

AVIS

de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

relatif à la contamination de lots de sarrasin et de farines de sarrasin par de l'acide cyanhydrique et à l'établissement d'un seuil d'intervention

1. RAPPEL DE LA SAISINE

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le 17 décembre 2009 par la Direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes (DGCCRF) d'une demande d'avis relatif à la contamination de lots de sarrasin et de farines de sarrasin par de l'acide cyanhydrique (HCN).

2. CONTEXTE

Suite à une plainte consommateur ayant fait état de l'existence d'une odeur d'amande amère après hydratation de farine de sarrasin biologique, des échantillons de farine et de sarrasin brut ont été prélevés chez le minotier concerné et analysés par la DGCCRF. Les lots incriminés ont été cultivés dans le Finistère et récoltés en septembre 2009. Les analyses ont révélé la présence d'une contamination par de l'acide cyanhydrique (teneurs en HCN variant entre 12 et 18 mg HCN / kg) de l'ensemble de ces lots.

Par ailleurs l'examen d'un lot de sarrasin brut (contaminé à 14 mg HCN / kg) a permis de révéler la présence d'impuretés botaniques (présentes à hauteur de 9.5%) sous la forme de graines noires opaques et contenant une teneur de 573 mg HCN / kg. Ces graines ont été identifiées comme provenant de l'espèce végétale *Vicia sativa* (vesces).

Les produits suspects ont fait l'objet d'un retrait volontaire du marché et ont été mis sous séquestre. En l'absence de teneurs maximales réglementaires en HCN définies pour les céréales destinées à l'alimentation humaine, la DGCCRF sollicite l'avis de l'Anses pour :

- décider du devenir des marchandises retirées du marché
- définir un seuil en HCN à partir duquel un lot de céréales ou de farine destiné à l'alimentation humaine est susceptible de présenter un risque pour le consommateur ou peut être considéré comme « impropre à la consommation humaine ».

3. METHODE D'EXPERTISE

L'expertise collective a été réalisée par le Comité d'Experts Spécialisé « Résidus et Contaminants Chimiques et Physiques » réuni le 25 mai 2010 sur la base :

- Des rapports d'expertises de deux experts du Comité d'Experts Spécialisé « Résidus et Contaminants Chimiques et Physiques »

- De l'appui scientifique et technique de l'unité AQR-PC du Pôle d'appui scientifique à l'évaluation des risques (Paser)¹.

4. ARGUMENTAIRE

4.1 Données générales relatives au sarrasin et aux vesces

Le **sarrasin** (*Fagopyrum esculentum*) ou « blé noir » appartient à la famille des *Polygonaceae* à développement rapide (10 à 12 semaines) et tardif (fructification de fin août à septembre) pouvant atteindre une hauteur de 1,20 m et donnant des fruits secs de type akène contenant une seule graine trigone de masse moyenne de 24 mg.

En Bretagne, l'utilisation de la farine de sarrasin s'élèverait à 10 000-12 000 tonnes par an, dont 80% seraient d'origine étrangère (Chine, Canada et pays de l'Est)².



Figure 1 : Planche descriptive du sarrasin
(source : <http://www.tela-botanica.org>)

Les **vesces** ou genre *Vicia* regroupent de nombreuses plantes herbacées, appartenant à la famille des Fabacées ou Légumineuses, dont certaines sont cultivées comme plantes fourragères ou comme légumes.

Ce sont des plantes à feuilles pennées portant de nombreuses folioles et souvent terminées par une vrille qui leur permet de grimper en s'accrochant aux plantes voisines. Les tiges ne sont pas



Figure 2 : graines de sarrasin (maille de 5 mm)

¹ AST interne PASER/AQR-PC/AT/2010-170. Appui scientifique et technique interne DERNS relatif à la contamination de lots de sarrasins et de farines de sarrasin par de l'acide cyanhydrique. Saisine 2009-SA-0320, n° PASER-10-0018

² Source : FR3 Bretagne 10/11/2007, <http://www.mondecrepes.eu/articles.php?lng=fr&pg=141>

ailées, ce qui permet généralement de les différencier des gesses (genre *Lathyrus*). Les fruits sont des gousses (ou légumes).

Leur usage est très ancien, principalement dans l'alimentation animale en mélange à d'autres céréales, au foin, aux fourrages et aux composts verts.



Figure 3 : Plaque descriptive de *Vicia sativa*
(source : <http://www.faune-flore.be>)

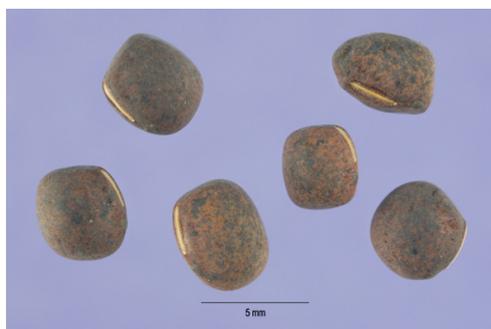


Figure 4 : Graines de *Vicia sativa*

Les principales toxines de bas poids moléculaires connues dans les graines de vesces sont :

- la canavanine et la β cyanoalanine,
- les dipeptides γ -glutamyl- β -cyanoalanine et γ -glutamyl-S-éthényl-cystéine,
- le glycoside cyanogénique : **vicianine**,
- les glycosides : **vicine** et **convicine**.

La vicianine est susceptible de libérer de l'HCN de plusieurs façons :

- après hydrolyse enzymatique : la graine contient une très faible quantité d'enzyme capable d'hydrolyser la vicianine de sorte que le broyage mécanique ne suffit pas à libérer de l'HCN. Chez l'animal, la libération se réalise après hydrolyse intestinale par la microflore du tube digestif sécrétant l'hydroxynitrile lyase.
- après contact des graines avec de l'eau tiède, ce qui correspond à la situation décrite au cours de l'alerte du Centre antipoison de Rennes : l'utilisatrice de farine a senti une odeur d'amande amère en humectant la farine avec de l'eau tiède.

Le contenu en HCN est assez variable dans les espèces de *Vicia sativa* (Akbari 1965). Certains auteurs (Hanelt 1967) ont identifié des variétés sans HCN. Dans le cas du lot examiné dans cet avis, les graines ont une teneur de 573 mg HCN/kg.

Les glycosides vicine et convicine appartiennent au groupe des pyrimidines glucopyranosides thermostables ; ils sont hydrolysés par la flore intestinale en divicine et isouramil (composés radicalaires très réactifs).

4.2 Données relatives à la qualité des résultats d'analyse

L'acide cyanhydrique est essentiellement recherché dans les milieux biologiques (sang, urine), dans le cadre d'intoxications aiguës. Concernant les matrices de type alimentaire, il existe peu d'informations sur les méthodes de dosage mises à part, certaines techniques développées initialement pour des dosages dans l'eau.

Dans les échantillons de nature alimentaire, l'acide cyanhydrique est majoritairement présent sous forme conjuguée (cyanoglycosides) ce qui nécessite l'ajout d'une étape d'hydrolyse enzymatique dans les protocoles expérimentaux (Chinaka 1998, Drochioiu 2008, Rezaul 2002). Les techniques analytiques actuelles prennent également en compte la volatilité de l'acide cyanhydrique (fixation en pH acide par exemple).

La méthode utilisée dans ce dossier est basée sur un protocole développé par le RIKILT³ et accepté par le Comité Européen de Normalisation (CEN).

L'examen du dossier analytique fourni par la DGCCRF ainsi que les compléments d'informations demandés au cours de l'instruction du dossier, permettent de conclure que :

- la technique de dosage est adaptée au dosage de HCN dans les graines de sarrasin et de *Vicia sativa* ;
- le laboratoire maîtrise convenablement la méthode de dosage ;
- la conservation des échantillons et le dosage de HCN dans les graines de vesces ont été réalisés dans de bonnes conditions de qualité.

Néanmoins, il est à noter que le rendement d'extraction n'est pas pris en compte dans la présentation des résultats ce qui conduit à une sous estimation des teneurs d'environ 30%. Enfin, il convient de noter que la limite de quantification de cette méthode (2 mg HCN/kg) semble très proche, voire supérieure à certaines limites fixées au niveau réglementaire et détaillées dans la suite de cet avis.

4.3 Données relatives à la toxicité par voie orale du cyanure (CN⁻) libéré à partir de glycosides cyanogéniques

Métabolisme de l'acide cyanhydrique

L'acide cyanhydrique est au pH physiologique de l'estomac, rapidement absorbé sous forme de cyanure (CN⁻).

Environ 99% du cyanure absorbé se lie à la méthémoglobine des érythrocytes, puis est principalement métabolisé au niveau du foie en thiocyanates sous l'action de la thiosulfate cyano sulfo transférase⁴. Une faible partie est exhalée (1 à 2%), le reste est éliminé dans les urines.

³ Institut danois de sécurité sanitaire des aliments

⁴ Deux autres voies sont décrites : la combinaison avec l'hydroxocobalamine pour former de la cyanocobalamine, la combinaison directe avec un composé soufré comme le 3 mercaptopyruvate.

Physiopathologie du cyanure (CN⁻)

Le CN⁻ est un inhibiteur non spécifique de nombreuses enzymes comme la cytochrome oxydase, la succinate déshydrogénase ou la super oxyde dismutase.

L'interaction entre le cyanure et la cytochrome oxydase est la mieux connue et l'inhibition du métabolisme cellulaire aérobie qui en résulte a constitué pendant longtemps la base de la physiopathologie de l'intoxication. Actuellement, d'autres perturbations cellulaires comme la perte de l'homéostasie acido-basique ou calcique, la peroxydation lipidique (neurotoxicité), la production d'acide nitrique ou de forme réactives de l'oxygène sont décrites.

Toxicologie du cyanure par voie orale**Effets toxiques observés chez l'animal :**

Les DL50 par voie orale du cyanure de potassium (KCN) chez le chien et le rat sont de 5,3 mg/kg p.c. et 10 à 15 mg/kg p.c. respectivement, correspondant à une dose de CN⁻ respectivement à 2,1 et 4 à 6 mg CN⁻ / kg p.c.

Chez le rat, une exposition pendant 90 jours, via l'eau de boisson, à du cyanure de sodium (NaCN) jusqu'à 12,5 mg CN⁻ / kg p.c. / j n'a pas entraîné d'effets néfastes sur la croissance, le poids des organes, les paramètres biologiques et histopathologiques (NTP 1993). Aucun dommage neurologique ou thyroïdien n'a été observé. Une légère diminution de la mobilité des spermatozoïdes a été notée sans mise en évidence d'une relation dose-réponse. Seule une réduction du nombre de spermatozoïdes par testicule a été observée à la plus forte dose (12,5 mg CN⁻ / kg p.c. / j). Dans cette étude, les auteurs ont déterminé une Dose Sans Effet Nocif Observé (DSENO) de 4,5 mg CN⁻ / kg p.c. / j.

Chez le porc, une exposition par gavage à des doses comprises entre 0,4 et 1,2 mg CN⁻ / kg p.c. / j, pendant 24 semaines de KCN a conduit à des perturbations comportementales avec un allongement des temps de réponse à certains stimuli (Jackson 1988). Les auteurs ont identifié une Dose Minimale avec Effet Nocif Observé (DMENO) à 1.2 mg CN⁻ / kg p.c. / j.

Il n'existe pas de données sur la cancérogénicité du cyanure. Les données disponibles indiquent que le cyanure n'est pas mutagène.

Effets toxiques observés chez l'homme :

Chez l'homme la dose létale de cyanure est de 1 à 7 mg KCN / kg p.c. ce qui correspond à une dose en CN⁻ comprise respectivement entre 0,5 et 3,5 mg CN⁻ / kg p.c.

Quelques données humaines issues d'études épidémiologiques de population consommant du manioc ont rapporté une association entre l'exposition au cyanure en lien avec la consommation de manioc amer et des troubles neurologiques soit de type neuropathie ataxique tropicale⁵ soit de type Konzo⁶ (Cliff, 1985).

Toxicologie des glycosides vicine et convicine

Les glycosides vicine et convicine sont hydrolysés par la flore intestinale en divicine et isouramil (composés radicalaires très réactifs) qui peuvent être à l'origine de favisme, anémie hémolytique

⁵ La neuropathie ataxique est marquée par l'apparition progressive de troubles visuels et auditifs, d'une fatigabilité et d'une faiblesse musculaire des membres inférieurs associés à des troubles cordonaux postérieurs entraînant une ataxie proprioceptive à la marche

⁶ Le Konzo est caractérisé par l'apparition brutale d'une paraplégie spastique parfois associée à des troubles visuels. A été décrit au Zaïre, au Mozambique, en Tanzanie.

survenant chez les sujets déficients en glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PD) (Arese 1981).

4.4 Proposition d'un seuil d'intervention

Teneurs maximales en HCN dans des denrées alimentaires définies dans la réglementation

Les teneurs pour l'acide cyanhydrique, fixées par l'annexe I de l'arrêté du 11 juillet 1991 relatif à l'établissement de critères généraux de qualité et de pureté pour les arômes alimentaires, sont de 1 mg/kg dans les denrées alimentaires et les boissons à l'exception des nougats, du massepain et de ses succédanées ou produits similaires (50 mg / kg) et des conserves de fruits à noyaux (5 mg / kg).

Le Committee of Experts on Flavourings du conseil de l'Europe propose une concentration maximale de HCN de 0,5 mg / kg pour les aliments solides et de 0,05 mg / kg pour les boissons. Quelques exceptions sont proposées : 0,5 mg / kg pour les jus de fruits à noyaux, 2 mg / kg dans les fruits à noyaux en conserves, 50 mg / kg dans le massepain et composés identiques.

Le règlement (CE) n°1334/2008 du Parlement européen et du Conseil du 16 décembre 2008 relatif aux arômes et à certains ingrédients alimentaires possédant des propriétés aromatisantes qui sont destinés à être utilisés dans et sur les denrées alimentaires, qui entrera en vigueur le 20 janvier 2011, prévoit uniquement des teneurs maximales en acide cyanhydrique dans le nougat, le massepain et ses succédanées ou produits similaires (50 mg / kg), dans les conserves de fruits à noyaux (5 mg / kg) et dans les boissons alcoolisées (35 mg / kg).

Le JECFA (Joint Expert Committee on Food Additives) a conclu en 1993 qu'en l'absence de données toxicologiques suffisantes et de données épidémiologiques consolidées, il n'était pas possible de fixer une quantité sans effet de glycosides cyanogéniques. Cependant, il précise que la valeur de 10 mg HCN/kg proposée pour la farine de manioc n'est pas associée à une toxicité aiguë.

Valeurs toxicologiques de référence proposées par différentes institutions

En 1996, l'OMS établit une dose journalière tolérable (DJT) de **12 µg CN⁻ / kg de poids corporel / j** sur la base de la DMENO définie par dans l'étude menée sur des porcs exposés par gavage à du KCN pendant 24 semaines (Jackson, 1988). Cette étude souffre cependant d'un manque de puissance statistique (groupes de 3 individus) et les effets observés, essentiellement des changements de comportement (agressivité) restent, selon les auteurs de l'étude, difficilement extrapolables à l'homme.

En 1997, l'Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR) s'est appuyée sur l'étude du National Toxicology Program (NTP 1993) menée sur des rats exposés pendant 90 jours à du NaCN dans l'eau de boisson. La valeur toxicologique de référence (VTR) de **50 µg CN⁻ / kg p.c. / j** (valable pour une exposition intermédiaire d'un an) a été proposée sur la base de la DSENO de 4,5 mg CN⁻ / kg p.c. / j, l'effet critique retenu étant les anomalies observées au niveau du sperme.

En 2000, le Committee of Experts on Flavourings du conseil de l'Europe, basant sa réflexion sur les données des études des populations de la République Démocratique du Congo souffrant de Konzo et exposés à l'acide cyanhydrique (via le manioc), a proposé une **DJT de 20 µg CN⁻ / kg p.c. / j**. Néanmoins, la spécificité de la population étudiée (notamment le mode de vie, le régime alimentaire, etc.) rend délicate l'extrapolation de cette VTR à d'autres populations.

Le « Department for Environment, Food and Rural Affairs » et l'« Environment Agency »⁷ ont retenu la valeur proposée par l'ATSDR en appliquant un facteur de sécurité supplémentaire de 3 pour prendre en compte le caractère sub-chronique de l'étude expérimentale (90 jours chez le rat).

⁷ "Contaminants in soil : collation of toxicological data and intake values for humans. Inorganic Cyanide". Department for Environment, Food and Rural Affairs and the Environment Agency. United Kingdom. March 2002

Dans le cadre de cette saisine, **les experts du CES RCCP** se référant à ces travaux **proposent une Dose Journalière Tolérable (DJT) de 15 µg CN⁻ / kg p.c. / j.**

Estimation d'un seuil d'intervention

Par ailleurs, une simulation visant à définir des seuils d'intervention en HCN mesuré dans la farine de sarrasin, a été réalisée à partir des hypothèses suivantes :

- une simulation identique à celle utilisée pour l'avis rendu sur la contamination de farine de sarrasin par des alcaloïdes (2008-SA-0221)⁸ ;
- la DJT de 15 µg CN⁻ / kg p.c. / j proposée dans le présent avis ;
- une consommation maximale chez les seuls consommateurs d'aliments à base de sarrasin (farine incluse) de 100 g chez les adultes et de 60 g chez les enfants de 3 à 17 ans (données INCA2)⁹.

Les seuils ainsi calculés se situent entre 10 mg HCN / kg de farine, pour les enfants de 3 à 17 ans (pour un poids corporel moyen de 40 kg) et 12,5 mg HCN / kg pour la sous-catégorie des enfants de 3 à 10 ans (pour un poids corporel moyen de 25 kg). Pour les adultes, le seuil est estimé à 10,5 mg HCN / kg.

La valeur seuil la plus protectrice pour l'ensemble de la population est de 10 mg HCN / kg de farine de sarrasin.

Argumentaire

En se basant sur une DJT de 15 µg CN⁻ / kg p.c. / j, la simulation conclut à un seuil maximal d'HCN dans la farine de sarrasin de 10 mg / kg.

Ce seuil d'intervention peut être considéré comme relativement protecteur, compte tenu :

- des niveaux maximum de consommation utilisés pour réaliser ce calcul ;
- des facteurs de sécurité utilisés pour dériver la DJT ;
- la **libération progressive** de CN⁻ dans l'intestin (suite à l'hydrolyse enzymatique des glycosides cyanogéniques) évitant une saturation des mécanismes de détoxification ;
- du mode de préparation d'une farine ainsi contaminée (mouillage et libération HCN, élimination par chauffage), pouvant entraîner une diminution de la quantité d'HCN dans le produit finalement consommé.

Cependant, d'autres sources alimentaires sont susceptibles d'être contaminées naturellement en HCN (masepain, fruits à coques, etc.), sans qu'il soit possible d'évaluer précisément leur contribution à l'exposition alimentaire en HCN des consommateurs.

En se fondant sur les dosages réalisés par la DGCCRF au cours de son enquête, il est possible de considérer un seuil de contamination minimale de 2 mg HCN / kg de farine. La teneur de 1 mg HCN / kg dans les denrées alimentaires, fixée par l'annexe I de l'arrêté du 11 juillet 1991, paraît de ce fait difficilement exploitable comme seuil d'intervention.

Sur la base de ces éléments de réflexions, l'Anses estime que le seuil d'intervention relatif à une contamination en HCN de la farine de sarrasin se situe à 10 mg HCN / kg au maximum.

Dans le contexte précis de cette saisine, seul l'acide cyanhydrique a été recherché comme agent toxique, la mise en évidence d'autres composés n'ayant pas été réalisée. Or, la contamination par

⁸ Avis relatif à la présence d'alcaloïdes (atropine et scopolamine) en tant que substances indésirables dans la farine de sarrasin destinée à la consommation humaine et à la pertinence du seuil de gestion provisoire proposé par la DGCCRF. Afssa, 18 février 2009.

⁹ L'analyse des données de consommation INCA2 (2006-2007) indique que la consommation maximale de produits à base de sarrasin (galettes/crêpes pour l'essentiel) chez les adultes (18-79 ans) et enfants (3-17 ans) seuls consommateurs est inférieure à 8 galettes/crêpes par jour (équivalent à 100 g/jour de farine de sarrasin). Dans une galette, la proportion moyenne de farine de sarrasin est d'environ 25 % (Afssa, NT OCA/MB/2008-151).

des graines de vesce expose le consommateur de farine à la vicine dont l'aglycone est la divicine et à la convicine dont l'aglycone est l'isouramil (composés radicalaires pouvant être à l'origine de favisme chez les sujets déficients en G6PD).

Dans son avis relatif aux recommandations concernant l'alimentation des personnes porteuses d'un déficit en glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PD), l'Afssa a conclu que « Seule la consommation des variétés de *Vicia faba* (fèves ou féveroles), la plus consommée par l'homme parmi les espèces de *Vicia*, et à un degré moindre de *Vicia sativa* (Vesce), peu ou pas consommée par l'homme, est contre-indiquée chez les sujets atteints de déficit en G-6-PD, et ce quels que soient les modes de préparations et de conservation de ces aliments¹⁰. »

5. CONCLUSION

La contamination de la farine de sarrasin par des graines de vesces résulte d'une mauvaise pratique agricole.

Le consommateur est alors exposé au risque d'une consommation de cyanure. L'Anses estime que le seuil d'intervention relatif à une contamination en acide cyanhydrique de la farine de sarrasin se situe à **10 mg HCN / kg au maximum**.

En outre, bien que non recherché dans les analyses, il existe un risque de contamination par des substances susceptibles de provoquer des troubles graves chez les personnes atteintes de déficit en Glucose-6-Phosphate Déshydrogénase. L'Anses estimait dans son avis de 2006 que la consommation de ces substances était contre-indiquée chez les sujets déficients en G6PD.

Au regard de tous ces éléments, l'Anses conclut que le lot considéré est susceptible de présenter un risque sanitaire pour les consommateurs, et recommande de ne pas le destiner à l'alimentation humaine.

Cette recommandation n'est valable que dans le cas précis d'une contamination de farine de sarrasin par de l'acide cyanhydrique libéré par des graines de vesces.

Le directeur général

Marc MORTUREUX

MOTS-CLES

Mots clés : *Acide cyanhydrique, vesces, sarrasin, déficit en G6PD*

¹⁰ Avis relatif à la demande d'élaboration de recommandations concernant l'alimentation des personnes porteuses d'un déficit en Glucose-6-Phosphate déshydrogénase (G-6-PD). Afssa, 2006.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Afssa (2006). Avis relatif à la demande d'élaboration de recommandations concernant l'alimentation des personnes porteuses d'un déficit en Glucose-6-Phosphate déshydrogénase (G-6-PD).

Afssa (2009). Avis relatif à la présence d'alcaloïdes (atropine et scopolamine) en tant que substances indésirables dans la farine de sarrasin destinée à la consommation humaine et à la pertinence du seuil de gestion provisoire proposé par la DGCCRF.

Afssa (2008). Note technique OCA/MB/2008-151. Estimation des consommations de produits à base de sarrasin (blé noir) de la population française à partir des données de l'étude INCA2.

Afssa (2010). AST interne PASER/AQR-PC/AT/2010-170. Appui scientifique et technique interne DERNS relatif à la contamination de lots de sarrasins et de farines de sarrasin par de l'acide cyanhydrique. Saisine 2009-SA-0320, n° PASER-10-0018.

Akbari S (1965) Investigations on hydrocyanic acid in vetch (*Vicia sativa*) and sugar sorghum. *Landwirtschaftliche Forschung* **18**, 7&-9.

Arese P, Bosia A, Naitana A, Gaetani S, D'Aquino M, Gaetani GF (1981) Effect of divicine and isouramil on red cell metabolism in normal and G6PD-deficient (Mediterranean variant) subjects. Possible role in the genesis of favism. *Progress in Clinical and Biological Research* **55**, 725-746.

Chinaka S, Takayama N, Michigami Y, Ueda K (1998) Simultaneous determination of cyanide and thiocyanate in blood by ion chromatography with fluorescence and ultraviolet detection. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications* **713**(2), 353-359

Cliff J, Mårtensson J, Lundqvist P, Rosling H, Sörbo B (1985) Association of high cyanide and low sulphur intake in cassava-induced spastic paraparesis. *The Lancet* **326**(8466), 1211-1213.

Drochioiu G, Arsene C, Murariu M, Oniscu C (2008) Analysis of cyanogens with resorcinol and picrate. *Food and Chemical Toxicology* **46**(11), 3540-3545.

Hanelt P, Tschiersch B (1967) Blausäureglykosid-Untersuchungen am Gaterslebener Wickensortiment. *Genetic Resources and Crop Evolution* **15**(1), 85-96.

Jackson LC, Oseguera M, Medrano S, Kim YL (1988) Carbamylation of hemoglobin in vivo with chronic sublethal dietary cyanide: Implications for hemoglobin S. *Biochemical medicine and metabolic biology* **39**(1), 64-68.

NTP (1993) Sodium cyanide administered in drinking water to F344/N rats and B6C3F1 mice. Research Triangle Park, NC, National Institutes of Health, National Toxicology Program.

Rezaul Haque M, Bradbury H (2002) Total cyanide determination of plants and foods using the picrate and acid hydrolysis methods. *Food chemistry* **77**(1), 107-114.