios tendría como resultado una DRA más baja una vez se haya aplicado un factor de seguridad multiplicado por 100 para la variabilidad entre especies. Los signos clínicos y síntomas de toxicidad aguda de cianuro en el ser humano son sutiles y los estudios diseñados para supervisar los efectos necesitan protocolos que incluyan la supervisión de dolores de cabeza, vértigo, dolor de estómago o confusión mental. El estudio de Carlsson *et al.* (1999) no indica si tal supervisión fue realizada.

Ingestión diaria tolerable provisional

El Cuadro 4 muestra los niveles de la ingestión diaria tolerable provisional (IDTP) que han sido establecidos por varias agencias de normalización. Los valores de IDTP varían de 0,02 mg/kg de peso corporal/día a 0,108 mg/kg de peso corporal/día.

Cuadro 4: Estándares sanos (IDTP) establecidos por otras agencias de normalización

Organización*	Año	Estudio NOAEL	NOAEL (mg de CNH/kg de peso corporal/día)	IDTP (mg de CNH/kg de peso corporal/ día)
JMPR	1965	Estudio de dos años en ratas; (Howard & Hanzal, 1955)	5	0,05
EPA EE.UU.	1993	Estudio de dos años en ratas; (Howard & Hanzal, 1955)	10,8	0,108
JECFA	1993	-	-	No se dispone de datos apropiados para establecer IDTP
EFSA	2004			
COT RU	2006			
CoE	2000	Varios estudios epidemiológicos	0,19	0,02
CoE	2005	Estudio de tres meses en ratas; (NTP, 1993)	4,5	0,023
ATSDR	2006	Estudio de tres meses en ratas; (NTP, 1993)	5	0,05
OMS	2004	Estudio de seis meses en cerdos. (Jackson, 1988)	1,2	0,012
OMS	2007	Estudio de tres meses en ratas; (NTP, 1993)	4,5	0,045

* JMPR, Reunión Conjunta FAO/OMS sobre Residuos de Plaguicidas; EPA EE.UU., Agencia de Protección Ambiental de EE.UU.; JECFA, Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios; EFSA, Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria; COT RU, Comité sobre Toxicidad del Reino Unido; CoE, Comité de Expertos en Sustancias Aromatizantes del Consejo de Europa; ATSDR, Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades; OMS, Organización Mundial de la Salud.

El JECFA, EFSA y el Comité sobre Toxicidad del Reino Unido concluyeron que no había estudios de toxicidad a largo plazo cuantitativos apropiados en animales tratados con CNH o bien glucósidos cianogénicos, y por tanto no pudieron establecer una IDTP.

Fuentes y niveles típicos del total de CNH en plantas comestibles y en ingredientes de alimentos con propiedades aromatizantes (EFSA, 2004; OMS 1993)

Planta	Partes con CNH	Niveles típicos del total de CNH en mg/kg	Tipo de glucósido
Yuca	Raíz (dulce) Raíz (amarga)	10-20 15-1120	Linamarina
Frijol de lima	Semilla	100 a 3000 (dependiendo de la variedad de semilla)	Linamarina
Judía de jardín	Semilla	20	Linamarina
Almendra amarga	Semilla, grano En aceite de almendra	300 a 3400 800 a 4000	Amigdalina
Albaricoque (damasco)	Semilla, hueso	120-4000	Prunasina
Melocotón (durazno)	Semilla, hueso	470	Prunasina
Guisantes (arvejas)	Semilla	20	Ninguna información
Soja	Cáscara	1,240	Ninguna información
Linaza	Semillas	>500	Linamarina

Producto alimenticio	Niveles típicos del total de CNH en los alimentos
Almendras molidas (polvo)	1,4 mg/kg
Mazapán y otros productos similares hechos con huesos de albaricoques (damascos)	15-50 mg/kg
Chucherías de mazapán	<0,8 mg/kg
Pasta de almendras	3 mg/kg
Zumo (jugo) de cerezas	0,5 a 12 mg/L
Zumo (jugo) de ciruelas	0,33 a 1 mg/L
Zumo (jugo) de albaricoques (damascos)	>0,1 a 7,8 mg/L
Zumo (jugo) de melocotón (duraznos)	2,3 a 5,9 mg/L
Confituras de frutas de hueso	0,18 mg/kg
Frutas de hueso enlatadas	hasta 4 mg/kg
Kirsch (61% de alcohol; destilado de cerezas)	<10 mg/L
Calvados (40% de alcohol, destilado de manzanas)	<0,5 mg/L
Brandies de frutas de hueso	<3mg/L
Confitería y productos de panadería que contienen almendras y/o mazapán	Hasta 40 mg/kg
Mazapán cubierto de chocolate	1,3 mg/kg

Indonesia

Datos sobre el nivel total de CNH en yuca cruda y productos de yuca en Indonesia son:

Producto	Gama del nivel total de CNH	Método de prueba
Yuca cruda	23,65 – 50,65 ppm	Picrato espectrofotómetro (J.Sci Food Agric. 1997)
Productos de yuca (productos de harina de yuca y hojuelas de yuca)	0,42 – 16,24 ppm	Picrato espectrofotómetro (J.Sci Food Agric.

		1997)
--	--	-------

Brasil

En el cuadro siguiente se indican los niveles de glucósidos cianogénicos en hojas tiernas y maduras de yuca, harina de manioca asada y cruda, harina de yuca fermentada y no fermentada (Santana et al, 2008). Estos niveles fueron determinados por los métodos de picrato e hidrólisis ácida (Haque y Bradbury; 2002).

Niveles en hojas y productos de yuca

Productos	Niveles de glucósidos cianogénicos (ppm)			
	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4
Hojas tiernas de yuca (menos de 1 año)	261,60	235,54	220,41	239,18
Hojas maduras de yuca (más de 1 año)	356,44	337,95	325,04	339,81
Harina de manioca cruda Marca 1	0,95	0,24	5,66	2,28
Harina de manioca cruda Marca 2	14,45	1,43	0,80	5,56
Harina de manioca asada Marca 1	3,17	0,20	26,14	9,83
Harina de manioca asada Marca 2	4,47	2,14	3,33	3,31
Harina de yuca no fermentada Marca 1	1,90	1,90	2,50	2,10
Harina de yuca no fermentada Marca 2	6,10	0,12	1,50	2,57
Harina de yuca fermentada Marca 1	0,20	0,36	2,06	0,87
Harina de yuca fermentada Marca 2	0,40	0,08	4,16	1,54

Procesado de la yuca para reducir el contenido total de CNH

La producción característica de harina o almidón de yuca, en especial las fábricas comerciales a gran escala, ha garantizado que los pasos y parámetros de procesado sean efectivos en la eliminación del total de CNH de la yuca. El almidón de yuca, que se conoce también como almidón de tapioca, es uno de los almidones más utilizados habitualmente en la fabricación de alimentos y funciona como espesante, emulsionante o ingrediente de confitería. Los niveles de CNH en algunos almidones modificados podrían ser tan bajos como 0,01 mg/kg.

Los tubérculos de yuca, una vez cosechados, generalmente se fermentan o secan para inhibir los cambios fisiológicos nocivos y proliferación microbiana. Los pasos generales de procesado, que se exponen en la Figura 1, se debaten en relación con las cuatro fases en la trayectoria de cianogenia, examinando los parámetros y las técnicas que son más efectivos en la eliminación del total de CNH y manteniendo la calidad de los productos finales. Cuando se comprueba que los productos de yuca tienen niveles inaceptablemente elevados del total de CNH, la causa más probable es el fallo en alguno de dichos pasos.

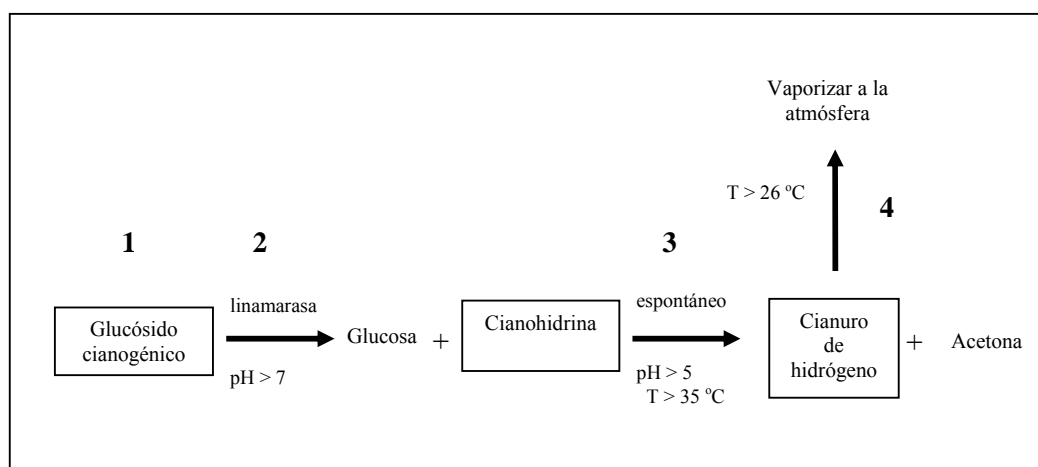


Figura 1: Trayectoria de la reacción cianogénica y pasos en el procesado de la yuca. 1: naturaleza del tubérculo; 2: rallado/raspado, remojo, fermentación; 3: secado al sol/horno; 4: secado al sol, procedimiento de elaboración en caliente (al vapor, freír).

Paso 1: Naturaleza del tubérculo de yuca. Los tubérculos que tienen niveles elevados de glucósidos cianogénicos son difíciles de reducir a un nivel aceptable mediante los procedimientos típicos para el producto de la yuca. Los tubérculos de yuca amarga tienen glucósidos cianogénicos mucho más elevados que las variedades dulces de yuca y dentro de las variedades dulces, existe una gran gama de niveles de glucósidos cianogénicos en los tubérculos. Se ha demostrado que las sequías producen estrés en las plantas de yuca para producir y acumular niveles altos de glucósidos cianogénicos.

Paso 2: Rallado, remojo y fermentación. La liberación de enzimas (p.ej. linamarasa) de las paredes celulares machacadas y las condiciones apropiadas para que las enzimas reaccionen con los glucósidos cianogénicos son esenciales. Si este paso del procesado se abrevia o modifica, por ejemplo a fin de prevenir la proliferación microbiana o pardeamiento de la yuca cruda, en los productos pueden permanecer altos niveles de glucósidos cianogénicos.

Por tanto el tamaño de la yuca rallada o a rodajas, el tiempo permitido para que se produzca la fermentación o remojo, y la temperatura y el pH del producto determinarán cada uno la cantidad de glucósido cianogénico que se reduce. Si se utiliza calor elevado inmediatamente después del cortado a rodajas o rallado, por ejemplo, al freír las rodajas de yuca o en el secado en hornos calientes, la enzima sería inactivada y los productos de yuca cocinados contendrían altos niveles de glucósidos

cianogénicos. Si en esta fase se utilizan conservantes de bajo pH, como el ácido acético y metabisulfitos sódicos, es posible que afecten a la conversión de glucósidos cianogénicos.

Paso 3: Secado al sol/horno. La acción de las enzimas continúa en este paso, así como la descomposición espontánea de cianohidrinas en cianuro de hidrógeno, a un pH de más de 5 y temperatura de más de 35°C. El producto final de esta trayectoria cianogénica es el cianuro de hidrógeno volátil, que se vaporiza a 26°C. Por tanto, si las rodajas/masa/ralladuras de yuca son pequeñas y se extienden finamente en el paso de secado, el cianuro de hidrógeno puede escapar con más facilidad a la atmósfera. El uso de hornos calientes para acelerar el proceso de secado, o cuando el secado al sol no es posible, puede desnaturalizar la enzima o atrapar la enzima en la matriz seca de yuca y prevenir la conversión de los glucósidos cianogénicos en cianuro de hidrógeno volátil. Por consiguiente, los productos de yuca que se han secado con demasiada rapidez tendrían los componentes cianogénicos, cianohidrina y cianuro atrapados en la matriz de yuca.

Paso 4: Proceso de fabricación del producto alimenticio final. Si el cianuro de hidrógeno está atrapado en los productos secados de yuca (almidón, harina u hojuelas crudas), seguir procesando estos productos puede permitir que el cianuro de hidrógeno escape (si la temperatura de procesado es superior a 26°C). Si el cianuro está todavía en la forma del glucósido cianogénico, un procedimiento de vapor a una temperatura inferior a 100°C permite que las enzimas (p.ej. linamarasa) se reactiven y se hidrolicen los glucósidos, liberando cianuro de hidrógeno. Sin embargo, si el producto de yuca (rodajas u hojuelas) es sometido a elevado calor al freír, el glucósido cianogénico permanecerá en el producto.

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

REFERENCIAS

- 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). *Lebensmittelvergiftung 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://artigoceficiente.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 Journal (2004)105.[http://www.efsa.europa.eu/EFSA/Scientific Opinion/afc_op_ej103_hydrocyanic%20acid_opinion_en_rev1.0.pdf](http://www.efsa.europa.eu/EFSA/Scientific%20Opinion/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, Rodríguez 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.
- Niedzwiadz-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.