



**UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS**



DEPARTAMENTO DE TOXICOLOGÍA Y FARMACOLOGÍA

**CONCENTRACIÓN DE CIANURO RELACIONADO CON EL MÉTODO
DE PAPEL PICRATO Y ESPECTROFOTOMETRÍA EN**

Manihot esculenta Crantz

www.bdigital.ula.ve

Autores:

Mirbeli Gabriela Trejo Bencomo

C.I: V- 25.170.877

Yasney Daniela Molina Roman

C.I: V- 25.728.545

Tutor: Prof. Lester Rodríguez

Asesor metodológico:

Prof. José Gregorio Hernández

Mérida, Mayo 19 de 2023

DEDICATORIA

A todos los profesores de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis por su gran dedicación, que siempre estuvieron dispuestos a compartir sus conocimientos, por estar constantemente atentos a nuestras inquietudes y por el amor que brindan a los estudiantes. Y aquellas personas que de alguna u otra forma colaboraron con nosotras para poder realizar esta tesis.

www.bdigital.ula.ve

AGRADECIMIENTO

He culminado parte de un capítulo muy importante en mi vida. Me siento profundamente agradecida con quienes me han apoyado en todomomento y emocionada por haber llegado a este logro.

En primer lugar, quiero agradecer a **Dios** por ser mi guía y haberme dado la fuerza, sabiduría y paciencia para llevar a cabo este proyecto.

A mis padres, **Alipio Molina** y **Gilia Román**, por todo el amor, apoyo y confianza que me han brindado siempre. Gracias por haberme enseñado los valores más importantes de la vida, su esfuerzo y sacrificio han sido muy valioso para mí. Son mi pilar y los amo infinitamente.

A mi hermano, **Edicson Molina**, gracias por tus palabras de aliento y por estar siempre ahí para mí. Eres una de las personas más importantes en mi vida y estoy agradecida por tenerte como mi hermano.

A toda mi familia, gracias por su apoyo y ayuda en todo momento. En especial a **Yolanda Molina** y **Marcos Cuevas**, gracias por estar presente en los momentos más importantes.

A mi buena amiga y colega **Nancy Uzcategui**, gracias por tus consejos y por estar ahí en los momentos difíciles, tu apoyo y compañía han sido invaluable para mí.

A todos mis compañeros, gracias por haber compartido conmigo este camino académico. En especial a **Naivedy Morales** y **Kristel Sandoval**, por haber sido mí equipo, animarme, escucharme y hacerme reír.

A mi compañera de tesis **Mirbeli Trejo**, gracias por tu dedicación, esfuerzo y motivación en este trabajo. Han formado parte de mi familia universitaria y estoy agradecida por haberlas conocido.

Finalmente, quien ha sido mi compañero de vida por largos años **Melek Fakher**, gracias por haberme apoyado incondicionalmente y por cada momento compartido.

Con gratitud, **Yasney Molina**.

AGRADECIMIENTO

Quiero expresar estas palabras de agradecimiento, ya que a través del tiempo hemos aprendido a valorar la grandeza de lo diminuto y a compartir las alegrías con todas aquellas personas que mantienen viva la esperanza de vernos triunfar. Este logro se lo dedico a **Dios** todopoderoso por ser mi guía, compañero, llenarme de bendiciones y por darme la fuerza de voluntad necesaria para salir adelante, permitiéndome lograr este anhelado sueño que hoy felizmente se hace realidad.

A mi madre, **Miriam**, le agradezco por darme el hermoso regalo de la vida, su amor sincero, sacrificio, trabajo, sus consejos y bendiciones que me han acompañado en todo momento. Por enseñarme que en la vida todo se logra con trabajo, perseverancia y honestidad. ¡Sin tu apoyo no lo habría logrado!

A mi familia, quienes siempre han creído en mí. Gracias por sus consejos, cariño y por enseñarme a valorar cada momento de la vida, en especial mis primas **Kenny** e **Hilda** que han sido como mis hermanas.

A mis compañeros y amigos quienes sin esperar nada a cambio compartieron sus conocimientos, alegrías y tristezas durante toda la carrera, en especial a mis compañeras **Naivedy**, **Kristel**. Y, a mi compañera de tesis **Yasney** que ha sido un apoyo no solo en este trabajo de investigación sino también durante la carrera.

A mi novio, **Daniel**, gracias por cada momento compartido, por acompañarme en este hermoso camino y ser un apoyo, alentándome a seguir adelante.

Mirbeli Trejo

TABLA DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	ix
ÍNDICE DE ESQUEMAS	x
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	xii
RESUMEN.....	xiii
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I. EL PROBLEMA	4
Planteamiento del problema	4
Justificación de la investigación.....	7
Objetivos de la investigación.....	10
Alcances y limitaciones de la investigación	11
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	12
Trabajos previos	12
Antecedentes Históricos	16
Bases teóricas	18
Familia Euphorbiaceae.....	18
Género Manihot.....	18
<i>Manihot esculenta</i> Crantz.....	19
Usos comunes de la yuca.....	20
Clasificación de <i>Manihot esculenta</i> Crantz según el contenido de cianuro.....	21
Factores que afectan el contenido de cianuro de la yuca.....	21

Desintoxicación de la yuca	23
Metabolitos secundarios de <i>Manihot esculenta</i> Crantz	25
Glucósidos cianogénicos.....	26
Cianuro.....	32
Toxicocinética del cianuro	35
Mecanismo de intoxicación del cianuro.....	39
Neuropatías relacionadas con el consumo de la yuca	41
Métodos de análisis del cianuro	43
<i>Definición operacional de términos.....</i>	<i>47</i>
Fitoquímicos.....	47
Metabolito.....	48
Glucósidos	48
Lotaustralina.....	48
Espectrofotómetro.....	48
La ley de Lambert-Beer.....	49
Absorbancia	49
pH.....	49
Ácido pícrico.....	50
Tolueno	50
Definición operacional de las variables	51
CAPÍTULO III. MARCO METODOLÓGICO.....	53
Tipo de Investigación.....	53
Diseño de investigación.....	53
Población y Muestra	54

Sistema de variables	54
Instrumento de recolección de datos.....	55
Procedimientos de la Investigación	55
Diseño de Análisis	64
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES	65
Resultados.....	65
Discusiones	75
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	78
Conclusiones.....	78
Recomendaciones.....	79
REFERENCIAS BIBLIOHEMEROGRÁFICAS	80

www.bdigital.ula.ve

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación botánica de la <i>Manihot esculenta</i> Crantz.	20
Tabla 2. Propiedades fisicoquímicas de la linamarina	28
Tabla 3. Propiedades fisicoquímicas de la acetoniocianohidrina	31
Tabla 4. Propiedades fisicoquímicas del cianuro.....	33
Tabla 5. Operacionalización del evento de estudio/criterio de análisis concentración de cianuro relacionado con el método papel picrato y espectrofotometría en <i>Manihot esculenta</i> Crantz.....	51
Tabla 6. Operacionalización del evento de estudio/criterio de análisis concentración de cianuro relacionado con el método papel picrato y espectrofotometría en <i>Manihot esculenta</i> Crantz.....	52
Tabla 7. Contenido aproximado de HCN según la escala de colores	58
Tabla 8. Procedencia y edad aproximada de las raíces de yuca	65
Tabla 9. Escala de color y contenido aproximado de HCN según la escala de colores del método cualitativo	67
Tabla 10. Comparación de las absorbancias obtenidas del producto de reacción del picrato alcalino con el cianuro liberado en las reacciones de extracción, usando benceno y tolueno.....	68
Tabla 11. Resultados semicuantitativos de la cantidad de HCN según la carta de colores, valores de las absorbancias y sus respectivas concentraciones de HCN del análisis cuantitativo, pH utilizado en el análisis	71
Tabla 12. Concentración de HCN en las diferentes partes de la raíz de yuca	73

ÍNDICE DE ESQUEMAS

Esquema 1. Preparación del material.....	56
Esquema 2. Pasos para el análisis cualitativo del contenido de ácido cianhídrico en la yuca	57
Esquema 3. Pasos para la preparación del blanco	60
Esquema 4. Pasos para la preparación de la muestra	61
Esquema 5. Pasos para la preparación del estándar.....	62
Esquema 6. Pasos para el análisis cuantitativo del contenido de ácido cianhídrico en la yuca	64

www.bdigital.ula.ve

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Manihot esculenta Crantz.....	19
Figura 2. Mecanismo de liberación del HCN	27
Figura 3. Ruta biosintética de linamarina	29
Figura 4. Cianogenia a partir de linamarina y metabolismo del cianuro	30
Figura 5. Biosíntesis de acetocianohidrina a partir de la hidrólisis enzimática de Linamarina.....	32
Figura 6. Conversión del cianuro en tiocianato por medio de la enzima rodanasa	36
Figura 7. Destino metabólico de la linamarina y el cianuro de la yuca durante su digestión.....	38
Figura 8. Pasos metabólicos para la excreción del cianuro.....	39
Figura 9. Escala de color para la determinación cualitativa de HCN usando solución de picrato alcalino	58
Figura 10. Carta de colores para la determinación de cianuro	63
Figura 11. Análisis cualitativo de las muestras de yuca.....	66
Figura 12. Variación de color en las tiras de papel picrato para la determinación cuantitativa	69

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Contenido de HCN en ppm de las raíces de yuca fresca (variedad dulce) provenientes de las diferentes zonas.	72
Gráfico 2. Concentración de HCN (ppm) en relación a la edad de la planta	74

www.bdigital.ula.ve



UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
DEPARTAMENTO DE TOXICOLOGÍA Y FARMACOLOGÍA
Laboratorio “Dr. Pablo Paredes Vivas”
ÁREA DE INVESTIGACIÓN: TOXICOLOGÍA
LINEA DE INVESTIGACIÓN: Análisis de materia prima



CONCENTRACIÓN DE CIANURO RELACIONADO CON EL MÉTODO
DE PAPEL PICRATO Y ESPECTROFOTOMETRÍA EN

Manihot esculenta Crantz

Tesistas:

Mirbeli Gabriela Trejo Bencomo
C.I: V- 25.170.877

Yasney Daniela Molina Roman
C.I: V- 25.728.545

Tutor: Prof. Lester Rodríguez

RESUMEN

www.bdigital.ula.ve

La *Manihot esculenta* Crantz pertenece a la familia *Euphorbiaceae*, en ella están presentes glucósidos cianogénicos denominados lotaustralina y linamarina. Este glucósido al hidrolizarse por la enzima linamarasa se convierte en cianuro de hidrógeno. El cianuro puede causar enfermedades neurológicas como el konzo, hipoxia e intoxicaciones. El objetivo de esta investigación es analizar la relación de correspondencia entre la concentración de cianuro, el método de papel picrato y espectrofotometría UV-Vis en *Manihot esculenta* Crantz. El tipo de investigación es analítica y el diseño de campo, laboratorio, contemporáneo, transeccional y univariable. Se utilizaron 40 trozos de las raíces de *Manihot esculenta* Crantz, las cuales fueron procesadas en el Laboratorio de Toxicología “Dr. Pablo Paredes Vivas” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes. La concentración de cianuro fue analizada con tiras de papel de filtro impregnadas con ácido pícrico que indican el grado de HCN presente en la yuca y luego medido en el espectrofotómetro SHIMADZU UV-160A. Es decir, que los datos fueron estudiados mediante un enfoque tanto cualitativo como cuantitativo. En los resultados se evidenció la presencia de cianuro utilizando ambos métodos, además mostro una variación en la concentración de 28,51 hasta 180,58 ppm de HCN en la pulpa fresca de yuca.

Palabras clave: concentración de cianuro, papel picrato, espectrofotometría UV-Vis, *Manihot esculenta* Crantz.

INTRODUCCIÓN

La yuca (*Manihot esculenta* Crantz), es la tercera fuente de alimento más importante en los trópicos, después del arroz y el maíz. Es consumida a nivel mundial por su alto contenido calórico o energético. No obstante, contiene en su raíz y en sus tejidos los glucósidos cianogénicos lotaustralina y linamarina, así como una enzima linamarasa que cataliza la hidrólisis a glucosa y cianohidrina, ésta se descompone en condiciones neutras o alcalinas produciendo ácido cianhídrico (HCN) causante de toxicidad. Existen tres formas de cianógenos presentes en las raíces de yuca, así como en los productos de yuca procesados, que corresponden a linamarina y lotaustralina, cianohidrina y HCN/CN⁻. El contenido total de cianógeno o potencial cianogénico de una muestra es la cantidad total de estos tres cianógenos, que se expresa en mg equivalente de HCN/kg de peso fresco. Por su parte, la cianohidrina producida se puede descomponer rápidamente en cianuro (CN⁻) en las condiciones alcalinas del intestino (Bradbury, Egan y Bradbury, 1999).

El cianuro es una sustancia química formada por un triple enlace entre el carbono y el nitrógeno, caracterizado por un olor a almendras amargas. Éste se encuentra de forma natural en el tubérculo *Manihot esculenta* Crantz, el cual posee diferentes concentraciones de cianuro permitiendo clasificarlo en variedades dulces o variedades amargas (Cartay, 1979). El cianuro de hidrógeno líquido o gaseoso y las sales alcalinas de cianuro pueden ingresar al cuerpo por inhalación, ingestión o absorción a través de los ojos, las mucosas y la piel (Quintero, 2015).

El grado de toxicidad del cianuro de hidrógeno para los humanos depende del tipo de exposición. Si bien el tiempo y la dosis de exposición pueden variar, la acción bioquímica del cianuro es la misma al ingresar en el cuerpo. Una vez que se encuentra en el torrente sanguíneo, el cianuro forma un complejo estable con la citocromo oxidasa, una enzima que promueve la

transferencia de electrones a las mitocondrias de las células durante la síntesis de trifosfato de adenosina (ATP). Si la citocromo oxidasa no funciona correctamente las células no consiguen aprovechar el oxígeno del torrente sanguíneo, lo que causa hipoxia citotóxica o asfixia celular. Es importante señalar que el cianuro se encuentra entre los venenos más potentes y de efectos más rápidos hasta hoy conocidos (Quintero, 2015).

El cianuro puede ser medido a través de métodos cualitativos o cuantitativos. Para ello, puede utilizarse el método de papel picrato, el cual indica el grado de HCN presente en la yuca. También con un espectrofotómetro, instrumento que utiliza la luz para medir concentraciones de las sustancias químicas (Aristizábal y Sánchez, 2007; Skoog y Leary, 1994). Uno de los metabolitos secundarios característico de la *Manihot esculenta* es el glucósido linamarina, con alto poder de hidrólisis liberando cianuro durante la digestión, por lo cual resulta perjudicial para la salud humana (Ospina y Ceballos, 2002). El consumo regular de yuca con mal estado nutricional, a largo plazo provoca intoxicación crónica por cianuro que puede conducir al desarrollo de ciertas afecciones incluida la alteración de la función tiroidea y trastornos neurológicos (Quiroga y Olmos, 2009).

La cantidad de cianuro es estimada en la pulpa fresca de la yuca de manera cualitativa con el método de papel picrato. Este análisis utiliza tolueno para facilitar la volatilización del cianuro, el cual reacciona con la solución de picrato alcalino impregnada en una tira de papel de filtro. También, puede ser analizado de forma cuantitativa, a través de la autohidrólisis dentro de un frasco cerrado por medio de la reacción de Guignard, la cual produce un cambio en la coloración en las tiras de papel de filtro que se comparan contra una escala patrón. Posteriormente, el color en la tira de papel de filtro es disuelto en agua y cuantificado por medio de espectrofotometría (Aristizábal y Sánchez, 2007).

El siguiente trabajo de investigación ha sido estructurado en V capítulos. El Capítulo I, denominado El Problema, contiene los siguientes

elementos: planteamiento del problema, justificación, objetivos, alcances y limitaciones de la investigación. El Capítulo II, titulado Marco Teórico abarca: trabajos previos, antecedentes históricos, bases teóricas y operacionalización del evento de estudio. El Capítulo III, corresponde al Marco Metodológico, el cual comprende los siguientes puntos: tipo y diseño de investigación, población y muestra, instrumento de recolección de datos, procedimientos de la investigación y diseño de análisis. El Capítulo IV, denominado Resultados y Discusión. El Capítulo V, llamado Conclusiones y Recomendaciones.

www.bdigital.ula.ve

CAPITULO I

EL PROBLEMA

Planteamiento del problema

La yuca (*Manihot esculenta* Crantz), es un tubérculo rico en almidón, azúcares, fibra y se distingue de otros tubérculos por su contenido de cianuro. El cianuro es un líquido volátil, incoloro, con olor característico a almendras amargas. El nivel presente en la yuca, determina la diferencia entre subespecies: amarga (concentraciones mayores de 100 mg HCN/Kg) y dulces (concentraciones menores de 100 mg HCN/Kg) que pueden causar intoxicaciones. Cuando el cianuro entra al organismo por ingestión actúa como inhibidor enzimático no específico; inhibe varias enzimas, en especial la citocromo oxidasa, bloqueando la producción de ATP e induciendo hipoxia celular. El sistema nervioso central (SNC) es su órgano blanco primario, pero también la tiroides y el riñón (Rivadeneira, Rodríguez y Salas, 2012).

Es importante resaltar que las plantas tienen un metabolismo primario y secundario, el cual les permite producir sus propios metabolitos (Ospina y Ceballos, 2002). Tal es el caso de los glucósidos cianogénicos como la linamarina y lotaustralina, presentes en la yuca, que se hidrolizan por medio de la acción de la enzima linamarasa, dando origen a glucosa y cianhidrina, este último se descompone en acetona y ácido cianhídrico; ocasionando toxicidad en el organismo (Rivadeneira y Cols, 2012). Aunque el cuerpo humano tiene un mecanismo bastante efectivo para desintoxicarse al convertir HCN en tiocianato que es mucho menos tóxico, no puede contrarrestarse con la ingestión elevada (Delange y Ahluwalia, 1982). Si el

glucósido pasa intacto del intestino a la sangre, probablemente se excrete inalterado en la orina, sin causar daño al organismo. Pero si la linamarina ingerida libera cianuro en el intestino durante la digestión es causa de intoxicación (Díaz, 2010).

La Conferencia Norteamericana de Higienistas Industriales Gubernamentales establece que el límite umbral de dosis letal para el ser humano es de 1 a 3 mg de cianuro libre por kg de masa corporal (Taylor, Roney, Harper, Fransen y Swarts, 2006). Por ello, se hace necesario la medición del cianuro, lo cual puede realizarse mediante diferentes técnicas cualitativas o cuantitativas. De hecho, existen varios métodos precisos de análisis que permiten la determinación separada de linamarina, cianohidrina de acetona y HCN (cianógenos totales), pero estos métodos suelen ser demasiado complejos para ser utilizados en países en desarrollo como Venezuela. Excepto el caso del método de hidrolisis ácida que no usa linamarasa, el alto costo de la linamarasa comercial y su dificultad de preparación también constituye un impedimento de métodos precisos, por lo que se ha desarrollado un método simple con picrato para medir cianógenos totales en raíces de *Manihot esculenta*, que aprovecha la linamarasa endógena presente en los tubérculos de yuca (Bradbury y Cols, 1999).

El picrato es un reactivo que puede ser utilizado como método cualitativo funcionando como indicador al sumergirse en papel de filtro, muestra el grado de HCN presente en la yuca, ya que la solución de picrato alcalino actúa como agente atrapante del HCN liberado, las tiras de papel picrato cambian lentamente de naranja a rojo, y el color se desarrolla completamente después de las 24 horas (Bradbury y Cols, 1999). De igual manera, también puede implementarse como método cuantitativo a través de la espectrofotometría, una técnica que utiliza la luz para medir las concentraciones de las sustancias químicas. Es decir, mide la cantidad de energía radiante que absorbe o transmite un sistema en función de la longitud

de onda. Se fundamenta en gran medida en la ley de Lambert-Beer y utiliza como instrumento el espectrofotómetro (Skoog y Leary, 1994).

Debido a que la yuca representa una fuente importante de calorías en los países tropicales y ocupa el décimo lugar entre todos los cultivos en la producción mundial, es potencialmente tóxica para las poblaciones humanas que subsisten con dietas a base de yuca y baja ingestión de proteínas. Además, casi todos los tejidos de la yuca contienen grandes cantidades de glucósidos cianogénicos, como la linamarina y la lotoaustralina. Sin embargo, la linamarina representa el 95% del total de cianoglucósidos, por lo tanto, la mayor parte de la investigación sobre cianoglucósidos de yuca se ha centrado en la bioquímica y el metabolismo de dicho compuesto (Santana, Vásquez, Matheus y Aldao, 2002).

De acuerdo con los estudios realizados durante el último quinquenio, varios autores han realizado diversas investigaciones para conocer la concentración de cianuro de hidrógeno presente en *Manihot esculenta* Crantz. De esta manera, análisis realizados al contenido de cianuro en raíces de las principales variedades de yuca cultivadas en Camerún demostraron que se encontraban dentro del rango moderada a altamente tóxico. No obstante, el procesamiento de la yuca en diferentes alimentos tradicionales contribuye a reducir el contenido de cianuro (Ndam, Mounjouenpou, Kansci, Kenfack, Fotso, Ngonu, Akhobakoh y Nyegue, 2019). Por otra parte, otros autores evidenciaron la necesidad de realizar pruebas continuas para analizar el contenido de cianuro de los productos alimenticios a base de yuca, especialmente los productos ya elaborados, cuyo contenido de cianuro no se reducirá antes del consumo. Aunado a esto, se detectó cianuro en productos de yuca congelada, aun cuando puede ser eliminado mediante cocción, puede resultar tóxico para el organismo (Quinn, Myrans y Gleadow, 2022).

Otro estudio realizado reveló que había diferencias significativas en la concentración de cianuro de hidrógeno (HCN) entre variedades de yuca y las

diferentes partes de la planta. Los autores concluyeron que las variedades de yuca tenían niveles significativamente altos de cianuro y superaban el límite recomendado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) de 10 mg/kg de peso corporal. Por lo tanto, recomiendan una campaña de sensibilización para educar a los consumidores sobre el procesamiento y técnicas previas al consumo de yuca ya que niveles altos de cianógenos resultan tóxicos al organismo (Maitha, Kamau, Kimatu y Hunja, 2022).

En líneas generales podemos decir que es necesario medir el nivel de cianuro en las raíces de *Manihot esculenta*, ya que el potencial cianogénico de las hojas y raíces oscila entre 2 y 1000 ppm de HCN (mg equivalente de HCN/Kg de peso fresco), por lo tanto, las raíces de yuca que contienen > 100 ppm deben procesarse para reducir el potencial cianogénico antes de usarlas para el consumo humano (Egan, Yeoh y Bradbury, 1998).

Una vez descrita la situación actual del problema de estudio, las autoras de esta investigación formulan el siguiente enunciado holopráxico: ¿Cuál es la relación de correspondencia entre la concentración de cianuro, el método de papel picrato y espectrofotometría UV-Vis en *Manihot esculenta* Crantz?

Justificación de la investigación

La necesidad que llevo a las autoras a realizar la investigación, se basó en el hecho de que existen numerosos alimentos vegetales de consumo rutinario en los cuales están presente con frecuencia compuestos tóxicos. En condiciones normales, el procesamiento de dichos alimentos está adaptado para permitir su consumo seguro. Sin embargo, en determinadas circunstancias, estos tóxicos provocan la aparición de enfermedades, un caso importante es el de la mandioca o yuca. En los países tropicales, la raíz de yuca se utiliza como alimento por su importante fuente de almidón y constituye el producto básico de alimentación en aproximadamente medio billón de personas. Las raíces y las hojas de la yuca contienen altos niveles

de glucósidos cianogénicos como la lotaustralina y linamarina, que en el organismo tras la acción enzimática produce cianuro y acetona los cuales pueden ser potencialmente tóxicos cuando se consumen en grandes cantidades. La acetona se elimina del organismo, pero el cianuro, permanece y se acumula en los tejidos (Rivadeneira y Cols, 2012).

De esta manera, la toxicidad de la yuca se atribuye a la presencia del glucósido linamarina, potencialmente hidrolizable liberando cianuro (CN⁻). Aunque este glucósido sea removido en su mayor parte durante el procesamiento de las raíces, el uso de condiciones inadecuadas de proceso conlleva a que pueda estar presente en la forma intacta o hidrolizada (acetonacianohidrina y HCN) en los productos derivados de la planta en concentraciones inapropiadas para el consumo, poniendo en riesgo la salud del consumidor. El efecto tóxico del HCN libre o ligado (acetonacianohidrina) puede ser agudo o crónico, caracterizándose el primero por envenenamiento drástico y el segundo por daños en el sistema nervioso central (SNC) o por la ocurrencia de bocio (Cereda, 2003).

Según las concentraciones de cianuro se pueden describir dos clases de yuca: la yuca dulce y la yuca amarga, ambas poseen glucósidos tóxicos. La yuca dulce contiene hasta 50 veces menos proporción de cianuro, aunque no por ello resulta menos tóxica, esto depende de las condiciones del terreno, clima, entre otros (Córdoba, 2006). Cabe destacar que, el consumo regular de yuca amarga no adecuadamente detoxificada, puede producir en el organismo diferentes síntomas, desde náuseas, vómitos, mareos, trastornos del sueño y dolor abdominal unas horas después de la ingestión, hasta las formas más graves como alteraciones neurológicas y la muerte. No obstante, la yuca ha sido utilizada como base alimentaria de la población de escasos recursos económicos en algunos países por la versatilidad de usos, convirtiéndose en el cuarto cultivo más predominante del mundo. Hasta el presente no se conocen variedades de yuca libres de cianógenos, por lo tanto, es importante señalar que ingesta de grandes cantidades de yuca con

alto contenido de glucósido cianogénico, en forma cruda o mal procesada, puede causar envenenamiento (Rivadeneira y Cols, 2012).

Además, estudios epidemiológicos asocian el consumo de yuca en la población rural de bajos recursos económicos con hipotiroidismo y dos enfermedades neurológicas muy diferentes entre sí: la primera, neuropatía atáxica tropical (NAT), una enfermedad crónica presentada en personas de más de 40 años con una dieta monótona predominada por la yuca. Se caracteriza por una polineuropatía periférica, sordera neurosensorial, mielopatía y atrofia óptica. La segunda, el konzo es una enfermedad que afecta preferentemente a niños y mujeres, aparece de forma abrupta en períodos de crisis alimentaria, en los cuales la yuca se mantiene prácticamente como el único alimento disponible. Causa daño de las motoneuronas, produciendo una parálisis espástica de ambas piernas (paraparesis) o de ambos brazos y piernas (tetraparesis) (Rivadeneira y Cols, 2012).

Debido a esto surge la necesidad de conocer las concentraciones de cianuro que se encuentran presentes en las diferentes variedades de yuca tomando en cuenta que estas pueden variar significativamente dependiendo de las condiciones del suelo o incluso climáticas donde se localice el cultivo de mandioca que posteriormente será utilizado como alimento en la población ya sea de forma directa o como subproducto de ésta.

Objetivos de la investigación

Objetivo General:

Analizar la concentración de cianuro mediante el método de papel picrato y espectrofotometría UV-Vis en *Manihot esculenta* Crantz.

Objetivos específicos:

-Demostrar la presencia de cianuro en *Manihot esculenta* Crantz através del método de papel picrato.

-Determinar la concentración de cianuro en diferentes muestras de yuca con la técnica de espectrofotometría UV-Vis mediante la reacción entre el ácido pícrico y el cianuro.

-Evaluar la variabilidad en el contenido de cianuro en las muestras de yuca cultivadas en el estado Mérida.

Alcances y limitaciones de la investigación

Alcances de la investigación

El alcance de una investigación indica el logro que se obtendrá a partir de ella. Por eso, el alcance de esta investigación es analítico, pues a través del criterio de análisis: método de papel picrato y espectrofotometría se pudo conocer la concentración de cianuro, la cual no puede ser visualizada a simple vista (Hernández, Fernández y Baptista, 2010). En este sentido, se analizaron diferentes muestras de yuca con la finalidad de examinar el contenido de cianuro presente, de esta manera se logró obtener la concentración de cianuro con la finalidad de aportar nueva información de interés a la población acerca del riesgo que implica la intoxicación por el consumo de yuca, ya que altas dosis son perjudiciales para el organismo.

Limitaciones de la investigación

En toda investigación se deben considerar las limitaciones con el fin de asegurar la viabilidad del proceso. Las autoras de esta investigación encontraron dificultad en la búsqueda de publicaciones actualizadas sobre concentraciones de cianuro presentes en *Manihot esculenta*. Sin embargo, esto no representó una restricción definitiva de la viabilidad de esta investigación. Por otra parte, la situación actual del país representa una limitante debido a la dificultad en la adquisición de materiales necesarios para la investigación, además de las constantes fallas del servicio eléctrico que entorpecen la realización de los procedimientos necesarios para llevar a cabo la investigación. Sumado a esto, se encuentra la problemática del transporte complicando el fácil traslado para la recolección de las muestras de yuca, así como la movilización al laboratorio para el análisis de tales muestras.

CAPITULO II

MARCO TEÓRICO

Trabajos previos

Manihot esculenta Crantz es conocida comúnmente como yuca o mandioca. En América, tiene gran importancia económica, pues es fuente de alimento humano y animal. Proporciona una gran cantidad de energía al consumidor, con un buen porcentaje de carbohidratos, calcio, hierro y fósforo. Según la variedad, puede ser blanca o amarillenta. Sin embargo, la presencia de elementos cianogénicos, como la linamarina la convierten en una planta productora de cianuro que sin una prolongada cocción, podría resultar tóxica para el organismo. No obstante, a partir de ella se pueden obtener numerosos productos para el consumo, la forma más generalizada y tradicional de su consumo es como una galleta seca, circular y delgada, conocida como casabe, también como harina de yuca, hojuelas, entre otros. Que mediante diferentes procedimientos se hacen comestibles incluso las variedades amargas que tienen alto contenido de toxinas (Aristizábal y Sánchez, 2007).

Quinn y Cols (2022), realizaron una investigación titulada contenido de cianuro de los productos alimenticios de yuca disponibles en Australia. El objetivo de este estudio fue examinar una variedad de productos alimenticios de yuca en Melbourne, Australia. Este estudio tiene un diseño de investigación de campo, laboratorio, transeccional y univariable. Para esto se obtuvieron productos alimenticios a base de yuca y raíces de yuca congeladas, del supermercado. Posteriormente se molieron en un mortero

para analizar el polvo y las raíces de yuca se cortaron en trozos, respectivamente. El contenido de cianuro se midió usando kits de picrato en las muestras, por duplicado. Para esto se colocaron 100 mg del producto en un vial que contenía un disco de papel infundido con linamarasa y 1 ml de tampón fosfato (1 mol/L, pH 6,0), además una tira de papel picrato, tapado herméticamente e incubado a 30 °C durante 24 h.

A continuación, se eluyó el papel de picrato durante 30 minutos con 5 ml de H₂O destilada, luego la absorbancia de la solución eluida se midió a 510 nm en un espectrofotómetro y el contenido de cianuro se calculó como equivalentes de HCN (ppm) multiplicando la absorbancia por 396. Se utilizó un control negativo que no contiene producto alimenticio y un control positivo que contenía una muestra de 20 µL de 50 ppm de linamarina, medidos junto con las muestras de alimentos para el método de picrato. El porcentaje medio de recuperación de cianuro de la linamarina utilizando el método de absorbancia de picrato se ha medido previamente al 102% (Quinn y Cols 2022).

En cuanto a los resultados, de todos los productos examinados, se detectó cianuro en productos de yuca congelada (promedio rallado= 12,9 ppm; raíz entera media= 19,8 ppm), pero se redujo significativamente mediante el procesamiento de acuerdo con las instrucciones del paquete en ambos tipos de productos. Se utilizaron tres métodos para cuantificar el contenido total de cianuro: el evolucionado método de cianuro, el método de absorbancia picrato y el método gráfico picrato, con un satisfactorio acuerdo entre los métodos. Los métodos de absorbancia de picrato y gráfico informaron contenido de cianuro medio de 13,7 ppm y 23,1 ppm, respectivamente. En conclusión, los autores confirmaron la necesidad de pruebas continuas de los productos alimenticios de yuca, especialmente los

productos listos para el consumo cuyo contenido de cianuro no se reducirá antes de ser ingerido. Existe relación entre este tema de investigación y el estudio que se realizó, puesto que se analizó el contenido de cianuro en yuca y productos derivados de ella a través del método del picrato en tiras y espectrofotometría (Quinn y Cols, 2022).

Maitha y Cols (2022), realizaron una investigación titulada análisis de la concentración de cianuro de hidrógeno en cuatro variedades de yuca cultivadas en la granja de la Universidad de Lukenya, condado de Makueni, Kenia. El estudio tuvo como objetivo determinar los niveles de cianuro de hidrógeno en diferentes variedades de yuca Mzungu, Kasukari, Kitwa y Makueni cultivadas localmente en las partes del sureste de Kenia en la granja de la Universidad de Lukenya; además de analizar los rasgos fenotípicos de las cuatro variedades. Este estudio tiene un diseño de investigación de campo, laboratorio, transeccional y multivariable. Para esto se utilizaron 30 plantas de cada variedad, las cuales fueron seleccionados al azar, observadas, registradas por sus características fenotípicas y posteriormente analizadas por espectrofotometría a 485 nm.

Los resultados mostraron que el color del pecíolo fue diferente para cada variedad que iba desde el púrpura (Kasukari), crema (Kitwa), marrón oscuro (Makueni local) hasta rojo (Mzungu). Se detectaron diferencias significativas en el número de folíolos ($p < 0.001$), planta altura ($p < 0,001$) y número de tubérculos ($p < 0,001$) de las diferentes variedades. Además, mostraron que había diferencias significativas en la concentración de cianuro de hidrógeno (HCN) entre variedades y las diferentes partes de la planta ($p < 0,001$). Finalmente, los autores concluyeron que las variedades de yuca tienen niveles significativamente altos de cianuro y superan el límite recomendado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) de 10 mg/kg de peso corporal. Por lo tanto, se recomienda una campaña de sensibilización para educar a los consumidores sobre el procesamiento y técnicas previas al consumo. También piden la implementación de criterios

para aceptar niveles de HCN en alimentos de yuca reconocidos a nivel mundial. En este sentido existe una relación entre este tema de investigación y el estudio que se realizó, debido a que se analizaron diferentes concentraciones de cianuro a través del método de espectrofotometría, proporcionando además información sobre la toxicidad potencial del cianuro de la yuca en el área de Makueni, Kenia (Maitha y Cols, 2022).

Ndam y Cols (2019). Realizaron una investigación titulada influencia de los cultivos y métodos de procesamiento en el contenido de cianuro de la yuca (*Manihot esculenta* Crantz) y sus productos alimenticios tradicionales. Los objetivos de este estudio fueron cuantificar el contenido de cianuro en las raíces de las principales variedades de yuca cultivadas en Camerún y evaluar el efecto de algunos métodos tradicionales de procesamiento de la yuca en su contenido de cianuro. Este estudio tiene un diseño de investigación de campo, laboratorio, transeccional y univariable. Se recolectaron diez variedades locales y diez variedades mejoradas de yuca en la localidad de Mbankomo, Camerún. Estas raíces fueron procesadas en alimentos tradicionales a base de yuca: chips, gari y fufu.

El contenido de cianuro se determinó mediante espectrofotometría tanto en la yuca como los alimentos derivados del parénquima y la corteza de la misma. Las variedades locales tenían contenidos de cianuro que variaban de $79,34 \pm 3,58$ a $181,33 \pm 0,48$ ppm, mientras que los contenidos en variedades mejoradas variaban de $61,03 \pm 9,44$ a $118,04 \pm 7,16$ ppm. Los resultados del análisis del contenido de cianuro revelaron que las variedades de yuca estudiadas se encontraban dentro del rango moderada a altamente tóxico. Aunque el contenido de cianuro fue mayor en la corteza, variando de $117,80 \pm 11,32$ a $210,07 \pm 9,15$ ppm para local, y de $98,43 \pm 15,49$ a $155,44 \pm 12,11$ ppm para variedades mejoradas (Ndam y Cols, 2019).

Los autores concluyeron que el procesamiento de la yuca en diferentes alimentos tradicionales contribuye a reducir el contenido de cianuro. En este estudio las tasas de eliminación de cianuro para chips, gari y fufu fueron de

47%, 80% y 91% respectivamente. Aunque el procesamiento de la yuca reduce el contenido de cianuro, el grado de reducción varía de un producto a otro. Existe relación entre este tema de investigación y la línea de estudio realizada debido al análisis del contenido de cianuro presente en *Manihot esculenta* fue realizado mediante espectrofotometría, método que será empleado en este trabajo de investigación (Ndam y Cols, 2019).

Antecedentes Históricos

El nombre científico de la yuca fue dado originalmente por Crantz en 1766. Posteriormente, fue reclasificada como dos especies diferentes, dependiendo si se trataba de yuca amarga o dulce (Ceballos y De la Cruz, 2002). La *Manihot esculenta*, de origen americano, es uno de los cultivos más extendidos en el mundo. Constituye un alimento básico para cientos de millones de personas en las regiones tropicales. Representa más del 30% de las calorías obtenidas en África y alrededor del 10% de las obtenidas en Sudamérica. También se cultiva desde 1950 en varias regiones de Asia. Contiene una cantidad suficiente de glucósidos cianogénicos (unos 100 miligramos por 100 gramos, como cifra promedio) como para resultar tóxica, especialmente si se consume de forma cotidiana y formando parte sustancial de la dieta. Por ello, la forma de procesado en los pueblos en los que se consume tradicionalmente incluye su detoxificación, con un conjunto de sistemas que aprovechan, de forma empírica, la presencia de la enzima linamarasa, una beta-D-glucosidasa (Tshala-Katumbay, Ngombe, Okitundu, David, Westaway, Boivin, Mumba y Banea, 2016).

Aunque durante siglos las personas han consumido la yuca sin riesgos, la Agencia de Protección del Medio Ambiente de EE. UU (EPA) explica que el ser humano puede sufrir intoxicaciones al ingerir cianuro en alimentos como raíces de yuca (Delange y Ahluwalia, 1982). En 1988, en un distrito en el sur de Tanzania ocurrió un brote extenso de intoxicaciones agudas, con

náuseas y vómitos como síntomas principales. Las investigaciones revelaron que estos efectos se debieron a la intoxicación por cianuro por el consumo de raíces de yuca insuficientemente procesadas. Los altos niveles plasmáticos y urinarios del tiocianato, metabolito del cianuro, apoyan una alta exposición del cianuro en la población afectada. Ya que, debido a la escasez de alimentos, el largo secado al sol que normalmente se usa para eliminar los glucósidos cianogénicos de las raíces se reemplazó por golpes y secado repetidos para obtener harina utilizada en el consumo del día (Mlingi, Poulter y Rosling, 1992).

Sin embargo, los estudios por espectrofotometría y análisis mediante el uso de papel de filtro sumergido con picrato, han permitido desarrollar métodos de laboratorio para la detección y cuantificación del cianuro. Se ha descrito al ácido cianhídrico como uno de los venenos más potentes y de efectos más rápidos hasta hoy conocidos. Por ejemplo, la muerte de un animal alimentado con yuca cruda ocurre aproximadamente después de 15 minutos del consumo. Aunque, los estudios realizados con seres humanos son más complejos es evidente el fácil envenenamiento con cianuro (Quintero, 2015).

Bases teóricas

Familia Euphorbiaceae

Las Euphorbiaceae son una de las familias más grandes y diversificadas de las angiospermas o plantas con flores. La comprenden plantas herbáceas, arbustos o árboles, y algunas suculentas. Compuesta por 300 géneros y 8000 especies (Mwine y Damme, 2011). En lo concerniente a su distribución, al ser una familia cosmopolita, está presente tanto en zonas tropicales o subtropicales, como en zonas templadas. Pueden desarrollar hierbas, arbustos, árboles, enredaderas y lianas, en ocasiones carnosos y cactiformes. Las hojas son generalmente simples, cuando son compuestas, pueden ser palmadas, opuestas y alternas, con estípulas que pueden estar transformadas en espinas o glándulas. Esta familia se caracteriza por su notable desarrollo de los vasos laticíferos, compuestos por células secretoras productoras de una secreción lechosa, siendo a menudo un látex tóxico (Ceballos y De la Cruz, 2002).

Género Manihot

Un género muy importante de la familia Euphorbiaceae lo constituye Manihot, el cual se encuentra en América distribuido desde el sureste de Estados Unidos hasta Argentina. No obstante, se ha difundido hasta África y Asia. Actualmente se han descrito alrededor de 98 especies asignadas a este género, de las que sólo la yuca (*Manihot esculenta* Crantz) tiene relevancia económica y es cultivada. El género fue descrito por Philip Miller y publicado en The Gardeners Dictionary. Su reproducción alógama y su constitución genética altamente heterocigótica constituyen la principal razón para propagarla por estacas y no por semilla sexual (Ceballos y De la Cruz, 2002).

***Manihot esculenta* Crantz**

Manihot esculenta Crantz conocida como yuca, mandioca, cassava o tapioca es nativa de América tropical donde se cultiva extensamente como planta alimenticia, al igual que en África y Asia tropical. En cuanto a sus características, es un arbusto de 2 a 3 m de altura, con tallo arborescente, nudoso, hueco, de color verde, de inflorescencias paniculadas y con hojas anchas y palmeadas que tienen de 3 a 7 lóbulos. La planta de yuca se divide en dos partes principales, una parte aérea comprendida por el tallo, hojas, flores, semillas y la parte radicular o raíz (Figura 1). Las raíces, irradian desde el tallo hasta la parte interna del suelo y cuando están maduras tienen 3 partes distintas: médula, parénquima y corteza. La médula, representa el 3% del peso de la raíz y es la parte central de la planta. El parénquima está formado por la parte comestible de la raíz y representa el 85% del peso total. La piel más externa (cáscara) constituye del 11 al 20% del peso total de la raíz y se compone de parénquima cortical, esclerénquima y floema. Las raíces peladas son de color blanco y de forma cilíndrica o cónica (Panghal, Munezero, Sharma y Chhikara, 2021). En la tabla 1 se puede observar su clasificación botánica.



Fuente: Ospina y Ceballos, 2002.

Figura 1. *Manihot esculenta* Crantz

Tabla 1. Clasificación botánica de la *Manihot esculenta* Crantz.

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Euphorbiales
Familia	Euphorbiaceae
Subfamilia	Crotonoideae
Tribu	Manihoteae
Género	Manihot
Especie	<i>Manihot esculenta</i>

Fuente: Ospina y Ceballos, 2002.

Usos comunes de la yuca

La yuca es de gran interés, ya que presenta una alta producción de harinas con alto porcentaje de proteínas. El tallo se utiliza para su propagación vegetativa y sus raíces para el consumo en fresco. Se hierve tradicionalmente de 10 a 40 minutos en la preparación de sopas y atoles, también se consume frita (Ospina y Ceballos, 2002). Por otro lado, el mercado de almidón de yuca también tiene muchas posibilidades de crecimiento para uso industrial y humano, por su viscosidad y resistencia al congelamiento, o a la elaboración de alfombras, látex de caucho, fabricación de salsas, compostas, talcos, papel, cartón, industria cosmética, farmacéuticos y en la industria minera, entre otros (Marín, Perdomo, Albarrán, Fuenmayor y Zambrano, 2008). Este producto está siendo producido de manera comercial en Colombia, Venezuela, Brasil y en otros países, e incluso es exportado a zonas de los Estados Unidos donde la población latina es predominante (Ospina y Ceballos, 2002).

Clasificación de Manihot esculenta Crantz según el contenido de cianuro

El nivel de ácido cianhídrico total presente en la raíz o follaje de yuca, determina la diferencia entre variedades amargas (mayor toxicidad) y variedades dulces (menor toxicidad). Las yucas dulces son variedades que presentan bajos contenidos de HCN, menos de 180 ppm, por eso son las más recomendables para el mercado fresco. Sin embargo, las variedades en rango intermedio, entre 180 y 300 ppm, o las yucas amargas, más de 300 ppm, no se consumen frescas, pero sí pueden ser utilizadas en la producción de harina, ya que, durante el procesamiento, las raíces sufren transformaciones fisicoquímicas que pueden reducir el contenido de HCN hasta niveles inocuos (Torres, Aleaga, Hermosilla y Ramos, 2022).

El contenido cianogénico de los distintos tejidos de una planta de yuca es considerablemente afectado por las condiciones del suelo o clima en que crece y por su edad al momento de la cosecha. Ahora bien, el contenido cianogénico de las variedades amargas tiende a ser mayor hasta 1000 mg de HCN por kilo de raíces frescas. No obstante, no se conocen variedades de yuca que carezcan de cianógenos (Ceballos y De la Cruz, 2002).

Factores que afectan el contenido de cianuro de la yuca

Cultivo

Se han desarrollado miles de cultivos de yuca que son adaptados a las condiciones locales y difieren en su capacidad de tolerar plagas y enfermedades, rendimiento, cualidades nutricionales y culinarias de los productos alimenticios. La yuca se propaga a partir de esquejes de tallo y hay una variación mínima entre individuos de un cultivo bajo las mismas condiciones ambientales. Sin embargo, existe una amplia variación en la

concentración de cianógenos entre diferentes cultivos. Esto puede variar de 1 a 2.000 mg/kg (Ndubuisi y Chidiebere, 2018).

Condiciones climáticas

La yuca prospera en condiciones tropicales y subtropicales. La temperatura es importante, ya que todo el crecimiento se detiene a 10°C aproximadamente. Típicamente, la yuca se cultiva en áreas libres de heladas todo el año. La mayor producción de raíces se puede esperar en las tierras bajas tropicales, por debajo de 150m de altitud, en las cuales las temperaturas promedio son 25-27°C y cuando la lluvia es bastante abundante, pero algunas variedades crecen a altitudes de hasta 1500m. La planta puede permanecer prolongados períodos de sequía en los que la mayoría de los otros cultivos alimentarios perecerían. Esto lo hace valioso en regiones donde la precipitación anual es baja o la distribución estacional es irregular. Aunque la yuca es resistente a la sequía y crece bien en suelos pobres, el problema es que el contenido de cianuro de la yuca tiende a aumentar durante los períodos de sequías y/o clima seco prolongado debido al estrés hídrico en la planta (Ndubuisi y Chidiebere, 2018).

Fertilizante

En cuanto a la aplicación de fertilizantes, existe un debate sobre relación entre la adición de fertilizante y el contenido de cianuro en la yuca. Estudios en Filipinas concluyeron que la aplicación de fertilizante no afecta significativamente el contenido de cianuro. No obstante, en algunos casos puede haber una disminución de HCN en muestras de yuca a medida que los niveles de fertilizantes aumentan (Ndubuisi y Chidiebere, 2018).

Desintoxicación de la yuca

Las raíces de yuca con alta concentración de cianógeno generalmente se procesan utilizando diferentes métodos como pelar, rallar, secar, hervir y fermentar para reducir el contenido total de cianuro de la yuca (Panghal y Cols, 2021).

Peladura

En general, la cáscara contiene mayor cantidad de cianuro en comparación con la pulpa. Al quitar la cáscara, se puede eliminar el 50% de los glucósidos cianogénicos de toda la raíz. La variedad amarga de yuca contiene 650 ppm de cianuro total en la cáscara y 310 ppm en la pulpa, aproximadamente. Mientras que el contenido de cianuro en la cáscara y la pulpa de la variedad dulce es de 200 ppm y 38 ppm respectivamente. Entonces la variedad dulce, a la que se le ha quitado la cáscara, se puede comer justo después de hervir, mientras que la variedad amarga necesita más métodos de desintoxicación para un consumo seguro (Panghal y Cols, 2021).

Rejilla

La rejilla es una reducción que permite que la linamarina intracelular se libere fuera de la célula y reaccione con la enzima linamarasa extracelular para producir HCN, el cual es volátil. La concentración de cianuro en raíces de yuca rallada depende del tiempo de interacción entre el glucósido y la glucosidasa en medio acuoso. Rallar solo no es suficiente para la desintoxicación, pero se puede combinar con otros métodos para mejorarlo como la evaporación o reducción de HCN por fermentación (Panghal y Cols, 2021).

Secado

El secado reduce la cantidad de cianuro hasta cierto nivel dependiendo de la variedad. Sin embargo, el secado por sí solo no es un método efectivo de desintoxicación, especialmente cuando el contenido inicial de cianuro es alto. Puede usarse: secado al sol o secado al horno (Panghal y Cols, 2021).

Fermentación

La fermentación mejora la disponibilidad nutricional, la digestibilidad, la vida útil y reduce los antinutrientes hasta una cantidad significativa. La desintoxicación efectiva se obtiene después de 5-6 días (Panghal y Cols, 2021).

Ebullición

La ebullición, al ser un tratamiento a alta temperatura, da como resultado la inactivación de las sustancias sensibles al calor como la *B*-glucosidasa (linamarasa) y, por lo tanto, la linamarina no se hidroliza en cianohidrina, lo que da como resultado una reducción de hasta un 50 % del contenido de cianuro (Panghal y Cols, 2021).

Cocer al vapor, hornear y freír

Los métodos de cocción al vapor, horneado y fritura son apropiados para la yuca que contiene bajo contenido de glucósidos cianogénicos, es decir, las variedades dulces. Las temperaturas de procesamiento utilizadas para cocer al vapor, hornear y freír son muy altas más de 100 °C, sin embargo, la estabilidad de la linamarina en condiciones de pH ácido

neutro o débil dificulta el uso de estos métodos para la desintoxicación (Panghal y Cols, 2021).

Metabolitos secundarios de Manihot esculenta Crantz

El metabolismo es el conjunto de reacciones químicas que se realizan para sintetizar sustancias complejas a partir de otras más simples. Las plantas, además del metabolismo primario poseen un metabolismo secundario que les permite producir y acumular compuestos de naturaleza química diversa. Estos compuestos se denominan metabolitos secundarios, algunos de los cuales pueden ocasionar toxicidad. Ellos se encuentran en pequeñas concentraciones y no participan de manera directa en el crecimiento de la planta. No todos los metabolitos secundarios se encuentran en todos los grupos de plantas. Éstos se ven afectados por la temperatura, lluvias y la incidencia de la luz, la cual es un factor que influye en la cantidad de glucósidos y alcaloides producidos. Se clasifican en cuatro clases principales: terpenos (entre los que se encuentran hormonas, pigmentos, aceites esenciales), compuestos fenólicos (cumarinas, flavonoides, lignina y taninos), glucósidos (saponinas, glucósidos cianogénicos y glucosilatos) y alcaloides (Ávalos y Pérez, 2009).

Con respecto a *Manihot esculenta* Crantz, presenta flavonoides provenientes de los polifenoles, implicados en procesos defensivos de la planta, los cuales tienen propiedades antioxidantes marcadas. También contiene taninos, compuestos fenólicos con propiedades astringentes y antiinflamatorias; alcaloides, sintetizados a partir de aminoácidos como la lisina, tirosina y el triptófano, ellos cumplen funciones de defensa en la planta y pueden generar efectos terapéuticos. Por otro lado, las raíces de *Manihot esculenta* son ricas en saponinas las cuales tienen propiedades semejantes al jabón, revesterol, oxalatos y glucósidos cianogénicos como son la linamarina y lotaustralina de gran interés (Ospina y Ceballos, 2002).

Ruta del ácido shikímico

Es un conjunto de reacciones metabólicas de gran relevancia en la biosíntesis de metabolitos secundarios ya que a partir de este ácido se forman los aminoácidos y desde ellos los otros compuestos aromáticos más complejos (fenilpropanoides, flavonoides, alcaloides). El intermediario principal es el ácido shikímico, un compuesto originalmente aislado de plantas del género *Illicium*. Ésta ruta no está presente en los animales y convierte los carbohidratos en aminoácidos aromáticos. La mayoría de los metabolitos secundarios en las plantas representan medios de defensa y algunos son tóxicos, otros constituyen principios activos para la elaboración de medicinas (Hasegawa y Marcano, 2002).

El ácido shikímico es precursor de diversos intermediarios metabólicos aromáticos, tales como los taninos, el cloranfenicol, el ácido 4-aminobenzoico, los fenilpropanoides, los lignanos, diversos alcaloides tales como los tetrahidroisoquinolínicos, alcaloides del ergot, morfina y aminoácidos aromáticos (tirosina, fenilalanina y triptófano), así como sus derivados: aminas biógenas aromáticas, catecolaminas, betalainas, melaninas, bisindoles, flavonoides, fenazinas y glucósidos cianogénicos (Hasegawa y Marcano, 2002).

Glucósidos cianogénicos

Las plantas cianogénicas tienen la capacidad de almacenar dentro de su estructura sustancias tóxicas llamadas glucósidos cianogénicos. Compuestos conformados por un tipo de azúcar y otra molécula diferente llamada aglicona. Se almacenan en concentraciones distintas, en las diversas partes de las plantas y de acuerdo con la fase de desarrollo en la cual se encuentre. Es así, como las semillas y las hojas son las que más acumulan los glucósidos, presentando una mayor cantidad cuando la planta

está en crecimiento. Se encuentran en más de 2000 especies de plantas entre ellas *Manihot esculenta*. La planta en sí no es tóxica, pues el glucósido requiere de un desdoblamiento en sus componentes para su acción tóxica, fenómeno realizado por la enzima *B*-glucosidasa, la cual se encuentra separada dentro de la planta (Córdoba, 2006). Para la liberación del glucósido es necesario la presencia de la enzima *B*-glucosidasa y la maceración de la planta; la formación del aldehído o de una acetona depende del origen del glucósido (Figura 2).



Fuente: Córdoba, 2006.

Figura 2. Mecanismo de liberación del HCN

Factores como sequías, heladas, pisoteado, marchitado o mal desarrollo, hacen posible la unión de la *B*-glucosidasa con el glucósido, liberando el ácido cianhídrico (HCN). En el caso de ingestión de plantas con desarrollo y ambiente normal, la liberación de HCN se efectuará en el tubo digestivo por el medio ácido del estómago. Tanto los glucósidos cianogénicos como la *B*-glucosidasa están controlados genéticamente por un gen dominante. Por lo tanto, es posible obtener plantas con bajo potencial cianogénico. Para ser considerada como una planta cianogénica deben contener mínimo 1mg de HCN por 100g de planta fresca (Díaz, 2010).

La yuca contiene dos glucósidos cianogénicos conocidos como lotaustralina y linamarina, que se hidrolizan en presencia de linamarasa para dar ácido cianhídrico (HCN) en cantidades que pueden llegar a ser mortales. Aproximadamente el 90% del ion cianuro se encuentra en forma de glucósido (linamarina o cianuro ligado). El porcentaje restante está constituido, principalmente, por el cianuro libre y lotaustralina. La reacción que libera el

HCN ocurre comúnmente cuando la estructura celular del tejido de la base se rompe por acción mecánica al momento de la cosecha y troceado (Torres y Cols, 2022).

Linamarina

La linamarina es un glucósido cianogénico encontrado en las hojas y raíces de plantas como la yuca. Tras la exposición a las enzimas y flora intestinal en el ser humano, puede descomponerse en el producto químico tóxico cianuro de hidrogeno; por lo tanto, los alimentos que contienen cantidades significativas de linamarina requieren una extensa preparación y desintoxicación (Benea, Tylleskar, Gitebo, Matadi, Gebre-Medhin, Rosling, 1997). Las propiedades fisicoquímicas de la linamarina se presentan en la tabla 2.

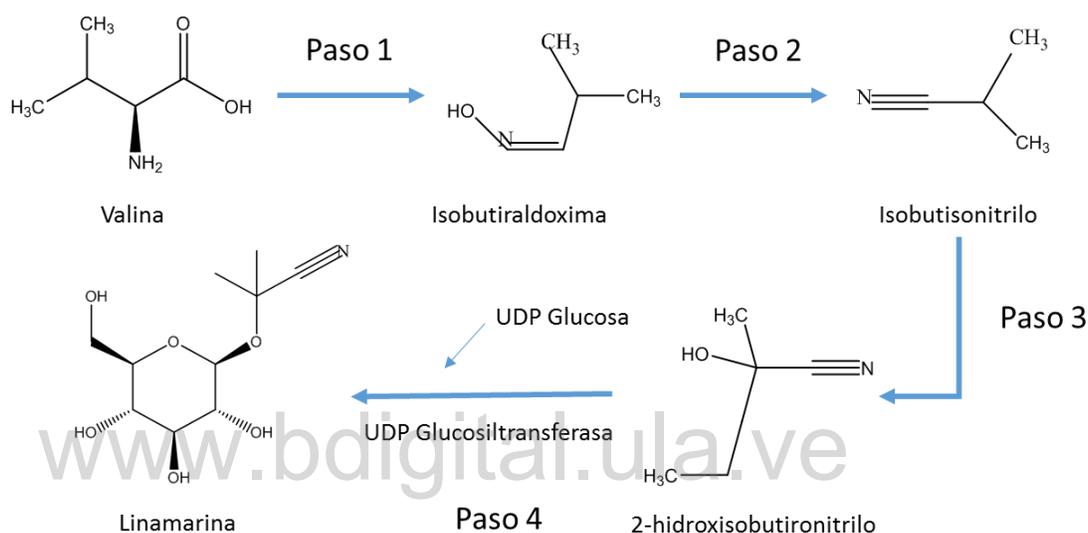
Tabla 2. Propiedades fisicoquímicas de la linamarina.

Nombre común	Linamarina
Sinónimos	<ul style="list-style-type: none"> • Manihotoxin • Phaseolunatin
Nombre IUPAC	2-metil-2-[[[(2S, 3R, 4S, 5S, 6R)-3,4,5-trihidroxi-6(hidroximetil) Oxan-2-il] oxi} propanonitrilo.
Fórmula molecular	C ₁₀ H ₁₇ N ₀₆
Peso molecular	247,28
Color/Forma	Agujas
Sabor	Amargo
Punto de fusión	142-143 ° C
Punto de ebullición	473,3°C a 760mmHg (valor de referencia)
Solubilidades	Soluble en agua, alcohol, acetona; poco soluble en acetato de etilo, éter, benceno, cloroformo; prácticamente insoluble en éter de petróleo.

Fuente: PubChem, 2015.

Ruta biosintética de la linamarina

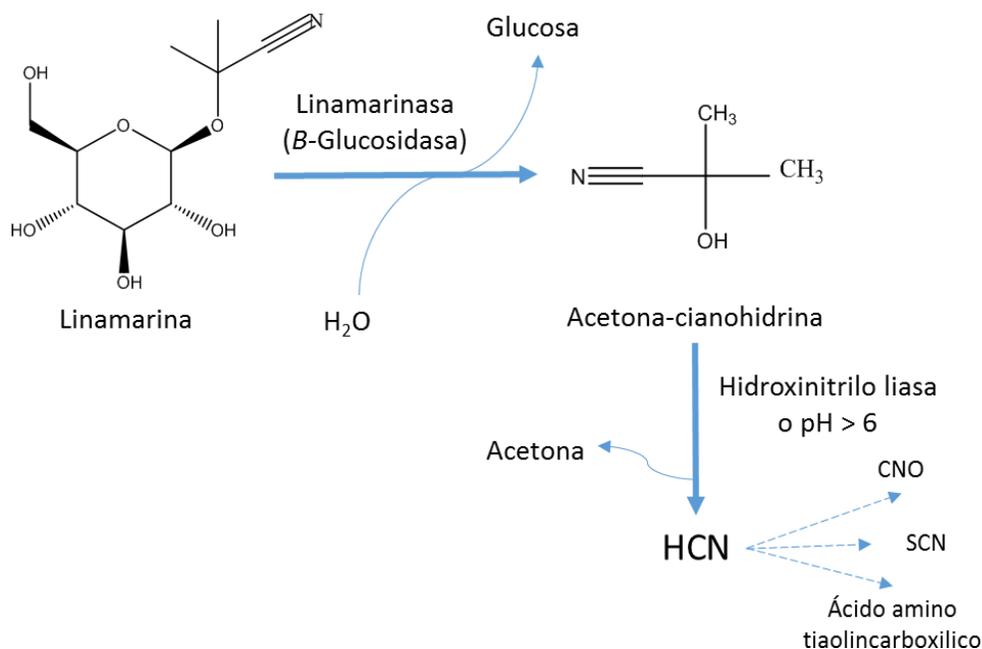
Los glucósidos cianogénicos linamarina y lotaustralina se sintetizan a partir de los aminoácidos valina e isoleucina, respectivamente. La ruta biosintética (Figura 3) es catalizada por dos membranas unidas al citocromo multifuncional P450 (Zhihong, Jiayang, Yongbiao y Weicai, 2006).



Fuente: Jansz y Uluwaduge, 1997.

Figura 3. Ruta biosintética de linamarina

La producción de cianuro se lleva a cabo en 2 etapas. En la primera, la linamarasa, una *B*-glucosidasa específica, separa la glucosa de la aglicona. En la planta intacta, la linamarina y la linamarasa se encuentran en compartimientos celulares diferentes. La rotura de la célula durante la masticación o el procesado de la planta ponen en contacto los 2 componentes y activa la cianogénia (Figura 4). En segundo lugar, las cianohidrinás, acetona-cianohidrina de la linamarina y 2-hidroxi-2-metil-butironitrilo de la lotaustralina, son inestables a pH neutro o básico y se descomponen espontáneamente (Llorens, 2004).



Fuente: Llorens, 2004.

Figura 4. Cianogenia a partir de linamarina y metabolismo del cianuro

www.bdigital.ula.ve

Acetonacianohidrina

La acetonacianhidrina o 2- metil-lactonitrilo, es un líquido incoloro o amarillento con un sabor amargo y olor a almendras debido a la presencia de ácido cianhídrico (HCN). El uso importante de la acetonacianohidrina es en la producción de ésteres acrílicos, plásticos poliacrílicos y resinas sintéticas, así como en la fabricación de insecticidas, productos farmacéuticos, fragancias y perfumes. En la yuca, es capaz de desprenderse espontáneamente del ion cianuro dependiendo sólo del pH en que se encuentre; o de descomponerse espontáneamente en presencia de agua en acetona y HCN. En la tabla 3 se describen sus propiedades fisicoquímicas (Sunderman y Kincaid, 2008).

Tabla 3. Propiedades fisicoquímicas de la acetnacionohidrina.

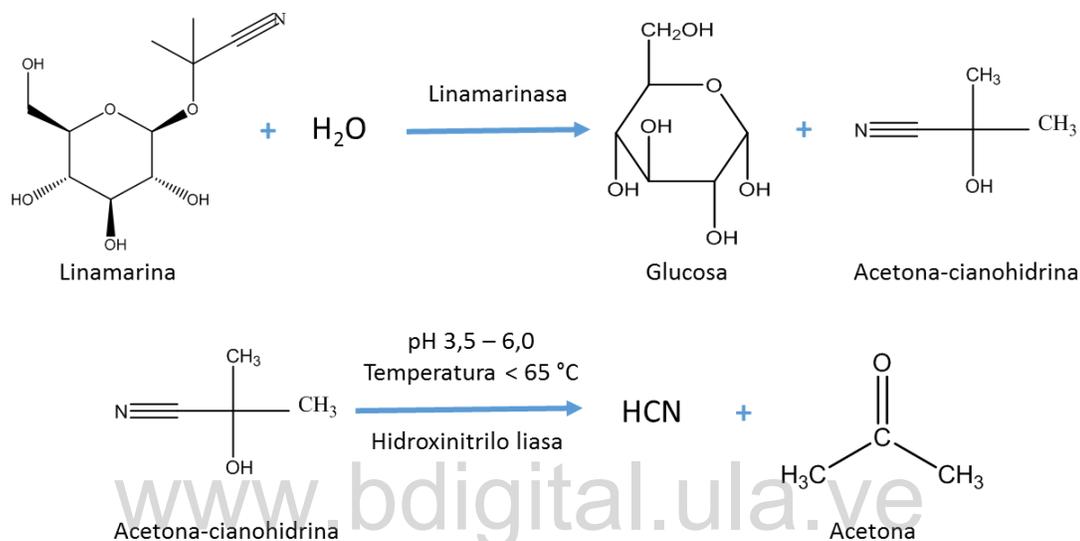
Fórmula molecular	(CH ₃) ₂ C(OH)CN
Peso molecular	85,1 g/mol
Estado físico	Líquido
Color	Incoloro a amarillento
Sinónimos	<ul style="list-style-type: none"> • 2-propanona cianohidrina • 2-ciano-2-propanol • 2-ciano-2-hidroxipropano • Hidroxiisobutironitrilo • 2-metil- lactonitrilo • 2-hidroxí-2-metilpropionitrilo • Acetonacionohidrina.
Presión de vapor	1,07 hPa a 20°C; 0,8 mm Hg a 20°C; 1 mm Hg a 25°C; 1,6 hPa a 40°C; 12,5 hPa a 72°C
Densidad	0,932 g/cm ³ a 19°C; 0,9267 g/cm ³ a 25°C
Punto de fusión	-19°C a -20°C
Punto de ebullición	81°C a 30,7 hPa; 82°C a 23 mm Hg; 95°C a 1013 hPa (descomposición a acetona y HCN).
Solubilidad	Muy soluble en agua, alcohol y éter.
Olor	Característico a almendras amargas del HCN libre.

Fuente: Sunderman y Kincaid, 2008.

Ruta biosintética de la acetnacionohidrina

La enzima linamarasa interactúa sobre la linamarina (compuesto que equivale al 97% del total de glucósidos cianogénicos encontrados en la planta de yuca) cuando el tejido de la planta de yuca es destruido por rompimiento de las membranas celulares, en donde por la acción hidrolítica de las *B*-glucosidasas se obtiene acetnacionohidrina (metil-etil cetona

cianhidrina a partir de lotaustralina) misma que por actividad enzimática de la hidroxinitrilo liasa se descompone en: acetona y HCN (Figura 5). La cianhidrina se descompone en medio alcalino y también exponiéndola a más de 60°C, mientras que el HCN constituye la forma tóxica libre o "cianuro libre" (McMahon, White y Sayre, 1995).



Fuente: Selmar, Lienerei, Biehl y Conn, 1989.

Figura 5. Biosíntesis de acetonacianohidrina a partir de la hidrólisis enzimática de Linamarina.

Cianuro

El cianuro de hidrógeno o ácido cianhídrico (HCN), es una sustancia química formada por el enlace carbono-nitrógeno (CN). Es un líquido volátil, incoloro, de olor característico a almendras amargas, peso molecular de 27g/mol, punto de ebullición de 25,6°C, lo cual permite muy fácilmente su pasaje al estado gaseoso, no es combustible, miscible en agua y soluble en alcohol (etanol), además soluble ligeramente en éter (Córdoba, 2006). Sus sales cianuro de sodio (NaCN) y cianuro de potasio (KCN), en condiciones

ambientales son sólidos cristalinos blancos, oxidantes fuertes, incompatibles con nitratos, cloratos y ácidos pero muy solubles en agua (Tabla 4). El KCN es fácilmente soluble en agua, amoníaco y formamida y ligeramente soluble en etanol y dimetilformamida. Mientras que, el NaCN es fácilmente soluble en agua, amoníaco y ligeramente soluble en formamida, etanol, dimetilformamida, metanol, furfural y éter (Ramírez, 2010).

Tabla 4. Propiedades fisicoquímicas del cianuro.

Propiedades	Cianuro de Hidrógeno (HCN)	Cianuro de Potasio (KCN)	Cianuro de Sodio (NaCN)
Peso molecular	27,03	65,1	49,01
Fórmula molecular	HCN	KCN	NaCN
Fórmula estructural	H-C≡N	K-C≡N	Na-C≡N
Punto de fusión	-13°C	634°C	563,7°C
Punto de ebullición	26°C	1625°C	1496°C
Presión de vapor	82,6 kPa a 20°C	-	-
Densidad	-	152 g/cm ³	1,6 g/cm ³
Umbral de olor	1-5 ppm		
Solubilidad en agua	Miscible	71,6 g/100ml	58 g/100ml
Punto de inflamación	-18°C	-	-
Límites explosividad % en volumen en aire	5,6 - 40,0	-	-

Fuente: Guerrero, 2014.

Los diferentes compuestos de cianuro se pueden clasificar en:

- **Cianuro Libre:** Es el término utilizado para describir tanto al ión de cianuro (CN)⁻ que se disuelve en el agua como cualquier cianuro de hidrógeno (HCN) que se forma en una solución (Gaviria y Meza, 2006).

- **Compuestos Simples de Cianuro:** Los cianuros simples se definen como las sales del ácido cianhídrico (KCN y NaCN) los cuales se disuelven completamente en solución produciendo cationes alcalinotérreos libres y aniones cianuros (Gaviria y Meza, 2006).
- **Compuestos Complejos de Cianuro:** Como cianuros de hierro, ferrocianuros, en el cual el hierro reducido con la valencia +2 y en ferricianuros, en donde el hierro se encuentra oxidado con valencia +3. El ferrocianuro es la forma usual en solución a potenciales redox ambientales. Los cianuros de hierro desde el punto de vista ambiental requieren especial atención debido a su gran estabilidad en ausencia de luz y su tendencia a disociarse en su presencia. Aunque esos complejos resisten la degradación natural hasta la disipación total del cianuro libre y de los complejos de cianuro metálico más rápidamente degradables, los ferricianuros son capaces de desprender niveles tóxicos de ácido cianhídrico cuando se exponen a intensa radiación ultravioleta (Gaviria y Meza, 2006).
- **Cianuro Total (CNT):** Se denomina así a todos los compuestos de cianuros existentes en una solución acuosa. Este es un término que se emplea en los procedimientos analíticos. El cianuro total incluye el cianuro libre, los cianuros simples y los todos los cianuros complejos (Gaviria y Meza, 2006).
- **Cianuro Disociable con Ácido Débil (Wad CN):** Es un término analítico utilizado para designar a los compuestos de cianuro que se disocian bajo reflujo con un ácido débil, normalmente a pH 4,5 (Gaviria y Meza, 2006).

Toxicocinética del cianuro

Debido a que se estudia el contenido de cianuro en un tubérculo, se hará énfasis en la digestión y metabolismo de dicha sustancia toxica.

Absorción

Aunque el tubo digestivo humano no dispone de una *B-D*-glucosidasa capaz de romper la linamarina, la flora bacteriana presente en él si cuenta con ella. Por lo tanto, si se ingiere linamarina se acaba formando cianuro. El cianuro es una sustancia muy tóxica, ya que se une a la enzima citocromo C oxidasa y paraliza la respiración celular. Una dosis de entre 30 y 210 mg de HCN puede causar la muerte de una persona adulta. Además, la ingestión continua de esta sustancia, a través de la yuca como alimento básico sin procesarla adecuadamente, puede tener consecuencias muy graves para la salud. Los niños parecen ser más susceptibles al envenenamiento por la ingestión de alimentos cianogénicos. Con frecuencia desarrollan un toxicidad más grave que los adultos consumidores de yuca. La mayor vulnerabilidad de los niños al envenenamiento por alimentos cianogénicos se debe probablemente a su menor masa corporal (Quiroga y Olmos, 2009).

Distribución

La distribución del cianuro absorbido es rápida (minutos a horas) y uniforme, es decir, se encuentra prácticamente en todos los tejidos. Una vez que es absorbido en el organismo es distribuido por la sangre, logrando penetrar al eritrocito y en gestantes incluso puede atravesar la barrera placentaria. Sin embargo, los mayores niveles suelen encontrarse en hígado, pulmones, sangre y cerebro. En sangre, la mayor proporción de cianuro se halla dentro del eritrocito (Quiroga y Olmos, 2009).

Metabolismo

El proceso de detoxificación de cianuro involucra varias vías metabólicas principalmente la vía del tiocianato, en la cual participan enzimas intracelulares (sulfotransferasas). Las sulfotransferasas catalizan la adición de azufre al cianuro de modo irreversible formando tiocianato, de menor toxicidad que el cianuro, que posteriormente es eliminado en la orina. El metabolismo a través de las sulfotransferasas es crítico en el proceso de detoxificación. Varias enzimas han sido caracterizadas como favorecedoras en la transferencia de sulfuros bivalentes al cianuro, una de ellas es la tiosulfato-cianuro sulfotransferasa: rodanasa (Figura 6). La rodanasa, es una enzima mitocondrial, presente en diferentes organismos vivos, tanto en bacterias como en el hombre. Convierte el cianuro en tiocianato al transferirle un átomo de azufre desde el tiosulfato u otro dador de azufre (Quiroga y Olmos, 2009).

www.bdigital.ula.ve



Ecuación 1

Fuente: Quiroga y Olmos, 2009.

Figura 6. Conversión del cianuro en tiocianato por medio de la enzima rodanasa.

Por esta vía se detoxifica el 80% de la dosis absorbida de cianuro. El sulfito producido en esta reacción es convertido a sulfato por la enzima sulfito oxidasa. En tejido humano se ha descrito la presencia de isoenzimas de la rodanasa y una actividad de rodanasa elevada en riñón seguida por hígado, cerebro, pulmón, músculo y estómago (Quiroga y Olmos, 2009).

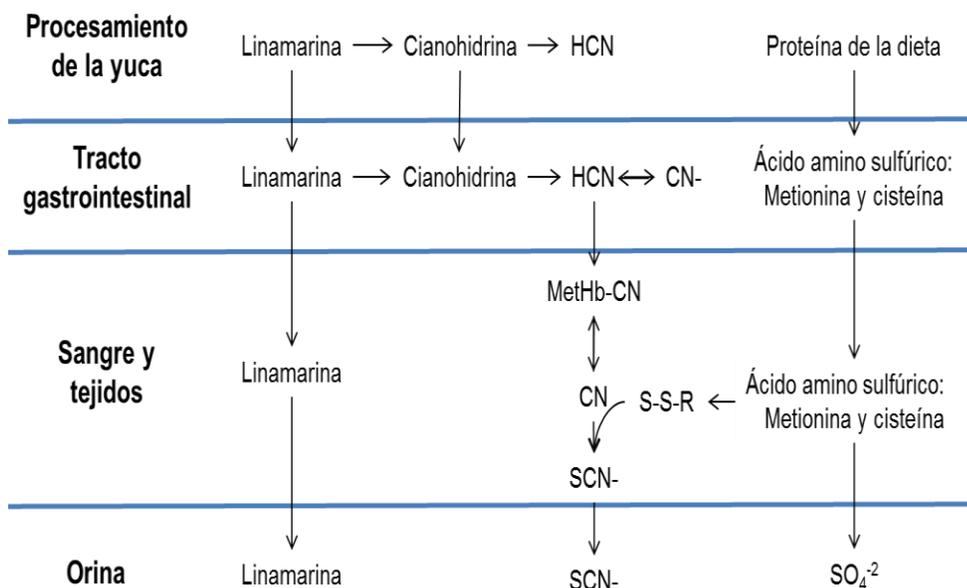
Entre las vías metabólicas alternativas menores se encuentran:

- Formación del ácido 2-aminotiazolidín-4-carboxílico, por la reacción del cianuro con cistina, que luego se elimina por la orina. Esta vía corresponde a un 20% del metabolismo, el cual se incrementa con dosis tóxicas de cianuro.
- Oxidación enzimática y no enzimática del cianuro a cianato, que se elimina como dióxido de carbono por vía respiratoria.
- Combinación del cianuro con hidroxicobalamina para formar cianocobalamina (vitamina B12), que se elimina por vía renal (Quiroga y Olmos, 2009).

Una vez que se interrumpe la integridad física del tejido de yuca, la linamarina se hidroliza a glucosa y cianohidrina. A pH > 5, las cianohidrinas se descomponen espontáneamente en cetonas, y el gas de cianuro de hidrógeno (HCN) se escapa. Un pH más bajo conduce a la persistencia de cianohidrinas en el producto alimenticio terminado, con el resultado de que el cianuro puede ser liberado por la escisión enzimática bacteriana en el tracto gastrointestinal y entrar al torrente sanguíneo. Una vez en el torrente sanguíneo, el cianuro queda atrapado por la metahemoglobina o es convertido en tiocianato. El cuerpo humano puede excretar linamarina intacta o de manera menos tóxica en la orina como tiocianato (Figura 7) (Tshala-Katumbay y Cols, 2016).

La combinación de las rutas metabólicas en el humano genera una capacidad de detoxificación de 0,017mg de cianuro por kilogramo de peso por minuto. El metabolismo enzimático, principal ruta de metabolización del cianuro, es eficiente, pero no tiene suficiente capacidad de detoxificación en intoxicaciones agudas por falta de dadores de azufre endógenos; y la protección conferida por la formación de cianatos derivados es limitada, porque las células no pueden utilizar el oxígeno. Las dosis letales medias

para humano estimadas en base a estudios de reporte de casos son: por vía oral DL50 1,52 mg/kg (Quiroga y Olmos, 2009).

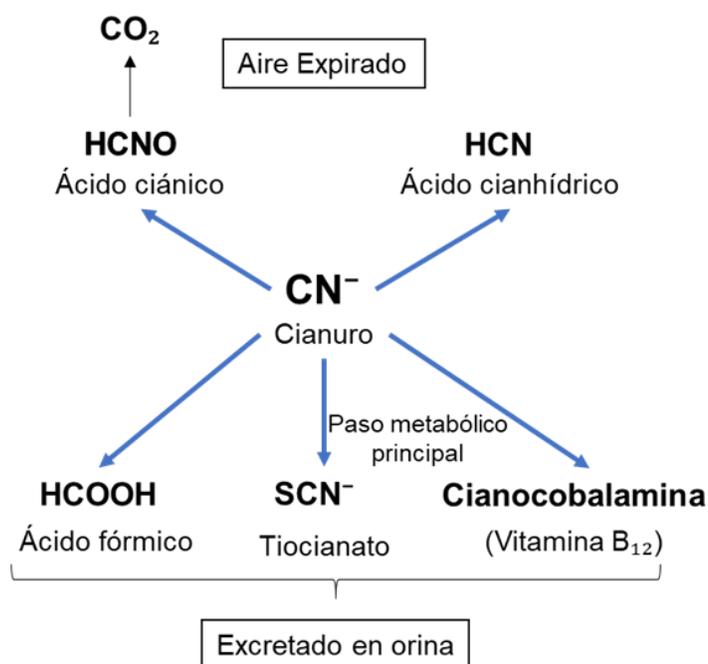


Fuente: Tshala-Katumbay y Cols, 2016.

Figura 7. Destino metabólico de la linamarina y el cianuro de la yuca durante su digestión

Excreción

El cianuro es excretado principalmente como tiocianato en orina, la cual representa la vía de eliminación más importante en seres humanos y en animales de experimentación, pero se tarda varios días en eliminar una sola dosis relativamente alta de cianuro del cuerpo. Después de la exposición por inhalación, un pequeño porcentaje de cianuro se excreta por exhalación, dentro de las primeras horas, este material exhalado consta entre 85%- 90% de dióxido de carbono (Figura 8). Las trazas de cianuro de hidrógeno también pueden ser excretadas a través de pulmón, saliva, sudor u orina o como *B*-tiocianoalanina en saliva y sudor (Quiroga y Olmos, 2009).



Fuente: Quiroga y Olmos, 2009.

Figura 8. Pasos metabólicos para la excreción del cianuro

www.bdigital.ula.ve

Mecanismo de intoxicación del cianuro

Diariamente los seres humanos tienen contacto directo con el cianuro o sus derivados a través de los alimentos que consume y productos que utiliza. La causa principal de muerte por cianuro involucra la ingesta de plantas cianogénicas, cuyos elevados niveles de cianuro provocan intoxicación. Se conoce que el cianuro se une e inactiva aproximadamente 40 enzimas, entre las cuales se pueden mencionar las siguientes: catalasa, ácido ascórbico oxidasa, peroxidasa, tirosinasa, fosfatasa, xantino oxidasa, succínica deshidrogenasa, superóxido dismutasa, carboxilasa vitamina K dependiente y anhidrasa carbónica. Además, se une a la metahemoglobina y a la hidroxicobalamina. Pero, la acción más importante desde el punto de vista toxicológico es la unión a la citocromo oxidasa, una superfamilia de proteínas

las cuales actúan como enzimas terminales en las cadenas respiratorias celulares (Quiroga y Olmos, 2009).

Como consecuencia de la unión del cianuro a la enzima, se impide la utilización del oxígeno a nivel celular y se manifiesta un estado de anoxia histotóxica. En conclusión, el ion cianuro se fija al hierro en estado férrico (Fe^{+3}) de la citocromooxidasa mitocondrial. Este bloqueo enzimático de la respiración celular ocasiona: imposibilidad para la utilización periférica de oxígeno, falta de generación de ATP y producción excesiva de ácido láctico (Quiroga y Olmos, 2009).

Manifestaciones clínicas

Se inician con irritación de mucosas, taquicardia, arritmia, mareos, convulsiones, pérdida de conocimiento, midriasis y piel cianótica-rosada. Como el cianuro se une a la citocromo oxidasa de forma reversible, inhibe la fosforilación oxidativa y daña aquellos tejidos que más dependen de ella, como el miocardio y el sistema nervioso central. En el SNC la sustancia gris, el hipocampo, el cuerpo estriado y la sustancia negra, son comúnmente afectados. Esta distribución de los efectos del cianuro está asociada con la anoxia histotóxica. El cianuro también puede lesionar la sustancia blanca, particularmente el cuerpo calloso (Córdoba, 2006). Cabe acotar que el consumo excesivo o inapropiado de yuca ha sido asociado con dos enfermedades neurológicas: la neuropatía atáxica tropical y el konzo (Rivadeneira y Rodríguez, 2016).

Además, el cianuro tiene una acción sobre la tiroides a través de su principal metabolito, el tiocianato. El ión tiocianato es un compuesto bociógeno que compite con el ión yoduro por el ingreso a la tiroides y, como consecuencia altera la síntesis de las hormonas tiroideas: triiodo tironina y tiroxina, T3 y T4, respectivamente (Quiroga y Olmos, 2009). Por otro lado, el ión cianuro estimula directamente los quimiorreceptores del cuerpo carotideo

y de los cuerpos aórticos, produciendo hiperpnea. La muerte se produce por disminución de la respiración de origen central, la cual puede ocurrir en segundos o minutos de acuerdo con las concentraciones del cianuro en el intoxicado (Córdoba, 2006).

Neuropatías relacionadas con el consumo de la yuca

Neuropatía Atáxica Tropical (NAT)

La intoxicación crónica por cianuro es una de las principales causas de la NAT que se caracteriza por la combinación de mielopatía, atrofia óptica, sordera neurosensorial y polineuropatía periférica simétrica. Los pacientes tienen una marcha de “borracho” (Atáxica) y el síndrome progresa lentamente durante años. Afecta por igual a hombres y mujeres y la mayor incidencia se presenta entre los 50 y 60 años, preferentemente en personas de escasos recursos económicos. Al examen se encuentra arreflexia osteotendinosa en 80% de los casos e hiperreflexia en el 20% restante debido a una mielopatía asociada. Parece que además de la ingesta prolongada de yuca mal procesada y a la poca ingesta de proteínas hay otros factores alimenticios y/o metabólicos asociados con esta entidad que sin duda existe y no se diagnostica o se confunde con otras entidades neurológicas parecidas (Vladimir-Zaninovic, 2003).

En el caso de la NAT, el papel de un déficit vitamínico o de aminoácidos esenciales se ha explorado mediante diversos intentos de intervención terapéutica. Sin embargo, ninguna de las suplementaciones evaluadas, entre las que se incluyen hidroxicobalamina, riboflavina y cisteína, no logró producir mejoría clínica, de tal manera que esta enfermedad es irreversible (Osuntokun, 1994).

Paraparesis espástica epidémica (Konzo)

El Konzo es una enfermedad que daña a las motoneuronas superiores, fue descrita en el Congo Belga (actualmente República Democrática del Congo) por Trolli (1938), en un reporte que resumió observaciones en el distrito de Kwango acerca de dos afecciones de origen desconocido; paraparesis espástica epidémica Konzo de la gente en Kwango y un síndrome con edema y lesiones cutáneas. Estas enfermedades son un trastorno neurológico que provoca la parálisis espástica de ambas piernas (paraparesis) o de ambas piernas y brazos (tetraparesis). El Konzo se atribuye a una alta exposición de cianuro a través de la dieta basada con raíces de yuca amarga (*Manihot esculenta* Crantz) procesadas inadecuadamente. Esta enfermedad se ha reportado en áreas rurales remotas de Mozambique, Tanzania, Camerún, Angola, República Central África y República Democrática del Congo en particular en las áreas de cultivo y donde se consume la yuca como base de la alimentación (Rivadeneira y Cols, 2012).

Se presenta dificultad progresiva para caminar acompañada de retención urinaria, estreñimiento y dolor lumbar. Al examen neurológico se encuentran signos del sistema cortico-espinal como hiperreflexia, signo de Babinski, clonus y espasticidad. Puede haber dificultad para hablar y visión borrosa durante un mes. Algunos pacientes quedan con disartria y atrofia óptica. La mayoría de los pacientes llegan a necesitar uno o dos bastones y 10% quedan en silla de ruedas (Vladimir-Zaninovic, 2003).

A pesar de su gravedad, el konzo sigue siendo una enfermedad desatendida. La enfermedad se asocia con un alto consumo dietético de cianógeno de las raíces de yuca amarga combinado con una dieta deficiente en proteínas. Las epidemias se producen cuando estas condiciones coinciden en momentos de grave escasez de alimentos (Nzwalo y Acantilado, 2011).

Métodos de análisis del cianuro

Los métodos de análisis autolíticos o químicos tradicionalmente empleados para determinar los glucósidos cianogénicos contenidos en la yuca, se realizan en tres pasos: hidrólisis de los glucósidos cianogénicos, aislamiento del cianuro liberado de la mezcla por destilación al vapor o aspiración; y determinación del cianuro. Durante las dos primeras etapas pueden ocurrir reacciones incompletas, errores o reacciones secundarias. En este sentido, es pertinente resaltar que mediante el análisis enzimático se logra la hidrólisis rápida y determinación cuantitativa de los glucósidos cianogénicos, se elimina la necesidad de la destilación al vapor o aspiración. Si se realizan ligeras variaciones, el procedimiento de análisis permite determinar el cianuro total, el cianuro no glicosídico (libre) y el HCN (Delangey Ahluwalia, 1982).

Al momento de seleccionar una técnica de análisis químico, ésta depende de varios factores: tipo de cianuro que se quiere analizar, concentración de cianuro, precisión requerida, claridad de la solución y principalmente la presencia de sustancias que pueden interferir con el método de análisis. A pesar de tomar en cuenta estos factores, el análisis resulta complicado debido a la falta de concordancia entre las diferentes técnicas, como cromatografía de gases, biosensores, fluorimetría y electrodo específico para analizar el cianuro libre, la destilación y colorimetría para el cianuro libre y tiocianato. No obstante, hay métodos publicados que podrían ser utilizados eficazmente para medir el total de HCN en los alimentos como las raíces de yuca de los cuales los más comunes son el método de papel picrato, espectrofotometría y titulación (Nava, Elorza, Uribe y Pérez, 2007).

Método de papel picrato

El cianuro puede ser medido mediante el método picrato el cual permite la determinación de cianógenos totales como linamarina y lotaustralina, acetonacianohidrina y HCN/CN, en raíces de yuca sobre un rango de 0-800 mg HCN equivalente por Kg de yuca, los resultados se comparan utilizando una tabla de colores con 10 tonos de amarillo a naranja o rojo. Es utilizado con eficacia en el campo, siendo útil para los agrónomos y fitomejoradores de todo el mundo que trabajan en el campo de la yuca (Egan y Cols, 1998).

Es necesario utilizar un pH alcalino para la descomposición de los diversos cianógenos. Como es el caso de la descomposición de la linamarina en acetonacianohidrina la cual es catalizada por la linamarasa que tiene una actividad máxima a un pH de aproximadamente 6, la acetonacianohidrina producida es razonablemente estable en ácido, pero se descompone rápidamente en cianuro en solución alcalina y el cianuro producido puede retenerse en la solución de picrato a dicho pH. También es importante la cantidad de picrato que se adhiera al papel de filtro ya que en proporción a esto es retenido el HCN; así como la temperatura, la cual puede aumentar el tiempo en que ocurra la reacción cuando las temperaturas son bajas (Egan y Cols, 1998).

Espectrofotometría UV-Vis

La espectrofotometría es un método específico encargado del análisis óptico y de medir la cantidad de energía radiante que absorbe o trasmite un sistema químico en función de la longitud de onda. La medición del cianuro (producto de degradación de la linamarina) puede realizarse mediante espectrofotometría UV-Vis, la cual se basa en la ley de Lambert-Beer (Skoog y Leary, 1994).

Para llevarse a cabo el análisis, se utiliza el ácido pícrico y su base conjugada, el anión picrato, que ha sido usado como un reactivo con características de cierto valor en aplicaciones analíticas. Esto ha permitido desarrollar métodos de laboratorio de detección y cuantificación de muchas sustancias, principalmente creatinina en suero y orina, fenotiazinas, metales e iones cianuro. El principal atractivo analítico del picrato como reactivo radica en los cambios de coloración que sufre durante la reacción, lo cual puede ser registrado fácilmente y correlacionado con la concentración del analito por determinar. Principalmente por la técnica de absorción en el ultravioleta visible (UV-Vis), debido a su alto grado de enlaces, lo cual origina altos coeficientes de absorción molar, y como consecuencia, es posible desarrollar métodos con diferentes niveles de detección y cuantificación (Oliveros, Carrera y Marín, 2009).

Esta reacción toma lugar con un cambio de color que va desde el amarillo, correspondiente al ácido pícrico o el picrato de sodio, a una coloración roja, correspondiente al complejo formado. Este hecho ha sido aprovechado para el análisis del contenido de ión cianuro en muestras de diferente naturaleza. A pesar de la aplicación tradicional de esta reacción, no existen registros en la literatura sobre sus parámetros fisicoquímicos, en especial sobre lo que ocurre entre los iones picrato y el cianuro (Oliveros y Cols, 2009).

Método enzimático

El análisis enzimático es reproducible, más rápido y más sensible que otros métodos cuantitativos. El método para purificar la linamarasa a partir de la cáscara de yuca permite determinar los contenidos de cianuro total y libre en la yuca. Se prepara los extractos a partir del tejido parenquimatoso, la cáscara o las hojas. Los glucósidos cianogénicos se hidrolizan por medio de una incubación corta con la enzima purificada, y el cianuro liberado se mide

calorimétricamente. El límite de detección del cianuro es <0,01mg/100g peso fresco de la raíz pelada (Brekelbaum y Gómez, 1979).

Electrodo específico para cianuro libre

Se utiliza este método para concentraciones bajas de cianuro. La técnica permite medir de manera muy precisa cantidades mínimas de cianuro (el rango de trabajo es de 0,05 a 10 mg/l) tanto en soluciones claras como en pulpas o soluciones con color. El electrodo para medir cianuro tiene una membrana de sulfuro de plata y yoduro de plata que reacciona con el cianuro de la solución y libera una cantidad proporcional de ión yoduro, según la siguiente reacción:

$$2\text{CN}^- + \text{AgI} = \text{Ag}(\text{CN})_2 + \text{I}^-$$

El yoduro liberado es detectado por el electrodo. Es necesario realizar una curva de calibración de concentración de soluciones estándar contra voltaje del potenciómetro al que está conectado el electrodo específico y por interpolación, encontrar la concentración correspondiente a la medida de voltaje que presenta una muestra problema. El electrodo detecta todo el cianuro libre y todos los complejos de cianuro que poseen una constante de estabilidad menor que la del cianuro de plata (cianuros de zinc y de cadmio) (Nava y Cols, 2007).

Titulación alcalina (Método Volumétrico)

El CN^- presente en la muestra se valora con nitrato de plata (AgNO_3), en presencia de yoduro de potasio (KI) como indicador, para formar el complejo de cianuro soluble ($\text{Ag}(\text{CN})_2$). En cuanto se halla acomplejado todo el CN^- y exista un pequeño exceso de plata (Ag^+) añadido, este exceso es detectado por el indicador de yoduro de potasio (KI), sensible a la plata y ocasiona un viraje en la solución (Gaviria y Meza, 2006).



Destilación para cianuro total

Este método cuantifica el cianuro libre, los cianuros simples y la mayoría de los complejos metálicos de cianuro (excepto los de oro, platino y cobalto). Existen numerosas versiones de la técnica de destilación, con diferentes reactivos según los complejos de cianuro que se quieran disociar. La variante más utilizada de este método para el análisis de cianuro total es una destilación ácida a reflujo que utiliza cloruro de magnesio ($MgCl_2$) como catalizador para descomponer los complejos metálicos; sin embargo, algunos complejos muy estables como los de oro, cobalto, platino y paladio no serán disociados completamente. La destilación ácida genera ácido cianhídrico, que es arrastrado y absorbido en una solución alcalina, en la cual se cuantifica el cianuro libre por alguno de los métodos indicados anteriormente como volumetría o electrodo específico (Nava y Cols, 2007).

www.bdigital.ula.ve

Definición operacional de términos

Fitoquímicos

La palabra fitoquímico proviene del griego “*fito*” que significa planta y “*químico*” que significa sustancia química. Éstas son producidas por las plantas, y contienen el principio activo que permite caracterizar y diferenciar cada especie vegetal (Hasegawa y Marcano, 2002). Según Chasquibol (2003), son compuestos químicos desarrollados por las plantas, cuya importancia para su supervivencia es fundamental. Algunos fitoquímicos se han utilizado en el pasado como venenos y otros como medicamentos en la medicina tradicional. Existen diferentes clases de fitoquímicos, entre los principales se encuentran, los fenoles, taninos, alcaloides, flavonoides, saponinas y glucósidos.

Metabolito

Es cualquier sustancia producida durante el metabolismo, digestión u otros procesos químicos. Un metabolito primario está directamente implicado en el crecimiento normal, el desarrollo y la reproducción, mientras el metabolito secundario no está directamente involucrado en esos procesos, pero por lo general tiene una importante función ecológica (Córdoba, 2006).

Glucósidos

Los glucósidos son metabolitos vegetales de gran importancia. Su nombre hace referencia al enlace glicosídico que se forma cuando una molécula de azúcar se condensa con otra que contiene un grupo hidroxilo. Existen tres grupos de glicósidos de particular interés: saponinas, glicósidos cardiacos y glicósidos cianogénicos. Una cuarta familia, los glucosinolatos, se incluyen en este grupo debido a su estructura similar a los glicósidos (Ávalos y Pérez, 2009).

Lotaustralina

Es un glucósido cianogénico que se encuentra en pequeñas cantidades en la yuca (*Manihot esculenta*). 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 (Córdoba, 2006).

Espectrofotómetro

El espectrofotómetro es un instrumento con la capacidad de proyectar un haz de luz monocromática (de una longitud de onda particular) a través de una muestra y medir la cantidad de luz que es absorbida por dicha muestra (Skoog y Leary, 1994).

La ley de Lambert-Beer

Esta ley relaciona la absorción de la luz con las propiedades del material atravesado. La ley explica que hay una relación exponencial entre la transmisión de luz de una sustancia y la concentración de la misma. Así como también entre la transmisión y la longitud del cuerpo que atraviesa (Skoog y Leary, 1994). Utiliza la luz para medir las concentraciones de las sustancias químicas, permitiendo establecer una relación lineal entre absorbancia y concentraciones de una especie absorbente a una temperatura dada. Para que pueda cumplirse esta ley la concentración de la especie absorbente debe ser baja (0,01M) y la radiación utilizada debe ser monocromática. Además, el único mecanismo de interacción entre la radiación electromagnética y la especie absorbente debe ser el de absorción. Aunado a esto, las especies absorbentes no deben interaccionar entre sí, tampoco con el disolvente (Sierra, Gómez, Pérez y Morante, 1999).

www.bdigital.ula.ve

Absorbancia

Es la cantidad de energía radiante absorbida por una sustancia pura o en solución. A mayor cantidad de luz absorbida, mayor será la absorbancia del cuerpo, y menor cantidad de luz será transmitida por dicho cuerpo. Matemáticamente, corresponde al logaritmo negativo de la transmitancia (Skoog y Leary, 1994).

pH

Es una unidad de alcalinidad o acidez de una solución. Específicamente el pH mide la cantidad de iones de hidrógeno que contiene una solución determinada. Se puede medir de manera precisa a través de la utilización de una herramienta conocida como pH-metro. Este aparato puede medir la

diferencia de potencial entre un par de electrolitos. También se puede llegar a medir con aproximaciones, utilizando para ello indicadores de ácidos o bases los cuales pueden presentar una coloración distinta dependiendo del pH. Normalmente el método consiste en emplear un papel impregnado con los indicadores cualitativos (Aguirre, 2009).

Ácido pícrico

El ácido pícrico es un fenol ácido y un compuesto orgánico nitrado tóxico, que es inflamable y altamente explosivo, de fórmula química $C_6H_2OH(NO_2)_3$. Es un sólido cristalino amarillo, sin olor. Se utiliza como explosivo potente y oxidante fuerte en los combustibles de cohetes, técnicas de tratamiento del cuero, en los métodos de grabado de metales y las baterías, también puede servir como tinte para tejidos. El ácido pícrico reacciona fuertemente con los metales tales como el cobre, el plomo, el zinc; es decir, que es corrosivo para los metales (Oliveros y Cols, 2009)

Tolueno

El tolueno, también conocido como metilbenceno, es un hidrocarburo aromático, líquido, incoloro y de olor agradable; es más denso que el aire, lo que lo hace más fácil de inhalar. Su inhalación puede producir irritación ocular, cansancio, debilidad, confusión y náuseas. Está presente en el petróleo crudo, también se genera a partir de carbón formando parte del alquitrán y como producto del metabolismo del árbol de Tolú donde se encuentra formando resinas. El tolueno es un buen solvente y se usa para hacer pinturas, diluyentes de pinturas, esmalte de uñas, barnices y caucho. El tolueno también se usa en la producción de nailon y plásticos (Rodríguez, 2020).

Definición operacional de las variables

Para operacionalizar el sistema de variables o el evento de estudio con el respectivo criterio de análisis, es necesario la definición conceptual y operacional de las mismas (Pérez, 2006). Las variables se operacionalizan con el fin de medirlas a través de indicadores específicos, transformando los conceptos abstractos que representan a las variables en empíricos (Palella y Martíns, 2004). Tal como se resume en las tablas 5 y 6 a continuación.

Tabla 5. Operacionalización del evento de estudio/criterio de análisis concentración de cianuro relacionado con el método papel picrato y espectrofotometría en *Manihot esculenta* Crantz.

Evento de estudio	Definición conceptual	Definición operacional
Concentración de cianuro	El cianuro es un grupo químico, en el cual un átomo de carbono se encuentra unido a un átomo de nitrógeno mediante un triple enlace. El nivel de ácido cianhídrico presente en la yuca, determina la diferencia entre subespecies: amarga (mayor toxicidad) y dulces (menor toxicidad).	La concentración de cianuro en <i>Manihot esculenta</i> Crantz se puede medir a través de: -Método de papel picrato -Espectrofotometría UV-Vis
Dimensiones	Indicadores	
-Mayor concentración de cianuro	La medición con papel picrato indica la concentración de cianuro mediante una reacción que se evidencia con el cambio de color, tornándose amarillo oscuro, naranja o rojo.	
-Menor concentración de cianuro	La medición por espectrofotometría UV-Vis se realiza a través del espectrofotómetro a 510nm y las concentraciones pueden ser <100 mg HCN/kg y >100 mg HCN/ kg.	

Fuente: Molina, Trejo, Rodríguez, 2019.

Tabla 6. Operacionalización del evento de estudio/criterio de análisis concentración de cianuro relacionado con el método papel picrato y espectrofotometría en *Manihot esculenta* Crantz.

Evento de estudio	Definición conceptual	Definición operacional
Método de papel picrato y espectrofotometría	<p>El método de papel picrato, es cualitativo y permite la determinación de cianógenos totales en raíces de yuca sobre un rango de 0-800 mg HCN equivalente por Kg de yuca. Los resultados se comparan utilizando una tabla de colores que van de amarillo a naranja (Egan y Cols, 1998). Adiferencia de la espectrofotometría, método cuantitativo que utiliza la luz para medir las concentraciones de las sustancias químicas, en función de la longitud de onda (Skoog y Leary, 1994).</p>	<p>-Papel de filtro con picrato</p> <p>-Espectrofotómetro</p>
Dimensiones	Indicadores	
<ul style="list-style-type: none"> - Color amarillo oscuro - Color naranja - Color rojo - Absorbancia (510nm) 	<p>La medición el método de papel picrato indica la concentración de cianuro mediante una reacción que se evidencia con el cambio de color que puede ir desde el amarillo oscuro a una coloración naranja o roja.</p> <p>La medición de cianuro por espectrofotometría UV-Vis se realiza a través del espectrofotómetro a 510nm y las concentraciones pueden ser <100 mg HCN / kg y > 100 mg HCN/ kg (absorbancia).</p>	

Fuente: Molina, Trejo, Rodríguez, 2019.

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

Tipo de Investigación

El tipo de investigación alude al nivel o grado de profundidad con el que se realizó el estudio (Arias, 2006). Para identificar el tipo de investigación es importante conocer la relación que se quiere estudiar. Para tal efecto, se analizaron las concentraciones de cianuro en la yuca con el criterio de análisis método de papel picrato y espectrofotometría UV-Vis. Por lo tanto, esta investigación es analítica.

www.bdigital.ula.ve

Diseño de investigación

Las estrategias para recolectar los datos constituyen el diseño de investigación. En este sentido, Hurtado (2015) refirió como estrategias al dónde, cuándo y la amplitud de la información que se quiere recolectar. Esta investigación tiene un diseño de campo y de laboratorio, puesto que se visitaron diferentes fruterías del municipio Libertador del estado Mérida, con el fin de obtener las raíces de yuca. Posteriormente, fueron analizadas en el Laboratorio de Toxicología “Dr. Pablo Paredes Vivas” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes. Respecto al cuándo, el diseño es contemporáneo y transeccional, pues la información fue recolectada en el presente y una sola vez en cada unidad de investigación. En cuanto a la amplitud de la información el diseño es univariable.

Población y Muestra

Unidad de investigación

La población está representada por las raíces de *Manihot esculenta* Crantz localizadas en las diferentes fruterías del municipio libertador del estado Mérida-Venezuela, que se analizaron en el Laboratorio de Toxicología “Dr. Pablo Paredes Vivas” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

Selección del tamaño de la muestra

La muestra es un subconjunto representativo y finito que se extrae de la población accesible, en algunos casos la población es tan grande o inaccesible que no se puede estudiar toda, entonces el investigador tendrá la posibilidad de seleccionar una muestra (Arias, 2006). La “n” muestral está representada por 40 trozos (aproximadamente 10 gramos cada uno) de raíces de *Manihot esculenta* Crantz. De los cuales 20 trozos fueron usados para el método de papel picrato y los 20 trozos restantes para el análisis espectrofotométrico.

Sistema de variables

Un sistema de variables es un conjunto de características que se puede medir, controlar o estudiar en una investigación, estas son susceptibles de cambios y valores cualitativos o cuantitativos (Palella, 2006). Las variables de esta investigación están representadas por la concentración de cianuro medida con el método de papel picrato y por espectrofotometría. Considerando que esta investigación es analítica, las variables no serán

sistematizadas como dependiente, independiente e intervinientes (Hurtado, 2015).

Instrumento de recolección de datos

Los instrumentos representan la herramienta con la cual se va a recoger, filtrar y codificar la información, es decir, el con qué. Existen diferentes tipos: medición, captación y registro (Hurtado, 2015). En primer lugar, se recolectaron los datos a través del método de papel picrato y el espectrofotómetro, puesto que contienen un sistema de codificación de la información, permitiendo medir las concentraciones de cianuro en las diferentes raíces de *Manihot esculenta* Crantz. Seguidamente, se registró la información en el computador, con el cual se puede tener un soporte en un período de tiempo relativamente largo, de modo que se pueda recuperar dicha información cuando se necesite.

www.bdigital.ula.ve

Procedimientos de la Investigación

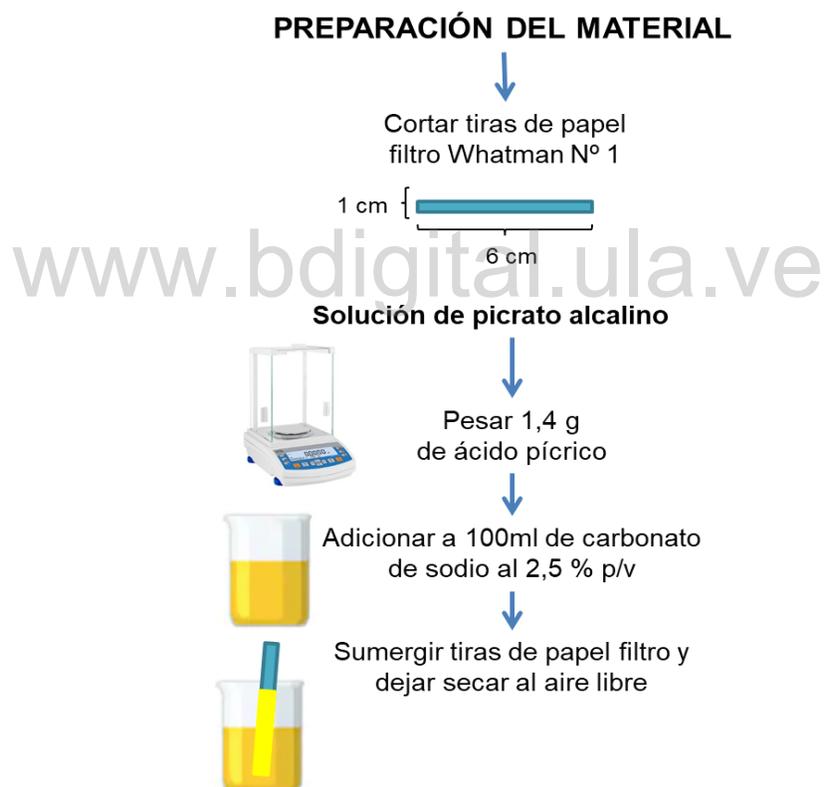
Método cualitativo

La muestra se coloca en un sistema cerrado, al cual se le añaden unas gotas de tolueno para provocar el daño celular y facilitar la volatilización, es decir, la liberación del HCN. El gas liberado es entonces arrastrado con aire el cual reacciona con la solución de picrato alcalino impregnada en una tira de papel de filtro, esto ocurre en un pH= 6-8. El cambio de color y de intensidad formado en la tira de papel de filtro se utiliza como referencia para una detección cualitativa del cianuro potencial liberado en la raíz de yuca (Aristizábal y Sánchez, 2007).

El método cualitativo lleva a cabo mediante los siguientes pasos:

- Cortar tiras de papel filtro Whatman N°1 de 1 cm de ancho por 6 cm de largo y preparar la solución de picrato alcalino (Esquema 1).
- Sumergir las tiras de papel de filtro en la solución de picrato alcalino hasta que queden bien impregnadas de esta solución y poner a escurrir para evitar exceso de solución y dejar secar al aire libre.

Esquema 1. Preparación del material.

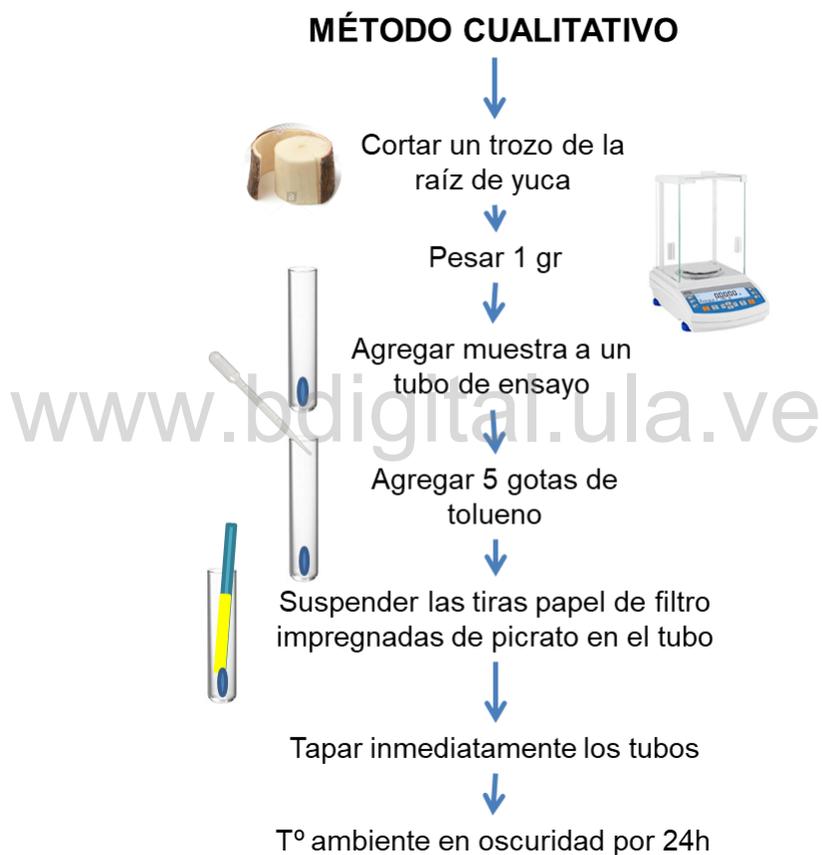


Fuente: Molina y Trejo, 2023.

- Tomar un trozo de la raíz de yuca y pesar 1 gramo.
- Colocar la muestra en el fondo del tubo de ensayo.
- Añadir 5 gotas de tolueno.

- Suspender inmediatamente la tira de papel de filtro impregnada con la solución de picrato alcalino en el tubo y sostener con la tapa; evitar el contacto de la tira de papel de filtro con las paredes del tubo y el tolueno.
- Dejar a temperatura ambiente por 24 horas en oscuridad (Esquema 2).

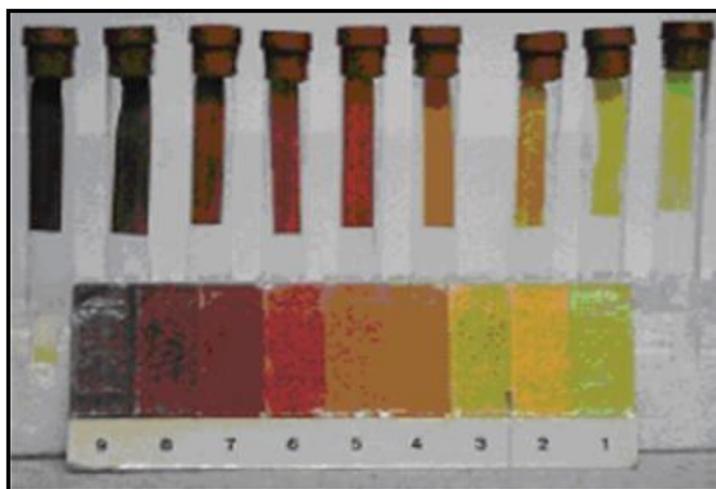
Esquema 2. Pasos para el análisis cualitativo del contenido de ácido cianhídrico en la yuca.



Fuente: Molina y Trejo, 2023.

Finalmente, realizar la lectura en la carta de colores (Figura 9) para la determinación de HCN según la intensidad de color adquirida por la tira de papel de filtro y mediante la escala del 1-9 (Tabla 7) determinar el contenido

aproximado de HCN. A mayor intensidad de color rojo, mayor contenido de HCN en la muestra. El rango del contenido de HCN en las raíces de yuca en base fresca puede variar desde 10 hasta 800 ppm (Aristizábal y Sánchez, 2007).



Fuente: Aristizábal y Sánchez, 2007.

Figura 9. Escala de color para la determinación cualitativa de HCN usando solución de picrato alcalino.

Tabla 7. Contenido aproximado de HCN según la escala de colores.

Escala de color	Contenido de HCN (ppm) en base húmeda
1	<10
2	10-15
3	15-25
4	25-40
5	40-60
6	60-85
7	85-115
8	115-150
9	>150

Fuente: Aristizábal y Sánchez, 2007.

Método cuantitativo

El contenido de cianuro total en raíces de yuca y subproductos de yuca puede ser determinado utilizando un espectrofotómetro para una determinación más precisa. El análisis consiste en la autohidrólisis dentro de un frasco cerrado, por medio de la reacción de Guignard la cual produce un cambio en la coloración de las tiras de papel de filtro, que se impregnan con ácido pícrico y posteriormente se comparan contra una escala patrón (Aristizábal y Sánchez, 2007). El principal atractivo analítico del picrato como reactivo radica en los cambios de coloración que sufre durante la reacción, lo cual puede ser registrado fácilmente y correlacionado con la concentración del analito por determinar, principalmente por la técnica de absorción en el ultravioleta y visible (UV-Vis). Esta reacción toma lugar con un cambio de color que va desde el amarillo, correspondiente al ácido pícrico o el picrato de sodio, a una coloración roja, correspondiente al complejo formado. Este hecho ha sido aprovechado para el análisis del contenido de ion cianuro en muestras de diferente naturaleza, como por ejemplo en las raíces de yuca (Oliveros y Cols, 2009).

Preparación del blanco

- Colocar en un frasco plástico un disco de papel de filtro impregnado de solución tampón fosfato pH 6,0.
- Agregar 0,5 ml de agua destilada.
- Colocar inmediatamente una tira de papel de filtro impregnada con solución de picrato alcalino adherida a una tira de acetato (plástico) para evitar el contacto con los líquidos.
- Tapar el frasco plástico (Esquema 3).

Esquema 3. Pasos para la preparación del blanco.

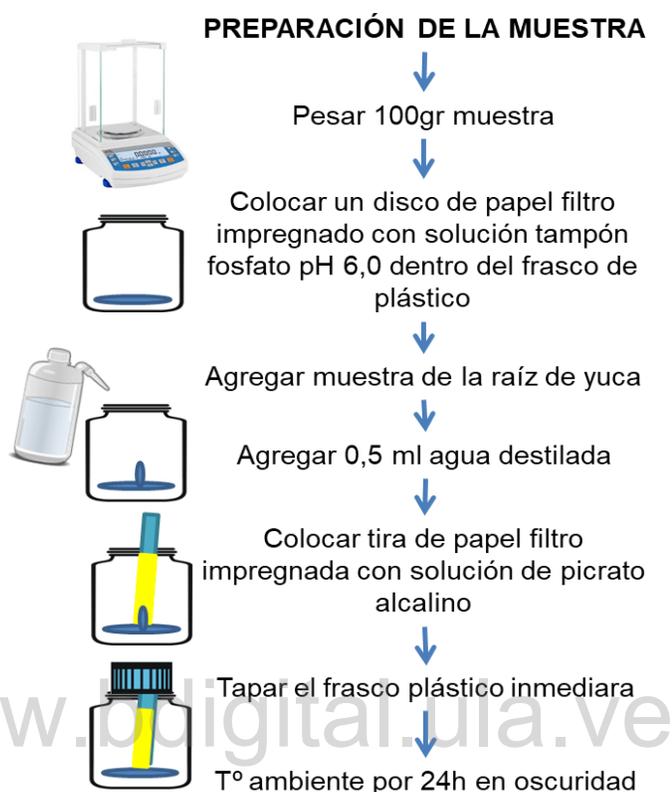


Fuente: Molina y Trejo, 2023.

Preparación de la muestra

- Pesar 100 mg de la muestra y colocar lo más pronto posible en un frasco plástico que contenga un disco de papel de filtro impregnado de solución tampón fosfato pH 6,0.
- Agregar 0,5 ml de agua destilada.
- Colocar inmediatamente una tira de papel de filtro impregnada con solución de picrato alcalino adherida a la tira de acetato y tapar el frasco plástico (Esquema 4).

Esquema 4. Pasos para la preparación de la muestra.

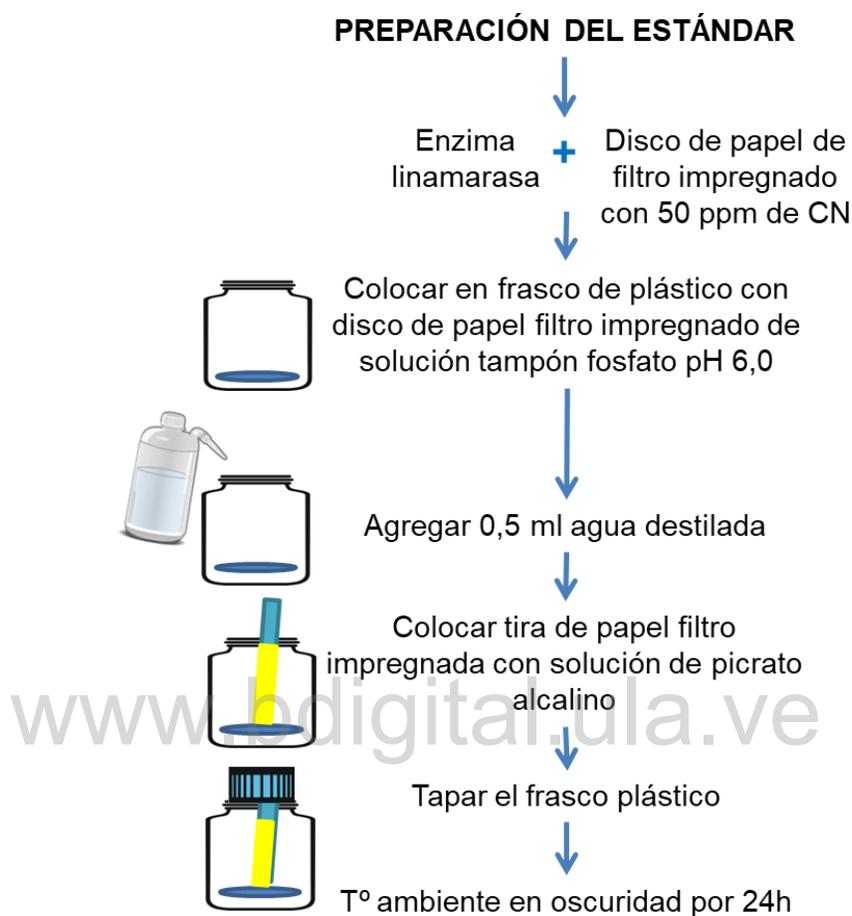


Fuente: Molina y Trejo, 2023.

Preparación de estándar

- Colocar en un frasco plástico un disco de papel de filtro impregnado de solución tampón fosfato pH 6,0 y la enzima linamarasa y otro disco de papel de filtro impregnado con 50 ppm de cianuro.
- Agregar 0,5 ml de agua destilada.
- Colocar inmediatamente una tira de papel de filtro impregnada con solución de picrato alcalino adherida a una tira de acetato y tapar el frasco inmediatamente (Esquema 5).

Esquema 5. Pasos para la preparación del estándar.

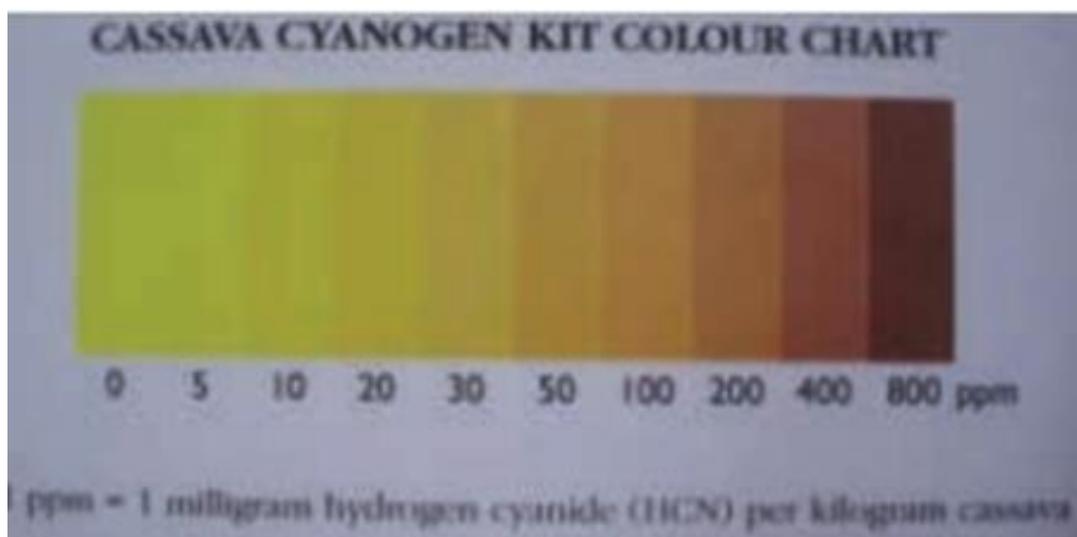


Fuente: Molina y Trejo, 2023.

Dejar los frascos plásticos de muestras, estándar y blanco a temperatura ambiente por 24 horas.

Retirar las tiras de papel de filtro, introducidas en los frascos plásticos, de la muestra, estándar y blanco.

Realizar la lectura en la carta de colores para determinación de cianuro (Figura 10) y cuantificar de acuerdo a la intensidad de color adquirida por la tira de papel de filtro. A mayor intensidad de color, mayor contenido de HCN en la muestra. El rango del contenido de HCN en las raíces de yuca en base fresca o húmeda (bh) puede variar de 10 hasta 800 ppm.



Fuente: Aristizábal y Sánchez, 2007.

Figura 10. Carta de colores para la determinación de cianuro

Análisis en espectrofotómetro

- Remover cuidadosamente las tiras de papel de filtro y colocarlas en un tubo de ensayo.
- Agregar 5 ml de agua destilada.
- Mantener durante 30 minutos con agitación ocasional.
- Medir la absorbancia en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 510 nm y comparar contra el blanco (Esquema 6).

La cantidad de HCN contenido en las raíces de yuca en base húmeda se calcula a través de la siguiente ecuación:

$$\text{Análisis cuantitativo HCN (ppm) base húmeda} = \text{Absorbancia muestra} \times 396.$$

Esquema 6. Pasos para el análisis cuantitativo del contenido de ácido cianhídrico en la yuca.



Fuente: Molina y Trejo, 2023.

Diseño de Análisis

En esta investigación el análisis de los datos fue realizado a través de un enfoque tanto cualitativo como cuantitativo. Al respecto, Pallela y Martins (2006) refirieron que el enfoque cuantitativo se basa en la expresión numérica de los datos y el análisis realizado a través de operaciones matemáticas, este enfoque estuvo representado por las concentraciones de cianuro en *Manihot esculenta* Crantz, obtenidas gracias a las absorbancias registradas en el espectrofotómetro. Mientras que el enfoque cualitativo no se basa en mediciones ni expresiones numéricas, sino en características de la unidad de investigación, y estuvo representado por el cambio de color observado en el método cualitativo que se llevó a cabo con el papel picrato.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Resultados

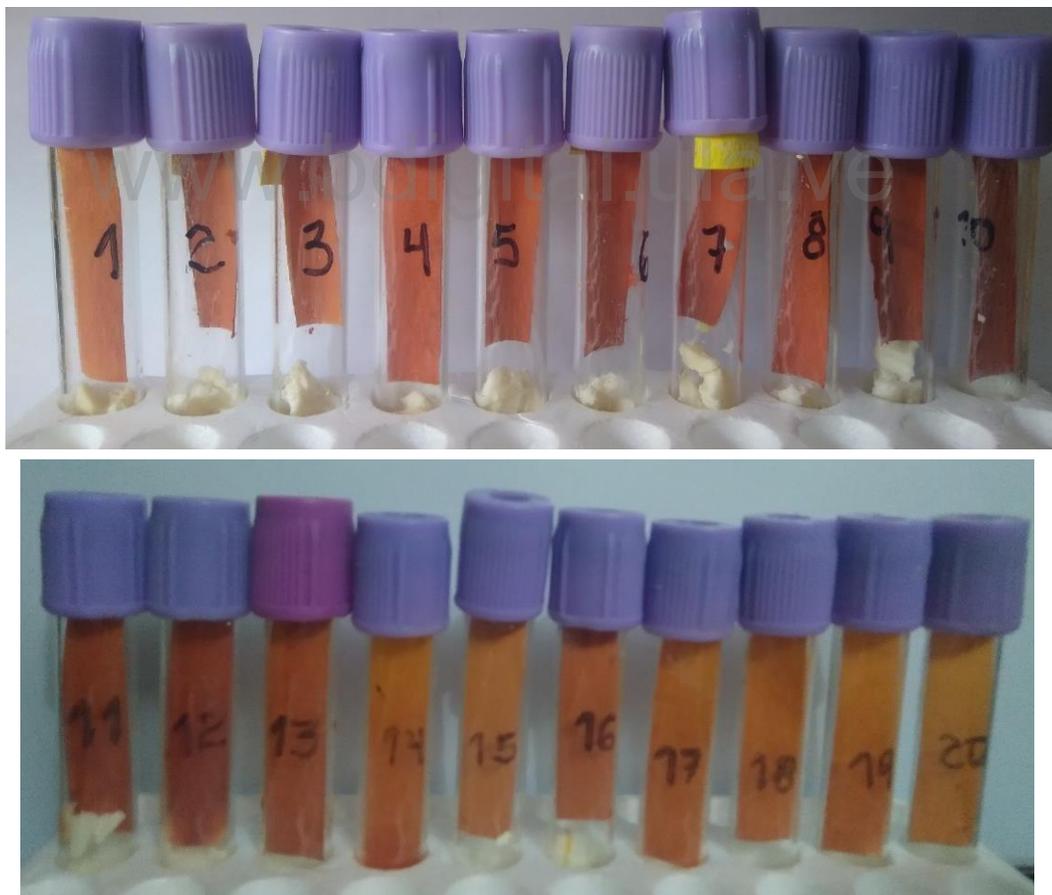
Las muestras de raíces de yuca fresca (variedad dulce) fueron recolectadas aleatoriamente en distintas fruterías del municipio Libertador del estado Mérida. Sin embargo, no todas fueron cultivadas en la misma localidad, su procedencia es de diferentes zonas del estado (Tabla 8). Es importante señalar que esto influye de manera directa en los resultados, ya que los mismos pueden variar en función de las condiciones en las que fue cosechada la planta, así como el tiempo de cultivo, es decir, la edad en la que fue extraída del suelo.

Tabla 8. Procedencia y edad aproximada de las raíces de yuca.

Raíz de yuca	Frutería	Procedencia	Edad aprox.
Muestra N° 1-4	Frutería Campo de Oro	La Azulita	9-10 meses
Muestra N° 5-8	Ferías del Campo El Rodeo	Tucaní	8-10 meses
Muestra N° 9-12	Frutería del Centro	Caño Amarillo	9-11 meses
Muestra N° 13-16	Mercado Soto Rosa	Canaguá	12-13 meses
Muestra N° 17-20	Frutería Campo de Oro	Pueblos del Sur	11-12 meses

Elaborado por: Molina, Trejo, 2023

Las raíces de *Manihot esculenta* Crantz fueron peladas y cortadas en pequeños trozos. En el análisis cualitativo para la determinación de cianuro, todas las muestras resultaron positivas para la presencia de ácido cianhídrico (HCN) utilizando el método de papel picrato (Figura 11). La lectura en la carta de colores se representa en la tabla 9, según la intensidad de color adquirida por la tira de papel de filtro y mediante la escala del 1-9 el contenido aproximado. A mayor intensidad de color rojo, mayor contenido de HCN en la muestra. De las 20 muestras de raíces de yuca, 4 de ellas mostraron abundante presencia de ácido cianhídrico (HCN), mientras que en el resto de las muestras fue observada mediana presencia de HCN ante su respectivo análisis cualitativo.



Fuente: Molina, Trejo, 2023.

Figura 11. Análisis cualitativo de las muestras de yuca.

Tabla 9. Escala de color y contenido aproximado de HCN según la escala de colores del método cualitativo.

Raíz de yuca	Escala de Color									Contenido aprox. de HCN (ppm) base húmeda
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
Muestra n° 1						X				60-85
Muestra n° 2						X				60-85
Muestra n° 3						X				60-85
Muestra n° 4						X				60-85
Muestra n° 5						X				60-85
Muestra n° 6						X				60-85
Muestra n° 7						X				60-85
Muestra n° 8						X				60-85
Muestra n° 9							X			85-115
Muestra n° 10							X			85-115
Muestra n° 11							X			85-115
Muestra n° 12							X			85-115
Muestra n° 13						X				60-85
Muestra n° 14						X				60-85
Muestra n° 15						X				60-85
Muestra n° 16						X				60-85
Muestra n° 17						X				60-85
Muestra n° 18						X				60-85
Muestra n° 19						X				60-85
Muestra n° 20						X				60-85

Elaborado por: Molina, Trejo (2023).

Adicionalmente, en las muestras que presentaron un contenido de cianuro abundante en su análisis cualitativo, se realizó una extracción con diferentes solventes para su posterior análisis. En la tabla 10, se muestran los valores de absorbancia obtenidos del producto de reacción del picrato alcalino con el cianuro liberado en las reacciones de extracción, usando benceno y tolueno. Se puede notar que la mayor extracción de cianuro en las raíces de yuca, se da usando benceno.

Tabla 10. Comparación de las absorbancias obtenidas del producto de reacción del picrato alcalino con el cianuro liberado en las reacciones de extracción, usando benceno y tolueno.

Raíz de yuca	Tolueno (Abs)	Benceno (Abs)
Muestra n° 9	1,362	1,564
Muestra n° 10	1,401	1,559
Muestra n° 11	1,080	1,560
Muestra n° 12	1,421	1,558

Elaborado por: Molina, Trejo (2023).

En base a los datos expuestos, el benceno demostró ser eficaz en comparación al tolueno. Sin embargo, en dicho análisis según la metodología usada fue considerado el tolueno para todo el análisis cualitativo.

Por otra parte, se obtuvo una medida más precisa del potencial cianogénico de las raíces de yuca, con un análisis cuantitativo por medio de la espectrofotometría. Las muestras fueron sometidas según el procedimiento del esquema 4. Se estudió la autohidrólisis, es decir, la descomposición de linamarina en acetocianohidrina y este a su vez la liberación de HCN, catalizada por la enzima endógena linamarasa en dos pH. A un pH 6, donde la enzima tiene una actividad máxima y a un pH 8, suficientemente alcalino para asegurar una total descomposición de los cianógenos, condición que fue utilizada para la reacción con fines analíticos.

La liberación de HCN se vió favorecido a un pH 8, aunque a pH 6 se observa una respuesta favorable. Las tiras de papel filtro produjeron un cambio en la coloración (Figura 12), las cuales se compararon con una escala patrón para determinar según la intensidad de color el valor aproximado de HCN para el método cuantitativo.



Fuente: Molina, Trejo, 2023.

Figura 12. Variación de color en las tiras de papel picrato para la determinación cuantitativa.



Fuente: Molina, Trejo, 2023.

Figura. 12. Continuación. Variación de color en las tiras de papel picrato para la determinación cuantitativa.

El color de la tira de papel de picrato se eluyó con agua y fue cuantificado por medio del espectrofotómetro SHIMADZU UV 160A, se midió la absorbancia a una longitud de onda de 510nm. En la tabla 11, se puede observar los datos experimentales de los valores de absorbancia y sus respectivas concentraciones de HCN en las 20 muestras de yuca, así como los pH en que fueron sometidas las muestras.

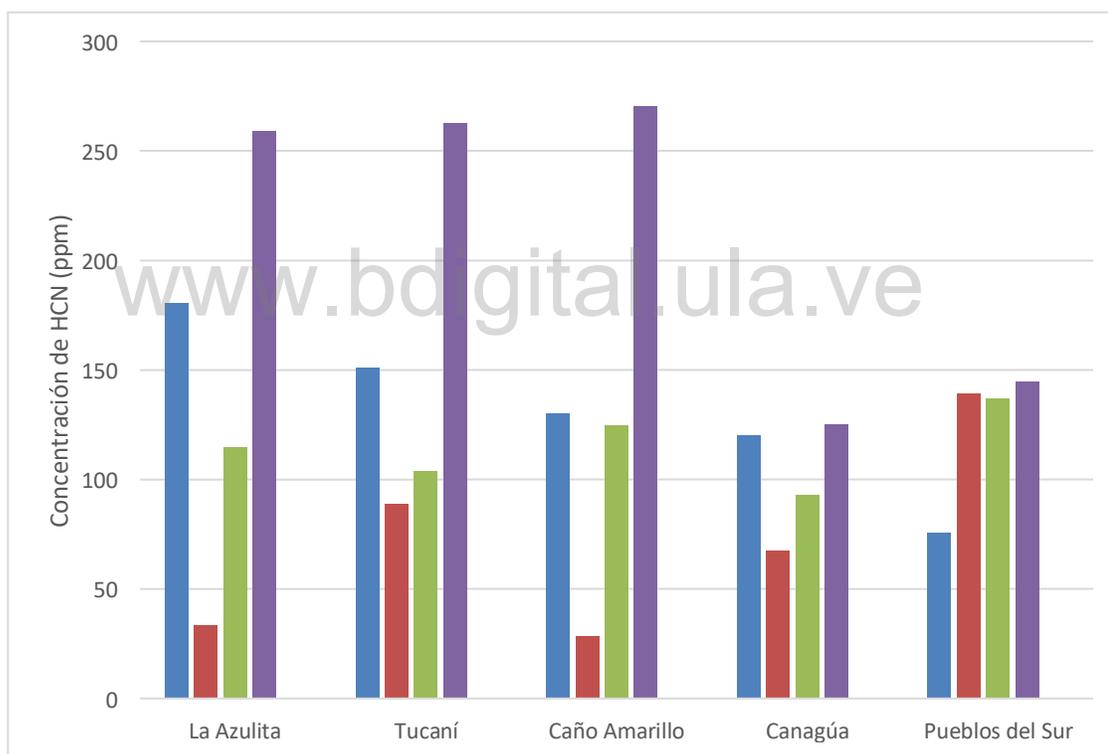
Tabla 11. Resultados semicuantitativos de la cantidad de HCN según la carta de colores, valores de las absorbancias y sus respectivas concentraciones de HCN del análisis cuantitativo, pH utilizado en el análisis.

Raíz de yuca	pH	Concentración HCN (ppm) según escala de color	Abs	Concentración (ppm)
Muestra n° 1	6	200	0,456	180,58
Muestra n° 2	6	50	0,085	33,66
Muestra n° 3	6	100	0,290	114,84
Muestra n° 4	6	200	0,654	258,98
Muestra n° 5	6	100	0,381	150,88
Muestra n° 6	6	100	0,224	88,70
Muestra n° 7	8	200	0,262	103,75
Muestra n° 8	8	200	0,663	262,55
Muestra n° 9	8	100	0,328	129,88
Muestra n° 10	8	200	0,072	28,51
Muestra n° 11	6	50	0,315	124,74
Muestra n° 12	6	100	0,682	270,07
Muestra n° 13	6	100	0,303	119,98
Muestra n° 14	6	50	0,170	67,32
Muestra n° 15	6	100	0,234	92,66
Muestra n° 16	6	100	0,316	125,14
Muestra n° 17	6	100	0,191	75,64
Muestra n° 18	8	200	0,351	139,00
Muestra n° 19	8	200	0,346	137,02
Muestra n° 20	8	200	0,365	144,54

Elaborado por: Molina, Trejo (2023).

Los resultados obtenidos en la cuantificación de HCN, corroboran el análisis cualitativo, es decir, las determinaciones cualitativas-cuantitativas se consideran proporcionales ante la presencia de dicho contenido del analito. Las raíces de yuca que presentaron mayor concentración de HCN fueron las procedentes de Tucaní ($151,47 \pm 78,65$ ppm) y las de menor concentración fueron las procedentes de Canagúa ($101,28 \pm 26,75$ ppm) con una variación en las diferentes zonas agricultoras (Gráfico 1).

Gráfico 1. Contenido de HCN en ppm de las raíces de yuca fresca (variedad dulce) provenientes de las diferentes zonas.



Elaborado por: Molina, Trejo (2023).

- Muestra aleatoria (cualquiera parte de la raíz)
- Muestra de médula
- Muestra de parénquima
- Muestra de corteza (solo para La Azulita, Tucaní y Caño Amarillo)

El análisis del nivel de cianuro usando este método reveló una variación significativa entre la concentración de cianuro y la ubicación geográfica de la planta de yuca. Por otra parte, se analizó la concentración de cianuro en las diferentes partes de la yuca (corteza, médula y parénquima) del mismo tipo de variedad dulce (Tabla 12) en las muestras colectadas en las fruterías del Municipio Libertador, se determinó utilizando el método del papel picrato lo cual tuvo una variación en la concentración de cianuro en las tres partes de la raíz de yuca.

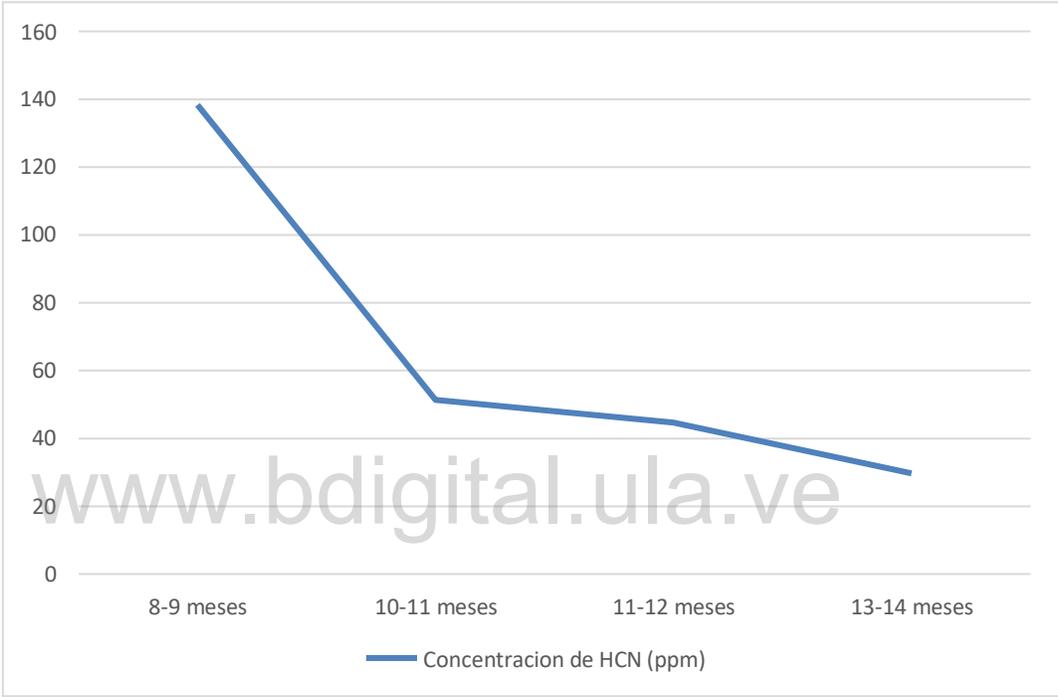
Tabla 12. Concentración de HCN en las diferentes partes de la raíz de yuca.

Partes	Muestra N°	HCN (ppm)
Médula	2	33,66
	6	88,70
	10	28,51
Parénquima	3	114,84
	7	103,75
	11	124,74
Corteza	4	258,98
	8	262,55
	12	270,07

El análisis reveló que la corteza tenía la mayor concentración de cianuro ($263,87 \pm 5,66$) seguido del parénquima ($114,44 \pm 10,50$), mientras que la médula presento la menor concentración ($50,29 \pm 33,36$). Estos son diferentes tejidos con diferentes características bioquímicas y por lo tanto influye en la distribución de enzimas en el metabolismo del cianuro. Además, como se ha descrito anteriormente, el contenido cianogénico en la yuca se ve afectado por las condiciones climáticas y edad en el momento de la cosecha, por lo que demostró una relación entre la concentración de HCN en

las raíces de yuca y el tiempo de cultivo. Observando un descenso del contenido de HCN a medida que aumenta la edad, por lo tanto, los valores fueron inferiores en los 12 meses (Gráfico 2).

Gráfico 2. Concentración de HCN (ppm) en relación a la edad de la planta.



Elaborado por: Molina, Trejo (2023).

Discusiones

Este trabajo tuvo como finalidad determinar la presencia de cianuro en las raíces de *Manihot esculenta* Crantz, para esto se realizó un análisis cualitativo mediante tiras impregnadas con picrato y los resultados obtenidos revelaron la presencia de ácido cianhídrico, el cual es producido gracias al metabolito secundario linamarina. También se realizó un análisis cuantitativo con la ayuda del espectrofotómetro, empleando el ácido pícrico y su base conjugada, el anión picrato para su cuantificación (Oliveros y Cols, 2009).

De acuerdo a lo descrito anteriormente, Muleta y Mohammed en el año 2017 realizaron una investigación sobre los niveles de cianuro en una variedad de yuca dulce cultivada en diferentes regiones geográficas de la zona de Wolaita, sur de Etiopía. Para esto utilizaron el método de papel picrato y el procedimiento de determinación espectrofotométrica visible a los rayos UV. Sus resultados evidenciaron que la concentración de cianuro varió significativamente con la ubicación geográfica. Así por ejemplo la concentración de cianuro en yuca de Kindo koysha fue mayor con 66 ppm, mientras que la yuca de Kindo didaye tuvo una concentración más baja con 29,35 ppm. Y, los datos experimentales de las autoras también muestran diferencias en los niveles de cianuro en las muestras de yucas estudiadas desde 28,51 hasta 180,58 en pulpa, correspondientes a Caño Amarillo y Tucaní respectivamente. Esto se puede atribuir a la diferente química del suelo en las regiones, con variaciones en sus componentes como los iones de potasio, calcio y magnesio, afectando la absorción de cianuro por parte de la yuca. En nuestro caso es interesante notar que estos cultivos de yuca crecían en el mismo estado, pero sus niveles de cianuro son diferentes, indicando que existe una estrecha relación entre el suelo donde se desarrolla la yuca, y la concentración de cianuro.

Pizarro, Ospina, Luna, Belalcazar, Salazar, Tran, Becerra y Dufour en el año 2018, también realizaron un estudio sobre el contenido de cianuro en la

planta de yuca pero asociado a la edad fisiología, ellos determinaron cianuro en la corteza y el parénquima de la yuca a los 3, 6 y 11 meses evidenciando diferencias significativas en cuanto al contenido de cianuro en la corteza y el parénquima, siendo mayor su contenido en la corteza, con lo cual concordamos con los autores. Por otro lado, la concentración de cianuro es mayor en yucas jóvenes y a medida que maduran el contenido de HCN disminuye. En nuestro caso los resultados obtenidos también evidencian menor concentración de HCN en las raíces entre 12 y 13 meses de edad, confirmando los hallazgos sobre el contenido de cianuro y su relación con la edad fisiológica, lo cual es importante ya que representa menor riesgo para su utilización ya sea en forma fresca o como subproducto.

Por otro lado, Ndam y Cols en el año 2019 realizaron un estudio sobre los cultivos y el contenido de cianuro de la yuca mediante espectrofotometría. Al observar las mediciones obtenidas en varias raíces de yuca analizadas, se puede apreciar que existe variaciones entre las concentraciones de cianuro obtenidas en Mbankomo, Camerún que oscilan entre 79,34 y 181,33 ppm. Con respecto a los resultados obtenidos de las muestras de yuca analizadas por las autoras en Mérida, Venezuela también se observaron variaciones en las concentraciones de cianuro desde 28,51 hasta 180,58 ppm de HCN, similares al estudio realizado en Camerún. Estas diferencias en la concentración (ppm de HCN) presente en las raíces de yuca se puede atribuir al hecho de que la composición química de *Manihot esculenta* varía según la variedad, suelo, edad, incluso las condiciones ambientales.

También analizan el contenido de cianuro en diferentes partes de la raíz de yuca (parénquima, médula y corteza). Ellos obtuvieron una concentración de cianuro en la corteza de 117,80 a 210,07 ppm En cuanto a este análisis coincidimos con los autores con el hecho de que fue mayor la concentración de HCN en la corteza de la yuca con respecto a la médula y parénquima. Puesto que en la corteza obtuvimos 258,98 a 270,07 ppm mientras que en la médula los valores fueron de 28,51 a 88,70 ppm. Se ha informado que la

linamarasa, una enzima clave en el metabolismo del cianuro, se reduce desde la corteza hacia la médula. Este factor tiene una influencia directa en la acumulación de glucósido cianogénico en las tres partes diferentes de la yuca, explicando el hecho de encontrar una mayor concentración de HCN en la corteza de la yuca (Ndam y Cols, 2019).

Más tarde, Maitha y Cols, en el año 2022 realizaron una investigación sobre la concentración de cianuro de hidrogeno en cuatro variedades de yuca cultivadas en Kenia, en sus resultados muestran que hubo diferencias significativas en la concentración de HCN entre las cuatro variedades y en las diferentes partes de las plantas. En nuestro caso las raíces de *Manihot esculenta* estudiadas en el laboratorio, también muestran variaciones en las concentraciones de cianuro. Sin embargo, el contenido de cianuro no supera los 180 ppm de HCN, por lo tanto, entran en la clasificación de yucas dulces, lo cual resulta de beneficio ya que son aptas para el consumo de la población. No obstante, el estudio se realizó en un número reducido de muestras por lo que algunas yucas del estado pudieran presentar niveles de cianuro por encima de los internacionalmente aceptados para ser consumidos por los humanos. Sugerimos realizar pruebas cualitativas en las zonas agricultoras, debido a que el resultado en los niveles de cianuro pueden modificarse para una misma especie y cultivar por factores ambientales, incrementando la toxicidad en períodos de sequía, altas temperaturas, heladas, suelos ricos en nitratos ó fertilizados con compuestos nitrogenados.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

- El análisis en las raíces de *Manihot esculenta* Crantz, demostró que la misma se encontraba dentro de las variedades dulces ya que las concentraciones obtenidas no superaron los 180 ppm.
- Mediante la técnica de espectrofotometría se logró obtener resultados más precisos de las concentraciones de cianuro en las raíces de *Manihot esculenta*, desde 28,51 hasta 180,58 ppm de HCN en la pulpa, esta diferencia se debe a la ubicación geográfica, edad de la planta al momento de obtener las raíces, condiciones del suelo y climáticas que sufrió durante su tiempo de cosecha.
- El contenido de cianógeno en el tejido parenquimatoso es muy variable entre raíces de diferentes plantas del mismo cultivo y entre raíces de diferentes cultivos. Es decir, las raíces de yuca que crecían en la misma localidad y bajo las mismas condiciones climáticas, tenían distinta concentración de cianuro.
- Se halló una diferencia significativa en la concentración de las tres partes de la raíz de yuca: médula, corteza y parénquima, siendo mayor la concentración en la corteza.
- El método del picrato se considera más adecuado para la determinación de cianuro en raíces de yuca en países tropicales en desarrollo, como Venezuela donde pueden faltar equipos y materiales para los métodos de extracción y almacenamiento de la enzima linamarasa.

Recomendaciones

- Es importante tener en cuenta la ubicación geográfica de la planta, ya que influye en la producción de glucósidos cianogénicos.
- En los países tropicales como Venezuela, donde sea difícil medir los niveles de cianógeno de la yuca debido a la falta de instalaciones para llevar a cabo el procedimiento de ensayo y métodos de análisis precisos, se recomienda utilizar el método simple y rápido de picrato para la determinación de cianógenos totales en las raíces de yuca
- Sensibilizar a los consumidores sobre el contenido de cianuro presente en la yuca para que apliquen métodos efectivos de procesamiento y alentar a usarlos antes de consumirla.
- Llevar a cabo campañas de concientización al público sobre los altos niveles de ppm de ácido cianhídrico en la yuca sin procesar en comparación con el estándares recomendado por la OMS.
- Realizar estudios sobre la concentración de HCN en las diferentes regiones del país y así minimizar brotes de intoxicación en poblaciones que dependen de la yuca como alimento básico.
- Para el análisis se recomienda obtener como espécimen vegetal distintas partes de la planta en estudio, como raíces, tallos y hojas de *Manihot esculenta* Crantz, ya que no solo se consume sus raíces, sino que las hojas son utilizadas para elaborar harina de yuca. Esto con la finalidad de analizar la cantidad de cianuro presente en todas sus partes.

REFERENCIAS BIBLIOHEMEROGRÁFICAS

Aguirre, J. (2009). **Estudio crítico de algunos métodos usados para la determinación del pH**. Florida. Editorial: CCR.

Arias, F. (2006). **El proyecto de investigación. Introducción a la metodología científica**. Caracas: Editorial episteme.

Aristizábal, J., Sánchez, T. (2007). **Guía técnica para producción y análisis de almidón de yuca**. Roma: FAO. pp. 99-101.

Ávalos, A., y Pérez, E. (2009). Metabolitos secundarios de plantas. **Reduca**, 3 (2), 4-5.

Benea, JP., Tylleskar, T., Gitebo, N., Matadi, N., Gebre-Medhin M., Rosling, H. (1997). Geographical and seasonal association between linamarin and cyanide exposure from cassava and the upper motor neurone disease konzo in former Zaire. **Trop Med Int Health**. 2 (12): 1143-51.

Bradbury, M., Egan, S., Bradbury, J. (1999). Picrate paper kits for determination of total cyanogens in cassava roots and all forms of cyanogens in cassava products. **J Sci Food Agric**, 79 (1): 593-601.

Brekelbaum, T., Gómez, G. (1979). **Ensayo enzimático para determinar el contenido de cianuro en las raíces y en los productos derivados de la yuca**. Colombia: Editorial CIAT.

Cartay, R. (1979). Difusión y comercio de la yuca (*Manihot Esculenta*) en Venezuela y en el mundo. **Agroalim**, 9, (18). pp. 3.

Ceballos, H., De la Cruz G. (2002). **Taxonomía y morfología de la yuca**. En: Ceballos, H., Ospina, B. La yuca en el tercer milenio. Sistemas modernos de producción, procesamiento, utilización y comercialización. Colombia: Editorial CIAT.

Cereda, P. (2003). Procesamiento de yuca como mecanismo de destoxificación. Serie: cultura de tuberculosas amiláceas latino- americanas. **Fundación Cargill**. 3 (3): 47-80.

Chasquibol, N. (2003). Alimentos funcionales o fitoquímicos, clasificación e importancia. *Revista Periódica Ingeniería Química*, 5 (2), 9-20.

Córdoba, D. (2006). *Toxicología*. España: Editorial Manual Moderno.

Delange, F., Ahluwalia, R. (1982). *Toxicidad de la yuca y tiroides: aspectos de investigación y salud*. Colombia: Editorial CIID.

Díaz, G. (2010). *Plantas tóxicas de importancia en la salud y producción animal en Colombia*. Bogotá: Editorial Universidad Nacional de Colombia.

Egan, S., Yeoh, H., Bradbury, H. (1998). Simple picrato paper kit for determination of the cyanogenic potential of cassava flour. *J Sci Food Agric*, 1 (76): 39-48.

Gaviria, A., Meza, Luis (2006). Análisis de alternativas para la degradación del cianuro en efluentes líquidos y sólidos del municipio de segovia, antioquia y en la planta de beneficio de la empresa mineros nacionales, municipio de marmato, caldas. *Dyna*, 73 (149): 31-44.

Guerrero, J. (2014). Cianuro: toxicidad y destrucción biológica. *Biomtek Research Eirl*, 1 (35): 22-23.

Hasegawa, M., y Marcano, D. (2002). *Fitoquímica orgánica*. Caracas: Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad Central de Venezuela.

Hernández, R., Fernández, C., Baptista, P. (2010). *Metodología de la investigación*. México D.F: McGraw Hill.

Hurtado, J. (2015). *El proyecto de investigación, comprensión holística de la metodología y la investigación*. Caracas: Quirón.

Jansz, ER., Uluwaduge, I. (1997). Biochemical aspects of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) with special emphasis on cyanogenic glucosides - A Review. *J. Nat. Sci. Foundation. Sri Lanka* 25 (1):1-24.

Llorens, J. (2004). Enfermedades neurológicas asociadas al consumo de variedades de mandioca con alto contenido en gluconitrilos. **Endocrinol Nutr.** 51 (7): 418-25.

Maitha, P; Kamau, S; Kimatu, J. Hunja, C. (2022). An Analysis of the Hydrogen Cyanide Concentration in Four Cassava Varieties Grown in Lukenya University Farm, Makueni County, Kenya. **Journal of African Interdisciplinary Studies**, 6 (11): 225-237.

Marín, A., Perdomo, D., Albarrán, J., Fuenmayor, F., Zambrano, C. (2008). Evaluación morfológica y bioquímica de clones élites de yuca a partir de vitroplantas. **INCI.** 33 (5).

McMahon, J., White, W., Sayre, R.T. (1995) Cyanogenesis in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). **J Exp Bot**, 46: 731–741.

Mlingi, N., Poulter, N., Rosling, H. (1992). An outbreak of acute intoxications from consumption of insufficiently processed cassava in Tanzania. **Nutrition Research**, 12 (6): 677-687.

Mwine, J., Damme, P. (2011). Why do Euphorbiaceae tick as medicinal Plants? A review of Euphorbiaceae family and its medicinal features. **Journal of Medicinal Plant Research**, 5 (5):652-662

Nava, A., Elorza, E., Uribe, A., Pérez, R. (2007). Análisis químico de cianuro en el proceso de cianuración: revisión de los principales métodos. **Revista de Metalurgia**, 43 (1): 1-48

Ndam, Y., Mounjouenpou, P., Kansci, G., Kenfack, J., Fotso, M., Ngonu, N., Akhobakoh, M., Nyegue, A. (2019). Influence of cultivars and processing methods on the cyanide contents of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) and its traditional food products. **Scientific African**, 5: 2-12.

Ndubuisi, N., Chidiebere, A. (2018). Cyanide in Cassava: A Review. **Int J Genom Data Min**, 1: 110. DOI: 10.29011/IJGD-118. 000018.

Nzwalo, H., Acantilado, J. (2011). Konzo: From Poverty, Cassava, and Cyanogen Intake to Toxic-Nutritional Neurological Disease. **Plos Negl Trop Dis**, 5(6): 1051.

Oliveros, A., Carrera, C., Marín, D. (2009). Estudio por espectrofotometría uv-vis de la reacción entre los iones cianuro y picrato. Un ejemplo práctico de aplicaciones analíticas y estudios cinéticos. **Rev. Colomb. Quim**, 38 (1): 61-82.

Ospina, B., Ceballos, H. (2002). **La yuca en el tercer milenio. Sistemas modernos de producción, procesamiento, utilización y comercialización**. Colombia: Editorial CIAT.

Osuntokun, B. (1994). Chronic cyanide intoxication of dietary origin and a degenerative neuropathy in Nigerians. **Acta Horti**. 375: 311-21.

Panghal, A., Munezero, C., Sharma, P., Chhikara N. (2021). Toxicidad de la yuca, desintoxicación y sus aplicaciones alimentarias: una revisión. **Toxin Reviews**, 40 (1):1-16.

Palella, S., Martins, F. (2006). **Metodología de la Investigación Cuantitativa**. Caracas: FEDUPEL.

Pérez, A. (2006). **Guía Metodológica para Anteproyectos de Investigación**. Caracas: FEDUPEL.

Pizarro, M., Ospina, M., Luna, J., Belalcazar, J., Salazar, S., Tran, T., Becerra L., Dufour, D. (2018). Cyanide content and distribution in cassava plants, in association with physiological age. **Cirad Agritrop**, 18: 20-25.

PubChem (2023). Linamarin. Página web: <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/linamarin#section=Top>. Consultado el día 17 de abril de 2023.

Quinn, A., Myrans, H., Gleadow, R. (2022). Contenido de cianuro de productos alimenticios de yuca disponibles en Australia. **Foods**, 11 (1): 1-7.

Quintero, A. (2015). Alto riesgo de muerte del ganado alimentado con yuca cruda. **Boletín informativo toxicológico-CEITOXQUIA**, 1 (2): 4.

Quiroga, P., Olmos, V. (2009). Revisión de la toxicocinética y la toxicodinamia del ácido cianhídrico y los cianuros. **Acta Toxicol. Argent**, 17 (1): 20-32.

Ramírez, A. (2010). Toxicidad del cianuro. Investigación bibliográfica de sus efectos en animales y en el hombre. **An. Fac**, 71 (1): 1-7.

Rivadeneira, E., Rodríguez, J., Salas D. (2012). Neuropatía atáxica tropical y Konzo asociadas al consumo excesivo de yuca. **Arch Neurocién**, 17 (1): 45-48.

Rivadeneira, E., Rodríguez, J. (2016). Alteraciones motoras inducidas por la microinyección de linamarina en el hipocampo dorsal de la rata Wistar. **Issue**, 8: 516.

Rodríguez, C. (2020). Intoxicación por tolueno. **Med. Leg**, 37 (2): 2-4.

Santana, M., Vásquez, V., Matheus, J., Aldao, R. (2002). Linamarase Expression in Cassava Cultivars with Roots of Low- and High-Cyanide Content. **Plant Physiol**, 129 (4): 1686–1694.

Selmar, D., Lienerei, R., Biehl B., Conn, E. E. (1989). Hydroxynitrile lyase in *Hevea brasiliensis* & significance for rapid cyanogenesis. **Physiology of plants**, 75: 97-101.

Sierra, I., Gómez, S., Pérez, D., Morante, S. (1999). **Análisis Instrumental**. España: netbiblo. pp. 45-51.

Skoog, D., Leary, J. (1994). **Análisis instrumental**. España: Editorial Mcgraw Hill. pp. 227.

Sunderman, F.W., y Kincaid, J.F. (2008) Toxicity studies of acetone cyanohydrin and ethylene cyanohydrin. **Arch Ind Hyg Occup Med**, 8 (4): 371-376.

Taylor, J., Roney, N., Harper, C., Fransen, M., Swarts, S. (2006). **Toxicological profile for cyanide**. Atlanta: Editorial ATSDR.

Torres, E., Aleaga, Y., Hermosilla, R., Ramos, M. (2002). Determinación de cianuro en harina y almidón de yuca (*Manihot esculenta*) de la variedad censa 64-7329. **Rev. Cubana Quím**, 34 (3): 1-15.

Tshala-Katumbay, D., Ngombe, N., Okitundu, D., David, L., Westaway, S., Boivin, M., Mumba, N., Banea, J. (2016). Cyanide and the human brain:

perspectives from a model of food (cassava) poisoning. ***Ann N Y Acad Sci***, 1378 (1): 50-57.

Vladimir-Zaninovic, M. (2003). Posible asociación de algunas enfermedades neurológicas con el consumo excesivo de la yuca mal procesada y de otros vegetales neurotóxicos. ***Colomb Med***. 34: 82-91.

Zhihong, X., Jiayang, L., Yongbiao, X., Weicai, Y. (2006). ***Biotechnology and Sustainable Agriculture 2006 and Beyond***. México. Mc Graw- Hill Interamericana.

www.bdigital.ula.ve