

최적 비타민 C 분석법 선정에 관한 연구

최원선* · 김영진 · 정진영 · 김태진 · 정병문 · 김웅률 · 정후길 · 전호남
매일유업(주) 중앙연구소

Research for Selecting The Optimized Vitamin C Analysis Method

Won-Sun Choi*, Young-Jin Kim, Jin-Young Jung, Tae-Jin Kim, Byung-Moon Jung,
Eung-Ryool Kim, Hoo-Kil Jung, and Ho-Nam Chun

R&D Center, Maeil Dairy Industry Co., Ltd.

2,4-Dinitrophenylhydrazine (DNP), indophenol, and HPLC methods, which are generally used to analyze vitamin C, were evaluated by comparing changes in vitamin C contents in various samples kept at 10 and 20°C. Amount of total ascorbic acid (TAA) in yoghurt A kept at 10°C, as measured by DNP method, decreased from 26.7 mg/100 mL for early period to 22.8 mg/100 mL for final period of storage, whereas, on 3rd and 10th storage days, increased contrary to general results. Using indophenol, TAA measured at 28.6 and 9.5 mg/100 mL, and 30.5 and 14.6 mg/100 mL using HPLC for early and final periods, respectively. With indophenol and HPLC, TAA amount showed steady tendency to decrease. In conclusion, HPLC is the most suitable method to analyze vitamin C content, and indophenol method can be also used during early storage stage.

Key words: ascorbic acid, indophenol, 2,4-dinitrophenylhydrazine, HPLC

서 론

Vitamin C는 야채나 과일에 존재하는 중요한 수용성 비타민으로서 인체 내에서 일어나는 많은 생물학적 반응에 참여하는 것으로 알려져 있다. 요즘 vitamin C의 여러가지 기능성과 장점(1-3)이 소개되고 있으며, 이와 관련하여 vitamin C가 강화된 쥬스나 소프트 드링크류, 그리고 제품의 유통기한을 연장시킬 목적으로 vitamin C를 첨가한 제품들이 속속 나오고 있다. 그러나 vitamin C는 자체가 불안정하여 금속이온, 산소, 빛, 그리고 온도 등에 의해서 쉽게 산화형으로 바뀌는 단점을 가지고 있다(4,5). 현재까지 가장 널리 알려진 vitamin C의 산화적 분해 경로는 MDAsA(monodehydro-L-ascorbic acid)를 경유해서 disproportionation 반응에 의해서 DHA(dehydroascorbic acid)가 생성되는 과정이다(6). 따라서 vitamin C는 대부분이 산화형(dehydroascorbic acid, DHA)과 환원형(ascorbic acid, AsA)의 두 가지 형태로 존재하게 된다.

현재 vitamin C의 분석방법에는 titrimetric, spectrophotometric, fluorometric, chemiluminescence, 그리고 kinetic methods 등이 알려져 있으며(7-10), 국내 식품공전상에서도 indophenol, 2,4-dinitrophenylhydrazine(DNP), 그리고 HPLC의 3가지 방법이 나

와 있다(11). 그 중 indophenol법과 HPLC법은 각각 AsA와 total ascorbic acid(TAA) 함량만을 측정할 수 있는 방법이며, DNP법은 DHA, TAA, 그리고 AsA 모두를 측정할 수 있는 방법이다. 그러나 국내 식품업체에서는 분석시간이 짧고 비교적 간단하다는 이유로 vitamin C 함량 측정시 indophenol법을 주로 사용하고 있으며, 국내 연구논문에서도 vitamin C 함량 측정시 indophenol(12), DNP(13), 그리고 HPLC법(14)을 혼용하여 사용하고 있다.

따라서 본 실험은 식품공전상에 나와 있는 세가지 vitamin C 정량방법을 이용하여 다양한 제품 내의 vitamin C의 함량 변화를 측정함으로서 세가지 분석방법의 장점과 단점을 파악하고 적절한 vitamin C 정량법을 알아보기 위해 실시되었다.

재료 및 방법

실험재료

국내에 시판되고 있는 요구르트 2종, 오렌지쥬스, 그리고 vitamin C 드링크를 구입하여 시료로 사용하였다. 각 샘플의 포장재료는 요구르트 A와 B가 HIPS(high impact polystyrene), 오렌지쥬스는 다층포장재(PE/paper/PE/aluminium foil/PE)로 이루어져 있고, 마지막 vitamin C 드링크의 경우 갈색 유리병이었다. 그리고 본 실험에서는 실험의 정확성을 예측하고자 reference (R) 시료도 제조하여 분석을 함께 실시하였는데, R 시료는 3차 중류수에 ascorbic acid를 30 mg/100 mL 첨가한 후 lactic acid를 첨가하여 pH를 3.4로 조정하였다. R 시료는 10°C에, 나머지 시료는 10°C와 20°C에 각각 저장하면서 0, 1, 3, 6, 8, 그리고 10

*Corresponding author: Won-Sun Choi, R&D Center, Maeil Dairy Industry Co., Ltd., Peyoungtaek 451-860, Korea
Tel: 82-31-660-9045
Fax: 82-31-668-0247
E-mail: wschoi@maeil.com

일제 vitamin C 분석을 실시하였다. 본 실험은 3회 반복 실시되었다.

Indophenol법을 이용한 비타민 C 분석

시료 5 mL에 동량의 메타인산-초산용액을 넣고 인도페놀용액으로 액이 적어도 5초간 적색이 지속될 때까지 적정한 후 AsA 함량을 구하였다(15).

HPLC를 이용한 비타민 C 분석

검체를 메타인산 용액으로 추출한 후 원심분리기를 이용하여 3,000 rpm에서 15분 동안 원심분리를 행하여 상정액을 취한 후 희석하여 시험용액으로 하였다(16). HPLC는 Agilent 1100 series(USA)를 사용했으며, 분석에 사용된 column은 Eclipse XDB-C18(4.6 cm × 150 mm, 3.6 μm), detector는 UV(254 nm), mobile phase는 acetonitrile과 50 mM $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 를 6:4로 혼합하여 사용하였고 flow rate는 1.0 mL/min이었다.

DNP법을 이용한 비타민 C 분석

시료 10 g을 동량의 메타인산-초산용액과 일정량의 묽은 메타인산으로 추출한 후 여과지(Whatman No. 2)를 이용하여 거른 후 이것을 침출액으로 하여 그 용액에 들어있는 vitamin C의 함량을 측정하였다(17). 검량선은 0.63, 1.25, 2.5 및 5 mg/100 mL ascorbic acid 수용액을 이용하여 작성하였다. 분석은 흡

광광도계(DU-68 Beckman, USA)를 이용하여 530 nm에서 분석하였다.

통계처리

결과에 대한 통계 분석은 SX program(18)을 이용하여 Duncan의 다중검정법으로 5% 수준에서 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

Indophenol법을 이용한 비타민 C 분석

Fig. 1은 시중에서 유통되고 있는 다양한 제품을 indophenol법을 이용하여 저장기간 중의 AsA 함량 변화를 측정한 결과이다. 최초 저장 0일째 결과를 보면 10°C와 20°C에 보관된 시료에서 reference, 요구르트 A, 요구르트 B, 오렌지쥬스, 그리고 비타민 C 드링크에서 각각 29.6, 28.6, 53.2, 64.8, 그리고 630.4 mg/100 mL로 나타났다. AsA 함량은 저장기간이 증가할수록 비타민 C 드링크를 제외한 모든 시료에서 점차 감소하는 추세를 나타내었고, 10°C에 저장된 시료보다 20°C에 저장된 시료의 감소율이 더 크게 나타났다. 특히, 요구르트 제품군에서 AsA 감소율이 큰 것으로 확인되는데, 요구르트 A의 경우 저장 3일째 15.7 mg/100 mL으로 초기 양의 반 정도까지 감소하였고, 저장 말기인 10일째에는 1.1 mg/100 mL까지 떨어져 시료 중에 가장 큰 감소폭을 보였다. 반면 비타민 C 드링크와 오렌지쥬스는

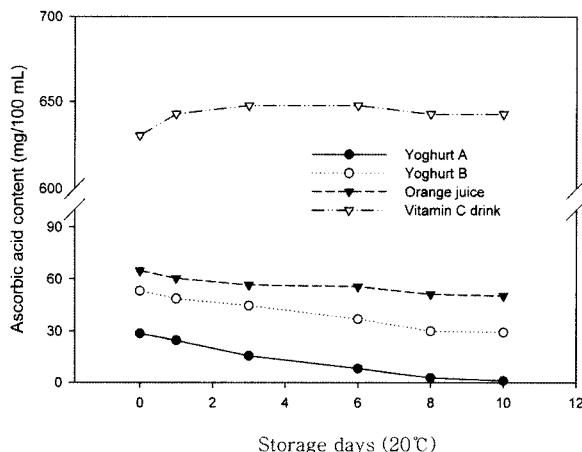
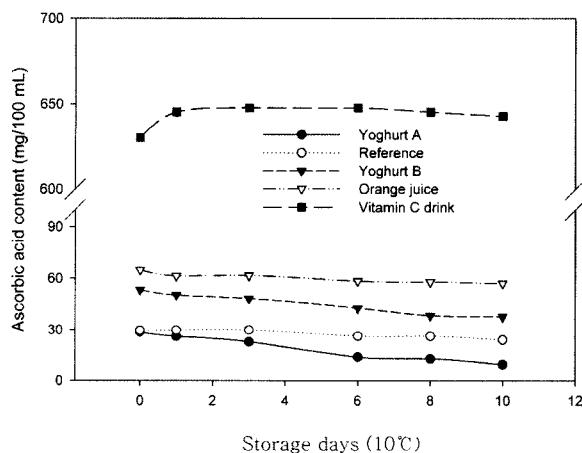


Fig. 1. Changes of ascorbic acid contents in various samples using indophenol method during storage at 10°C and 20°C for 10 days.

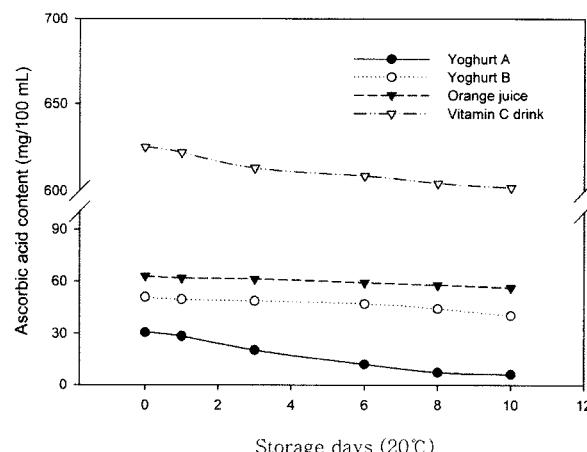
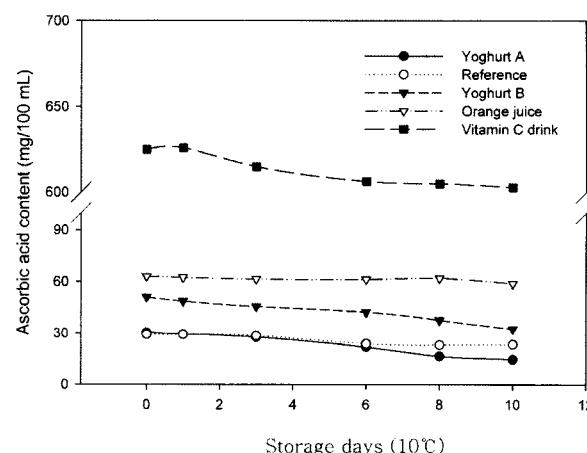


Fig. 2. Changes of total ascorbic acid contents in various samples using HPLC method during storage at 10°C and 20°C for 10 days.

AsA 변화량이 적어서, 20°C에 보관된 오렌지쥬스의 경우에도 저장 말기까지 50 mg/100 mL 이상을 유지하고 있는 것으로 확인되었다. 그리고 비타민 C 드링크의 경우 10°C와 20°C에서 635 mg/100 mL 정도로 초기 함량을 유지하고 있는 것으로 확인되었다.

HPLC를 이용한 비타민 C 분석

HPLC를 이용하여 다양한 샘플의 저장기간 중 TAA 함량 변화를 측정한 결과는 Fig. 2에 나타냈다. 결과를 살펴보면 초기 TAA 함량은 reference, 요구르트 A, 요구르트 B, 오렌지쥬스, 그리고 비타민 C 드링크에서 각각 29.3, 30.5, 51.0, 63.0, 그리고 625.0 mg/100 mL으로 나타났으며, 저장기간이 증가할수록 감소하는 경향을 보였다. TAA 감소율이 가장 높게 나타난 시료는 20°C에 보관된 요구르트 A 시료로서 저장 6일째에 12.1 mg/100 mL로 초기 함량의 50% 이상 감소한 것으로 확인되었으며, 저장 10일째에 6.2 mg/100 mL까지 떨어졌다. 반면 비타민 C 드링크의 경우 20°C, 10일 보관된 시료에서도 600 mg/100 mL 이상 유지하여 감소율이 가장 작은 것으로 확인되었다. 오

렌지쥬스의 경우에도 감소폭이 매우 작아서 저장 말기인 10일째에 10°C, 20°C에서 각각 10% 이내의 감소율을 보였으며, 요구르트 B는 오렌지쥬스와 요구르트 A의 중간 정도의 감소율을 보였다.

DNP법을 이용한 비타민 C 분석

DNP법은 TAA, DHA, 그리고 AsA 함량을 동시에 측정할 수 있는 방법으로 알려져 있다. 본 실험에서도 세가지 함량을 모두 측정할 수 있었으며, 그 결과는 Table 1에 표시하였다. TAA 함량 변화를 살펴보면 저장 0일째에 reference, 요구르트 A, 요구르트 B, 오렌지쥬스, 그리고 비타민 C 드링크에서 각각 30.1, 26.7, 54.9, 66.0, 그리고 643.2 mg/100 mL으로 확인 되었으나, reference와 요구르트 A는 저장 3일째, 요구르트 B와 비타민 C 드링크의 경우에는 저장 10일째, 오렌지쥬스의 경우에는 저장 8일째 오히려 증가하는 값을 나타내어 본 실험에서는 일정한 추세를 보이지 않았다. 그리고 DHA 함량은 비타민 C 드링크를 제외한 모든 시료에서 저장기간이 증가할수록 점차 증가하는 추세를 보였다. 특히 10°C에 보관된 요구르트 A 시료에서

Table 1. Changes in total ascorbic acid, ascorbic acid, and dehydroascorbic acid contents in various samples using 2,4-dinitrophenylhydrazine (DNP) method during storage at 10°C or 20°C for 10days
(unit: mg/100 mL)

| Samples | Temp. (°C) | Vitamin C | Storage days | | | | | |
|-----------------|------------|-------------------|--------------------|---------------------|---------------------|--------------------|--------------------|---------------------|
| | | | 0 | 1 | 3 | 6 | 8 | 10 |
| Reference | 10 | TAA ¹⁾ | 30.1 ^a | 29.0 ^{ab} | 30.4 ^a | 28.9 ^{ab} | 26.4 ^b | 24.5 ^c |
| | | AsA ²⁾ | 30.1 | 29.1 | 24.1 | 26.1 | 20.1 | 17.3 |
| | | DHA ³⁾ | 0.0 | 0.0 | 6.3 | 2.8 | 5.5 | 7.2 |
| Yoghurt A | 10 | TAA | 26.7 ^a | 21.8 ^{ab} | 26.1 ^a | 21.6 ^{ab} | 20.4 ^b | 22.8 ^{ab} |
| | | AsA | 26.7 | 21.9 | 17.8 | 10.5 | 7.0 | 5.8 |
| | | DHA | 0.0 | 0.0 | 8.5 | 11.1 | 13.4 | 17.0 |
| | 20 | TAA | 26.7 ^a | 21.8 ^b | 22.7 ^{ab} | 15.8 ^c | 12.9 ^c | 11.5 ^c |
| | | AsA | 26.7 | 21.8 | 12.2 | 5.3 | 2.0 | 0.1 |
| | | DHA | 0.0 | 0.0 | 10.5 | 10.5 | 10.9 | 11.4 |
| Yoghurt B | 10 | TAA | 54.9 ^a | 48.2 ^{ab} | 48.7 ^{ab} | 37.8 ^{bc} | 33.1 ^c | 41.6 ^c |
| | | AsA | 54.9 | 41.6 | 49.1 | 28.0 | 21.6 | 31.8 |
| | | DHA | 0.0 | 6.6 | 0.0 | 9.8 | 11.4 | 9.8 |
| | 20 | TAA | 54.9 ^a | 44.1 ^b | 48.9 ^{ab} | 34.9 ^{bc} | 34.8 ^c | 32.3 ^c |
| | | AsA | 54.9 | 37.0 | 48.7 | 18.1 | 18.7 | 22.9 |
| | | DHA | 0.0 | 7.1 | 0.2 | 16.8 | 16.2 | 9.4 |
| Orange juice | 10 | TAA | 66.0 ^a | 56.8 ^b | 54.8 ^{bc} | 56.8 ^b | 61.2 ^{ab} | 47.6 ^c |
| | | AsA | 66.0 | 50.0 | 54.8 | 54.2 | 50.7 | 40.4 |
| | | DHA | 0.0 | 6.8 | 0.0 | 2.6 | 10.4 | 7.2 |
| | 20 | TAA | 66.0 ^a | 53.6 ^b | 49.1 ^{bc} | 47.8 ^{bc} | 53.7 ^{ab} | 39.9 ^c |
| | | AsA | 66.0 | 44.9 | 46.9 | 42.8 | 50.7 | 29.7 |
| | | DHA | 0.0 | 8.7 | 2.2 | 5.0 | 3.0 | 10.1 |
| Vitamin C drink | 10 | TAA | 643.2 ^a | 592.2 ^a | 590.5 ^a | 573.2 ^a | 557.2 ^a | 611.9 ^a |
| | | AsA | 643.2 | 592.2 | 572.0 | 573.2 | 557.2 | 611.9 |
| | | DHA | 0.0 | 0.0 | 18.5 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| | 20 | TAA | 643.2 ^a | 607.8 ^{ab} | 549.4 ^{ab} | 532.8 ^b | 537.3 ^b | 611.9 ^{ab} |
| | | AsA | 643.2 | 607.8 | 514.4 | 532.8 | 537.3 | 611.9 |
| | | DHA | 0.0 | 0.0 | 35.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |

¹⁾TAA; total ascorbic acid.

²⁾AsA; ascorbic acid.

³⁾DHA; dehydroascorbic acid.

^{a-c}Means with different small letter superscript in the same row represented significant difference at $p < 0.05$.

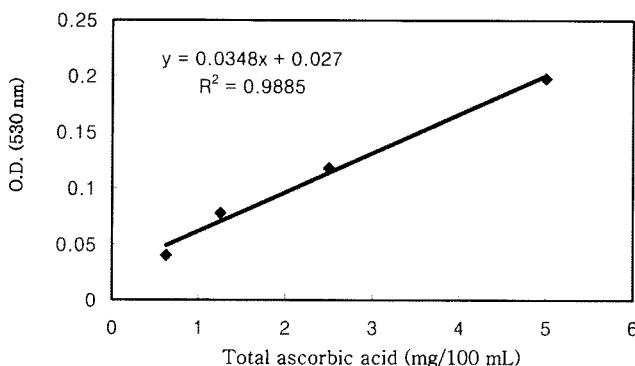


Fig. 3. Calibration curve of total ascorbic acid by 2,4-dinitrophenylhydrazine (DNP) method.

가장 큰 증가폭을 보여 저장 말기에는 65% 이상이 DHA 형태로 존재하고 있는 것으로 확인되었다. 이와 반대로 비타민 C 드링크의 DHA 함량은 저장말기까지 spectrophotometer 상에서 흡광도값이 blank 값과 같거나 오히려 적어서 거의 없는 것으로 확인되었다. 마지막으로 AsA 함량은 비타민 C 드링크를 제외한 모든 시료에서 점차 감소하는 추세를 보였다.

Indophenol, HPLC, DNP법 비교 분석

저장기간이 증가할수록 vitamin C 함량은 본 실험에서 점차 줄어드는 양상으로 진행되었다. 먼저 DNP법으로 분석한 결과를 살펴보면 표준물질 검량선 R^2 값은 0.98 이상의 높은 상관관계를 보였다(Fig. 3). 그러나 이와는 반대로 시료에서는 편차가 많이 발생하여 본 실험에서는 결과값이 많이 흔들리는 것을 확인할 수 있었다. 이와 관련하여 이 등(19)은 spectrophotometer를 이용하여 정량시 나타날 수 있는 현상으로 샘플 내에 측정하고자 하는 성분보다 높은 흡광도를 가지는 물질이 존재할 경우에 그 물질이 방해물질로 작용하여 분석하고자 하는 물질의 정확한 양을 얻기가 힘들다고 하였다. 그러나 DNP법을 이용하여 분석한 논문을 살펴보면(20) 결과가 비교적 정확한 상관관계를 보여, 본 실험의 오차는 제품내의 존재하는 여러 물질 중에 vitamin C 정량시 흡광도상에서 방해물질로 작용할 수 있는 물질이 포함되었던 것으로 판단된다. 따라서 DNP법을 이용하여 vitamin C를 정량할 경우 시료의 선택도 상당히 중요할 것으로 판단된다. 그리고 DNP법은 indophenol법과 HPLC 법에 비해 반응시간의 길이도 길며, 실험방법도 복잡해서 상온에서 빨리 산화되는 vitamin C 특성상 실험 오차가 더욱 더 증가한 것으로 판단된다.

HPLC와 indophenol법을 살펴보면, 먼저 indophenol법은 DNP와 HPLC법에 비해서 실험방법이 간단하여 손쉽게 정량할 수 있으나, 적정에 의해서 vitamin C를 정량하는 방법이기 때문에 개인의 주관적 오차가 발생할 수 있는 소지를 많이 가질 수 있는 방법으로 판단된다.

이에 반해 HPLC법은 indophenol법에 비해서 오차가 적은 객관적인 결과를 얻을 수 있는 장점을 가지고 있다. Indophenol과 HPLC법을 이용하여 분석한 결과를 살펴보면, 두 방법 모두 요구르트 A, 요구르트 B, 그리고 오렌지쥬스에서 저장기간이 증가할수록 점차 낮아지는 경향을 보였다. 특히 10°C에 저장된 시료가 20°C에 저장된 시료에 비해 vitamin C 감소율이 현저하게 높게 나타나, 저장기간이 연장될 수록, 그리고 저장온도가 높을수록 vitamin C 감소율이 높다고 보고한 Jain 등 (21)의 결과와 유사한 경향을 보였다. 그리고 Fig. 4에서 보는

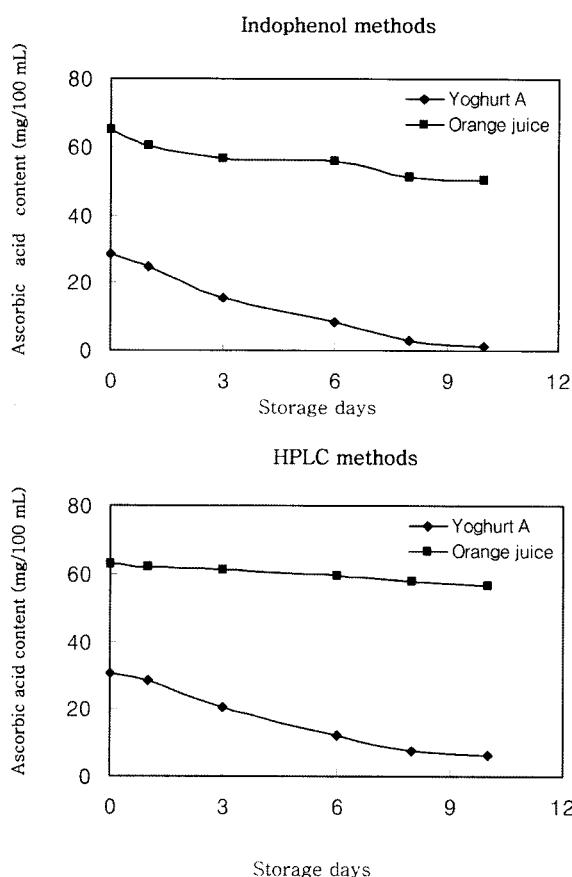


Fig. 4. Comparison of total ascorbic acid and ascorbic acid contents in orange juice and yoghurt A at 20°C by HPLC and indophenol methods.

바와 같이 초기 함량은 비슷한 수준으로 확인되지만 저장기간이 증가할수록 indophenol법으로 측정한 결과의 감소폭이 더 크게 나타나는 것을 볼 수 있다. 그 이유는 indophenol을 이용한 방법은 TAA 중에서 AsA 함량만 측정되며, HPLC를 이용한 방법은 TAA 함량만 측정되므로, 저장 초기에는 대부분이 AsA로 제품 내에 존재하지만 점차 저장기간이 증가할수록 DHA의 함량이 높아지기 때문이라고 판단된다. 따라서 indophenol법은 저장 초기, 즉 제품 내에 AsA 함량이 대부분을 차지할 경우 손쉽게 vitamin C 함량을 측정할 수 있는 방법으로서 품질관리 측면에서 유용한 정보를 얻을 수 있는 방법으로 판단되나, 저장 말기에 제품 내에 DHA 함량이 높아질수록 실제 TAA 함량 보다 낮게 측정되는 단점을 가지고 있는 것으로 확인되었다.

포장용기별 vitamin C 변화량을 살펴보면, 갈색유리병에 담긴 vitamin C 드링크의 변화량이 가장 적었으며, 그 다음으로 다층포장재(PE/paper/PE/aluminium foil/접착층/PE)를 사용한 오렌지쥬스, 그리고 차단성이 가장 열악한 HIPS로 이루어진 요구르트가 가장 감소율이 높은 것으로 나타났다. 일반적으로 합성수지의 투과도는 온도가 높을수록 증가하는 경향을 가진다 (22). 따라서 본 실험에서 사용된 요구르트 샘플의 용기인 HIPS도 10°C보다는 20°C에서 산소투과도가 더 증가하여 vitamin C의 파괴를 더욱 더 가중시킨 것으로 판단된다. 이와 관련하여 Bisset과 Berry(23)에 의하면 glass, polyethylene bottle, 그리고 wax-coated cardboard 등에 포장된 냉장쥬스의 용기별 vitamin C 잔존율을 실험한 결과, 차단성이 가장 좋은 유리병에 주스를 담았을 경우 가장 높은 잔존율을 보였으며, polyethylene과

wax-coated cardboard에 보관된 주스는 상대적으로 잔존율이 낮았다고 보고하였다. 이러한 vitamin C의 손실을 막기 위해 현재 MAP(modified atmosphere packaging)와 활성포장(active packaging) 등의 포장기술(24,25)을 적용하는 사례들도 증가하고 있으며, 유통중에도 철저한 냉장유통을 실시하는 것이 중요할 것으로 판단된다.

요 약

본 연구는 일반적으로 사용되고 있는 vitamin C 분석방법인 2,4-dinitrophenylhydrazine(DNP), indophenol, 그리고 HPLC법을 이용하여 시판중인 다양한 제품을 이용하여 보존조건(10°C, 20°C)에 따른 vitamin C 함량을 세가지 방법으로 비교 검토함으로서 가장 이상적인 분석방법을 조사하였다. 10°C 보존시 요구르트 A 제품에서의 vitamin C 변화 추세를 살펴보면, DNP 법은 초기와 말기 TAA 함량이 각각 26.7과 22.8 mg/100 mL로 측정되었으나, 저장 3일째와 10일째에 오히려 증가하는 현상을 보였으며, 또한 indophenol법은 초기와 말기에 각각 28.6과 9.5 mg/100 mL로, HPLC법은 30.5와 14.6 mg/100 mL로 확인되었다. 그리고 본 실험에서는 indophenol법과 HPLC법은 일정한 감소 추세를 보였다. 따라서, 가장 이상적인 vitamin C 분석 방법은 HPLC법이며, 저장 초기에 간단하게 vitamin C 함량을 측정할 경우에는 indophenol법을 이용하여도 신뢰할 수 있는 결과를 얻을 수 있는 것으로 사료된다.

문 헌

1. Madhuban D, Anilava K. Ascorbic acid supplementation of diet for reduction of deltamethrin induced stress in freshwater catfish *Clarias gariepinus*. *Chemosphere* 53: 883-888 (2003)
2. Jacob RA, Otradovec CL, Russell RM. Vitamin C status and nutrient interactions in a healthy elderly population. *Am. J. Clin. Nutr.* 48: 1436-1442 (1988)
3. Kagan VE, Yalowich JC, Day BW, Goldman R, Gantchev TG, Stoyanovsky DA. Ascorbate is the primary reductant of the phenoxy radical of etoposide in the presence of thiols both in cell homogenates and in model systems. *Biochemistry* 33: 9651-9660 (1994)
4. Miller DM, Buettenr GR, Aust SD. Transition metals as catalysts of "Autoxidation" reactions. *Free Radical Biol. Med.* 8: 95-108 (1990)
5. Aust SD, Morehouse LA, Thomas CE. Role of metals in oxygen radical reactions. *Free Radical Biol. Med.* 1: 3-25 (1985)
6. Bielski BHJ. Chemistry of ascorbic acid radicals. pp. 81-100. In: *Ascorbic Acid Chemistry, Metabolism, and Uses. Advances in Chemistry*, series Nr. 200. Sieb PA and Tolbert BM (eds). American Chemistry Society, Washington DC, USA (1982)
7. Hiroshi I. Routine high performance liquid chromatographic

- determination of ascorbic acid in foods using methionine for the pre analysis sample stabilization. *Talanta* 60: 111-121 (2003)
8. Sultan SM, Abdennabi AM, Suliman FE. Flow injection colorimetric method for the assay of vitamin C in drug formulations using tris, 1,10-phenanthroline iron(III) complex as an oxidant in sulfuric acid media. *Talanta* 41: 125-130 (1994)
9. Abdelmageed OH, Khashaba PY, Askal HF, Saleh GA, Refaat IH. Selective spectrophotometric determination of ascorbic acid in drugs and foods. *Talanta* 42: 573-579 (1995)
10. Safavi A, Fotouhi L. Kinetic spectrophotometric determination of ascorbic acid by reduction of toluidine blue. *Talanta* 41: 1225-1228 (1994)
11. KFDA. Korean Food Code. Korea Food and Drug Administration, Seoul, Korea (2002)
12. Kim MR, Kim JH, Wi DS, Na JH, Sok DE. Volatile sulfur compounds, proximate components, minerals, vitamin C content and sensory characteristics of the juices of kale and broccoli leaves. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 28: 1201-1207 (1999)
13. Park YJ, Kang MH, Kim JI, Park OJ, Lee MS, Jang HD. Changes of vitamin C and superoxide dismutase (SOD)-like activity of persimmon leaf tea by processing method and extraction condition. *Korean J. Food Sci. Technol.* 27: 281-285 (1995)
14. Hwang BH, Cho JH, Ham SS, Kang HY. Chemical analysis of pinus leaves. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 29: 6-9 (2000)
15. AOAC. Official Methods of Analysis. 14th ed., Association of Official Analytical Chemists Inc., Washington D.C, USA (1984)
16. Leo MLN. Food Analysis by HPLC. Marcel Dekker, INC., New York, USA (1992)
17. KFDA. Korean Food Code. Korea Food and Drug Administration, Seoul, Korea. pp. 837-840 (2004)
18. Statistix Inc. Analytical Software Version 4.0, Statistix Inc., St. Paul, MN, USA (1992)
19. Lee KH, Kwak IS, Jung DY, Jun DH, Choi JC, Kim HI, Choi BH, Lee CH, Lee CW. A study on analytical methods of formaldehyde and phenol in food packaging. *Annu. Rpt. KFDA* 41: 141-150 (2000)
20. Choi YH, Han JS. Vitamin C and mineral contents in perilla leaves by leaf age and storage conditions. *Korean J. Soc. Food Cookery Sci.* 17: 583-588 (2001)
21. Jain AC, Verma KK. Determination of ascorbic acid in soft drinks, preserved fruit juices and pharmaceuticals by flow injection spectrophotometry: Matrix absorbance correction by treatment with sodium hydroxide. *Talanta* 42: 779-787 (1995)
22. Kim C. Introduction to Plastic Packaging Technology. Packing Industry Co., Ltd, Seoul, Korea. pp. 320-323 (2003)
23. Bissett OW, Berry RE. Ascorbic acid retention in orange juice as related to container type. *J. Food Sci.* 40: 178-180 (1975)
24. Park HW, Kim DM. Freshness extension of table grape 'Sheridan' by packaging methods. *Korean J. Postharvest Sci. Technol.* 6: 260-263 (1999)
25. Katherine Z, Michael I.R, Joost V. The vitamin C content of orange juice packed in an oxygen scavenger material. *Food Chem.* 82: 387-395 (2003)

(2004년 12월 6일 접수; 2005년 6월 21일 채택)