식품 중 시안화물의 조성, 분석법 및 저감화 기술 연구 동향

Research Trends in Cyanide Composition, Analytical Methods, and Mitigation Strategies in Foods

이현준[1,2], 이지현[2,3*]

Hyunjun Lee[1,2], Jihyun Lee[2,3*]

[1]중앙대학교 식품생명공학과, [2]서울대학교 생활과학연구소, [3]서울대학교 식품영양학과

[1]Department of Food Science and Technology, Chung-Ang University, Anseong, Korea
[2]The Research Institute of Human Ecology, Seoul National University, Seoul, Korea
[3]Department of Food and Nutrition, Seoul National University, Seoul, Korea

이 지 현

Correspondence to

Jihyun Lee,
Department of Food and Nutrition, Seoul National University, Seoul 08826, Korea
Tel: +82-2-880-2531
E-mail: jihlee@snu.ac.kr

서론

시안화물(cyanide)은 탄소와 질소가 삼중결합으로 연결된 시안기(−C≡N)을 가지는 화합물군을 총칭한다[1]. 식품 안전 분야에서는 유리 시안화물(free cyanide)인 hydrogen cyanide (HCN)와 cyanide ion (CN^-), 그리고 효소적 또는 비효소적 분해를 통해 유리 시안화물을 방출할 수 있는 시안배당체(cyanogenic glycosides)와 시아노히드린(cyanohydrin)을 포괄하여 다룬다[2]. 유리 시안화물은 생체 내에서 미토콘드리아 cytochrome c oxidase에 결합하여 전자전달계와 산화적 인산화를 저해함으로써 급성 독성의 직접적인 원인이 된다[3,4]. 시안배당체는 식물의 방어 대사산물로서 비교적 안정한 형태로 존재하지만, 저작, 파쇄, 분쇄, 침지, 발효 및 소화 과정에서 식물의 조직이 손상되면 β-glucosidase에 의해 가수분해되어 중간체인 시아노히드린을 생성하고, 시아노히드린은 pH, 온도 및 hydroxynitrile lyase 활성에 따라 유리 시안화물로 전환된다[3,5].

시안배당체의 종류는 원료 식물의 종과 부위에 따라 다르다고 보고된 바 있다. 카사바(cassava, *Manihot esculenta*)에는 linamarin과 lotaustralin, 수수(Sorghum, *Sorghum bicolor*)에는 dhurrin, 죽순(bamboo shoot, Bambusoideae)에는 taxiphyllin, 아마씨(flaxseed, *Linum usitatissimum*)에는 linustatin, neolinustatin 및 linamarin이 주요 시안배당체로 보고된다[6]. 또한, bitter almond와 살구(*Prunus armeniaca*), 자두(*P. salicina*), 매실(*P. mume*) 등 장미과(Rosaceae) 핵과류에는 amygdalin과 prunasin이 주로 함유되어 있다

[5,6]. 이들 식품은 지역에 따라 주식, 향신료, 음료 또는 전통 가공식품으로 소비되며, 원료의 품종, 성숙도, 부위, 저장 및 가공 조건에 따라 시안화물 조성과 함량이 크게 달라질 수 있다[6,7]. 한편 시안화물의 위해성 평가는 단순히 원료 중 함량 뿐 아니라 시안배당체의 체내 전환율과 생체이용률, 식품 매트릭스, 장내 미생물, 섭취 형태 및 조리 조건에 의해 영향을 받으므로, 총 시안화물 기반의 보수적 평가는 실제 노출량을 과대평가할 가능성이 있다[7-10].

시안화물 저감화는 전구체인 시안배당체를 제거하거나 분해하는 단일 공정만으로 달성되지 않는다. 수용성인 시안배당체는 침지나 세척 중 용출되어 제거될 수 있으며, 조직 손상 시 효소 반응을 통해 HCN으로 전환된다. 이렇게 생성된 HCN은 휘발성이 높아 가열, 건조 및 압착 공정에서 제거될 수 있고, 발효 과정에서는 미생물 효소에 의한 시안배당체 분해와 HCN 휘발이 동시에 일어날 수 있다[11,12]. 그러나 동일한 공정을 적용하더라도 식품의 수분함량, 전분 및 지방 조성, 식이섬유 함량, 유기산과 당 조성, 조직 구조 등의 매트릭스 특성에 따라 시안화물 저감 효율과 품질 변화 양상이 달라질 수 있다. 따라서 시안화물 저감화 기술은 원료 단계에서 시안배당체 함량을 낮추는 접근, 효소 반응을 활용하여 시안배당체를 HCN으로 전환하는 접근, 물리적 확산 및 용출을 이용하는 접근, 그리고 열처리 및 비열처리 공정을 복합적으로 적용하는 접근으로 구분하여 이해할 필요가 있다. 본 논문에서는 주요 시안배당체 함유 식품 원료 및 가공식품의 시안화물 조성 및 모니터링 연구, 대표적인 저감화 공정의 저감 효율, 그리고 시안화물 분석법의 특성과 적용 범위를 종합적으로 고찰하고자 한다. 또한 식품 매트릭스 특성을 고려한 저감 공정 설계와 시안화물 안전관리 방향을 제시하고자 한다.

본론

1. 식품 중 시안화물의 화학적 특성, 조성 및 안전관리

1.1. 시안배당체, 시아노히드린 및 유리 시안화물

식품 중 시안화물은 크게 시안배당체(cyanogenic glycosides), 시아노히드린 및 유리 시안화물로 구분된다. 시안배당체는 당과 아글리콘(aglycone)이 결합된 구조를 가지며, 식물체 내에서는 기질과 분해 효소가 서로 다른 세포 구획에 존재하는 경우가 많다[13]. 이로 인해 정상 상태의 식물 조직에서는 HCN 생성이 억제되지만, 가공 및 저작 과정에서 조직이 손상되면 β-glucosidase가 시안배당체를 가수분해하여 시아노히드린을 생성한다. 시아노히드린은 화학적으로 불안정하여 알칼리 조건, 가열 또는 hydroxynitrile lyase의 작용에 의해 aldehyde 혹은 ketone과 휘발성이 높은 HCN으로 분해된다(Fig. 1). 이와 같은 반응 과정에서 식품 가공 중 시안화물 저감화는 전구체의 용출, 효소적 분해, HCN의 휘발 및 제거가 순차

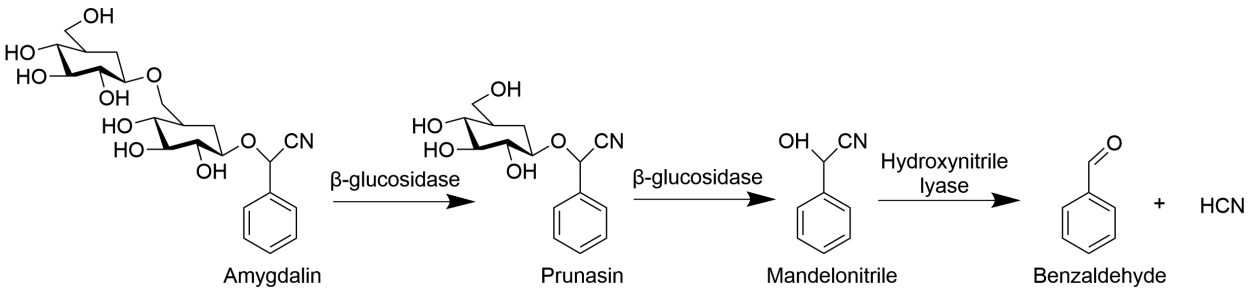

Fig. 1. Enzymatic degradation pathway of amygdalin and prunasin to benzaldehyde and hydrogen cyanide (HCN).

적 또는 동시에 일어나는 과정으로 이해할 수 있다.

식품 분석 관점에서도 시안화물의 화학적 형태를 구분하는 것이 중요하다. 전통적인 총 시안화물 분석은 산분해 또는 효소분해를 통해 시안배당체를 HCN으로 전환한 후 정량하므로, 식품 섭취 과정에서 생성될 수 있는 잠재적 시안화물 수준을 평가하는 데 유용하다. 그러나 총 시안화물 함량만으로는 어떤 전구체가 잔존하는지, 가공 과정에서 독성을 나타낼 수 있는 유리 시안화물이 실제로 증가하였는지, 또는 HCN으로 쉽게 전환될 수 있는 중간체인 시아노히드린이 어느 수준으로 존재하는지를 확인하기 어렵다. 최근에는 고성능 액체크로마토그래피(high performance liquid chromatography, HPLC) 또는 액체크로마토그래피-탠덤질량분석기(liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)를 이용하여 linamarin, amygdalin, prunasin 등 개별 시안배당체를 분리 · 정량하고, 유리 시안화물은 유도체화 과정을 거쳐 분석하는 방법이 활용되고 있다[11,12,14,15]. 특히 저감화 기술 평가에서는 총 시안화물 함량의 감소율뿐 아니라 개별 화합물의 조성 변화, 유리 시안화물의 잔류 수준, 그리고 실제 섭취 조건에서의 노출 가능성을 함께 고려하는 것이 바람직하다.

1.2. 식품 중 시안화물의 규제 및 위해성 평가

식품 중 시안화물의 안전관리는 식품 유형, 섭취량 및 체내에서의 시안화물 생성 가능성을 함께 고려하여 이루어진다. 국내에서는 은행, 죽순, 아마씨 및 살구 · 복숭아 · 사과 등의 씨앗과 같이 시안배당체를 함유할 수 있는 식품에 대해 섭취 및 조리 관련 주의사항이 안내되고 있으나, 매실청과 같은 핵과류 기반 당절임 식품에 대해서는 별도의 시안화물 기준이 명확히 설정되어 있지 않다. 식품의약품안전처는 시안화합물이 매실, 살구, 사과 및 복숭아 씨앗 등에 자연적으로 존재할 수 있다고 설명하며, 은행과 죽순은 충분히 가열하여 섭취하고, 아마씨는 볶아서 제한된 양만 섭취하며, 살구 · 복숭아 · 사과 등의 씨앗은 식품으로 섭취하지 않도록 안내하고 있다[16].

국외에서는 일부 식품에 대해 시안화물 기준이 설정되어 있다. 일본은 매실, 아마씨, 살구, 복숭아, 비파 등의 씨앗을 포함하거나 시안화합물을 자연적으로 함유할 수 있는 식품 및 관련 가공품에 대해 총 시안화물 기준을 10 mg CN^- eq./kg으로 관리하고 있다[17]. Codex는 카사바 분말의 총 시안화물 기준을 10 mg CN^- eq./kg으로 제시하고 있으며, gari에 대해서는 유리 시안화물로서 2 mg/kg이 제시되어 있다[18]. 유럽연합은 nougat, marzipan 또는 유사 제품에 대해 50 mg/kg, 핵과류 과실 통조림에 대해 5 mg/kg, 주류에 대해 35 mg/kg의 HCN 최대수준을 설정하고 있다[19].

위해성 평가 측면에서, FAO/WHO 합동 식품첨가물 전문가 위원회(The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, JECFA)는 cyanogenic glycosides 함유 식품에서 유래하는 cyanide에 대해 잠정최대일일섭취허용량(provisional maximum tolerable daily intake, PMTDI) 20 μg CN^- eq./kg body weight/day와 급성독성참고치(acute reference dose, ARfD) 0.09 mg CN^- eq./kg body weight를 설정하였다[20]. 유럽식품안전청(European food safety authority, EFSA)는 시안배당체와 HCN 간 생체이용률 차이를 인정하면서도, 불확실성을 고려하여 식품 섭취 시 생성 가능한 총 시안화물 수준을 기준으로 보수적인 위해성 평가를 수행하였다[8]. 이처럼 시안화물의 규제 및 위해성 평가는 총 시안화물 함량뿐 아니라 분석 대상 물질의 범위, 가공 후 잔류 형태, 실제 섭취량 및 식품 매트릭스 특성을 함께 고려하여 이루어질 필요가 있으며, 저감화 공정의 개발과 평가 또한 실제 노출 가능성과 소비 형태를 반영하여 수행될 필요가 있다.

1.3. 시안화물 함유 식품 원료 및 가공식품의 조성

시안화물 저감화 공정을 설계하기 위해서는 먼저 원료와 최종 제품에 어떤 형태의 시안화물이 어느 수준으로 존재하는지를 파악할 필요가 있다. 주요 원료 식품에서 보고된 시안화물 및 시안배당체 조성은 Table 1에 정리하였다. 카사바는 linamarin과 lotaustralin을 주요 시안배

당체로 함유하는 전분질 뿌리 작물이며, 수수는 dhurrin을 주요 전구체로 가진다. 죽순은 taxiphyllin을 함유하는 수분 함량이 높은 식품으로, 조직 손상 시 효소 반응에 의해 비교적 빠르게 HCN이 생성될 수 있다[21]. 아마씨와 비터 아몬드는 유지질 종자류로서 시안화물 저감뿐 아니라 열처리 및 산화 안정성을 함께 고려할 필요가 있다. 반면 매실청과 같은 핵과류 기반 당절임 식품에서는 씨앗 유래 amygdalin과 prunasin이 고당 · 저pH 환경에서 장기간 숙성되면서 조성이 변화할 수 있으므로, 단순 원료 함량뿐 아니라 제조 및 숙성 후 시안화물 조성 변화에 대한 평가가 중요하다.

원료 식품에 존재하는 시안화물은 가공 과정에서 일반적으로 감소하지만, 최종 제품의 잔류 수준은 원료 특성, 가공 조건 및 제품 형태에 따라 크게 달라질 수 있다. 특히 원료 품종, 초기 시안배당체 함량, 조직 파쇄 정도, 수분 조건, 발효 · 건조 · 가열 조건 등은 최종 시안화물 수준에 영향을 미치는 주요 요인으로 알려져 있다. 따라서 가공식품의 시안화물 안전성을 평가할 때에는 최종 제품에 어떤 형태의 시안화물이 잔류하는지를 확인할 필요가 있다. 주요 가공식품에서 보고된 시안화물 조성 자료는 Table 2에 정리하였다. 예를 들어 카사바 분말, gari 및 farina는 모두 카사바 가공식품이지만 잔류 시안화물의 수준과 조성은 서로 다르며, gari에서는 유리 시안화물(free cyanide)보다 cyanohydrin과 linamarin이 주요 잔류 형태로 보고되었다. 또한 아마씨가 첨가된 빵, 아몬드 기반 제품, 사과주스 및 핵과류 과일 가공품, 매실청에서도 가공 후 시안배당체 또는 총 시안화물이 일정 수준 잔류할 수 있다.

2. 주요 시안배당체 함유 식품의 가공 및 시안화물 저감화

2.1. 카사바 가공식품의 시안화물 저감화

카사바는 열대 · 아열대 지역의 중요한 전분질 작물로서 cassava flour, gari, farina 및 chips와 같은 다양한 가공식품의 원료로 이용된다. 그러나 카사바에는 linamarin과 lotaustralin 등의 시안배당체가 함유되어 있어 부적절하게 가공할 경우 급성 또는 만성 시안화물 노출의 원인이 될 수 있다[22]. 원료 카사바에서는 linamarin이 약 191 – 921 mg/kg, lotaustralin이 약 25 – 97 mg/kg 수준으로 보고되었으며, 총 시안화물 함량은 품종과 재배 조건에 따라 약 1 – 235 mg CN^- eq./kg 범위로 나타난다[22–27]. 또한 가공 후에도 cassava flour에서는 총 시안화물이 약 3.4 – 200 mg CN^- eq./kg, gari에서는 N.D. – 21 mg CN^- eq./kg, cassava chips에서는 〈10 – 145 mg CN^- eq./kg 수준으로 잔류한다고 보고된 바 있다[27–34]. 카사바

Table 1. Cyanogenic compounds and total cyanide levels in raw food materials

Raw food material	Major cyanogenic compounds (mg/kg)	Total cyanide (mg CN^- eq./kg)	Reference
Cassava	Linamarin: 191–921 Lotaustralin: 25–97	1–235	23–27
Sorghum	Dhurrin: 5–548	1–929	12, 73, 74
Bamboo shoot	Taxiphyllin: 〈5–464	3–140	37–42
Flaxseed	Linustatin: 113–1309 Neolinustatin: 94–1144.91 Lotaustralin: 73–1138	139	45–47
Almond	Amygdalin: nonbitter (2 – 157), semibitter (524 – 1773), bitter (33007 – 53998)	non–bitter (16 – 27), bitter (918 – 1215)	51, 64
Maesil	Amygdalin: fruit (142 – 549), seed (3216 – 3419) Prunasin: fruit (not reported), seed (4858)	1027–1155	54–58

의 시안화물은 시안배당체, 시아노히드린 및 유리 시안화물의 형태로 존재하며, 품종, 재배 환경, 뿌리 부위 및 수확 후 처리에 따라 함량 차이가 크다[23-25]. 카사바 가공식품의 시안화물 저감화는 linamarin과 분해 효소의 접촉을 유도하고 생성된 HCN을 제거하는 과정에 기반한다. 분쇄 또는 파쇄는 세포 구획을 파괴하여 기질과 효소의 접촉을 증가시키며, 침지와 압착은 수용성 시안화물과 생성된 HCN의 용출 및 제거를 촉진한다[23,28].

카사바의 전통적 가공 공정은 박피, 절단, 분쇄, 침지, 발효, 압착, 건조, 볶기 또는 끓이기를 복합적으로 조합하여 이루어진다. Montagnac 등은 분쇄 후 햇볕 건조를 통해 카사바 분말을 제조할 경우 총 시안화물의 96-99%가 제거될 수 있으며, 침지 · 발효 후 볶는 gari 및 farina 제조 과정에서도 약 98%의 제거율이 나타난다고 보고하였다[23]. Cardoso 등은 카사바 분말의 잔류 시안화물 함량이 원료 품종과 건조 조건에 영향을 받으며, 전통적인 가공 방식만으로는 일부 지역에서 시안화물 저감이 충분하지 않을 수 있어 최종 제품의 시안화물 관리가 여전히 필요하다고 보고하였다[28]. Ndam 등도 품종과 가공 방법에 따라 chips 및 gari와 같은 카사바 가공품의 시안화물 함량이 달라질 수 있음을 제시하였다[34].

카사바의 발효와 건조는 저장성 향상과 시안화물 독성 저감에 중요한 역할을 한다. 침지 또는 고상 발효 과정에서는 미생물 유래 효소가 시안배당체를 분해하고, 생성된 HCN은 액상으로 용출되거나 건조 및 가열 과정에서 휘발된다. Indrastuti 등은 시안화물 함량이 높은 카사바를 침지 및 고상 발효로 처리할 경우 총 시안화물이 약 89.70-93.42% 감소한다고 보고하였다[35]. 이처럼 카사바 가공식품의 시안화물 저감화는 세포 파괴, 효소적 분해, 수용성 성분의 용출 및 HCN의 휘발이 연속적으로 작용할 때 높은 효과를 나타낼 수 있다[24,29]. 최근에는 카사바 발효가 페놀화합물 함량 및 항산화 활성에도 영향을 줄 수 있음이 보고되면서, 시안화물 저감화 공정은 안전성뿐 아니라 영양성과 품질 특성까지 함께 고려할 필요가 있다는 점이 강조되고 있다[36].

2.2. 죽순의 시안화물 저감화

죽순은 아시아 지역에서 널리 소비되는 식품으로 식이섬유, 무기질 및 다양한 기능성 성분을 함유하고 있으나, taxiphyllin과 같은 시안배당체도 함께 함유한다. 죽순에서 보고된 taxiphyllin 함량은 〈5 - 464 mg/kg 수준이며, 총 시안화물 함량은 약 3 - 140 mg CN^- eq./kg 범위

Table 2. Cyanogenic compounds and total cyanide levels in processed foods

Raw food material	Processed food	Major cyanogenic compounds (mg/kg)	Total cyanide (mg CN^- eq./kg)	Reference
Cassava	Cassava flour	-	3-200	28-31
	Gari	-	N.D.[1)]-21	32, 33, 75
	Cassava chips	-	〈10-145	27, 29
Bamboo shoot	Pickled bamboo shoots	-	39-196	43, 44
	Canned bamboo shoots	-	4-25	44
Flaxseed/ linseed	Linseed-containing bread	-	91-178	44
Almond	Essence	-	5	44
	Almond milk	Amygdalin: 50	-	50
	Marzipan	Amygdalin: 20	-	50
Apple	Apple juice	Amygdalin: 4-90	-	50
Maesil	Maesil syrup	Amygdalin: N.D.-594 Prunasin: N.D.-68	0.25-19	59, 61

[1)]N.D.: not detected

로 보고되어 종, 부위 및 수확 후 처리 조건에 따라 큰 차이를 보인다[37-42]. 가공식품의 경우에도 pickled bamboo shoots에서는 총 시안화물이 약 39 – 196 mg CN^- eq./kg, canned bamboo shoots에서는 약 3.7 – 24.5 mg CN^- eq./kg 수준으로 보고된 바 있어[43,44], 죽순은 섭취 전 적절한 침지, 가열 또는 발효 처리가 필요한 시안배당체 함유 식품으로 볼 수 있다.

죽순의 시안화물 저감화는 수용성 시안화물의 용출과 생성된 HCN의 휘발을 동시에 활용하는 방식에 기반한다. 죽순의 전통적 가공 공정에서는 절단, 침지, 끓이기, 찌기, 건조 및 발효 공정이 복합적으로 활용되며, 이러한 과정은 시안화물 저감과 저장성 향상에 모두 중요한 역할을 한다. Ferreira 등은 *Dendrocalamus giganteus* 죽순을 개방된 용기에서 장시간 끓일 경우 시안화물 함량이 크게 감소한다고 보고하였으며[39], Chongtham 등은 끓이기, 찌기, 건조 및 발효 공정이 시안화물을 포함한 항영양인자의 저감과 품질 개선에 효과적이며, 특히 발효 공정은 저장성 향상과 기호성 개선에 유리한 것으로 보고되었다[37]. 최근 분석 연구에서는 죽순의 주요 시안배당체인 taxiphyllin의 정량 분석이 이루어지고 있으며, 수확 후 처리 및 조리 조건이 최종 시안화물 수준에 중요한 영향을 미친다는 점이 강조되고 있다[40].

Table 3. Reduction efficiencies of cyanogenic compounds during food processing

Food	Processing treatment	Reduction efficiency	Proposed mechanism	Reference
Cassava	Grating and sun drying	96 – 99% reduction of total cyanide	Cell disruption, enzymatic hydrolysis, drying, and HCN volatilization	23
	Soaking, fermentation, and roasting	95–98% reduction of total cyanide	Leaching, fermentation, and heat-assisted volatilization	23
	Solid-state fermentation	90–93% reduction of total cyanide	Microbial/enzymatic degradation and leaching	35
	Ultrasonic pretreatment	40% reduction of HCN, 25% reduction of cyanogenic glycosides	Cavitation-enhanced mass transfer and enzyme activity	66
	Non-thermal plasma	36% reduction of total cyanide	Reactive species-mediated decomposition	76
Bamboo shoot	Soaking	64 – 73% reduction of total cyanide	Leaching of water-soluble cyanogens	27, 28
	Boiling	70 – 98% reduction of total cyanide	HCN volatilization and leaching	27–39, 41
Flaxseed	Autoclaving	30% reduction of total cyanide	Thermal degradation and HCN volatilization	45
	Microwave roasting	83% reduction of total cyanide	Rapid heating and evaporation of HCN	45
	Pelleting	13 – 55% reduction of HCN	Pressure- and heat-induced tissue disruption	45
Almond	Baking, microwave heating, boiling, and ultrasonication	79%(baking), 87%(microwave heating), 98%(boiling), and 98%(ultrasonication) reduction of total cyanide	HCN formation followed by volatilization or aqueous-phase transfer	52
Maesil syrup	Plasma treatment or UVC irradiation	19 – 22% reduction of amygdalin	Photochemical/oxidative degradation	68

죽순의 시안화물 저감화는 절단에 따른 세포 파괴, 효소적 분해, 수용성 성분의 용출 및 HCN의 휘발이 복합적으로 작용할 때 높은 효과를 나타낼 수 있다. 그러나 죽순은 조직감과 향미가 품질의 핵심 요소이므로 과도한 침지나 장시간 가열은 수용성 영양소 손실, 색 변화 및 조직감 저하를 유발할 수 있다. 따라서 죽순의 시안화물 저감화 공정은 절단 크기, 물의 양, 침지수 교체, 가열 시간 및 발효 조건 등을 종합적으로 고려하여 시안화물 저감과 품질 유지를 동시에 달성할 수 있도록 설계될 필요가 있다.

2.3. 아마씨 및 유지 종자류의 시안화물 저감화

아마씨는 식이섬유, α-리놀렌산(α-linolenic acid) 및 리그난(lignan)을 함유하는 기능성 원료로 널리 이용되지만, linustatin, neolinustatin 및 linamarin 등의 시안배당체도 함께 함유한다. 원료 아마씨에서는 linustatin이 약 113-1,309 mg/kg, neolinustatin이 약 94-1,145 mg/kg, lotaustralin이 약 73-1,138 mg/kg 수준으로 보고되었으며, 총 시안화물 함량도 약 139 mg CN^- eq./kg 수준으로 보고되었다[45-47]. 아마씨의 시안화물은 시안배당체 형태로 존재하며, 가공 조건에 따라 효소적 분해와 HCN 휘발 정도가 달라질 수 있다. Feng 등은 oven heating, pelleting, autoclaving 및 microwave roasting 공정을 비교하여 원료 아마씨의 HCN 함량이 가공 조건에 따라 유의적으로 감소함을 보고하였다[45]. 특히 autoclaving은 HCN을 29.7% 감소시킨 반면, microwave roasting은 83.3% 감소시켜 상대적으로 높은 저감 효과를 나타냈다. 또한 Imran 등은 기름 추출 후 아마씨박(flaxseed meal)의 열처리가 시안화물 저감에 효과적이라고 보고하였다[46].

아마씨 및 유지 종자류의 시안화물 저감화는 열처리에 따른 시안배당체 분해와 생성된 HCN의 휘발에 기반한다. 그러나 유지 함량이 높은 식품 특성상 카사바와 같은 침지-발효-건조 중심의 저감화 전략을 그대로 적용하기 어렵다. 수분이 제한된 조건에서는 효소적 분해가 충분히 일어나지 않을 수 있으며, 고온 처리는 HCN 제거에는 효과적이지만 불포화지방산의 산화, 산가 및 과산화물가 증가, 향미 변화, 그리고 리그난 및 페놀화합물과 같은 기능성 성분의 감소를 유발할 수 있다. 압출(extrusion) 및 끓이기 또한 아마씨의 시안배당체 저감에 활용될 수 있으나, 수분 함량, 처리 시간 및 온도 조건에 따라 품질 변화가 발생할 수 있음이 보고되었다[48,49].

이처럼 아마씨 및 유지 종자류의 시안화물 저감화는 시안배당체의 분해와 HCN 제거뿐 아니라 지질 산화 안정성, 지방산 조성, 관능 특성 및 기능성 성분 유지까지 함께 고려하여 설계될 필요가 있다.

2.4. 비터 아몬드 및 핵과류 종자의 시안화물 저감화

비터 아몬드(bitter almond), 살구 및 자두 씨앗과 같은 핵과류 종자는 amygdalin 함량이 높아 시안화물 안전관리 측면에서 중요한 식품군으로 알려져 있다[49,58,59]. Amygdalin은 β-glucosidase에 의해 prunasin과 mandelonitrile을 거쳐 benzaldehyde와 HCN으로 전환될 수 있으며, 종자가 분쇄되거나 저작될 경우 이러한 전환 반응이 촉진될 수 있다. Bolarinwa 등은 영국에서 유통되는 살구, 복숭아, 자두, 체리 및 사과와 같은 장미과(Rosaceae) 종자와 오이, 멜론 및 호박과 같은 비장미과 종자 및 관련 가공식품의 amygdalin 함량을 조사한 결과, 장미과 종자에서는 100-17,500 mg/kg 수준으로 비장미과 종자의 10-200 mg/kg보다 높은 함량을 나타낸다고 보고하였다[50]. 또한 almond milk, marzipan, 과일음료 및 통조림 제품과 같은 가공식품에서는 원료 종자에 비해 상대적으로 낮은 수준의 amygdalin이 검출되었다. 한편 Lee 등은 nonbitter, semibitter 및 bitter almond의 amygdalin 함량을 비교한 결과, 각각 평균 63, 992 및 40060 mg/kg의 유의적인 차이를 나타냄을 확인하였다[51]. 특히 bitter almond에서 현저히 높은 amygdalin 함량이 확인되었으며, 이러한 결과는 핵과류 종자에서 amygdalin 함량이 품종 및 flavor phenotype에 따라 크게 달라질 수 있음을 보여준다.

Zhang 등은 비터 아몬드와 비터 아몬드 오일의 시안

화물 저감을 위해 baking, microwave, water boiling 및 ultrasonic treatment를 비교하였으며, 각각 79.4%, 87.2%, 98.3% 및 98.4%의 저감률을 나타낸다고 보고하였다[52]. 특히 ultrasonic treatment는 높은 시안화물 저감 효과를 보이면서도 아몬드 오일의 주요 이화학적 특성에는 큰 변화를 유발하지 않아 대체 또는 보조 공정으로 제시되었다[52]. 또한 Sheikh 등은 자두 씨앗에서 microwave heating과 hydrothermal treatment의 병용이 시안배당체 저감뿐 아니라 기능성 성분 감소에도 영향을 줄 수 있다고 보고하여, 핵과류 종자 가공에서는 안전성과 기능성 유지 간의 균형이 중요함을 제시하였다[53].

핵과류 종자의 시안화물 저감화에서는 분쇄 정도와 후속 처리 조건이 중요한 영향을 미친다. 일반적으로 분쇄도가 증가할수록 효소 반응은 빨라질 수 있으나, 생성된 HCN이 충분히 제거되지 않을 경우 일시적으로 유리 시안화물 노출 가능성이 증가할 수 있다. 따라서 분쇄 후에는 개방 조건에서의 가열, 침지 및 환기와 같은 후속 공정을 충분히 수행할 필요가 있다. 또한 제품 형태가 원물, 분말, 추출물 또는 오일인지에 따라 시안화물의 잔류 가능성과 적용 가능한 분석법이 달라질 수 있으므로, 제품 유형별 특성을 고려한 규격 및 표시 기준의 설정이 필요하다[24].

2.5. 매실 및 매실청의 시안화물 저감화

매실은 유기산, 향기 성분 및 페놀화합물을 함유하는 핵과류 과실로서, 국내에서 매실청, 매실주, 절임 및 음료 원료로 다양하게 활용된다[54,55]. 그러나 핵과류 과실의 특성상 amygdalin과 prunasin 등의 시안배당체를 함유하며, 특히 씨앗에서 높은 함량으로 존재하는 것으로 알려져 있다[56]. 원료 매실에서는 amygdalin이 과육에서 약 142 – 549 mg/kg 수준으로 보고된 반면, 씨앗에서는 약 3216 – 3419 mg/kg 수준으로 더 높게 검출되었다[57,58]. 또한 씨앗의 prunasin 및 총 시안화물 함량은 각각 약 4858 mg/kg 및 1027 – 1155 mg CN^- eq./kg 수준으로 보고되었다[57,58].

매실청은 씨앗을 포함한 생과를 당과 함께 장기간 침출 · 숙성하는 대표적인 당침출 식품으로, 제조 과정에서 씨앗 유래 시안배당체가 당침출액으로 이동할 수 있다. 실제 가정 제조 및 시판 매실청에서는 amygdalin이 N.D. – 594 mg/kg, prunasin이 N.D. – 68 mg/kg 수준으로 검출되었으며, 총 시안화물은 약 0.25 – 19 mg CN^- eq./kg 범위로 보고되었다[59]. Go 등은 매실청의 amygdalin 독성 및 독성동태를 평가한 결과, 매실청에 존재하는 페놀화합물과 같은 기능성 성분이 체내 amygdalin의 HCN 전환을 지연시켜 독성 발현 양상에 영향을 줄 수 있음을 제시하였다[60]. 또한 Cho 등은 매실청 중 시안화물이 amygdalin과 같은 시안배당체뿐만 아니라 시아노히드린 및 유리 시안화물 형태로도 존재할 수 있음을 보고하였으며, 이에 따라 매실청의 시안화물 저감화 시 개별 시안화물의 조성 변화를 구분하여 평가할 필요가 있음을 제시하였다[61].

매실청의 시안화물 저감화에는 원료의 성숙도, 씨앗 제거 여부, 당 종류, 액분리, 숙성 기간 및 가열 조건 등이 복합적으로 관여한다. Bae 등은 매실청 제조조건별 시안배당체 변화를 조사한 결과, 과육만을 사용한 매실 과육청이 씨앗을 포함한 매실청에 비해 amygdalin은 약 7 – 8.5배, prunasin은 약 5 – 8배 낮은 수준을 나타낸다고 보고하였다[54]. 또한 사용된 당 종류에 따라 시안배당체 함량 차이가 나타났으며, 고과당, 정백당 및 이소말토올리고당 순으로 높은 수준이 확인되었다. 매실:당 비율에서는 과실 비율이 상대적으로 낮은 5:5 조건이 6:4(w/w) 조건보다 시안배당체 저감에 유리한 것으로 보고되었다[54]. Ramalingam 등은 매실청 숙성 과정에서 amygdalin 함량이 숙성 9개월차까지 빠르게 감소하였으며, 12개월 후에는 모든 처리 조건에서 5 mg/L 미만으로 감소하였다고 보고하여 장기 숙성이 amygdalin 저감에 중요한 역할을 할 수 있음을 제시하였다[62]. 또한 Ko 등은 씨앗 제거가 amygdalin 함량 감소에 가장 효과적인 조건이며, 황매 사용과 당침 후 액분리 공정 또한 amygdalin 저감화에 기여한다고 보고하였다[63].

매실청은 씨앗을 포함한 매실 생과를 고농도의 당과 함께 장기간 침출 · 숙성하여 제조되는 식품으로, 카사바나

아마씨와 같은 식품의 시안화물 저감화 원리를 그대로 적용하기 어렵다. 높은 당 농도는 삼투압에 의해 과실 성분의 이동을 촉진할 수 있으며, 유기산과 pH는 시아노히드린의 안정성과 효소 활성에 영향을 줄 수 있다. 또한 장기간 숙성 과정에서는 시안배당체의 용출, 분해 및 조성 변화가 동시에 일어날 수 있으므로 단순한 총 시안화물 감소율만으로 안전성을 평가하는 데 한계가 있다. 따라서 매실청의 시안화물 저감화는 씨앗 제거와 같이 원료 단계에서 시안배당체 전구체를 줄이는 전략, 액분리 및 장기 숙성과 같이 당침출액 내 시안화물의 이동과 분해를 조절하는 전략, 그리고 가열 · 초음파 · 자외선 등의 보조 공정을 품질 특성과 함께 검증하는 전략이 복합적으로 적용될 필요가 있다[54,63,65].

3. 비열처리와 복합공정을 활용한 시안화물 저감화

3.1. 초음파 및 열처리에 따른 시안화물 저감화

초음파 처리는 공동화(cavitation)에 의해 조직 구조를 변화시키고 물질 전달을 촉진하며 효소 활성에도 영향을 줄 수 있는 비열처리 기술이다. Zhong 등은 카사바즙에서 10분간의 초음파 전처리(45℃, 81 W)가 HCN과 시안배당체를 각각 40.36%와 24.95% 감소시켰으며, 끓이기 전 초음파 처리를 적용할 경우 총 시안화물 저감률이 향상된다고 보고하였다[66]. 또한 비터 아몬드 오일에서도 초음파 처리는 끓이기와 유사한 수준의 높은 시안화물 저감 효과를 나타내어 열처리의 대체 또는 보조 공정으로 제시되었다[52].

그러나 초음파 처리에 따른 시안화물 저감 효과는 식품 매트릭스와 처리 조건에 따라 달라질 수 있다. Priya와 Gogate는 초음파가 β-glucosidase 활성을 증가시킬 수 있다고 보고하였으며, 이는 시안배당체 분해를 촉진할 수 있는 반면 시아노히드린 및 유리 시안화물의 생성을 증가시킬 가능성도 있음을 의미한다[67]. 따라서 초음파 처리는 생성된 HCN이 식품 내에 잔류하지 않도록 후속 제거 공정과 연계되어야 하며, 처리 후 충분한 환기 조건에서의 가열, 액분리 및 숙성과 같은 공정을 병행하는 것이 바람직하다.

3.2. 플라즈마, UVC 및 전기장 처리를 이용한 시안화물 저감화

비열 플라즈마(non-thermal plasma)는 전자, 이온, 라디칼 및 활성산소종을 이용하여 식품 표면 또는 분말 내 시안배당체와 같은 특정 성분을 분해할 수 있는 비열처리 기술이다. Thaweewong 등은 건식 분쇄 카사바 분말에 비열 플라즈마를 적용한 결과, 20 kV에서 15분 처리 시 HCN이 35.7% 감소하였으며, 전분 결정성과 일반 성분에는 큰 영향을 주지 않았으나 호화 특성(pasting properties)에는 변화가 나타났다고 보고하였다[69]. 또한 Kim 등은 플라즈마 또는 자외선(ultraviolet-c, UVC) 처리를 이용하여 amygdalin 저감화 매실청을 제조하고 독성동태학적 안전성을 함께 평가한 결과, 두 공정 모두 시안화물 저감화 제품 제조에 활용 가능함을 제시하였다[68].

플라즈마와 UVC는 물 사용량이 적고 상대적으로 낮은 온도에서 적용할 수 있지만 침투 깊이가 제한되고 산화 반응에 따른 색, 향, 페놀화합물의 변화가 발생할 수 있다[69,70]. 또한 액상 또는 고점도 식품에서는 광투과도, 처리 균일성, 용존 산소 및 표면적이 중요한 변수이다. 고전압 펄스 전기장(pulsed electric field, PEF)은 세포막에 천공을 유도하여 식물 조직 외부로의 물질 전달을 촉진하는 기술로, Wang 등은 매실주 제조 과정에서 PEF 전처리가 향미 성분 추출과 침지 기간 단축에 기여할 수 있다고 보고하였다[71]. 그러나 PEF는 향미 성분뿐 아니라 시안배당체의 용출 또한 촉진할 수 있으므로, 시안배당체 함유 원료에 적용할 경우 액분리 공정, 씨앗 제거 및 후속 가열 또는 숙성 조건과 연계하여 적용할 필요가 있다.

4. 시안화물 저감화 연구의 한계와 위해성 평가 시 고려사항

4.1. 시안화물 저감화 평가 지표의 한계

시안화물 저감화 기술의 효과를 정확히 평가하기 위해

서는 분석 대상과 평가 지표를 명확히 설정할 필요가 있다. 주요 시안화물 분석법의 원리와 장단점은 Table 4에 정리하였다. 총 시안화물 분석은 시안배당체와 시아노히드린을 전처리 과정에서 HCN으로 전환한 뒤 이온크로마토그래피(ion chromatography, IC) 및 HPLC로 정량하여 식품에 존재하는 잠재적 시안화물 생성 가능성을 평가하는 데 유용하다. 그러나 실제 섭취 후에는 시안배당체가 모두 유리 시안화물로 전환되는 것은 아니며, 일부는 제한적으로 분해되거나 대사되지 않은 형태로 배출될 수 있다[60]. 따라서 총 시안화물 함량은 실제 체내 노출 수준보다 높게 평가될 가능성이 있다. 또한 총 시안화물 함량만으로는 어떤 전구체가 잔류하는지, 가공 과정에서 유리 시안화물이 실제로 증가하였는지, 또는 시아노히드린과 같은 중간체가 어느 수준으로 존재하는지를 확인하기 어렵다.

한편 HPLC 또는 LC-MS/MS 기반의 개별 분석법은 linamarin, amygdalin 및 prunasin과 같은 주요 시안배당체의 조성 변화를 평가하는 데 유리하지만, 시아노히드린 및 유리 시안화물을 함께 분석하지 않을 경우 실제 독성과 직접적으로 관련된 시안화물 형태의 잔류 수준을 충분히 반영하지 못할 수 있다[11,12,14,15]. 특히 매실청과 같이 당, 유기산 및 색소 성분이 풍부한 식품 매트릭스를 LC-MS/MS로 분석할 경우, 매트릭스 유래 성분에 의해 이온화 과정에서 ion suppression 또는 ion enhancement가 발생할 수 있다. 따라서 LC-MS/MS 기반 개별 시안화물 분석에서는 Solid-phase extraction (SPE) 정제, matrix-matched calibration, 내부표준물질 사용 및 matrix effect 검증을 통해 정량 신뢰성을 확보할 필요가 있다.

분석법의 선택은 연구 목적과 평가 대상에 따라 달라질 필요가 있다. 법적 기준 적합성 평가 또는 잠재적 시안화물 노출 수준의 평가가 목적이라면 총 시안화물 분석이 유용할 수 있으나, 저감화 기전 규명과 공정 최적화가 목적이라면 시안배당체, 시아노히드린 및 유리 시안화물을 가능한 한 개별적으로 분리하여 평가하는 것이 바람직하다.

Table 4. Analytical methods for the determination of cyanogenic compounds in foods

Analytical approach	Representative method	Target analyte	Analytical principle	Advantages	Limitations	Reference
Total cyanide determination after chemical conversion	Colorimetric/titration/ion chromatography after enzymatic or acid hydrolysis and distillation	Total cyanide	Conversion of cyanogenic compounds to HCN/CN^-	Simple; useful for screening and regulatory assessment	No speciation; affected by conversion efficiency, HCN loss, and matrix interference	2, 10, 16, 61, 74
Chromatographic determination of cyanogenic compounds	HPLC-UV/DAD	Cyanogenic glycosides, derivatized free cyanide	Extraction, chromatographic separation, and UV/DAD detection	Accessible; suitable for major glycosides	Limited sensitivity and selectivity compared to mass spectrometry	47, 50, 54-56, 61
Multi-analyte profiling by mass spectrometry	LC-MS/MS	Cyanogenic glycosides, cyanohydrin, derivatized free cyanide	Extraction and derivatization followed by MRM[1)]-based quantification	Sensitive and selective; enables multi-analyte profiling	Requires standards, matrix-effect control, and specialized instruments	11, 12, 14, 15, 30, 34, 51, 53

[1)]MRM: Multiple reaction monitoring

예를 들어 초음파, 발효 및 숙성과 같이 효소 반응을 동반하는 공정에서는 총 시안화물 함량이 감소하더라도 중간체 또는 유리 시안화물이 일시적으로 증가할 수 있으므로, 단일 지표만으로 저감화 효과를 판단하는 데에는 한계가 있다. 따라서 향후 시안화물 저감화 연구에서는 총 시안화물 감소율뿐 아니라 개별 화합물의 조성 변화, 유리 시안화물의 잔류 수준 및 품질 지표를 함께 제시할 수 있는 표준화된 평가 체계의 구축이 필요하다.

4.2. 실제 섭취 조건을 반영한 위해성 평가 방향

시안화물의 위해성은 식품 중 함량만으로 결정되지 않으며, 실제 섭취량과 소비 형태에 따라 달라질 수 있다. 카사바는 주식으로 대량 섭취될 수 있으므로 시안화물 함량이 비교적 낮더라도 총 노출량이 증가할 수 있으며, 비터 아몬드 또는 살구 씨앗과 같은 핵과류 종자는 소량 섭취만으로도 높은 시안화물 노출에 따른 급성 위해 가능성이 제기될 수 있다[7,8,72]. 또한 매실청은 일반적으로 원액 상태보다 물에 희석하여 섭취되는 경우가 많으므로, 원액 중 시안화물 함량과 실제 섭취 시 노출 수준 사이에는 차이가 존재할 수 있다. Lee 등의 국내 매실청 시안화물 모니터링 연구에서는 가정 제조 및 유통 제품을 대상으로 시안배당체, 시아노히드린 및 유리 시안화물을 정량하고 한국인의 섭취 자료를 이용한 노출평가를 수행함으로써, 실제 소비 형태를 반영한 위해성 평가의 필요성을 제시하였다[59].

시안화물 저감화 연구에서는 단순한 시안배당체 또는 총 시안화물 감소율만으로 안전성을 평가하는 데 한계가 있다. 일부 공정에서는 시안배당체가 분해되더라도 유리 시안화물 또는 시아노히드린과 같은 중간체가 일시적으로 증가할 수 있으므로, 생성된 HCN의 제거 여부까지 함께 고려할 필요가 있다. 특히 초음파, 플라즈마, UVC 및 PEF와 같은 비열처리 기술은 세포 구조 변화와 물질 전달 촉진을 통해 시안배당체 저감에 기여할 수 있으나, 단독 공정만으로는 생성된 HCN 제거가 충분하지 않을 수 있다. 따라서 향후에는 가열, 발효, 액분리, 숙성 및 환기와 같은 후속 공정과 연계한 복합 공정 기반 접근이 필요하다.

또한 시안화물 저감화 전략은 식품 매트릭스 특성에 따라 다르게 설계될 필요가 있다. 카사바와 죽순에서는 침지 및 가열을 통한 시안화물 용출과 HCN 휘발이 중요하지만, 유지 종자류와 핵과류 종자에서는 지질 산화, 향미 변화 및 기능성 성분 손실을 함께 고려해야 한다. 매실청과 같은 당침출 식품에서는 씨앗 제거, 액분리 및 장기 숙성과 같이 시안배당체의 이동과 분해를 조절하는 공정이 중요할 수 있다. 따라서 향후 시안화물 저감화 연구에서는 총 시안화물 감소율뿐 아니라 개별 시안배당체 조성, 유리 시안화물 잔류 수준, 품질 특성 및 실제 소비 형태를 함께 반영할 수 있는 표준화된 평가 체계의 구축이 필요하다.

결론

시안화물은 카사바, 죽순, 아마씨, 비터 아몬드, 핵과류 종자 및 매실청과 같은 다양한 식품에 자연적으로 존재하며, 식품 유형과 가공 조건에 따라 잔류 형태와 위해 가능성이 달라질 수 있다. 본 논문에서는 주요 시안배당체 함유 식품의 시안화물 조성 특성, 저감화 공정 및 분석 · 위해성 평가 방향을 종합적으로 고찰하였다.

현재까지 보고된 연구를 종합하면, 카사바에서는 분쇄–침지–발효–건조 또는 가열 공정의 조합이, 죽순에서는 침지 · 가열 · 발효 공정이 효과적인 시안화물 저감 전략으로 활용되어 왔다. 또한 아마씨와 비터 아몬드와 같은 유지 종자류 및 핵과류 종자에서는 열처리와 초음파 처리가 시안화물 저감에 효과적인 것으로 보고되었으며, 매실청에서는 씨앗 제거, 액분리 및 숙성 조건 관리가 중요한 요소로 제시되었다. 최근에는 초음파, 플라즈마, UVC 및 PEF와 같은 비열처리 기술이 적용되고 있으나, 단독 공정만으로는 생성된 HCN 제거에 한계가 있을 수 있으므로 가열, 발효, 숙성 및 환기와 같은 후속 공정과 연계한 복합 공정 기반 접근이 중요할 것으로 판단된다.

또한 시안화물 저감화 전략은 식품 매트릭스 특성에 따

라 다르게 설계될 필요가 있다. 카사바와 죽순에서는 시안화물의 용출과 HCN 휘발이 중요하지만, 유지 종자류와 핵과류 종자에서는 지질 산화, 향미 변화 및 기능성 성분 손실을 함께 고려해야 한다. 매실청과 같은 당침출 식품에서는 씨앗 제거, 액분리 및 장기 숙성과 같이 시안배당체의 이동과 분해를 조절하는 공정이 중요할 수 있다. 따라서 향후 시안화물 저감화 연구에서는 총 시안화물 감소율뿐 아니라 개별 시안배당체 조성, 유리 시안화물의 잔류 수준, 생체이용률, 실제 섭취량 및 품질 특성을 함께 반영할 수 있는 표준화된 평가 체계의 구축이 필요하다. 이러한 접근은 식품 유형별 특성에 적합한 시안화물 저감 전략과 위해성 관리 체계를 마련하는 데 기여할 수 있을 것으로 사료된다.

참고 문헌

1. Schulz A, Surkau J. Main group cyanides: from hydrogen cyanide to cyanido-complexes. *Rev. Inorg. Chem.*, 43, 49-188, (2023).

2. WHO, 2012. Safety evaluation of certain food additives and contaminants. World Health Organization, Geneva, Switzerland, pp. 171-310.

3. Gleadow, R. M., Møller, B. L. Cyanogenic glycosides: synthesis, physiology, and phenotypic plasticity. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 65, 155-185, (2014).

4. Cooper, C. E., Brown, G. C. The inhibition of mitochondrial cytochrome oxidase by the gases carbon monoxide, nitric oxide, hydrogen cyanide and hydrogen sulfide. *J. Bioenerg. Biomembr.*, 40, 533-539, (2008).

5. Yulvianti, M., Zidorn, C. Chemical diversity of plant cyanogenic glycosides: an overview of reported natural products. *Molecules*, 26, 719, (2021).

6. Olaniyan, S. A., 2016. A review of cyanogenic glycosides in edible plants. In: Toxicology - New Aspects to This Scientific Conundrum. IntechOpen, London, UK, pp. 180-184.

7. Schrenk, D., Bignami, M., Bodin, L., Chipman, J. K., del Mazo, J., Schwerdtle, T. Evaluation of the health risks related to the presence of cyanogenic glycosides in foods other than raw apricot kernels. *EFSA Journal*, 17, e05662, (2019).

8. EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). Acute health risks related to the presence of cyanogenic glycosides in raw apricot kernels and products derived from raw apricot kernels. *EFSA Journal*, 14, e04424, (2016).

9. Abraham, K., Buhrke, T., Lampen, A. Bioavailability of cyanide after consumption of a single meal of foods containing high levels of cyanogenic glycosides: a crossover study in humans. *Arch. Toxicol.*, 90, 559-574, (2016).

10. Cressey, P., Reeve, J. Metabolism of cyanogenic glycosides: a review. Food Chem. *Toxicol.*, 125, 225-232, (2019).

11. Zhao, Y., Chen, Q., Zhong, Y., Lu, B. A review of recent advances in chromatographic quantification methods for cyanogenic glycosides. *Molecules*, 29, 4801, (2024).

12. Zhong, Y., Xu, T., Chen, Q., Li, K., Zhang, Z., Song, H., Wang, M., Wu, X., Lu, B. Development and validation of eight cyanogenic glucosides via UHPLC-MS/MS in agri-food. *Food Chem.*, 331, 127305, (2020).

13. Gruhnert, C., Biehl, B., Selmar, D. Compartmentation of cyanogenic glucosides and their degrading enzymes. *Planta*, 195, 36-42, (1994).

14. Kasote, D. M., Lei, Z., Kranawetter, C. D., Conway-Anderson, A., Sumner, B. W., Sumner, L. W. A novel UHPLC-MS/MS based method for isomeric separation and quantitative determination of cyanogenic glycosides in American elderberry. *Metabolites*, 14, 360, (2024).

15. Doria, E., Lerno, L., Chen, M. A., Lee, J., Huang, G., Mitchell, A. E. Novel UHPLC-(+ESI)-MS/MS method for determining amygdalin, prunasin and total cyanide in almond kernels and hulls. *J. Agric. Food Chem.*, 73, 5500-5510, (2025).

16. Ministry of Food and Drug Safety, (2026, May 14). Understanding Hazardous Substances: "Cyanide Compounds". Retrieved from https://www.foodsafetykorea.go.kr/portal/board/boardDetail.do?bbs_no=bbs001&menu_grp=MENU_NEW01&menu_no=3120&ntctxt_no=1073855&utm_source=chatgpt.com

17. Ministry of Health, Labour and Welfare. (2026, May 14). Regarding handling of foods containing cyanide compounds. Retrieved from https://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisakujouh%20ou-11130500-Shokuhinanzenbu/0000183546.pdf

18. Codex Alimentarius Commission. Standard for edible cassava flour. CXS 176-1989.

19. European Commission. Regulation (EC) No 1334/2008 on flavourings and certain food ingredients with flavouring properties for use in and on foods. 2008.

20. World Health Organization (WHO). (2012). Cyanogenic glycosides. In Safety evaluation of certain food additives and contaminants. 74th Meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (WHO Food Additives Series 65).

21. Nyirenda, K. K., 2020. Toxicity potential of cyanogenic glycosides in edible plants. Medical toxicology, IntechOpen. London, UK, pp. 191-204.

22. Moses, R. J., Edo, G. I., Jikah, A. N., Emakpor, O. L., Agbo, J. J. Cassava consumption and the risk from cyanide poisoning. *Vegetos*, 38(5), 1713-1724, (2025).

23. Montagnac, J. A., Davis, C. R., Tanumihardjo, S. A. Processing techniques to reduce toxicity and antinutrients of cassava for use as a staple food. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, 8, 17-27, (2009).

24. Padmaja, G., Steinkraus, K. H. Cyanide detoxification in cassava for food and feed uses. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 35, 299-339, (1995).

25. Nambisan, B. Strategies for elimination of cyanogens from cassava for reducing toxicity and improving food safety. *Food Chem. Toxicol.*, 49, 690-693, (2011).

26. Kolind-Hansen, L., Brimer, L. The retail market for fresh cassava root tubers in the European Union (EU): the case of Copenhagen, Denmark - a chemical food safety issue? *J. Sci. Food Agric.*, 90, 252-256, (2010).

27. Burns, A. E., Bradbury, J. H., Cavagnaro, T. R., Gleadow, R. M. Total cyanide content of cassava food products in Australia. *J. Food Compos. Anal.*, 25, 79-82, (2012).

28. Cardoso, A. P., Mirione, E., Ernesto, M., Massaza, F., Cliff, J., Haque, M. R., Bradbury, J. H. Processing of cassava roots to remove cyanogens. *J. Food Compos. Anal.*, 18, 451-460, (2005).

29. Forkum, A. T., Wung, A. E., Kelese, M. T., Ndum, C. M., Lontum, A., Kamga, E. B., Okwen, P. M. Safety of cassava and cassava-based products: a systematic review. *Front. Sustain. Food Syst.*, 9, 1497609, (2025).

30. Ernesto, M., Cardoso, A. P., Cliff, J., Bradbury, J. H. Cyanogens in cassava flour and roots and urinary thiocyanate concentration in Mozambique. *J. Food Compos. Anal.*, 13, 1-12, (2000).

31. Cardoso, A. P., Ernesto, M., Nicala, D., Mirione, E., Chavane, L., N'zwalo, H., Bradbury, J. H. Combination of cassava flour cyanide and urinary thiocyanate measurements of school children in Mozambique. *Int. J. Food Sci. Nutr.*, 55, 183-190, (2004).

32. Adindu, M. N., Olayemi, F. F., Nze-Dike, O. U. Cyanogenic potential of some cassava products in Port Harcourt markets in Nigeria. *J. Food Compos. Anal.*, 16, 21-24, (2003).

33. Onabolu, A. O., Oluwole, O. S. A., Bokanga, M. Loss of residual cyanogens in a cassava food during short-term storage. *Int. J. Food Sci. Nutr.*, 53, 343-349, (2002).

34. Ndam, Y. N., Mounjouenpou, P., Kansci, G., Kenfack, M. J., Meguia, M. P. F., Eyenga, N. S. N. N., Nyegue, A. Influence of cultivars and processing methods on the cyanide contents of cassava and its traditional food products. *Sci. Afr.*, 5, e00119, (2019).

35. Indrastuti, E., Estiasih, T., Zubaidah, E., Harijono. Physicochemical characteristics and in vitro starch digestibility of spontaneously combined submerged and solid-state fermented cassava flour. *Curr. Nutr. Food Sci.*, 15, 725-734, (2019).

36. Bamidele, O. P. Effects of natural fermentation time on chemical composition, antioxidant activities, and phenolic profile of cassava root flour. *Appl. Sci.*, 15, 8494, (2025).

37. Chongtham, N., Bisht, M. S., Premlata, T., Bajwa, H. K., Sharma, V., Santosh, O. Quality improvement of bamboo shoots by removal of antinutrients using processing techniques. *J. Food Sci. Technol.*, 58, 1-12, (2021).

38. Chongtham, N., Bisht, M. S., Haorongbam, S. Processing techniques for reduction of cyanogenic glycosides from bamboo shoots. *J. Pharmacogn. Phytochem.*, 9, 1521-1527, (2020).

39. Ferreira, V. L. P., Yotsuyanagi, K., Carvalho, C. R.

L. Elimination of cyanogenic compounds from bamboo shoots *Dendrocalamus giganteus* Munro. Trop. Sci., 35, 342–346, (1995).

40. Niyogi, A., Bhattacharyya, S., Pal, S., Mukherjee, S., Ghosh, A. Uncovering taxiphyllin in bamboo shoots: analytical characterization and processing implications. *Food Chem.*, 496, 145092, (2025).

41. Pattarathitiwat, P., Chinvongamorn, C., Sansenya, S. Evaluation of cyanide content, volatile compounds profile, and biological properties of fresh and boiled sliced Thai bamboo shoot (*Dendrocalamus asper* Back.). *Prev. Nutr. Food Sci.*, 26, 92–100, (2021).

42. Singhal, P., Satya, S., Naik, S. N. Effect of different drying techniques on the nutritional, antioxidant and cyanogenic profile of bamboo shoots. *Appl. Food Res.*, 2, 100036, (2022).

43. Sang-A-Gad, P., Guharat, S., Wananukul, W. A mass cyanide poisoning from pickling bamboo shoots. *Clin. Toxicol.*, 49, 834–839, (2011).

44. Cressey, P., Saunders, D., Goodman, J. Cyanogenic glycosides in plant-based foods available in New Zealand. *Food Addit. Contam. Part A*, 30, 1946–1953, (2013).

45. Feng, D., Shen, Y., Chavez, E. R. Effectiveness of different processing methods in reducing hydrogen cyanide content of flaxseed. *J. Sci. Food Agric.*, 83, 836–841, (2003).

46. Imran, M., Anjum, F. M., Butt, M. S., Siddiq, M. Reduction of cyanogenic compounds in flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) meal using thermal treatment. *Int. J. Food Prop.*, 16, 1809–1818, (2013).

47. Li, X., Li, J., Dong, S., Li, Y., Wei, L., Zhao, C., Wang, Y. Effects of germination on tocopherol, secoisolariciresinol diglucoside, cyanogenic glycosides and antioxidant activities in flaxseed (*Linum usitatissimum* L.). *Int. J. Food Sci. Technol.*, 54, 2346–2354, (2019).

48. Wu, M., Li, D., Wang, L. J., Zhou, Y. G., Brooks, M. S. L., Chen, X. D., Mao, Z. H. Extrusion detoxification technique on flaxseed by uniform design optimization. *Sep. Purif. Technol.*, 61, 51–59, (2008).

49. Dzuvor, C. K. O., Taylor, J. T., Acquah, C., Pan, S., Agyei, D. Bioprocessing of functional ingredients from flaxseed. *Molecules*, 23, 2444, (2018).

50. Bolarinwa, I. F., Orfila, C., Morgan, M. R. A. Amygdalin content of seeds, kernels and food products commercially available in the UK. *Food Chem.*, 152, 133–139, (2014).

51. Lee, J., Zhang, G., Wood, E., Rogel Castillo, C., Mitchell, A. E. Quantification of amygdalin in nonbitter, semibitter, and bitter almonds (*Prunus dulcis*) by UHPLC-(ESI)QqQ MS/MS. *J. Agric. Food Chem.*, 61, 7754–7759, (2013).

52. Zhang, L., Zhao, M., Chen, J., Wang, M., Yu, X. Reduction of cyanide content of bitter almond and its oil using different treatments. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 54, 3083–3090, (2019).

53. Sheikh, M. A., Saini, C. S., Sharma, H. K. Synergistic effect of microwave heating and hydrothermal treatment on cyanogenic glycosides and bioactive compounds of plum kernels. *Curr. Res. Food Sci.*, 5, 65–72, (2022).

54. Bae, S. Y., Jang, C. M., Park, S. W., Lee, H., Lee, J., Lee, K. W., Kim, H. S. Cyanogenic glycoside content and quality characteristic of Maesil (*Prunus mume*) Chung according to its preparation conditions. *Food Eng. Prog.*, 27, 342–352, (2023).

55. Choi, H. W., Kim, H. S. Amygdalin and quality characteristics of Maesil Chung by different cultivars of Maesil (*Prunus mume*). *Food Eng. Prog.*, 24, 285–291, (2020).

56. Cho, J. W., Kim, B. Y., Choi, S. J., Jeong, J. B., Kim, H. S. Change in amygdalin contents of Maesil (*Prunus mume*) wine according to preparation steps and its characteristics. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 51, 42–47, (2019).

57. Kim, H. R., Kim, I. D., Dhungana, S. K., Kim, M. O., Shin, D. H. Comparative assessment of physicochemical properties of unripe peach (*Prunus persica*) and Japanese apricot (*Prunus mume*). *Asian Pac. J. Trop. Biomed.*, 4, 97–103, (2014).

58. Son, S. J., Jeong, Y. J., Kim, S. Y., Choi, J. H., Kim, N. Y., Lee, H. S., Han, J. S. Analysis of amygdalin content of *Prunus mume* by variety, harvest time, and fermentation conditions. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 46, 721–729, (2017).

59. Lee, H., Cho, S. Y., Kim, Y. K., Kim, H. S., Mitchell, A. E., Chun, H. S., Lee, K. W., Lee, J. Quantification of amygdalin, prunasin, mandelonitrile, and free

cyanide in homemade and commercial *Prunus mume* syrups using UHPLC-(ESI)QqQ-MS/MS and their dietary risk assessment. *Food Chem.*, 148175, (2026).

60. Go, M. R., Kim, H. J., Yu, J., Choi, S. J. Toxicity and toxicokinetics of amygdalin in Maesil (*Prunus mume*) syrup: protective effect of Maesil against amygdalin toxicity. *J. Agric. Food Chem.*, 66, 11432-11440, (2018).

61. Cho, S. Y., Ko, H. R., Kim, H. S., Kim, Y. K., Lee, K. W. Cyanide profiling in stone fruit syrups: a comparative study of distillation techniques, a novel derivatization method, and cyanide composition in Maesil (*Prunus mume*) syrup. *Food Chem.*, 463, 141200, (2025).

62. Ramalingam, S., Kumar, V., Bahuguna, A., Lee, J. S., Kim, M. The effect of one-year fermentation of Maesil fruit (*Prunus mume*) sugar syrup on amygdalin level: a natural toxic compound. *Foods*, 13, 2609, (2024).

63. Ko, H. R., Cho, S. Y., Kim, H. S., Lee, H., Lee, J., Lee, K. W. Comprehensive approaches for mitigation of total cyanide in Maesil (*Prunus mume*) syrup: a stone fruit-derived product. *Food Sci. Biotechnol.*, 35, 1283-1295, (2026).

64. Chaouali, N., Gana, I., Dorra, A., Khelifi, F., Nouioui, A., Masri, W., Hedhili, A. Potential toxic levels of cyanide in almonds (*Prunus amygdalus*), apricot kernels (*Prunus armeniaca*), and almond syrup. *Int. Sch. Res. Notices*, 2013, 610648, (2013).

65. Choi, B., Koh, E. Changes in the antioxidant capacity and phenolic compounds of Maesil extract during one-year fermentation. *Food Sci. Biotechnol.*, 26, 89-95, (2017).

66. Zhong, Y., Xu, T., Chen, Q., Li, K., Zhang, Z., Song, H., Wang, M., Wu, X., Lu, B. Effect of ultrasonic pretreatment on eliminating cyanogenic glycosides and hydrogen cyanide in cassava. *Ultrason. Sonochem.*, 78, 105742, (2021).

67. Priya, S., Gogate, P. R. Ultrasound-assisted intensification of beta-glucosidase enzyme activity in free and immobilized forms. *Ultrason. Sonochem.*, 88, 106097, (2022).

68. Kim, H. J., Go, M. R., Yu, J., Hwang, J. S., Choi, H. W., Kim, H. S., Choi, S. J. Toxicokinetics and oral toxicity of Maesil-cheongs with reduced amygdalin levels. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 50, 629-635, (2018).

69. Tchonkouang, R. D., Lima, A. R., Quintino, A. C., Cristofoli, N. L., Vieira, M. C. UV-C light: A promising preservation technology for vegetable-based nonsolid food products. *Foods*, 12(17), 3227, (2023).

70. Pankaj, S. K., Wan, Z., Keener, K. M. Effects of cold plasma on food quality: A review. *Foods*, 7(1), 4, (2018).

71. Wang, L. H., Yan, B., Tang, D., Zeng, X. A. Quality enhancement and time reduction in soaking green plum wine using pulsed electric field. *J. Food Eng.*, 372, 112004, (2024).

72. European Commission. Regulation (EC) No 1334/2008 on flavourings and certain food ingredients with flavouring properties for use in and on foods. *Off. J. Eur. Union*, L354, 34-50, (2008).

73. Giantin, S., Franzin, A., Brusa, F., Montemurro, V., Bozzetta, E., Caprai, E., Nebbia, C. Overview of cyanide poisoning in cattle from *Sorghum halepense* and *S. bicolor* cultivars in Northwest Italy. *Animals*, 14, 743, (2024).

74. Cho, H. J., Do, B. K., Shim, S. M., Kwon, H., Lee, D. H., Nah, A. H., Lee, S. Y. Determination of cyanogenic compounds in edible plants by ion chromatography. *Toxicol. Res.*, 29, 143-147, (2013).

75. Food Standards Australia New Zealand, 2014. Survey of cyanogenic glycosides in plant-based foods in Australia and New Zealand 2010-13. FSANZ, Canberra, Australia, pp. 1-78.

76. Thaweewong, P., Anuntagool, J., Chotineeranat, S. Removal of free cyanide in dry-milled cassava flour using atmospheric nonthermal plasma treatment. *LWT-Food Sci. Technol.*, 179, 114662, (2023).