

枇杷種子中總氫氰酸檢驗方法之探討

劉師維 沈盈如 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

枇杷種子含有苦杏仁苷(Amygdalin)，其經酵素或酸的作用會反應生成具毒性的氫氰酸。因應日本國民生活中心發布由枇杷種子製成，宣稱具抗腫瘤功效之保健茶產品檢出高量氫氰酸之訊息，本研究參考衛生福利部食品藥物管理署(以下稱食藥署)公開之「木薯製品中總氫氰酸之檢驗方法」進行枇杷種子中氫氰酸之檢驗方法開發。由於枇杷種子中之氰糖苷為苦杏仁苷，故以 β -葡萄糖苷酶(β -Glucosidase from almonds)取代亞麻苦苷酶進行水解，針對酵素水解條件中pH值、反應溫度、作用時間及酵素作用量等4個方向進行探討。本研究取均質樣品0.5 g，添加10 U之 β -葡萄糖苷酶於pH值6.6進行水解(38°C作用4小時)，水解後經蒸餾收集氫氰酸，再以離子層析儀分析。以所建立之方法執行添加回收測試，於枇杷種子粉中分別添加相當於100及200 mg/kg 氫氰酸之苦杏仁苷，其總氫氰酸之平均回收率介於78.4-86.4%，變異係數介於0.38-3.65%。檢驗市售2件含枇杷種子之茶包，總氫氰酸含量分別為119.6 mg/kg及80.6 mg/kg，本研究提供枇杷種子中總氫氰酸檢驗之流程架構，未來進行總氫氰酸相關檢驗方法精進時，可朝多重酵素反應之最適pH值或減少反應過程中的起泡反應進行探討以擴增檢驗方法適用性。

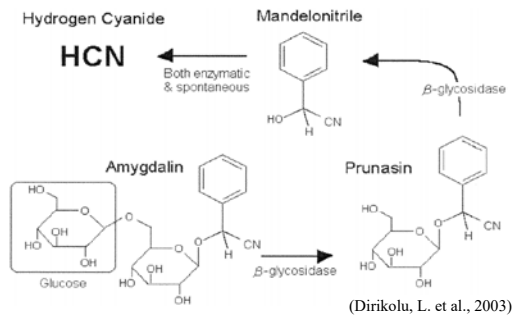
關鍵詞：總氫氰酸、枇杷種子、 β -葡萄糖苷酶、離子層析

前言

一、氫氰酸介紹

氰糖苷是植物的次級代謝產物，由碳原子周圍鍵結一個氰離子及兩個官能基，並於官能基上以 β -糖苷鍵鍵結一個單糖(Glucose)或雙糖(Gentiobiose)的糖基。在天然植物或是相關植物性的食品中約有25種氰糖苷化合物已被識別⁽¹⁾。而最常見的苦杏仁苷(Amygdalin)則存在於薔薇科(*Rosaceae*)植物的種子中，像是苦杏仁、蘋果、枇杷及桃等⁽²⁾。苦杏仁苷由龍膽二糖(Gentiobiose)與扁桃腈(Mandelonitrile)鍵結而

成，本身不具毒性，但當植物因損傷或咀嚼等造成組織破壞而導致酵素作用於苦杏仁苷後即會生成有毒物質-氫氰酸(HCN)⁽³⁾。作用反應如圖一⁽⁴⁾所示，當酵素於弱酸性環境下作用，苦杏仁苷水解成扁桃腈，其於鹼性溶液中進一步水解成苯甲醛(Benzaldehyde)及氫氰酸。氫氰酸具急性毒性，可抑制細胞呼吸鏈作用，造成細胞中毒性缺氧，毒性強度取決於攝入量、氫氰酸形成的濃度以及個體解毒能力，可產生呼吸急促、血壓下降、頭痛、嘔吐、腹瀉及皮膚因血氧不足而呈現紫紺等症狀，嚴重則可能昏迷或死亡⁽⁵⁾。



圖一、苦杏仁苷之水解路徑

二、氫氰酸相關規範

因氫氰酸屬高風險污染物，日本厚生勞動省於《食品衛生法》第6條中規定食品(亞麻籽，杏籽，李子籽，苦杏仁，木薯葉，琵琶種子)中氫氰酸濃度限量為10 mg/kg⁽⁶⁾。我國衛生福利部公告之「食品中污染物質及毒素衛生標準」⁽⁷⁾則規定木薯粉及即食木薯片中總氫氰酸含量不得超過10 mg/kg，而Gari(發酵木薯製品)之游離氫氰酸不得超過2 mg/kg。

三、研究目的

氫氰酸因毒性高而受重視，日前日本國民生活中心發布有關部分枇杷種子製成之保健茶產品含氫氰酸之消保資訊，為因應相關檢驗需求，本研究擬參考食藥署公開之「木薯製品中總氫氰酸之檢驗方法」⁽⁸⁾，探討最適的前處理條件，以建立枇杷種子中總氫氰酸之檢驗方法。

材料與方法

一、試驗樣品

市售日本進口枇杷種子保健茶2件及中藥房購得之枇杷種子粉，儲放於室溫備用。

二、試藥、溶劑與標準品

β -葡萄糖苷酶(β -Glucosidase from almonds,

17.46 U/mg)，購自美國Sigma-Aldrich公司(Saint Louis, MO, USA)。單水檸檬酸、磷酸二氫鉀、磷酸氫二鉀為試藥級，乙二胺為合成級，皆購自德國Merck公司(Darmstadt, Germany)。50%氫氧化鈉溶液、氫氧化鈉皆為試藥等級，醋酸鈉為試藥特級，皆購自美國Sigma-Aldrich公司。氰離子標準品(Cyanide standard solution, 1000 μ g/mL)購自德國Merck公司。苦杏仁苷(amygdalin)購自美國Sigma-Aldrich公司。

三、儀器與設備

- (一)去離子水製造機(Millipore milli-Q, Millipore, USA)。
- (二)研磨機(Tube Mill control, IKA, Germany)。
- (三)旋渦混合器(Vortex Genie-2, Scientific Industries, USA)。
- (四)水浴槽(Reciprocal shaking bath SB301, 雙鷹企業有限公司, 臺灣)。
- (五)蒸氣蒸餾設備(BÜCHI Distillation Unit B-324, BÜCHI, Switzerland)。
- (六)高效離子層析儀(Dionex ICS-5000⁺, Thermo Fisher Scientific, USA)。

四、試劑之調製

(一)苦杏仁苷溶液

取苦杏仁苷對照用標準品約10 mg，精確稱定，以磷酸二氫鉀/磷酸氫二鉀緩衝溶液溶解使成10 mL，於4°C避光貯存備用。

(二) β -葡萄糖苷酶溶液(β -Glucosidase from almonds)

精確稱取 β -Glucosidase 5.73 mg (17.46 U/mg)，以磷酸二氫鉀/磷酸氫二鉀緩衝溶液溶解使成10 mL，於4°C避光貯存備用。

(三)磷酸二氫鉀/磷酸氫二鉀緩衝溶液

稱取磷酸氫二鉀6.568 g及磷酸二氫鉀8.477 g，以去離子水溶解使成1000 mL。

以0.1 M磷酸二氫鉀溶液或0.1 N氫氧化鈉溶液調整 pH值至6.6。

(四)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。

(五)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。

(六)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。

五、檢液之調製

將檢體均質混勻後，取約0.5 g，精確稱定，置於蒸餾瓶中，加入磷酸二氫鉀/磷酸二鉀緩衝溶液50 mL，旋渦混合，加入β-葡萄糖苷酶(β-Glucosidase from almonds)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，以去離子水定容至100 mL，經濾膜過濾後，以0.0625N氫氧化鈉溶液稀釋兩倍後，供作檢液。

六、標準曲線之製作

以0.0625 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0.0625 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，依第七節條件進行分析，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。

七、高效離子層析儀分析條件

(一)層析條件

1. 層析管柱：Dionex IonPac® AS7，內徑4 mm × 25 cm。
2. 保護管柱：Dionex IonPac® AG7，內徑4 mm × 5 cm。
3. 管柱溫度：30° C。
4. 偵測器溫度：30° C。
5. 移動相溶液：0.5 M醋酸鈉/0.1 M氫氧化鈉/0.5%乙二胺。
6. 流速：1 mL/min，等梯度沖提。
7. 注入量：25 µL。

(二)電化學偵測器條件

1. 工作電極：銀電極。
2. 參考電極：銀/氯化銀電極。
3. 脈衝安培偵測模式Waveform：如表一

表一、電化學偵測器脈衝安培偵測模式

Time (s)	Voltage (V)	Gain Region
0	-0.1	off
0.2	-0.1	on
0.9	-0.1	off
0.91	-1	off
0.93	-0.3	off
1	-0.3	off

八、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)：

檢體中總氫氰酸之含量(mg/kg) =

$$\frac{C \times V \times 1.0387 \times 2}{M}$$

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)。

1.0387：氰離子與氫氰酸之轉換係數。

M：取樣分析檢體之重量(g)。

Ca：檢體中添加之苦杏仁苷含量(μg)。

F：苦杏仁苷與氫氰酸之轉換係數，
F=0.059。

九、方法確效

參照食藥署公開之「食品化學檢驗方法之確效規範」⁽⁹⁾進行確效試驗，評估本研究建立分析方法之準確度(Accuracy)、精密度(Precision)、中間精密度(Intermediate precision)。

(一)添加回收試驗

根據Tanaka等人(2020)研究⁽¹⁰⁾，12件日本市售枇杷種子製品中總氫氰酸含量僅2件低於100 mg/kg (分別為14及70 mg/kg)，其餘則高於100 mg/kg以上(介於120-1000 mg/kg)，如表二。考量枇杷種子中氫氰酸含量，於檢體中添加相當於含氫氰酸量100及200 mg/kg之苦杏仁苷各5及3重複，並執行同日、異日實驗。計算各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。

表二、日本市售枇杷種子相關產品總氫氰酸含量

檢體	總氫氰酸含量 (mg/kg)	檢體	總氫氰酸含量 (mg/kg)
A	1000	G	830
B	130	H	150
C	590	I	120
D	14	J	70
E	550	K	660
F	690	L	150

(Tanaka, T. et al. 2020)

(二)準確度及精密度試驗

1. 準確度

添加回收率計算方式：

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

Cc：添加回收檢體氫氰酸之回收含量(μg)。

2. 精密度

本研究檢體所含氫氰酸濃度對應「食品化學檢驗方法之確效規範」⁽⁹⁾之重複性(Repeatability)及中間精密度之變異係數規範如表三。

表三、重複性及中間精密度之變異係數(CV, %)規範

濃度範圍(ppm)	變異係數(CV, %)	
	重複性	中間精密度
≥ 1	10	14

變異係數計算方式：

$$\text{變異係數}(\%) = \frac{\text{標準偏差}}{\text{平均值}} \times 100$$

十、統計分析

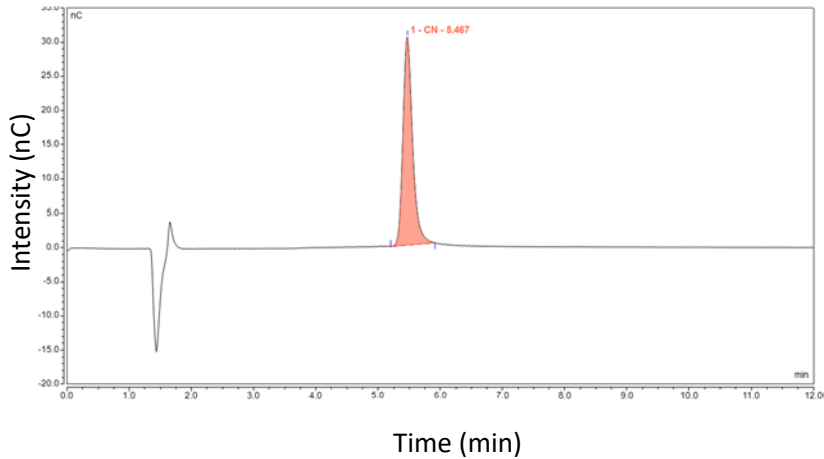
平均值(Mean)、標準偏差(Standard deviation)及CV %等數值以Microsoft Excel 2010軟體進行計算；線性迴歸及決定係數(Coefficient of determination, r^2)則由Thermo Scientific Chromeleon 7.2 SR 9數據分析軟體運算。

結果與討論

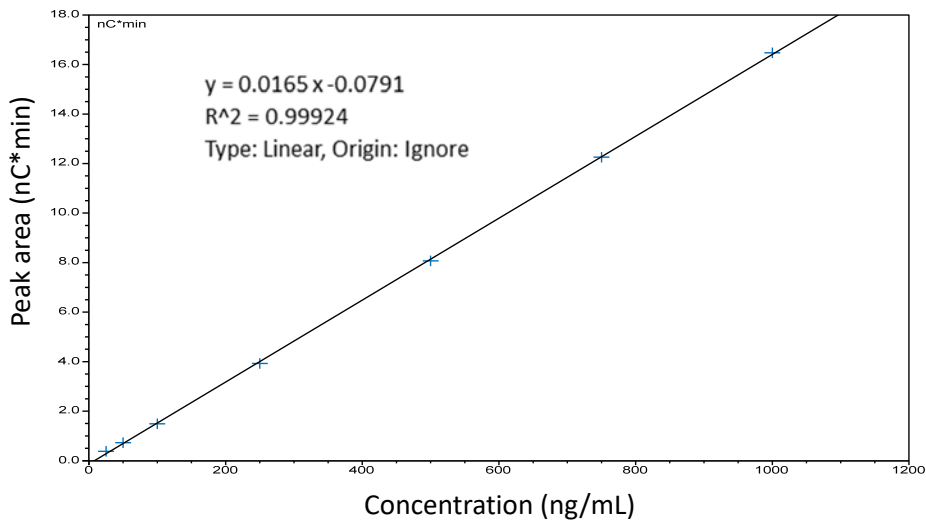
一、分析方法

依「木薯製品中總氫氰酸之檢驗方法」⁽⁷⁾以0.5 M醋酸鈉/0.1 M氫氧化鈉添加0.5%乙二胺作為移動相，搭配高效離子層析及電化學偵測器進行分析。高效離子層析法分析樣品時間短，氰離子滯留時間約為5.47分鐘(圖二)，以此條件配製之氰離子檢量線線性良好(R^2 大於0.999)(圖三)、靈敏度較高且不易受其他離子干擾(銀電極偵測氰離子時不會受到過渡金屬的干擾)，故沿用此條件進行後續的分析。

二、樣品前處理



圖二、氰離子標準溶液於0.5 M NaAc / 0.1 M NaOH / 0.5 %EDA移動相中之離子層析圖(0.5 µg/mL)



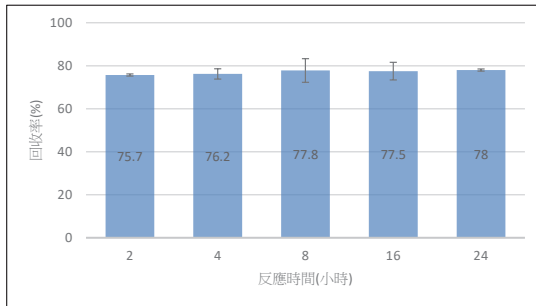
圖三、氰離子標準品之標準曲線

(-) 酵素水解條件探討

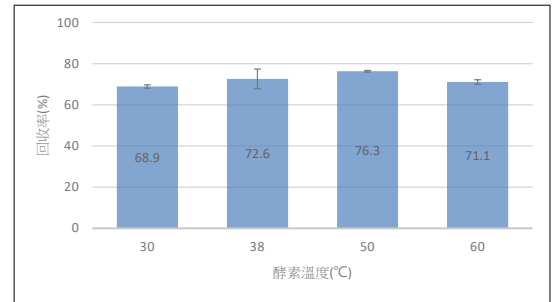
本研究先參考「木薯製品中總氫氰酸之檢驗方法」⁽⁷⁾之條件進行測試，添加相當於氫氰酸 10 µg/mL 之苦杏仁苷標準品於 pH 值 5.9 檸檬酸緩衝溶液中，以 β-葡萄糖苷酶 4 U 於 38°C 反應 4 小時的條件下，結果總氫氰酸回收率為 72.6%，相對差異百分比

為 3.3%，未達「食品化學檢驗方法之確效規範」⁽⁹⁾中回收率(%)範圍 75-120%，顯示樣品前處理方式仍有優化空間，故進一步針對水解條件進行測試：主要針對酵素水解之酸鹼值、反應溫度、作用時間及酵素作用量等四個方向個別進行探討。測試每項可能影響因子時，實驗流程僅變動該影

枇杷種子中總氫氰酸檢驗方法之探討



圖四、添加苦杏仁苷測試不同反應時間下水解之總氫氰酸回收率



圖五、添加苦杏仁苷測試不同溫度下水解之總氫氰酸回收率

響因子部分，其餘條件皆與「木薯製品中總氫氰酸之檢驗方法」相同，結果如下：

1. 酵素反應時間之探討

分別測試酵素2、4、8、16及24小時反應之回收率，隨著反應時間增加回收率略為提升(從75.7-78.0%)，其相對差異百分比介於0.6至5.3%之間(圖四)。依據實驗結果，不同反應時間回收率差異不大，推測酵素水解反應時間非主要影響因子，考量試驗條件欲與「木薯製品中總氫氰酸之檢驗方法」搭配較具檢驗便利性，故使用原條件(4小時)持續後續試驗。

2. 酵素反應溫度之探討

分別測試酵素於溫度為30、38、50及60°C反應之回收率。結果顯示，反應溫度由30°C升高至50°C，回收率由68.9%提高為76.3%，相對差異百分比介於0.5至6.6%之間，進一步將溫度升高至60°C時回收率會些微降低至71.1%，相對差異百分比則為1.6% (圖五)。整體來說四個反應溫度測試條件無明顯差異，考量試驗條件欲與「木薯製品中總氫氰酸之檢驗方法」搭配較具檢驗便利性，故使用原條件(38°C)持續後續試驗。

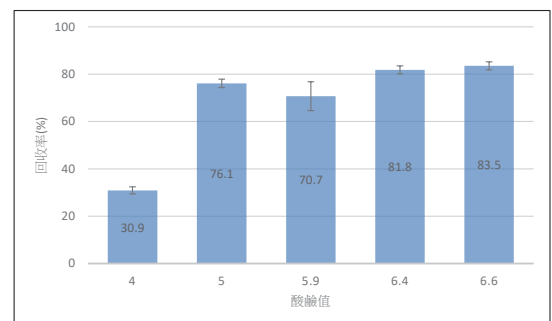
3. 酵素反應酸鹼值之探討

分別測試pH值於4.0、5.0、5.9、6.4、

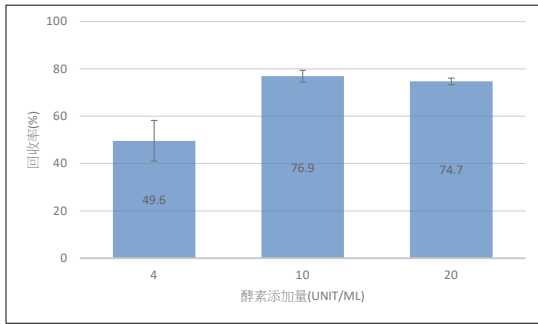
6.6反應之回收率。由於檸檬酸緩衝溶液建議使用範圍為pH值3.0-6.2，故pH值4.0、5.0、5.9組別使用檸檬酸緩衝溶液，另pH值6.4及6.6組別則使用磷酸二氫鉀/磷酸氫二鉀緩衝溶液。結果顯示，酵素於檸檬酸緩衝溶液之pH值4.0-5.9回收率為30.9-76.1%，相較於磷酸二氫鉀/磷酸氫二鉀緩衝溶液之pH值6.4及6.6回收率81.8%及83.5%偏低(圖六)。綜上，與「木薯製品中總氫氰酸之檢驗方法」其酵素作用條件比較後，選擇pH值6.6為β-葡萄糖苷酶水解條件。

4. 酵素添加量之探討

考量枇杷種子中總氫氰酸濃度遠高於經加工處理後之木薯製品(木薯削皮並經加熱處理可降低氫氰酸含量)，故試驗



圖六、添加苦杏仁苷測試不同酸鹼值下水解之總氫氰酸回收率



圖七、添加苦杏仁苷測試不同酵素量下水解之總氫氰酸回收率

添加苦杏仁苷量由相當於氫氰酸10 µg/mL增加至100 µg/mL並分別測試含有4、10、20 U/mL β-葡萄糖苷酶於4小時反應之回收率。實驗結果顯示，添加4 U/mL酵素量時，回收率為49.6%，相對差異百分比為17.3%；添加10 U/mL酵素量時，回收率提高為76.9%，相對差異百分比為3.3%；當酵素添加達20 U/mL時，回收率為74.7%，相對差異百分比為1.9% (圖七)。由結果得知，隨著酵素使用量增加，總氫氰酸回收率增加，當酵素量分別達10 U/mL及20 U/mL時，回收率無明顯差異且相對差異百分率皆很小，故本研究選擇添加10 U/mL酵素量作為添加量。

(二)蒸餾條件探討

因枇杷種子檢體中總氫氰酸含量遠高於木薯片中總氫氰酸含量，為確保所參考之「木薯製品中總氫氰酸之檢驗方法」中蒸餾條件之適用性。故於磷酸二氫鉀/磷酸氫二鉀緩衝溶液50 mL中分別加入氫離子標準品100及200 µg執行三重複之蒸餾測試。實驗結果顯示，回收率介於94.1-97.2%，變異係數則介於1.4-1.9%，皆符合食品化學檢驗方法之確效規範⁽⁹⁾，故本研究沿用原蒸餾條件。

表四、枇杷種子粉中添加苦杏仁苷之回收試驗結果

化合物	精密度之評估	添加濃度 ^a (mg/kg)	回收率 (%)	變異係數 (%)
苦杏仁苷 (Amygdalin)	同日間	100	78.4 ^b	0.38
		200	86.4 ^c	0.56
	異日間	100	79.6 ^d	3.27
		200	83.9 ^e	3.65

^a 添加HCN當量濃度。 ^b n=5。 ^c n=3。 ^d n=10。 ^e n=6

三、確效試驗

準確度及精密度評估

取枇杷種子粉末進行添加回收試驗，評估本方法(以pH 6.6之磷酸二氫鉀/磷酸氫二鉀為緩衝溶液，並添加β-葡萄糖苷酶10 U於38°C反應4小時)之適用性。結果如表四所示，枇杷種子粉末中添加相當於含氫氰酸量100及200 mg/kg之苦杏仁苷各5及3重複，其平均回收率分別為78.4及86.4，變異係數為0.38及0.56%；中間精密度部分，在不同分析日期，於枇杷種子粉末中添加相當於含氫氰酸量100 mg/kg及200 mg/kg之苦杏仁苷，平均回收率為79.6%及83.9%，變異係數為3.27%及3.65%。

四、評估應用於市售產品之適用性

臺灣多以枇杷花及葉製成茶製品較多，故種子茶之檢體需經日本進口，取得較為困難，故本研究所建立之檢驗方法以日本進口枇杷種子保健茶2件進行評估，結果檢出總氫氰酸含量分別為80.6及119.6 mg/kg。

五、後續酵素水解效率最佳化之方向

依本研究經驗，檢驗方法未來如需擴增其他含苦杏仁苷之產品(例：苦杏仁等)，可由以下方向進行探討：(1)同時添加多重酵素(β-Glucosidase及Mandelonitrile lyase)並調整至兩者之最適pH值，使苦杏仁苷降解為氫氰酸更為完全。(2)添加適當消泡劑或界面活性劑避

免非水溶性之中間產物懸浮於液面或因搖晃產生之蛋白質起泡而影響分解效率，使能獲得更佳之回收率。

結 論

本研究參考「木薯製品中總氫氰酸之檢驗方法」建立以酵素水解搭配離子層析儀分析枇杷種子製品中總氫氰酸之方法。以所建立之檢驗方法於枇杷種子粉中添加相當於含氫氰酸量100及200 mg/kg之苦杏仁苷，其總氫氰酸平均回收率介於78.4-86.4%，變異係數介於0.38-3.56%，未來可進一步探討多重酵素反應之最適pH值或如何減少反應過程中的起泡反應以擴增檢驗方法適用性。

參考文獻

1. Cressey, P. and Reeve, J. 2019. Metabolism of cyanogenic glycosides: A review. *Food Chem. Toxicol.* 125: 225-232.
2. Vetter, J. 2000. Plant cyanogenic glycosides. *Toxicon* 38(1): 1-36.
3. Wu, H., Cao, C. and Zhou, C. 2017. Determination of amygdalin in the fruit of *Eriobotrya japonica* Lindl by high performance liquid chromatography. *Biomed. Res.* 28(20): 8827-8831.
4. Dirikolu, L., Hughes, C., Harkins, D., Boyles, J., Bosken, J., Lehner, F., Troppmann, A., McDowell, K. and Tobin, T. 2003. The toxicokinetics of cyanide and mandelonitrile in the horse and their relevance to the mare reproductive loss syndrome. *Toxicol. Mech. Methods* 13(3): 199-211.
5. Kuroki, G. W. and Poulton, J. E. 1986. Comparison of kinetic and molecular properties of two forms of amygdalin hydrolase from black cherry (*Prunus serotina* Ehrh.) seeds. *Arch. Biochem. Biophys.* 247(2): 433-439.
6. 医薬・生活衛生局食品監視安全課，輸入食品安全対策室。2018。シアン化合物を含有する食品の取扱いについて。[<https://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisakujouhou-11130500-Shokuhinanzendu/0000183546.pdf>]。
7. 衛生福利部。2021。食品中汚染物質及毒素衛生標準。110.02.04衛授食字第1091304812號令修正。
8. 衛生福利部食品藥物管理署。2019。木薯製品中總氫總氰酸之檢驗方法(一)(TFDAT0003.01)。[<http://www.fda.gov.tw/tc/includes/GetFile.ashx?id=f637810573705421891&type=2&cid=32789>]。
9. 衛生福利部食品藥物管理署。2021。食品化學檢驗方法之確效規範。110年11月01日修正。[<http://www.fda.gov.tw/tc/includes/GetFile.ashx?id=f637713826789525112&type=2&cid=38868>]。
10. Tanaka, T., Kimura, K., Kan, K., Katori, Y. and *et al.* 2020. Quantification of amygdalin, prunasin, total cyanide and free cyanide in powdered loquat seeds. *Food Addit. Contam. Part A* 37(9): 1503-1509.

Study on Method of Test for Total Hydrocyanic Acid in Loquat Seeds

SHIH-WEI LIU, YING-RU SHEN, MEI-HUA CHANG, NU-CHING LIN,
YA-MIN KAO, SU-HSIANG TSENG AND DER-YUAN WANG

Division of Research and Analysis, TFDA

ABSTRACT

Loquat seeds contain amygdalin, which further reacts with enzymes or acids to generate toxic hydrocyanic acid. In a recent report announced by the Japan National Life Center, various health tea products claimed anti-tumor effects were found high levels of hydrocyanic acid. Therefore, an analytical method for the determination of total hydrocyanic acid content in loquat seed tea is on demand. This study evaluated and modified the "Test method for total hydrocyanic acid in cassava products" (published by TFDA) to develop a test method for hydrocyanic acid in loquat seeds. Because the cyanogenic glycoside in loquat seeds was amygdalin, the β -glucosidase (from almonds) enzyme was used in the developed method to replace linamarinase in the original method. Various parameters of enzyme were optimized as well including pH value, reaction temperature, reaction time and enzyme action amount. The established method applied 0.5 g of homogeneous sample each, added 10 U of β -glucosidase enzyme for hydrolysis at pH 6.6 for 4 hours at 38°C, collected hydrocyanic acid by distillation after hydrolysis, and then performed ion chromatographic instrument analysis. Recovery studies were conducted by spiking amygdalin equivalent to 100 and 200 mg/kg hydrocyanic acid to loquat seed powder. The average recoveries of total hydrocyanic acid were 78.4-86.4%, and the coefficients of variation were 0.38-3.65%. In addition, 2 commercial tea bags containing loquat seeds were tested, and the total hydrocyanic acid content were found 119.6 mg/kg and 80.6 mg/kg, respectively. This study provided a process for the test of total hydrocyanic acid in loquat seeds. To make the analytical method more robust, future studies will focus on the pH value modification, multiple enzymes application, and foaming reduction in the reaction to expand the applicability of the testing method.

Key words: total hydrocyanic acid, loquat seeds, β -glucosidase from almonds, ion chromatography.