

High Performance Liquid Chromatography에 의한 사과주스의 유기산 분석

황혜정[†] · 김성수* · 윤광로

중앙대학교 식품공학과
*한국식품개발연구원

Analysis of Organic Acid in Korean Apple Juice by High Performance Liquid Chromatography

Hea-Jeung Whang[†], Sung-Soo Kim* and Kwang-Ro Yoon

Dept. of Food Science and Technol., Chung-Ang University, Ansong 456-756, Korea
*Korea Food Research Institute, Seongnam 463-420, Korea

Abstract

The contents of organic acid in Korean apple juice were analyzed by HPLC using YMC-pack ODS-AQ column and enzymatic assay. Model apple juices were prepared at the laboratory and commercial apple juices were purchased from the market. Individual organic acid contents were as follows: DL-malic acid 62~402 mg%, L-malic acid 48~360 mg%, citric acid 1.81~15.74 mg%, fumaric acid nd~0.50 mg%. Together, these tests gave useful information about the quality and authenticity of a particular apple juice sample. The presence of D-malic acid was a clear indication of adulteration because this isomer did not occur naturally. Fumaric acid and citric acid levels above trace amounts were also inconsistent with pure apple juice.

Key words: HPLC, enzymatic assay, organic acid, apple juice, authenticity

서 론

사과는 유럽과 서아시아 지방이 원산지로서 우리나라에 는 옛날부터 능금(*M. asiatica*)으로 재배되어 왔으나, 지금부터 약 300년 전에 사과라고 부르는 능금보다 훨씬 큰 과실이 중국으로부터 전래되었다(1). 대부분의 사과는 생 과로 이용되어 왔으나, 70년대 이후 과즙음료에 대한 선호도가 커짐에 따라 주스 원료로서 소비량이 꾸준히 늘고 있다. 최근 식생활 패턴이 서구화되는 경향에 따라 많은 서구형 식품들이 일상적으로 식단에 오르고 있으며, 특히 오렌지 주스나 사과주스를 비롯한 천연과즙 음료들은 청량음료의 범주를 벗어나 주식단의 한 부분을 점유하고 있다. 이러한 과일주스에 대한 기호가 커지면서 최근에는 한국인의 입맛에 잘 어울리는 사과주스의 소비량이 늘고 있다. 또 소량이지만 미국과 일본으로 사과나 사과주스 원액이 수출되어 좋은 평가를 받은 바 있다.

서구에서는 19세기 중반부터 과일주스의 품질평가와 불량화 검출을 위한 기초분석이 많이 이루어져 왔다. 순수한 과일주스에 값싼 다른 과일주스를 섞거나, 산 또는 당 등을 혼합하여 100% 주스로 위장하는 부정화(adul-

teration)가 자주 문제시 되어왔으며, 이를 검출하기 위한 수단으로 성분 분석치를 활용하고 있다. 독일에서는 순수한 과일주스에 대한 최대한의 성분규격치인 RSK value를 제시하여 부정화를 방지하고 있다(2,3). 사과주스의 부정화 지표물질로는 당의 종류(4), 당비율(5), SIRA(carbon stable isotope ratio analysis)(6), polyphenol(7), chlorogenic acid(8), 유기산(9), sorbitol과 proline(10) 그리고 무기질(11) 등이 포함되어 있다.

한국산 사과 또는 사과 가공품에 관한 식품학적 연구는 주로 가공(12,13) 또는 저장(14,15)에 관한 것이 대부분이다. 이화학적 성분의 분석치를 포함한 검정지표에 관한 연구는 사과 중의 무기질(16,17), 페놀계 물질(18), 유기산(19), 유리당(20,21)에 관하여 품종별, 지역별로 체계적인 연구를 통하여 함량을 비교하였다. 이러한 연구 자료들은 한국산 사과주스의 품질을 객관적으로 평가하는 척도가 되기도 하고 사과주스의 소비량이 증가함에 따라 생길 수 있는 변조된 제품의 감시 수단으로서 역할을 할 수 있을 것으로 기대되고 있으나, 진품여부를 검정할 수 있는 변조지표 설정에 관한 연구는 좀 더 진행되어야 할 것으로 판단된다.

[†]To whom all correspondence should be addressed

현재까지 사과주스에 관한 연구는 가공과정이나 기초적인 분석치에 관한 기본적인 연구일 뿐 제품에 대한 평가 정도의 변조검정 지표에 관한 연구가 미흡하므로 이에 관련된 연구가 필요하다고 여겨진다. 본 연구는 한국산 사과주스의 변조검정 지표로서 유기산의 활용 가능성을 알아보고자 하였다. 일정한 방법으로 제조한 모델주스와 국내산 시판 사과주스의 유기산과 L-malic acid 함량을 분리하여 그 함량이나 분포를 제품의 평가 척도로서 비교하였다.

재료 및 방법

재료

시판 사과주스는 제조일이 유사한 천연과즙 100%로 표시된 혼탁주스 6개 제품과 청징주스 1개 제품 그리고 천연과즙 회색음료 30%로 표시된 3개 제품을 1997년 4월부터 10월에 걸쳐 수집하였으며, 서울과 경기도 분당의 5개구에 걸쳐 슈퍼마켓 및 가게에서 무작위로 구입하여 시료로 사용하였다(Table 1).

모델주스는 충남 예산에서 1997년 재배된 부산품종을 원료로 사용하였으며, 현재 국내에서 시판되고 있는 100% 천연 사과주스 공정(21)을 응용하여 처리하였다. 사과 10 kg을 흐르는 물에 충분히 세척한 후 이등분으로 세절하여 주스기로 착즙하였다. 착즙시키는 동안 산화에 의한 갈색화를 방지하기 위하여 주스에 ascorbic acid의 최종 농도가 20~30 mg% 정도 함유하게 하였다. 착즙된 주스는 5겹의 거즈여과포로 여과하여 품온이 65°C가 될 때까지 가열하여 혼탁주스와 청징주스를 다음과 같이 각각 제조하였다.

혼탁주스는 위와 같이 열처리한 주스의 1/2를 균질기로 13,500 rpm에서 5분간 처리하였다. 이렇게 균질화된 주스는 90°C에서 15초간 살균하여 병입한 후 냉각시켰다. 한편 청징주스는 열처리한 나머지 주스를 pectinase 50

ppm을 첨가하여 60°C에서 30분간 청징화한 다음 80°C로 온도를 높여 첨가된 효소를 불활성화시켰다. 청징된 주스는 0.45 µm filter로 여과하였으며, 여과된 주스는 다시 90°C에서 15초간 열처리한 즉시 병입하여 냉각시켰다. 위와 같은 공정을 기본으로 모델주스를 제조하였으며, 상기의 제조과정 중 한가지 방법의 조건을 변형시켜서 제조하거나 제조한 100% 모델주스를 60°Brix까지 60°C에서 농축한 다음 다시 증류수로 환원시켜 농축환원주스를 제조하였다. 실험실에서 처리하여 제조한 표준시료들은 Table 2와 같다.

시약 및 기기

표준품 citric acid, DL-malic acid, fumaric acid는 Sigma(USA)에서 구입하였다. L-malic acid정량을 위한 효소정량 kit는 Boeringer Mannheim(Germany)의 Lebensmittelanalytik Food Analysis UV-test(UV method) kit를 사용하였다. 전처리용 microcolumn인 C₁₈ Sep-pak[®] cartridge는 Water[™] Millipore(USA)에서 구입하였다. 용매는 phosphoric acid(Sigma, USA)와 water(Baker, USA) 그리고 methanol(Baker, USA)을 HPLC급으로 사용하였다. 그 밖의 모든 일반시약은 일급 이상의 것을 사용하였으며 증류수는 5차 정제수를 사용하였다.

사용한 기기는 spectrophotometer(Hitachi U-3200, Japan), high performance liquid chromatography(Gilson 305, France), UV-visible variable detector(Gilson 119, USA), rotary evaporator(Büchi RE 121, Switzerland), high power homogenizer(Janke & Kunkel D-2300 Kiel, Germany)와 탄산가스 주입기(2AHM & Nagel, USA) 그리고 Juicer(Santos, France)이었다.

시료의 전처리

전처리는 Coppola(22)의 방법을 응용하여 Sep-pak[®]

Table 1. Commercial apple juices used for analysis

Samples	Juices	Labeled additives
A	100%, cloudy, A	Vit. C, apple essence, fructose, citric acid
B	100%, cloudy, A	Vit. C, polydextrose, fructose, citric acid, Ca ⁺ -whey powder
C	100%, cloudy, A	Vit. C, apple flavor, fructose, citric acid,
D	100%, cloudy, B	Vit. C, apple essence, fructose
E	100%, cloudy, C	Vit. C, apple flavor, fructose
F	100%, cloudy, D	DL-Malic acid, fructose, Apple flavor
G	100%, clear, B	Apple flavor, vit. C
H	30%, fruit, A	Fructose, sucrose, apple essence
I	30%, fruit, B	Fructose, sucrose, malic acid
J	30%, fruit, D	Vit. C, fructose, malic acid

Table 2. Model juices used for analysis

Samples	Types	Treatments
a		Concentrated
b		-
c	Cloudy	-
d		-
e		Not added of vit. c
f		LTLT ¹⁾ (65°C, 30 min)
g		Concentrated
h		-
i		-
j	Clear	-
k		Enzyme clarification(100 ppm, 60°C, 30 min)
l		Microfiltration (0.24 µm)
m		Not added of vit. c
n		LTLT ¹⁾ (65°C, 30 min)

¹⁾Low temperature long time pasteurization

C₁₈ 카트리지를 사용하였다. 증류수 1 mL와 메탄올 1 mL을 순차적으로 통과시켜 활성화시킨 후, 시료 용액 1 mL를 주입하고 증류수 1 mL를 통과시켜 여액을 받아 0.45 µm membrane filter로 여과하여 HPLC에 20 µL씩 주입하였다.

HPLC에 의한 분석

Lin과 Huang(23)의 방법을 응용하여 유기산 성분을 HPLC로 분리하였다. 사용된 컬럼은 YMC-pack ODS-AQ column(USA, 250×4.6 mm)으로 분리하였으며 컬럼의 온도는 30°C이었다. 이동상은 20 mM H₂PO₄-NaH₂PO₄ (pH 2.8)를 이용하여 0.7 mL/min로 흘려 보냈다. 시료의 일회 주입량은 20 µL이었으며, UV detector를 사용하여 220 nm에서 검출하였다. 표준품 DL-malic acid와 citric acid는 각각 증류수에 녹여 1% 용액을 만들어 냉장고에 보관하였다가 실험하기 전에 0.1 g/100 mL로 10배 희석하여 HPLC에 주입하였다. 그리고 fumaric acid는 1% 표준용액을 0.001 g/100 mL로 희석하여 주입하였다.

효소정량 kit를 이용한 L-malic acid 정량

L-malic acid는 Evans 등(24)과 같은 방법으로 효소정량(UV-method) kit의 사용법에 지시된 방법에 따라 정량하였다. 그리고 냉장 보관되었던 시약은 실온으로 한 다음 사용하였다. 주스시료는 20배 희석한 후 pH 10으로 조정하여 실온에서 30분간 방치한 다음 membrane filter (0.45 µm)로 여과하였다. 여과된 용액은 일회용 plastic 큐벳(1×1×4.5 cm, ratiolab[®])에 담아 UV 340 nm에서 흡광도를 측정하였으며, L-malic acid의 함량은 다음식에 의하여 계산하였다.

회수율은 사과주스 500 µL에 표준품 L-malic acid를 500 µL(0.201 g/L)를 첨가하여 3회 반복 측정된 결과, 평균 102%이었다. Gorin(25)의 경우 회수율이 97~103%라고 보고한 바 있다. 이와 유사한 결과를 얻었으나 분석결과에는 반영하지 않았다.

$$L\text{-malic acid (g/L)} = \frac{V \times F \times M.W. \times \Delta A}{\epsilon \times d \times v \times 1000}$$

V = final volume (mL)

v = sample volume (mL)

M.W. = molecular weight of L-malic acid (g/mol)

d = light path (cm)

ϵ = absorption coefficient of NADH at 340nm = 6.3(1×nmol⁻¹×cm⁻¹)

ΔA = $\Delta A_{\text{sample}} - \Delta A_{\text{blank}}$ (g/L)

F = sample dilution factor

통계처리

모든 분석은 3회 이상 반복 측정된 다음 평균값으로

표기하였다.

결과 및 고찰

크로마토그램과 검량곡선

유기산을 분석하는데 주로 적정법(25), 효소정량법(25), TLC(26), GC(27,28)와 HPLC(29,30) 등이 알려져 있다. 한때 널리 이용되던 GC(27,28)는 과정이 복잡하고 많은 시간이 소요되는 단점이 있으므로 Sep-pak[®] C₁₈ 카트리지를 이용하여 신속하게 정량할 수 있는 HPLC(29,30)를 이용하였다. Evans 등(24)은 Bio-rad HPX-87이온컬럼을 이용하여 citric acid, malic acid, fumaric acid를 분리하였으며, Coppola(22)와 Zyren과 Elkins(31)는 다양한 C₁₈역상컬럼으로 DL-malic acid와 fumaric acid를 분리하였다.

본 연구에서는 유기산 표준품을 HPLC로 분리하였으며, 각각의 머무른 시간, t_R은 DL-malic acid 6.81분, citric acid 11.30분, fumaric acid 12.49분이었다. 유기산 표준품의 검량곡선을 작성한 결과 DL-malic acid와 citric acid는 0.25~2 mg/mL 범위에서 r²=0.99 이상의 직선상을 보였으며, fumaric acid는 2.5~10 µg/mL 범위에서 r²=0.99 이상의 직선상을 보였다(Fig. 1). 신호 대 잡음비(S/N)=2를 기준으로 검출한계를 구한 결과 2.5 µg/mL 이상이었으며, 재현성(상대편차)은 3.56~9.55%이었다.

사과주스의 유기산 함량

사과에 존재하는 유기산은 L-malic acid가 대부분으로 그밖에 미량 존재하는 quinic acid, succinic acid, fumaric acid 그리고 citric acid 등이 어우러져 독특한 풍미를 내고 있다(3). 또 맛과 안정성에 중요한 영향을 미치는 성분으로 과일마다 독특한 패턴으로 분포되어 있기 때문에 과일주스의 검정지표로 활용되고 있다(32). 사과주스는 사과에 천연적으로 존재하는 L-malic acid 대신 값싼 합성 DL-malic acid를 첨가하거나 포도주스, 배주스 등의 혼합으로 100% 사과주스로 위장할 수 있다. 이와 관련하여 DL-malic acid와 fumaric acid 그리고 citric acid를 분리하고, DL-malic acid 중의 L-malic acid 함량을 비교하고자 하였다.

일정한 방법으로 제조한 14개 100% 모델주스와 10개 시판 사과주스의 유기산 함량은 Table 3에서 보는 바와 같다. 국내산 시판 사과주스의 경우 DL-malic acid는 62~402 mg%, citric acid 8.26~158.10 mg%, fumaric acid nd~0.50 mg%이었으며, 제조된 모델 사과주스의 경우에는 DL-malic acid는 210~285 mg%, citric acid 2.21~3.94 mg%, fumaric acid nd~0.06 mg%이었다. 사과 중의 총 유기산 함량의 약 71~94%를 차지하고 있는 DL-malic acid(25)가 본 연구의 사과주스에서도 Fig. 2와

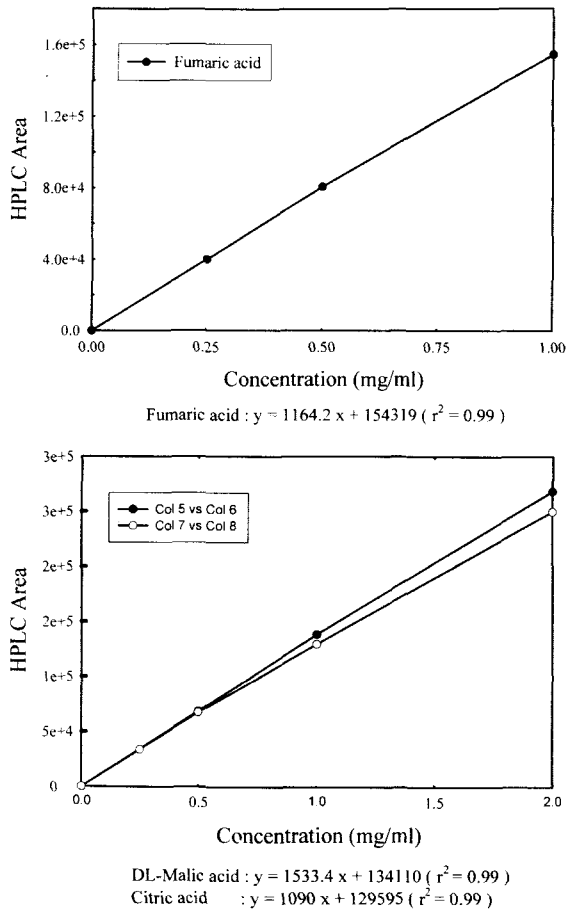


Fig. 1. Calibration curves.
y: HPLC area, x: Concentration

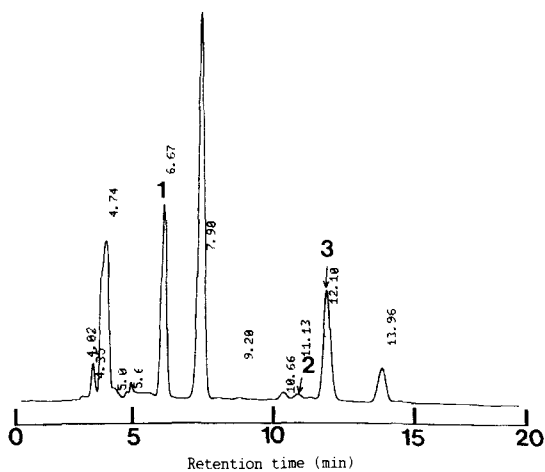


Fig. 2. HPLC separation of organic acid in apple juice.
Peak No. 1: DL-Malic acid, 2: Citric acid, 3: Fumaric acid.

Table 3에서 보는 바와 같이 DL-malic acid가 주종을 이루고 citric acid와 fumaric acid가 미량 존재하였다.

Table 3. The contents of the organic acid in apple juice by HPLC (unit: mg%)

Samples	DL-Malic acid	Citric acid	Fumaric acid		
Commercial juice	A	262	57.20	0.08	
	B	267	151.90	0.08	
	Cloudy	C	302	16.80	0.50
		D	370	13.60	0.02
		E	402	8.90	0.07
	Clear	F	310	9.75	nd ¹⁾
		G	315	8.26	0.03
	30%, Fruit	H	85	122.70	0.50
		I	62	87.20	0.01
		J	64	158.10	0.28
Model juice		a	246	2.21	0.02
		b	242	3.94	0.01
		Cloudy	c	244	2.94
	d		254	3.11	0.02
	e		244	3.11	0.02
	f	277	3.94	0.01	
Clear	g	285	2.86	nd	
	h	244	3.01	0.01	
	i	254	3.84	0.02	
	j	268	2.21	0.02	
	k	270	2.41	0.02	
	l	210	3.36	0.01	
m	227	2.54	0.06		
n	230	3.10	0.01		

¹⁾Not detected.

DL malic acid함량은 Do(19)의 경우 국내산 시판 사과 주스에서 315~414 mg/100 mL, 모델 사과주스는 232~247 mg/100 mL, 사과는 251~667 mg/100 mL이었다. 본 연구결과와 다소 차이가 있으나, 외국의 보고에 따르면 시판 사과주스의 DL-malic acid함량은 545~760 mg/100 mL(9)과 285~544 mg/100 mL(31) 그리고 220~900 mg/100 mL(24)로서 한국산 사과주스보다 그 범위가 큰 경향을 알 수 있다. 이는 원료의 품종, 속도, 주스 제조방법, 유기산의 정량방법 등에 의한 차이로 여겨진다. 시판 사과주스 중 DL-malic acid가 첨가된 E제품은 본 연구에서 402 mg%로 비교적 다른 주스보다 높게 나타났다. 그러나 이미 서술한 것과 같이 주종을 이루고 있는 유기산이므로 단순히 malic acid 함량 측정으로는 DL-malic acid의 첨가여부를 쉽게 판단하기는 어렵다.

합성된 DL-malic acid에는 부산물로 fumaric acid가 소량 섞이기 때문에 fumaric acid를 정확히 정량함으로써 DL-malic acid의 첨가여부를 해결할 수 있다(33). Junge와 Spardinger(34)는 순수한 사과주스에 0.3 mg/100 mL 이상 존재하지 않았다고 보고하였으며, Evans 등(24)은 제조과정 중 품온이 100°C에서 3시간 정도 유지되면 1 mg/100 mL나 형성된다고 하였다. 본 연구에서는 사과주스의 fumaric acid 함량이 모두 1 mg% 이하 검출되었으며 DL-malic acid가 첨가된 E제품의 경우에도 0.3 mg% 이하로

검출되었다. 이는 첨가된 양이 소량이므로 검출되지 않은 것으로 여겨진다. Do(19)는 시판 사과주스 6개 제품에서 1개 제품 이외의 모든 주스에서 fumaric acid가 0.1 mg% 이하이었으며, 한국산 사과의 경우에도 0.008~0.076 mg%로 보고한 바 있다.

사과 중에 citric acid의 평균 함량이 0.5 g/L 정도로 낮기 때문에 만약 사과주스 중에 citric acid를 첨가한다면 쉽게 불량화를 검출할 수 있으므로 fumaric acid와 함께 citric acid는 검정지표로서 중요한 의의를 갖는다(23). Evans 등(24)은 citric acid가 순수한 사과주스에서는 10~20 mg/100 mL 이상 존재하지 않으며 유럽에서는 최고 40 mg/100 mL까지 허용된다고 보고하고 있다. Bielig 등(2)은 순수한 사과주스의 최대 허용치로서 35 mg/100 mL를 제시하였다. Do(19)는 한국산 사과는 평균 5.54 mg%, 모델주스는 평균 14.9 mg%로 citric acid 함량이 20 mg/100 mL 이하이었다. 그러나 시판되고 있는 사과주스 중 5개 제품은 citric acid가 40 mg/100 mL 이상 검출되었고, 그 중에서 citric acid가 첨가된 2개 제품은 150 mg/100 mL 이상이었다. 본 연구의 대부분 사과주스에서 citric acid가 10 mg% 이하이었으나, 시판 사과주스 A와 I 제품은 40 mg% 이상 그리고 B, H, J 제품은 120 mg% 이상이었다.

DL-malic acid와 L-malic acid 함량 비교

최근 연구에 의하면 L-malic acid와 D-malic acid를 HPLC(35)나 GC(36)로 직접 분리하였으나 현재 국내의 여건을 감안하여 사과주스 중의 L-malic acid 함량을 효소적 정량법으로 측정하였으며, HPLC로 측정된 DL-malic acid 함량과 비교하였다(Table 4). 그 결과 L-malic acid 함량은 시판 사과주스에서 48~360 mg%이었으며, 모델주스의 경우 222~268 mg%이었다. HPLC에 의한 DL-malic acid 함량이 효소적 정량법에 의한 L-malic acid 함량보다 대부분 높게 나타났으나 일부 낮은 값을 나타내었다. 이는 Do(19)의 경우 모든 주스에서 L-malic acid 함량이 더 낮은 수치를 갖는다는 보고와 차이가 있으나 HPLC 조건에 따른 분석방법 또는 효소적 정량법의 회수율 차이에 의한 것으로 여겨진다. 대부분 시판 사과주스에서 DL-malic acid와 L-malic acid의 함량차가 30 mg/100 mL 이하로, Evans 등(24) 그리고 Junge와 Spardinger(34)가 제시한 함량보다 작았으나 DL-malic acid가 첨가된 시판 주스 E 제품에서 함량차가 42 mg%로 높았다. Do(19)의 경우 DL-malic acid에 대한 L-malic acid의 함량차가 모델 주스의 경우 평균 9.78 mg/100 mL, 시판 주스는 평균 22.72 mg/100 mL, 이 중 citric acid 함량이 높은 3개 제품과 fum-

Table 4. Comparison of the L-malic acid content in apple juice

(unit: mg%)

Samples		DL-Malic acid ¹⁾	L-Malic acid ²⁾	Difference ³⁾	L-Malic acid/ DL-Malic acid		
Commercial juice	Cloudy	A	262	252	10	0.96	
		B	267	240	27	0.89	
		C	302	286	16	0.94	
		D	370	362	8	0.97	
		E	402	360	42	0.90	
		F	310	302	8	0.97	
	Clear	G	315	294	21	0.93	
		30%, Fruit	H	85	74	11	0.87
			I	62	48	14	0.77
			J	64	59	5	0.92
Model juice	Cloudy	a	246	230	16	0.93	
		b	242	222	20	0.92	
		c	244	232	8	0.95	
		d	254	240	14	0.96	
		e	244	232	12	0.95	
		f	277	260	27	0.92	
	Clear	g	285	240	5	0.98	
		h	244	250	-10	1.02	
		i	254	240	6	0.95	
		j	268	245	23	0.91	
		k	270	268	2	0.99	
		l	210	229	-19	1.09	
		m	227	230	3	1.01	
		n	230	234	4	1.01	

¹⁾Determination by HPLC.

²⁾Determination by enzymatic assay.

³⁾D-Malic acid minus L-malic acid.

aric acid 함량이 높은 1개 제품에서 함량차가 컸다.

본 연구에서 DL-malic acid에 대한 L-malic acid 비율이 모델주스에서 평균 0.97로, Zyren과 Elkins(31) 그리고 Do(19)의 0.96과 유사한 결과를 얻었다. 그러나 시판 주스 7개 제품만이 0.90~0.97이었고 citric acid 함량이 높았던 B, H, I제품에서 각각 0.89, 0.87, 0.77이었다. 외국의 경우 사과주스의 DL-malic acid 함량을 HPLC나 GC에 의하여 산출하고 효소적 정량법에 의하여 L-malic acid 함량을 구한 함량차로 D-malic acid를 확인하여 부정주스를 검정하고 있다. 특히 Zyren과 Elkins(31)는 DL-malic acid에 대한 L-malic acid의 비율이 가장 중요하다고 보고한 바 있는데 비율이 0.90미만이면 변조된 주스라고 하였다. 그러나 이러한 간접적인 방법에 의한 비율 0.90이하는 DL-malic acid가 20%이상 첨가되었을 경우이고, 20%미만으로 첨가된 것은 판정이 불가능하다. Nagy 등(3)은 비율이 0.90~1.0인 경우에도 fumaric acid와 citric acid의 함량을 참고하여야 된다고 보고하였으며, RSK value (2)도 이 방법을 허용하고 있다. Do(19)의 경우 한국산 사과의 L-malic acid/DL-malic acid 함량비는 0.98~1.02, 모델주스는 0.96, 시판사과주스의 경우 0.90~1.0으로 제품마다 다양하였으며 비율이 낮은 제품일 경우 citric acid와 fumaric acid의 함량이 높다고 보고하였다. 이상과 같은 결과를 통하여 L-malic acid와 DL-malic acid의 비율과 citric acid 그리고 fumaric acid의 함량을 측정하여 100% 사과주스의 순수성을 확인하는데 가능성이 있다고 여겨진다.

요 약

한국산 사과주스의 평가척도나 변조검정 지표로서 유기산 성분의 활용 가능성을 알아보기 위하여 사과주스의 대표적인 유기산 DL-malic acid와 citric acid, fumaric acid를 HPLC로 측정하였으며, L-malic acid는 효소적 정량법으로 함량을 구하였다. 100% 모델 사과주스의 경우 DL-malic acid가 사과주스의 주요한 유기산으로 200 mg%이상 나타났으며 citric acid는 4.0 mg%이하이었다. 그리고 fumaric acid는 0.1 mg%이하로 미량 존재하였다. 시판품의 경우 citric acid와 malic acid를 첨가된 것으로 표기된 제품의 경우 각각의 유기산 함량이 특이하게 높았다. 모델주스의 경우 DL-malic acid는 대부분 L-malic acid로 존재하였으나 DL-malic acid가 첨가된 시판품의 경우 L-malic acid가 차지하는 함량이 작았다. L-malic acid/DL-malic acid 함량비는 모든 모델주스의 경우 0.90 이상이었으나 시판주스의 경우 0.90이하 제품도 있었다.

문 헌

1. Lee, C.B. : *The encyclopedia of fruit and horticulture.*

- Yangheundang, Seoul, Korea, p.65 (1984)
2. Bielig, H.S., Faethe, W., Koch, J., Wallrauch, S. and Wucherpfenig, K. : Standard values and ranges of specific reference numbers for apple juice, grape juice and orange juice. *Flüssiges Obst.*, **49**, 188-193 (1982)
 3. Nagy, S., Attaway, J.A. and Rhodes, M.E. : *Adulteration of fruit juice beverages.* Marcel Dekker, New York (1988)
 4. Richmond, M.L., Brandao, S.C.C., Gray, J.I., Markakis, P. and Stine, C.M. : Analysis of simple sugar and sorbitol in fruit by HPLC. *J. Agric. Food Chem.*, **29**, 4-7 (1981)
 5. Pilando, L.S. and Wrolstad, R.E. : Compositional profiles of fruit juice concentrates and sweeteners. *Food Chem.*, **44**, 19-24 (1992)
 6. Doner, L.W., Krueger, H.W. and Reesman, R.H. : Isopic composition of carbon in apple juice. *J. Agric. Food Chem.*, **28**, 362-364 (1981)
 7. Herrmann, K. : Über die gehalte der hauptsächlich pflanzenphenole im obst. *Flüssiges Obst.*, **59**, 66-71 (1992)
 8. Brause, A.R. and Raterman, J.M. : Verification of authenticity of apple juice. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **65**, 846-849 (1982)
 9. Ryan, J.J. and Dupont, J.A. : Identification and analysis of the major acid from fruit juices and wines. *J. Agric. Food Chem.*, **21**, 45-52 (1973)
 10. Wrolstad, R.E. : Chemistry of apple juice, contaminants and adulterations. *Flüssiges Obst.*, **52**, 331-332 (1985)
 11. Mattick, L.R. and Moyer, J.C. : Composition of apple juice. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **66**, 1251-1255 (1983)
 12. Eun, D.W. and Choi, Y.H. : Physical properties of the factors affecting the evaporation process of fruit juices. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **23**, 605-609 (1991)
 13. Hur, S.S. and Choi, Y.H. : Studies on the efficient concentration process of apple juice with reverse osmosis process. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **25**, 321-326 (1993)
 14. Park, N.P., Choi, E.H., Lee, O.H. and Kim, Y.M. : Studies on the storage of apples I. Effects of single or combined treatments of gamma-radiation and polyethylene film packing. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **2**, 81-86 (1970)
 15. Park, N.P., Kim, Y.J., Kim, S.K. and Rhee, C.O. : Studies on the preservation of apple - Effect of inorganic compounds applied in the field on the shelf life of apples. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **9**, 13-18 (1977)
 16. Kim, T.R., Whang, H.J. and Yoon, K.R. : Mineral contents of Korean apples and apple juices. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **28**, 90-98 (1996)
 17. Whang, H.J. and Kim, S.S. : Analysis of mineral in Korean apple juice by inductively coupled plasma. *Korean J. Food & Nutr.*, **12**, 344-349 (1999)
 18. Whang, H.J. : Profile of phenolic compounds in Korean apple and apple juice. *Ph.D. Thesis*, Chung-Ang University, Korea (1996)
 19. Do, Y.S. : Organic acids in Korean apples and apple juices. *M.S. Thesis*, Chung-Ang University, Korea (1995)
 20. Kim, C.H. : The sugar contents of several Korean apple varieties. *M.S. Thesis*, Chung-Ang University, Korea (1996)
 21. Whang, H.J., Lee, K.H. and Oh, M.H. : Sugar content of Korean apple juice by HPLC. *J. Korean Soc. Ind. Food Technol.*, **2**, 100-107 (1998)

22. Coppola, E.D. : Use of HPLC to monitor juice authenticity. *Food Tech.*, **4**, 88-91 (1984)
23. Lin, H. and Huang, A.S. : Chemical composition and some physical properties of a water-soluble gum in taro(*Colocasia esculenta*) maturation. *Food Chem.*, **48**, 403-408 (1991)
24. Evans, R.H., van Soestbergen, W. and Ristow, K.A. : Evaluation of apple juice authenticity by organic acid analysis. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **66**, 1517-1520 (1983)
25. Gorin, N. : L-Malate and sucrose content of golden delicious apples : A comparison between enzymatic analysis using whole apples and apple juice. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, **167**, 327-328 (1978)
26. Ryan, J.J. : Chemical composition of Canadian apple juice. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **55**, 1104-1110 (1972)
27. Gump, B.H., Saguandekul, S., Murray, G. and Villar, J.T. : Determination of malic acid in wines by gas chromatography. *Am. J. Enol. Vitic.*, **36**, 248-251 (1985)
28. Sasson, A., Erner, Y. and Monselise, S.P. : Gas liquid chromatography of organic acids in citrus tissues. *J. Agric. Food Chem.*, **24**, 652-658 (1976)
29. Shaw, P.E. and Wilson, C.W. : III. Organic acids in orange, grape fruit and cheer juices quantified by high performance liquid chromatography using neutral resin or propylamine columns. *J. Sci. Food Agric.*, **34**, 1285-1288 (1983)
30. Gancedo, M.C. and Luh, B.S. : HPLC analysis of organic acid and sugars in tomato juice. *J. Food Sci.*, **51**, 571-573 (1986)
31. Zyren, J. and Elkins, E. : Interlaboratory variability of methods used for detection of economic adulteration in apple juice. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **68**, 672-676 (1985)
32. Lee, H.S. and Wrolstad, R.E. : Apple juice composition : Sugar, nonvolatile acid and phenolic profiles. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **71**, 789-794 (1988)
33. Mattick, L.R. : An evaluation of the methodology for determining the authenticity of apple juice and concentrate. In *Adulteration of Fruit Juice Beverages*. Nagy, S., Attaway, J.A. and Rhodes, M.E.(eds.), Marcel Dekker, New York, p.139-146 (1988)
34. Junge, C. and Spardinger, C. : Providing an addition of L(-) and DL-malic acid in apple and pear juices by determining the quantity of fumaric acid. *Flüssiges Obst*, **49**, 57-62 (1982)
35. Doner, L.W. and Cavender, P.J. : Chiral liquid chromatography for resolving malic acid enantiomers in adulterated apple juice. *J. Agric. Food Chem.*, **53**, 1898-1899 (1988)
36. Agarwal, V.K. : Simultaneous determination of D- and L-malic acids in apple juice by gas chromatography. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **71**, 466-468 (1968)

(2000년 1월 14일 접수)