



木薯製品中總氫氰酸檢驗方法之建立

陳冠妤 張嫻楨 張美華 林汝青 高雅敏 曾素香 王德原

食品藥物管理署研究檢驗組

摘要

木薯又稱作樹薯，可作為木薯粉、木薯片等多種加工製品，是開發中國家重要之碳水化合物來源。木薯中含有亞麻苦苷(linamarin)，在加工過程可能被內生酵素水解產生丙酮氰醇(acetone cyanohydrin)，進一步產生氫氰酸(hydrocyanic acid)。此外，亞麻苦苷也可能經腸道細菌酵素或腸胃道酸鹼環境下水解生成氫氰酸。因此當人們食入因處理不完全而含有氫氰酸或亞麻苦苷殘留的食物時，皆有暴露於氫氰酸中毒的風險。衛生福利部公告之「食品中污染物質及毒素衛生標準」中訂有木薯粉與即食木薯片之總氫氰酸限量為10 mg/kg，本研究因應上述標準建立木薯製品中總氫氰酸之檢驗方法。取檢體添加亞麻苦苷酶於38°C作用4小時，透過蒸氣蒸餾以氫氧化鈉收集氫氰酸，以高效離子層析儀進行分析。確效部份，於空白木薯粉中分別添加相當於1、10及40 mg/kg氫氰酸之亞麻苦苷，其同日間總氫氰酸之平均回收率分別為94.7、97.2及90.7%，變異係數分別為1.9、1.3及1.1%，異日間添加回收之變異係數為3.2%，皆符合本署之食品化學檢驗方法之確效規範。本方法之定量極限為1 mg/kg。以所建立方法檢驗市售6件木薯粉，結果總氫氰酸皆未檢出；20件邊境與後市場抽驗木薯片檢體檢出之總氫氰酸含量介於6.6 - 104.5 mg/kg，計有18件超出法規限量，不合格均已移請相關權責單位進行後續處辦。

關鍵詞：總氫氰酸、木薯粉、即食木薯片、樹薯粉、樹薯片、離子層析

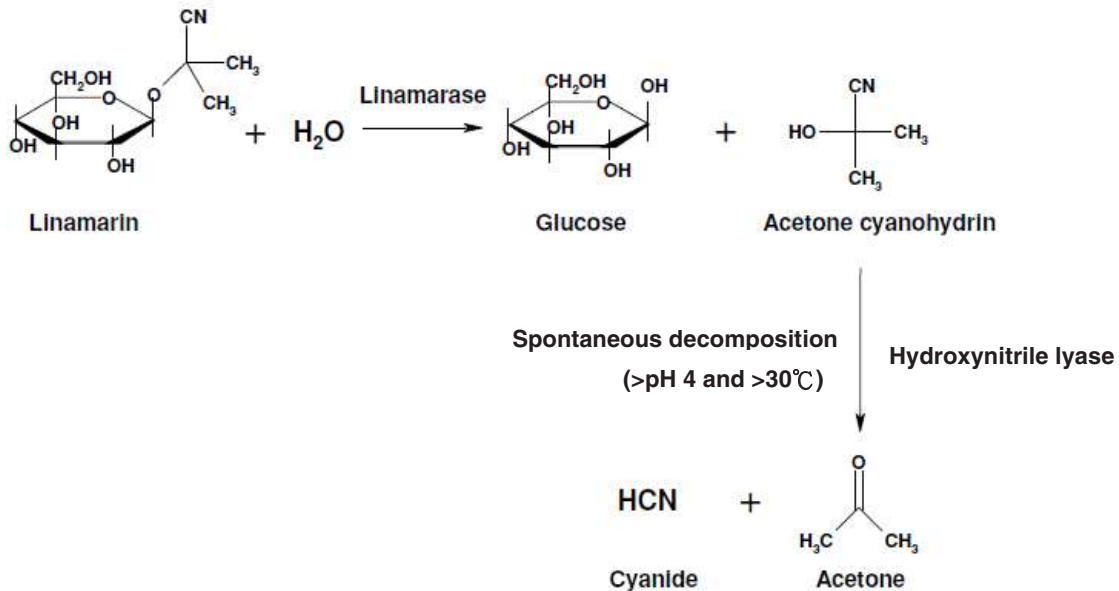
前言

一、木薯中氫氰酸介紹

氰糖苷(cyanogenic glycoside)為植物二級代謝產物，本身毒性低且穩定，一般位於植物液胞中。當植物組織被破壞時，會促使位於細胞壁之β葡萄糖苷酶和羥基裂解酶(hydroxynitrile lyase)與氰糖苷接觸反應，進而產生毒性物質氫氰酸(hydrocyanic acid)。此過程稱作產氰現象(cyanogenesis)如圖一。另外，氰糖苷也可能經腸道細菌酵素或腸胃道酸鹼環

境下分解生成氫氰酸，因此當人們食入加工不完全含有氫氰酸或氰糖苷殘留的食物，皆會使人們暴露於氫氰酸中毒的風險⁽¹⁾。氰化物中毒的症狀包含呼吸急促、頭痛頭暈、昏迷抽搐等，嚴重會死亡。此外，也有長期攝取氰糖苷而慢性中毒的案例，例如在非洲開發中國家的人們因長期食入處理不完全的木薯，造成神經失調的Konzo疾病⁽¹⁻²⁾。

超過2600種植物會產生氰糖苷，而木薯(*Manihot esculenta* Crantz, Cassava)是其中一種，並且因為是重要之經濟作物而備受重視⁽¹⁾。木薯又稱作樹薯，為許多開發中國家重要



(Modified from Julie A. Montagnac *et al.*, 2009)

圖一、亞麻苦苷之水解路徑

之碳水化合物來源，可以製成木薯粉(tapioca flour)、gari和木薯片等加工製品，而乾木薯可做為飼料來源⁽³⁾。新鮮木薯中氰糖苷約占總氫氰酸含量之70%，多數為亞麻苦苷(linamarin)與少數之百脈根苷(lotaustralin)，23%以丙酮氰醇(acetone cyanohydrin)存在，其餘6.8%以氫氰酸或氰離子存在⁽⁴⁾。1 g亞麻苦苷(分子量= 247)完全水解，理論上會產生109.3 mg氫氰酸(也等同於105.2 mg氰離子)。亞麻苦苷、丙酮氰醇及氫氰酸皆是含氰化合物，而食品中的氰化物含量多以水解後的氫氰酸表示⁽¹⁾。有效去除木薯中氰化物的方法包含碾碎、曝曬、發酵、烘乾或選擇種植低氰化物含量之木薯品種等，都是降低毒性危害的方式⁽⁵⁾。

二、木薯及其製品中氫氰酸法規

氫氰酸因其高毒性受到國際重視，國際組織與各國皆對木薯製品訂有相關規範。國際食品法典委員會(Codex Alimentarius Commission,

CAC)於CODEX STAN 238-2003中定義甜木薯為總氫氰酸含量小於50 mg/kg (鮮重計)，食用前須削皮並完全加熱⁽⁶⁾；CODEX STAN 193-1995訂定Gari最大限量為2 mg/kg (游離氫氰酸計)，木薯粉為10 mg/kg (總氫氰酸計)⁽⁷⁾；在CAC/RCP 73-2013並提出降低木薯與木薯製品中氫氰酸含量之操作守則⁽⁸⁾。澳洲紐西蘭食品標準法規(Food Standards Australia New Zealand Code)訂定多項食品中總氫氰酸含量限制，其中包含即食木薯片限量為10 mg/kg⁽⁹⁾。衛生福利部公告之「食品中污染物質及毒素衛生標準」中訂定木薯粉與即食木薯片總氫氰酸含量不得超過10 mg/kg，Gari(發酵木薯製品)之游離氫氰酸不得超過2 mg/kg⁽¹⁰⁾。

三、檢驗方法

Cooke (1978)將木薯中的含氰化合物分為兩類：(1)游離氫氰酸，即丙酮氰醇和氫氰酸等未與糖鍵結之化合物；(2)鍵結氫氰酸，是指包



含亞麻苦苷與百脈根苷之氰糖苷。而游離氫氰酸與鍵結氫氰酸之總和為「總氫氰酸」⁽¹¹⁾。國際間分析總氫氰酸之方法多元，基本皆先以酵素或酸水解亞麻苦苷，以氰離子定量後再換算成氫氰酸含量。

AOAC 915.03之方法採用豆子中內生酵素水解氰糖苷，經蒸氣蒸餾後以酸或鹼滴定定量⁽¹²⁾；日本檢測木薯粉之方法為外加酵素，搭配蒸氣蒸餾收集氰離子，與氰胺T反應進一步產生呈色物質，使用分光光度計進行定量⁽¹³⁾；中國GB 5009.36之方法適用於木薯粉，以蒸氣蒸餾搭配氰胺T呈色反應後以分光光度計定量，或水萃取物加酸釋出氫氰酸與氰胺T反應，以頂空注射進入氣相層析儀，搭配電子捕捉檢測器進行定量⁽¹⁴⁾。歐盟分析動物飼料中總氫氰酸之方法為外加酵素水解氰糖苷，搭配蒸氣蒸餾收集氫氰酸，經牛磺酸(taurine)和萘-2,3-二甲醯(2,3-naphthalenedicarboxaldehyde, NDA)衍生化後以HPLC搭配螢光偵測器檢測⁽¹⁵⁾。另外分析多種植物中總氫氰酸時，Cho等人⁽¹⁶⁾以酸水解各種氰糖苷，經蒸餾後以離子層析儀搭配電化學偵測器定量。

本研究目的為將木薯粉及木薯片中氰糖苷完全水解成氫氰酸，並避免水解過程氫氰酸溢散⁽¹⁷⁾及分析時受其他離子干擾，決定參考日本厚生勞動省⁽¹³⁾與Cho等人⁽¹⁶⁾之方法，於木薯製品中外添加酵素水解亞麻苦苷，經蒸餾收集氫氰酸後，直接以離子層析儀進行定量分析。

材料與方法

一、材料與試藥

(一)檢體來源

自行抽驗市售木薯粉6件及木薯片4件，為107年購自台北市之超市與商店，儲放於室溫備用。另協助區管後市場監測與邊境抽驗木薯片共16件。

(二)溶劑與標準品

1. 氰離子標準品(1000 µg/mL) (Merck, Germany)
2. 亞麻苦苷(98.6%) (Sigma-Aldrich, USA)
3. 亞麻苦苷酶(100 U) (Wako, Japan)
4. 單水檸檬酸為試藥級，乙二胺為合成級 (Merck, Germany)
5. 50%氫氧化鈉溶液，氫氧化鈉為試藥等級，醋酸鈉為試藥特級(Sigma-Aldrich, USA)

(三)試藥調製

1. 檸檬酸緩衝溶液
稱取單水檸檬酸128.1 g及氫氧化鈉64.4 g，以去離子水溶解使成1000 mL。使用時以去離子水10倍稀釋，並以0.1 M檸檬酸溶液或0.5 N氫氧化鈉溶液調整pH值至5.9。
2. 亞麻苦苷溶液
取亞麻苦苷對照物質約10 mg，精確稱定，以檸檬酸緩衝溶液溶解使成10 mL，於4°C避光貯存備用。
3. 亞麻苦苷酶溶液
精確稱取亞麻苦苷酶100 unit，以檸檬酸緩衝溶液溶解使成25 mL，於4°C避光貯存備用。
4. 0.1 N氫氧化鈉溶液
稱取氫氧化鈉0.4 g，以去離子水溶解使成100 mL。
5. 0.625 N氫氧化鈉溶液
稱取氫氧化鈉25 g，以去離子水溶解使成1000 mL。
6. 移動相溶液(0.5 M醋酸鈉/0.1 M氫氧化鈉/0.5%乙二胺)
稱取醋酸鈉41 g以去離子水溶解，加入50%氫氧化鈉溶液5.33 mL及乙二胺5 mL，加去離子水使成1 L。

二、儀器設備

(一)高效離子層析儀，含脈衝式電化學檢

出器(Dionex ICS-5000⁺, Thermo Fisher Scientific, USA)

(二)層析管柱(IonPac[®] AS7, 4 mm × 25 cm, Thermo Fisher Scientific, USA)；保護管柱(IonPac[®] AG7, 4 mm × 5 cm, Thermo Fisher Scientific, USA)

(三)去離子水製造機(Millipore milli-Q, Millipore, USA)

(四)研磨機(Tube Mill control, IKA, Germany)

(五)旋渦混合器(Vortex-Genie 2 mixer, Scientific Industries, USA)

(六)水浴槽(Reciprocal shaking bath SB301, 雙鷹企業有限公司, Taiwan)

(七)蒸氣蒸餾設備(BÜCHI Distillation Unit B-324, BÜCHI Labortechnik, Switzerland)

三、檢液之調製

將檢體均質混勻後，取約2.5 g，精確稱定，置於蒸餾瓶中，加入檸檬酸緩衝溶液50 mL，旋渦混合，加入亞麻苦苷酶溶液1 mL，以軟塞塞緊蒸餾瓶，旋渦混合，於38°C水浴以150 rpm振搖4小時。接續進行水蒸氣蒸餾，其冷凝管末端須浸入已盛有0.625 N氫氧化鈉溶液10 mL之100 mL容量瓶液面下，以每分鐘約20 mL之速度收集蒸餾液約達80 mL，停止蒸餾，以去離子水定容，經濾膜過濾後，供作檢液。

四、標準曲線之製作

以0.1 N氫氧化鈉稀釋氰離子標準品至5 µg/mL，精確量取5 µg/mL氰離子標準溶液5 - 200 µL，以0.1 N氫氧化鈉溶液定容至1 mL，混合均勻，供作標準溶液。精確量取標準溶液各25 µL，分別注入高效離子層析儀中，依第八節條件進行分析，就氰離子之波峰面積與對應之濃度，製作0.025 - 1 µg/mL之標準曲線。

五、儀器參數之設定

(一)層析條件

1. 管柱溫度：30°C
2. 移動相溶液：0.5 M醋酸鈉/0.1 M氫氧化鈉/0.5%乙二胺
3. 流速：1 mL/min，等梯度沖提
4. 注入量：25 µL

(二)電化學偵測器條件

1. 偵測器溫度：30°C
2. 工作電極：銀電極
3. 參考電極：銀/氯化銀電極
4. 脈衝安培偵測模式波形(waveform)參數，如表一

表一、波形參數

No	Time (s)	Voltage (V)	Gain Region	Integration	Ramp
1	0	-0.1	off	off	on
2	0.2	-0.1	on	on	on
3	0.9	-0.1	off	off	on
4	0.91	-1	off	off	on
5	0.93	-0.3	off	off	on
6	1	-0.3	off	off	on

六、鑑別試驗及含量測定

精確量取檢液及標準溶液各25 µL，分別注入高效離子層析儀中，依上述條件進行分析，就檢液與標準溶液所得波峰之滯留時間鑑別之，並依下列計算式求出檢體中總氫氰酸之含量(mg/kg)：

$$\text{檢體中總氫氰酸之含量(mg/kg)} = \frac{C \times V \times 1.0387}{M}$$

C：由標準曲線求得檢液中氰離子之濃度(µg/mL)。

V：檢體最後定容之體積(mL)。

M：取樣分析檢體之重量(g)。

1.0387：氰離子與氫氰酸之轉換係數。

七、添加回收試驗

於空白檢體木薯粉中分別添加相當於含氫氰酸量1、10及40 mg/kg亞麻苦苣，每種濃度進行5重複，依前述檢驗步驟分析。計算5重複試驗之平均回收率及變異係數(coefficient of variation, CV)，評估本方法之準確度及精密度。

回收率計算方式如下：

$$\text{回收率} = \frac{C_c}{C_a \times F} \times 100$$

C_c ：添加回收檢體中氫氰酸之含量(μg)

C_a ：檢體中添加之亞麻苦苣含量(μg)

F ：亞麻苦苣(MW 247.248)與氫氰酸(MW 27.03)之轉換係數， $F=0.1093$ (計算式為 $27.03/247.248$)

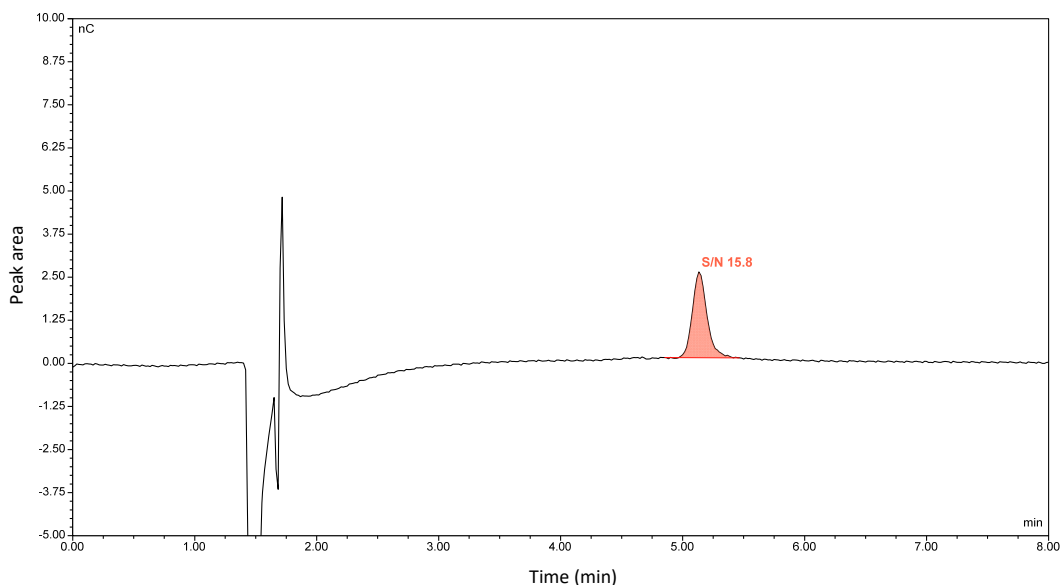
八、定量極限之評估

含有已知量之最低濃度檢體，經處理分析後，層析圖譜中待測物波峰之訊雜比 ≥ 10 ，且回收率和重複性符合「食品化學檢驗方法之確效規範」⁽¹⁸⁾要求。

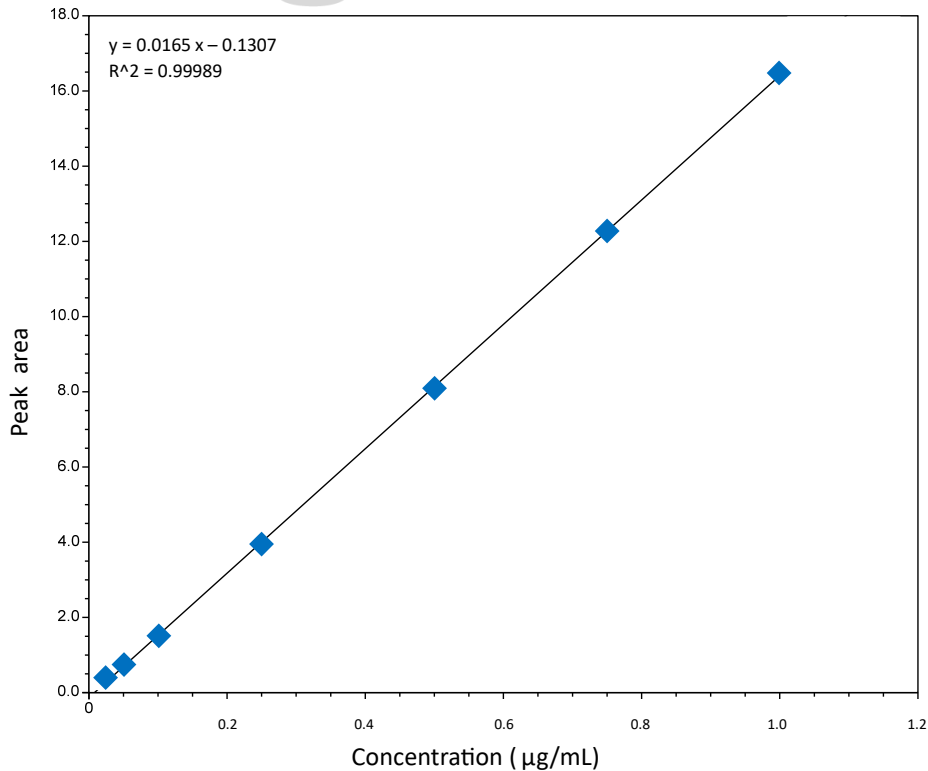
結果與討論

一、定量方法

首先參考日本厚生勞動省之方法⁽¹³⁾，並調整檢液與磷酸緩衝液比例，使pH值介於7 - 8利於氯化氫之形成。取蒸餾液加入磷酸緩衝溶液、氰胺T與4-吡啶酸-吡唑啉酮(4-pyridinecarboxylic acid-pyrazolone)溶液，混合後40°C反應40分鐘，形成紫色產物並於640 nm下測定吸光值。因為是以吸光值測定，檢液必須為澄清無色，否則影響呈色定量，且此方法易受硫化物與氰胺T反應之干擾影響，另外欲提高偵測之靈敏度須使用2或5公分以上之比色管。為避免分析受到干擾與增加檢測之靈敏度，改使用高效離子層析搭配電化學偵測器定量。參考Cho等人(2013)之層析條件⁽¹⁶⁾，以0.5 M醋酸鈉/0.1 M氫氧化鈉/0.5%乙二胺為移動相，氫離子滯留時間約5.13分鐘，如圖二，波峰對稱性良好。以高效離子層析法分析樣品時間短，以此條件配製檢量線有良好線性關



圖二、空白木薯粉中添加亞麻苦苣於定量極限(1 mg/kg HCN equ.)之氫離子層析圖



圖三、氰離子之標準曲線

係， R^2 大於0.999 (圖三)，靈敏度較高且不易受其他離子干擾，對實驗操作者效益高，故後續採用高效離子層析儀進行氰離子之分析。

二、樣品前處理

(-)蒸氣蒸餾條件

本研究使用氮素蒸餾器進行蒸氣蒸餾，初步以氰離子標準溶液進行蒸氣蒸餾條件測試。於檸檬酸緩衝溶液50 mL添加氰離子標準品50 µg，測試不同蒸餾速率對氫氰酸回收之影響，蒸餾速率設定為20、15、10及5 mL/min，回收率分別是91.2、90.8、88.1及82.9%，即回收率隨蒸餾速率減少而降低，故選擇速率較快之蒸餾速率20 mL/min。本試驗結果與文獻建議之以2-3 mL/min速率蒸餾不同，推測可能與使

用之蒸餾設備不同有關⁽²⁰⁾。接著測試收集液之效力是否足夠穩定氫氰酸，將空白檢體與空白檢體添加氰離子標準品100 µg分別經蒸餾，以0.625 N氫氧化鈉溶液10 mL收集蒸餾液後並定容至100 mL，測量兩者之pH值皆為12.85。因含有氫氰酸之蒸餾液其pH值無顯著下降，且添加回收之重複性佳(變異係數為0.8%，如表二)，故推測0.625 N氫氧化鈉溶液10 mL足夠捕捉氫氰酸。於空白檢體2.5 g中分別添加氰離子標準品2.5、25及50 µg，續加入檸檬酸緩衝溶液50 mL，以蒸餾速率20 mL/min進行蒸餾，收集液為0.625 N氫氧化鈉溶液10 mL，收集蒸餾液約80 mL，以去離子水定容至100 mL後上機。結果如表二，平均回

收率介於89.1 - 99.1%，變異係數介於0.8 - 3.9%，符合食品化學檢驗方法之確效規範，故以此作為蒸餾條件。

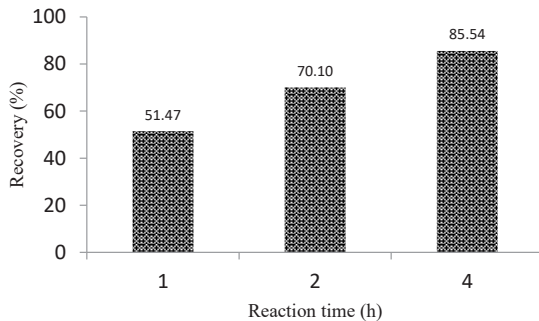
表二、空白木薯粉中添加氫離子標準品之回收試驗結果

Sample (g)	Spiked level (mg/kg)	Recovery ^a (%)	CV (%)
2.5	1	99.1	3.9
	10	89.2	2.8
	20	89.1	1.1
	40	90.4	0.8

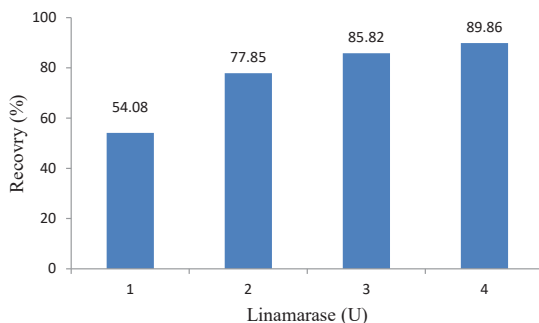
^an=3.

(二) 酵素水解之條件

宇田裕等人進行氫氰酸研究時發現不同氫



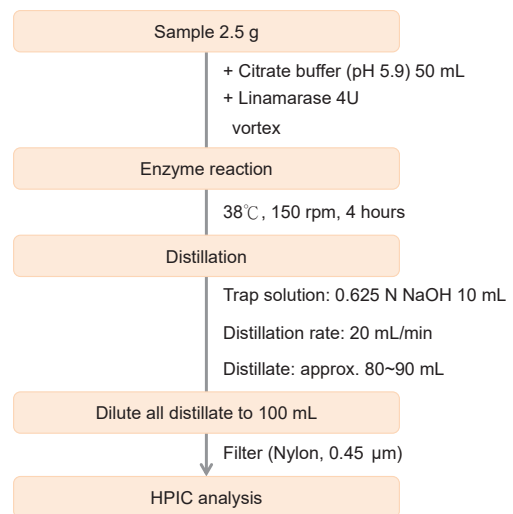
圖四、空白木薯粉中添加亞麻苦苷及亞麻苦苷酶反應不同時間後之總氫氰酸回收率



圖五、空白木薯粉中添加亞麻苦苷經不同酵素添加量反應4小時後之總氫氰酸回收率

糖苷之水解酵素有高度專一性，如：苦杏仁來源之 β -葡萄糖苷酶，對亞麻苦苷水解能力低⁽²¹⁾，故本試驗皆使用亞麻苦苷酶做為水解氫糖苷之酵素。

於木薯粉中添加相當於含氫氰酸量1 mg/kg之亞麻苦苷但不添加亞麻苦苷酶，經流程後其氫氰酸含量為0，顯示木薯製品中亞麻苦苷酶之酵素活性低，需額外添加酵素才能將亞麻苦苷完全水解，故參考Abe等人(2014)酵素水解之條件⁽¹⁹⁾。於空白檢體木薯粉2.5 g中添加相當於含氫氰酸量100 μ g之亞麻苦苷、檸檬酸緩衝溶液50 mL及亞麻苦苷酶3 U，分別反應1、2及4小時，結果如圖四，酵素需反應4小時方有較佳之回收率。酵素添加量試驗部分，分別加入亞麻苦苷酶1、2、3和4 U，於38°C反應4小時後蒸餾、定量上機，結果如圖五，隨酵素添加量增加回收率有提升，且以亞麻苦苷酶4 U反應4小時者反應最完全。故選擇加入亞麻苦苷酶4 U於38°C反應4小時的條件進行後續確效試驗，統整檢驗方法流程如圖六所示。未添



圖六、木薯製品中總氫氰酸檢驗方法之分析流程

Angle

加基質與亞麻苦苣之流程空白試驗，經分析後未出現氫離子波峰，顯示流程中未受試劑干擾。

三、確效試驗

取空白檢體(木薯粉)進行添加回收試驗，評估本方法之適用性，結果如表三所示。空白檢體木薯粉中添加相當於含氫氰酸量1、10及40 mg/kg之亞麻苦苣各5重複，其平均回收率分別為94.7、97.2及90.7%，變異係數為1.9、1.3及1.1%；中間精密度部分，在不同分析日期，於空白檢體中添加相當於含氫氰酸量1 mg/kg之亞麻苦苣5重複，其變異係數為3.2%。以上各項試驗均符合本署食品化學檢驗方法之確效規範。於空白檢體中添加相當於含氫氰酸量1 mg/kg之亞麻苦苣以進行LOQ之評估，其平均回收率與變異係數結果如表二，層析圖之訊噪比大於10 (如圖二)，故本方法之LOQ訂為1 mg/kg。

表三、空白木薯粉中添加亞麻苦苣之回收試驗結果

Compound	Spiked level (HCN equ. mg/kg)	Recovery (%)	CV (%)	
Linamarin	1	94.7	1.9	
	Intra-day precision ^a	10	97.2	1.3
		40	90.7	1.1
	Inter-day precision ^b	1	97.3	3.2

^an=5.

^bn=10.

四4、檢體檢測結果

以本研究所建立方法檢驗自行抽驗之市售木薯粉6件及即食木薯片4件，結果6件木薯粉檢體皆未檢出氫氰酸，4件木薯片檢體之總氫氰酸含量介於73.6 - 101.9 mg/kg，超過「食品中污染物質及毒素衛生標準」中木薯片中總氫

氰酸10 mg/kg之法規限量。Mile等人於2008年抽驗澳洲374件即食木薯片，其中317件檢出氫氰酸13 - 165 mg/kg。澳洲即食木薯片多自印尼進口混合木薯粉與新鮮木薯之半成品木薯顆粒，再於澳洲油炸包裝後販售。抽驗木薯顆粒半成品含有氫氰酸N.D. - 237 mg/kg，推測可能原料中氫氰酸含量就很高，導致市售即食木薯片之氫氰酸含量高於法規限量⁽³⁾。本方法於108年10月7日公開後，亦協助本署區管中心進行木薯片之後市場監測與邊境管理，16件木薯片其總氫氰酸含量介於6.6 - 104.5 mg/kg。不合格檢體均已移請相關權責單位進行後續處辦。

結 論

本研究因應衛生福利部公告之「食品中污染物質及毒素衛生標準」，建立以酵素水解搭配離子層析儀分析木薯製品中總氫氰酸之方法。於空白檢體中添加相當於含氫氰酸量1、10及40 mg/kg之亞麻苦苣，經流程定量氫離子含量後換算氫氰酸含量，其總氫氰酸平均回收率介於90.7 - 97.2%，變異係數介於1.1 - 1.9%，異日間添加回收之變異係數為3.2%，皆符合本署食品化學檢驗方法之確效規範。本方法之定量極限為1 mg/kg，抽樣市售6件木薯粉皆未檢出，20件木薯片之總氫氰酸含量介於6.6 - 104.5 mg/kg。本研究結果可供各界作為管理與監測依據，協助食品業者檢視原料、成品是否符合規範，以修正生產製程產出安全衛生之產品。

參考文獻

1. FAO/WHO. 2012. Safety evaluation of certain food additives and contaminants. The seventy-fourth meeting of the joint FAO/WHO expert committee on food additives (JECFA). WHO Food Addit. Ser. 65: 171-323.



2. 江宏哲、林立偉、楊文欽等。2017。食品中植物性天然毒素技術報告。[<https://bit.ly/3dPbi41>]。
3. Miles, D., Jansson, E., Mai, M. C. and *et al.* 2011. A survey of total hydrocyanic acid content in ready-to-eat cassava-based chips obtained in the Australian market in 2008. *J. Food Prot.* 74(6): 980-985.
4. Hidayat, A., Zuaraida, N., Hanarida, I. and *et al.* 2000. Cyanogenic content of cassava root of 179 cultivars grown in Indonesia. *J. Food Compos. Anal.* 13(1): 71-82.
5. Montagnac, J. A., Davis, C. R. and Tanumihardjo, S. A. 2009. Processing techniques to reduce toxicity and antinutrients of cassava for use as a staple food. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 8(1): 17-27.
6. Codex Alimentarius Commission. 2013. Codex Standard for Sweet Cassava. Codex Standard 238-2003. Food and Agriculture Organization and World Health Organization of the United Nations. Rome, Italy. [<https://bit.ly/2NNk1ZZ>].
7. Codex Alimentarius Commission. 2018. General standard for contaminants and toxins in food and feed. Codex Standard 193-1995. Food and Agriculture Organization and World Health Organization of the United Nations. Rome, Italy. [<https://bit.ly/3dLMvvh>].
8. Codex Alimentarius Commission. 2013. Code of practice for the reduction of hydrocyanic acid (HCN) in cassava and cassava products. CAC/RCP 73-2013. Food and Agriculture Organization and World Health Organization of the United Nations. Rome, Italy. [<https://bit.ly/2VDvGz4>].
9. FSANZ, Food Standard Australia New Zealand. 2017. Code schedule 19 maximum levels of contaminants and natural toxicants. Wellington, New Zealand. [<https://www.legislation.gov.au/Details/F2015L00454>].
10. 衛生福利部。2018。食品中污染物質及毒素衛生標準。107.05.08衛授食字第1071300778號令。
11. Cooke, R. D. 1978. An enzymatic assay for the total cyanide content of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *J. Sci. Food Agric.* 29(4): 345-352.
12. AOAC. 2000. Method 935.14 and 992.24. Official method of Analysis. 18th Edition, Association of Officiating Analytical Chemists, Washington DC, USA.
13. 厚生労働省。2017。シアン化合物が検出されたタピオカでん粉の取扱いについて。平成14年11月21日食基発第1121001号及び食監発第1121001号。 [<https://www.pref.nagasaki.jp/shared/uploads/2017/12/1513920681.pdf>]。
14. 國家食品藥品監督管理總局。2016。食品中氰化物的測定。GB 5009. 36-2016。 [<https://bit.ly/2NU4Aix>]。
15. Beek, W. M. J. and de Jong, J. 2011. Animal feedingstuffs - determination of hydrocyanic acid by HPLC: results of the collaborative study: mandate 382 to CEN/TC 327 (No. 2011.001). RIKILT. [<https://edepot.wur.nl/181376>].
16. Cho, H. J., Do, B. K., Shim, S. M. and *et al.* 2013. Determination of cyanogenic compounds in edible plants by ion chromatography. *Toxicol. Res.* 29(2): 143-147.
17. Haque, M. R. and Bradbury, J. H. 2002. Total cyanide determination of plants and foods using the picrate and acid hydrolysis methods. *Food Chem.* 77(1): 107-114.

18. 衛生福利部食品藥物管理署。2013。食品化學檢驗方法之確效規範。102年9月9日第二次修正。
[<http://www.fda.gov.tw/tc/includes/GetFile.ashx?mid=133&id=10975&t=s>]。
19. Abe, N., Kasuga, S., Okabe, M. and *et al.* 2014. Single laboratory method validation for cyanide in beans with insufficient levels of β -glucosidase activity. *Qual. Assur. Saf. Crop. Foods* 7(4): 501-507.
20. Tsutsumi, T., Ishii, R. and Matsuda, R. 2013. Evaluation of an analytical method for cyanogenic compounds in bean paste and its application for surveillance of real samples. *J. Food Hyg. Soc. Jpn.* 54(4): 345-350.
21. 宇田裕、伊藤智子和冠政光等人。1984。酵素法によるシアン配糖体の分析 (第1報) β -グルコシダーゼによるシアン配糖体の加水分解。衛生化学，30(5): 290-294.



Investigation of Test Method for Total Hydrocyanic Acid in Cassava Products

KUAN-YU CHEN, HSIEN-CHEN CHANG, MEI-HUA CHANG,
NU-CHING LIN, YA-MIN KAO, SU-HSIANG TSENG
AND DER-YUAN WANG

Division of Research and Analysis, TFDA

ABSTRACT

Cassava root is an important source of carbohydrates for developing countries. It is not only used as staple food, but also processed into tapioca flour, cassava chips, gari, and so on. Linamarin is a cyanogenic glucoside in cassava. Linamarin may be hydrolyzed by endoenzyme of cassava, and then releases toxic hydrocyanic acid (HCN) during processing. Besides, linamarin can be also hydrolyzed by gut flora enzymes or alkaline /acid environment in the gastrointestinal tract in the human body. Therefore, people are under the risk of cyanide poisoning if consume not fully processed cassava products. Based on the maximum allowed level of total HCN for tapioca starch and ready to eat tapioca chips in “Sanitation Standard for Contaminants and Toxins in Food” set by the Ministry of Health and Welfare, Taiwan, this research aims at developing a method to determine the total HCN in cassava products. Besides, a surveillance study was conducted for tapioca starch and ready-to-eat tapioca chips. For sample preparation, the hydrolysis process started from the addition of linamarase into a sample, and then cultivated at 38°C for 4 hours. After steam distillation, HCN was collected in sodium hydroxide, the cyanide in the distillate was determined by ion chromatography coupled with an electrochemical detector. The LOQ of total HCN for this method was assigned to 1 mg/kg. A recovery study for total HCN was conducted by spiking linamarin at the levels of 1, 10 and 40 mg/kg (HCN equ.) to blank tapioca starch samples. The average recoveries were 94.7, 97.2 and 90.7%, respectively, and the coefficients of variation (CV) in repeatability and intermediate precision were 1.1-1.9% and 3.2%, respectively. This method was applied to a market survey. Total HCN in 6 tapioca starch samples were not detected. However, the total HCN in 18 out of 20 ready-to-eat tapioca chip samples were between 6.6 and 104.5 mg/kg. The 18 unconformity products had reported to relative authorities for further administration.

Key words: total hydrocyanic acid, tapioca starch, ready-to-eat tapioca chips, ion chromatography