

## 감귤당근 혼합주스의 이화학적 특성 및 항산화효과

오유성<sup>1</sup> · 황준호<sup>1,2</sup> · 오현정<sup>1</sup> · 임상빈<sup>1,3\*</sup>

<sup>1</sup>제주대학교 생명과학기술혁신센터

<sup>2</sup>제주대학교 생물학과

<sup>3</sup>제주대학교 식품생명공학과

## Physicochemical Properties and Antioxidative Activities of Mixed Citrus and Carrot Juice

You-Sung Oh<sup>1</sup>, Joon-Ho Hwang<sup>1,2</sup>, Hyun-Joeng Oh<sup>1</sup>, and Sang-Bin Lim<sup>1,3\*</sup>

<sup>1</sup>Biotechnology Regional Innovation Center, <sup>2</sup>Dept. of Biology, and

<sup>3</sup>Dept. of Food Bioengineering, Jeju National University, Jeju 690-756, Korea

### Abstract

Four types of mixed citrus and carrot juice (CCJ) were prepared with citrus-pressed juice and cake, and carrot-pressed juice. Their physicochemical properties and antioxidative activities were investigated. The four types of juices were created using different ratios of citrus-pressed juice, carrot-pressed juice, citrus-pressed cake, and additives. The mixing ratios of the four CCJ were as follows (all ratios given in the order of citrus-pressed juice : carrot-pressed juice : citrus-pressed cake : additives: 70:30:0:0 for CCJ-1, 65:30:0:5 for CCJ-2, 65:30:5:0 for CCJ-3, and 60:30:10:0 for CCJ-4. Acidity was low in CCJ-3 and -4 at 0.82 and 0.80, respectively, compared with 0.95 in CCJ-1. The fructose, glucose, and sucrose content was 2.11~5.76 g/100 g, 1.20~2.75 g/100 g, and 3.00~4.21 g/100 g, respectively. Total phenolic content was 1.17 and 1.22 times high as 863 and 898 mg% in CCJ-3 and -4, respectively, compared with 735 mg% in CCJ-1. DPPH radical scavenging activities of methanol extracts of CCJ-3 and -4 were 3.05 and 3.29 times as high as 58.7% and 63.3%, respectively, compared with 19.2% in CCJ-1. Superoxide anion scavenging activities were also 1.67 and 1.80 times higher in CCJ-3 and -4 than that of CCJ-1. Inhibition of NO production in methanol extracts of CCJ-4 were 1.15 and 1.57 times as high as 20.9% and 28.5%, respectively, compared with 18.2% in CCJ-1. Based on the sensory evaluation, CCJ-3 was more preferable in terms of color, flavor, taste, and overall preference than CCJ-1, -2, and -4. It was concluded that CCJ-3 made with 65% citrus-pressed juice, 30% carrot-pressed juice, and 5% citrus-pressed cake were high in antioxidative activity and the inhibition of NO production, and more preferable in terms of sensory attributes.

**Key words:** citrus and carrot mixed juice, citrus press cake, antioxidative activity, sensory attributes

### 서 론

우리가 산소 호흡의 결과로 생성되는 반응성이 강한 활성 산소종(reactive oxygen species)은 체내에 존재하는 superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase 등과 같은 항산화 효소에 의해 제거되지 못할 경우 산화스트레스가 생성되는데, 산화스트레스는 세포손상 및 생리적 이상을 초래하여 노화를 비롯한 각종 질병의 원인으로 작용한다. 따라서 이러한 활성산소종을 제거하기 위해서는 일상생활에서 천연 항산화 활성을 갖는 성분이 풍부한 식품을 많이 섭취할 필요가 있다(1-3).

최근 식생활이 서구화로 육류 및 정제된 가공식품의 과다 섭취는 심혈관질환, 당뇨 등 성인병의 주요 원인으로 주목되

고 있어 과일과 채소 등 자연건강식품에 대한 관심이 높아지고 있다. 과일과 채소에는 여러 종류의 생리활성 물질이 함유되어 있음은 물론, 당분과 유기산은 단맛과 상쾌함을 더해 주며 다양한 색소에 의한 시각적 관능성 또한 우수하다. 따라서 지역에서 많이 생산되는 과일과 채소를 이용한 가공 제품이 개발된다면 소비자 기호를 충족시키는 물론 산화적 스트레스로부터 인체 보호 등 기능적 특성을 갖는 제품이 생산될 수 있을 것이다(4).

제주지역에서 많이 생산되고 있는 온주밀감과 당근은 생 과일로 대부분 유통되고 있으나, 15~20%는 가공원료로 이용되고 있으며 대표적인 가공형태는 주스류이다. 시판되고 있는 과일과 채소주스는 단순착즙 후 저온살균을 거치는 신선주스와 농축 후 희석하는 환원주스의 형태로 제조되고 있

\*Corresponding author. E-mail: sblim@jejunu.ac.kr  
Phone: 82-64-754-3617, Fax: 82-64-726-3539

다(5-8).

특히 온주밀감은 항산화작용을 비롯하여 항균, 항염증, 항알레르기, 혈중지질 저하작용 등이 알려져 있는데, 이러한 기능적 특성은 감귤주스 제조 시 부산물인 과피 및 과육부분에 많이 함유되어 있는 flavonoids와 식이섬유 등에 의한 것으로 보고되고 있기 때문에 과피와 과육으로 이루어진 감귤 착즙박을 활용할 필요가 있다(9-13). 또한 당근에 많이 함유되어 있는 카로테노이드는 비타민 A의 전구체로서 항암작용 및 성인병예방 등의 기능적 특성이 알려져 있으나 시판되고 있는 당근 주스는 관능적 특성이 좋지 않은 단점을 가지고 있기 때문에 이를 보완하기 위하여 관능적 특성이 우수한 감귤주스와 기능성 성분이 많이 함유되어 있는 감귤 착즙박을 첨가한 감귤당근 혼합주스를 제조할 필요가 있다(14).

따라서 본 연구에서는 제주지역에서 생산되는 친환경 감귤과 당근을 착즙한 후 감귤당근 착즙액에 감귤 착즙박을 5~10% 첨가하여 혼합주스를 제조한 후 이들 시제품의 성분 특성과 항산화 및 항염증 활성을 측정하였다.

### 재료 및 방법

#### 실험 재료

실험에 사용한 친환경 감귤은 2010년 12월에 제주자치도 소재 C농영조합에서 생산한 조생종 감귤(*Citrus unshiu*)로서, 흐르는 물로 세척한 후 -20°C 냉동고에 보관하면서 사용하였다. 그리고 친환경 당근은 2011년 1월에 제주자치도 소재 B농원에서 생산한 당근(*Daucus carota* L.)을 구매하여 흐르는 물로 세척한 후 4°C에서 냉장보관하면서 시료로 사용하였다. 시판 감귤주스(제주산 감귤과즙 50%)와 당근주스(제주산 당근즙 100%)는 E사 제품을 구입하여 사용하였다.

#### 감귤당근 혼합주스와 기능성 검정용 추출물의 제조

먼저 감귤 500 kg을 수작업으로 박피하여 감귤과피 100 kg을 얻었으며, 감귤과육을 스크류프레스(HSP-5250, (주)한성분체기계, 경기도, 한국)로 착즙하여 착즙액 325 kg과 착즙박 75 kg을 얻었다. 그리고 50% 감귤착즙박은 감귤박과 정제수를 1:1(착즙박 5 kg과 정제수 5 L)로 혼합한 후 마이크로밀(HCM-8500, (주)한성분체기계)로 조분쇄하여 제조하였다. 또한 당근 320.5 kg을 수작업으로 박피하여 당근외피 23.4 kg을 얻었으며, 당근과육은 습식분쇄기(HCM-12500, (주)한성분체기계)로 분쇄한 후 스크류프레스로 착즙하여 착즙액 194 kg과 착즙박 103.1 kg을 얻었다. 각각의 착즙액은 15 kg씩 용기에 나누어 냉동(-20°C) 보관하면서 감귤당근 혼합주스 제조용 시료로 사용하였다.

감귤당근 혼합주스는 예비실험(관능검사)을 통하여 당근 착즙액 첨가량을 30%로 고정시키고, 감귤착즙액을 60~70%로 달리하고 나머지를 50% 감귤착즙박, 첨가물(oligosaccharides, Samyang genex Co., Ltd., Seoul, Korea), vitamin C(NamyYung Co., Ltd., Seoul, Korea), citric acid(Samyang

Table 1. Mixing ratio (%) of citrus and carrot mixed juice

Materials	Code of citrus and carrot mixed juice			
	CCJ-1	CCJ-2	CCJ-3	CCJ-4
Citrus pressed juice	70	65	65	60
Carrot pressed juice	30	30	30	30
50% citrus press cake <sup>1)</sup>	—	—	5	10
Oligosaccharides	—	4.45	—	—
Others <sup>2)</sup>	—	0.55	—	—
Total	100	100	100	100

<sup>1)</sup>50% Citrus press cake: citrus press cake and water (1:1).

<sup>2)</sup>Others: vitamin C 0.05%, citric acid 0.1%, and water 0.4%.

Genex Co., Ltd.), 정제수를 첨가하여 혼합한 후 85°C에서 15분 동안 항온수조(상우과학, 경기도, 한국)에서 살균하고 바로 냉각시켜 4개의 시제품을 제조하였다(Table 1).

감귤착즙액, 당근착즙액, 50% 감귤착즙액, 4개의 시제품 및 시판주스의 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량과 DPPH 라디칼, superoxide anion 및 산화질소(NO) 소거 활성 분석을 위한 추출물 시료는 동결건조 한 시료 10 g에 200 mL의 80% methanol을 가하여 초음파(Crest #1875, Crest Ultrasonics, Trenton, NJ, USA)로 1시간씩 3회 추출한 후 상징액을 감압농축(EYELA, Tokyo, Japan)하여 용매를 제거한 후 동결건조 하였다. 그 후 각각의 동결건조분말을 ethanol : PBS(phosphate buffered saline)(1:1)로 100 mg/mL가 되도록 제조하여 분석시료로 사용하였다.

#### 일반성분 분석

일반성분 함량은 식품공전(15)에 따라 측정하였다. 수분은 105°C 상압건조법, 조회분은 건식회화법, 조지방은 에테르 추출법, 조단백질은 Kjeldahl법으로 분석하였다. pH는 시료 10 g에 증류수 10 mL를 가하여 잘 교반한 후 pH meter(Mettler Toledo, Bedford, MA, USA)를 이용하여 측정하였다. 당도는 당도계(N-1, Atago, Tokyo, Japan)를 사용하여 측정하였고, 산도는 0.1 N NaOH로 적정하여 citric acid로 환산하였다. 총 식이섬유 함량은 동결건조 시켜 분말화한 시료를 AOAC 방법(16)을 이용하여 수용성 식이섬유와 불용성 식이섬유의 합을 총 식이섬유 함량으로 나타내었다. 모든 성분은 3회 반복 측정하여 평균값으로 나타내었다.

#### 유리당 분석

유리당 함량은 시료 3 g에 80% EtOH 60 mL를 가하여 6시간 동안 초음파 추출(3회) 하였다. 추출한 시료액은 분석 조건에 알맞도록 희석한 다음 Sep-Pak C18 cartridges(Waters, Milford, MA, USA)를 통과시켜 0.45 µm membrane filter(Woongki Science Co., Ltd., Seoul, Korea)로 여과한 것을 HPLC(Waters 2695)로 분석하였다. 유리당 분석은 Preval™ Carbohydrate ES(4.6×250 mm, 5 µm, Grace, Deerfield, IL, USA) 칼럼을 사용하여 ELSD로 검출하였으며, 이동상으로는 acetonitrile과 증류수를 7:3으로 혼합하여 분당 0.8 mL의 속도로 이동시켰다. 유리당 함량은 농도별로

제조한 표준물질(fructose, glucose, sucrose)(Sigma, St. Louis, MO, USA)을 HPLC로 분석하여 얻은 표준곡선으로부터 정량하였다.

#### 총 페놀 및 총 플라보노이드 함량 측정

추출물의 총 페놀 함량은 Folin-Denis 방법으로 측정하였다(17). 시료 용액(1 mg/mL) 100  $\mu$ L과 증류수 900  $\mu$ L을 혼합하고, Folin-Ciocalteu's phenol reagent 100  $\mu$ L을 가하여 잘 섞은 후 5분간 상온에서 반응시켰다. 이 용액에 20%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  300  $\mu$ L을 넣어 혼합한 다음 증류수를 가하여 2 mL로 조정하였다. 이 용액을 23°C에서 2시간 동안 방치한 후, 760 nm에서 흡광도를 측정하였고, tannic acid(1 mg/mL)를 이용한 검량선과 비교하여 총 페놀 함량을 산출하였다.

총 플라보노이드 함량은 시료에 diethyleneglycol 2 mL, 1 N NaOH 20  $\mu$ L을 가한 다음 37°C 항온수조에서 1시간 방치한 후 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이 때 표준물질로 rutin(Sigma)을 이용하여 작성한 검량선과 비교하여 총 플라보노이드 함량을 산출하였으며, 이를 3회 반복 측정하였다.

#### DPPH 라디칼 소거활성 측정

시료의 DPPH 라디칼 소거활성은 Blois 방법(18)을 약간 변형하여 측정하였다. 즉, 시료 100  $\mu$ L과 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)(Sigma)을 메탄올에 100  $\mu$ M의 농도로 녹인 DPPH 용액 900  $\mu$ L을 넣고 혼합하여 실온(암실)에서 30분간 방치한 다음 517 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 대조군으로는 항산화제인 L-ascorbic acid, BHA, trolox(Sigma)를 사용하였으며, DPPH radical 소거활성은 아래와 같이 계산하였다.

$$\% \text{ DPPH} = \frac{A - B}{A} \times 100$$

A: Absorbance of the control

B: Absorbance of the sample

#### Superoxide anion 소거활성 측정

Superoxide anion 소거활성은 PMS/NADH system을 이용하여 생성된 superoxide anion의 양을 NBT 환원법으로 517 nm에서 측정하였다(19). 반응액은 각 시료 50  $\mu$ L에 125  $\mu$ M NADH와 63  $\mu$ M의 NBT를 PBS(pH 8.4) 150  $\mu$ L에 잘 혼합한 후 8  $\mu$ M의 PMS 100  $\mu$ L을 첨가하여 superoxide 생성을 유도하였다. Superoxide anion 소거활성은 각각 생성된 superoxide의 흡광도를 시료를 가하지 않은 대조군과 비교하여 저해활성도(%)로 나타내었다. 대조군으로는 L-ascorbic acid, trolox, quercetin(Sigma)을 사용하였으며, 3회 반복 측정하였다.

#### 세포독성과 nitric oxide(NO) 생성 저해능 측정

시험에 사용한 세포는 murine macrophage cell line, RAW 264.7 세포로 한국세포주은행(Korean Cell Line Bank, Seoul,

Korea)에서 구입하였으며, 10% fetal bovine serum(FBS)과 100 unit/mL penicillin-streptomycin(GIBCO Inc., Grand Island, NY, USA)이 포함된 Dulbecco's Modified Eagle Medium(DMEM, GIBCO Inc.) 배지를 사용하여 37°C, 5%  $\text{CO}_2$  항온기에서 배양하였다.

세포독성 실험은 96 well plate에 DMEM 배지를 준비하여 RAW 264.7( $1 \times 10^5$  cells/mL) 세포를 넣고, 18시간 배양 후 여러 가지 농도의 시료와 LPS(lipopolysaccharide, Sigma) 100 ng/mL를 첨가한 후 전 배양조건과 동일하게 24시간 배양하였다. 그리고 WST-1(EZ-CyTox enhanced cell viability assay kit; DaeiLab Service, Seoul, Korea) assay를 이용하여 세포생존율을 3회 반복 측정하였다. 각 시료의 농도에 대한 흡광도를 측정한 후 대조군의 흡광도와 비교하여 RAW 264.7 세포에 대한 시료의 세포 독성 정도를 평가하였다.

NO 생성 저해능은 RAW 264.7 세포를  $1 \times 10^5$  cells/mL로 조절한 후 96 well plate에 접종하고 여러 가지 농도의 시료를 1시간 동안 처리한 후 LPS 100 ng/mL를 가하여 24시간 배양한 후 생성된 NO를 Griess 시약을 이용하여 측정하였다. 즉, 세포배양 상등액 100  $\mu$ L과 Griess 시약[1% (w/v) sulfanilamide, 0.1% N-(1-naphthyl)ethylenediamine in 2.5 (v/v) phosphoric acid] 100  $\mu$ L을 혼합하여 96 well plate에서 10분 동안 반응시킨 후 530 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 생성된 NO의 양은 sodium nitrite( $\text{NaNO}_2$ )의 검량선과 비교하여 환산하였다.

#### 감귤당근 혼합주스의 관능평가

감귤당근 혼합주스 시제품 4종의 관능검사는 제주대학교 생명과학기술혁신센터 직원 20명을 선발하여 관능검사에 관한 기초사항을 예비교육 시킨 후 색상(color), 향(flavor), 맛(taste), 전반적인 기호도(overall preference)에 대하여 순위법으로 평가하였으며, 평가 결과는 5% 수준에서 유의성을 검정하였다.

#### 통계분석

실험결과의 통계처리는 Window용 SAS(Statistical Analysis System) 8.0 version(SAS Institute, Cary, NC, USA)을 이용하여 ANOVA의 Duncan's multiple range test와 Student's t-test로 수행하였다. 통계분석 결과는 평균 및 표준편차로 표시하였으며, 각 처리구간의 유의적인 차이는  $p < 0.05$ 에서 검증하였다.

## 결과 및 고찰

#### 감귤당근 혼합주스의 제조 및 이화학적 특성

제주지역에서 친환경적으로 재배된 감귤과 당근을 이용하여 천연의 폴리페놀 및 식이섬유를 함유한 기능성이 향상된 과채주스를 제조하고자 감귤주스 제조 시 부산물로 폐기

Table 2. General composition of citrus and carrot mixed juice

Component	Citrus and carrot mixed juice			
	CCJ-1	CCJ-2	CCJ-3	CCJ-4
Moisture (%)	91.26±0.10 <sup>b</sup>	88.80±0.15 <sup>a</sup>	91.38±0.06 <sup>b</sup>	91.23±0.01 <sup>b</sup>
Carbohydrates (%)	7.67±0.03 <sup>a</sup>	10.23±0.16 <sup>b</sup>	7.64±0.06 <sup>a</sup>	7.71±0.05 <sup>a</sup>
Crude protein (%)	0.60±0.06 <sup>ab</sup>	0.54±0.00 <sup>a</sup>	0.58±0.00 <sup>ab</sup>	0.63±0.05 <sup>b</sup>
Crude lipid (%)	0.07±0.02 <sup>a</sup>	0.04±0.01 <sup>b</sup>	0.04±0.00 <sup>b</sup>	0.03±0.01 <sup>b</sup>
Crude ash (%)	0.40±0.02 <sup>a</sup>	0.38±0.02 <sup>a</sup>	0.37±0.02 <sup>a</sup>	0.39±0.02 <sup>a</sup>
pH	3.69	3.70	3.80	3.84
°Brix	12.5	13.1	11.0	11.2
Acidity(%)	0.95	0.87	0.82	0.80
°Brix/acidity	13.1	15.0	13.4	14.0
Total dietary fiber (%)	0.258±0.014 <sup>a</sup>	0.319±0.013 <sup>b</sup>	0.265±0.013 <sup>a</sup>	0.285±0.016 <sup>a</sup>

The data were expressed as mean±SD of three determinations.

The same letters in each column are not significantly different at the 5% level using Duncan's multiple range  $p < 0.05$  in ANOVA test.

되는 착즙박에 정제수를 첨가하여 조분쇄한 후 감귤당근주스에 5~10% 첨가하였고, 또한 주스의 풍미를 증진시키기 위해 첨가물로 vitamin C, citric acid, oligosaccharides를 첨가하여 시제품을 제조한 후(Table 1), 감귤당근 혼합주스의 이화학적 특성을 측정하였다(Table 2). 수분 함량은 감귤 및 당근 착즙액과 50% 감귤착즙박을 첨가한 시제품(CCJ-1, 3, 4)에서는 약 91%로 동일하였으나, 올리고당 등 첨가물을 첨가한 시제품(CCJ-2)에서는 약 88%로 낮았다. 탄수화물 함량은 감귤 및 당근 착즙액과 50% 감귤착즙박을 첨가한 시제품(CCJ-1, 3, 4)에서는 약 7.6%로 동일하였으나, 올리고당 등 첨가물을 첨가한 시제품(CCJ-2)에서는 10.2%로 높았다. 조단백은 0.54~0.63%, 조지방은 0.03~0.07%, 조회분은 0.37~0.40% 함유되어 있었다.

pH는 50% 감귤착즙박을 첨가한 시제품(CCJ-3, 4)이 각각 3.80과 3.84로 첨가하지 않은 시제품(CCJ-1)의 3.69보다 높았다. 당도는 올리고당을 첨가한 시제품(CCJ-2)이 13.1°Brix로 가장 높았으며, 나머지 시제품은 약 11.0~12.5°Brix를 나타내었다. 산도는 50% 감귤착즙박을 첨가한 시제품(CCJ-3, 4)이 각각 0.82와 0.80으로 첨가하지 않은 시제품(CCJ-1)의 0.95보다 낮았다. 총 식이섬유 함량은 50% 감귤착즙박을 첨가한 시제품(CCJ-3, 4)이 첨가하지 않은 시제품(CCJ-1)보다 103%와 110% 높았으나 통계적으로 유의성이 없었다.

Lee 등(20)은 한국산 만다린 감귤의 당도는 품종별로 10~11°Brix로 비슷하였고, 시판되고 있는 감귤주스류 즉, 과

즙 및 희석과즙음료의 당도는 12~13°Brix, 천연과즙음료의 당도는 11~15°Brix로 감귤 원료보다 1~3°Brix 높았으며, 천연과즙음료의 산도는 0.9~1.09%로 나타났다고 보고하였다. 본 연구에서는 감귤당근 혼합주스의 산도가 0.80~0.95%로 다소 낮았는데, 이는 당근착즙액을 30% 혼합하였기 때문인 것으로 추정된다.

감귤당근 혼합주스의 유리당 함량

Table 3은 감귤당근 혼합주스의 유리당 함량을 나타내고 있다. 유리당 함량은 fructose가 2.11~5.76 g/100 g, glucose가 1.20~2.75 g/100 g, sucrose가 3.00~4.21 g/100 g으로, 특히 fructose 함량에서 많은 차이를 나타내었다. 50% 감귤착즙박을 첨가하지 않은 시제품(CCJ-1)은 fructose와 glucose의 함량이 높은 반면, 50% 감귤착즙박을 첨가한 시제품(CCJ-3, 4)은 향긋한 단맛을 나타내는 sucrose를 많이 함유한 것으로 보아, 50% 감귤착즙박을 첨가하면 단맛에 있어서도 품질이 우수할 것으로 추정되었다.

Song 등(21)도 감귤과즙의 유리당 함량은 sucrose, fructose, glucose 순으로 많았으며, sucrose가 전체 유리당의 44.9~66.0%로 가장 많이 함유되어 있었고 fructose와 glucose는 각각 17.5~30.1%와 15.7~25.7% 함유되어 있음을 보고하였다. Lee 등(20)도 감귤농축액을 희석하여 제조한 감귤주스와 시판주스의 유리당 함량을 분석한 결과 sucrose, fructose, glucose가 검출되었는데, sucrose가 전체 유리당의 63.7%~71.5%, fructose가 10.0~15.8%, glucose가 18.1~21.2%라고 보고하였다. 본 실험에서 당근착즙액 30%와

Table 3. Free sugars content of citrus and carrot mixed juice

(g/100 g)

Component	Citrus and carrot mixed juice			
	CCJ-1	CCJ-2	CCJ-3	CCJ-4
Fructose	3.38±1.88 <sup>a</sup> (41.6%)	5.76±0.05 <sup>b</sup> (46.8%)	2.21±0.02 <sup>a</sup> (28.8%)	2.11±0.01 <sup>a</sup> (28.6%)
Glucose	1.74±0.77 <sup>a</sup> (21.5%)	2.75±0.04 <sup>b</sup> (22.4%)	1.24±0.02 <sup>a</sup> (16.3%)	1.20±0.01 <sup>a</sup> (16.3%)
Sucrose	3.00±1.54 <sup>a</sup> (36.9%)	3.79±0.06 <sup>a</sup> (30.8%)	4.21±0.11 <sup>a</sup> (54.9%)	4.07±0.03 <sup>a</sup> (55.1%)
Total	8.13±3.44 <sup>a</sup> (100%)	12.31±0.15 <sup>b</sup> (100%)	7.67±0.14 <sup>a</sup> (100%)	7.38±0.03 <sup>a</sup> (100%)

The data were expressed as mean±SD of three determinations.

The same letters in each column are not significantly different at the 5% level using Duncan's multiple range  $p < 0.05$  in ANOVA test.

Table 4. Content of total phenolics and total flavonoids in citrus and carrot mixed juice (mg%)

Sample	Total phenolic content	Total flavonoid content
Citrus pressed juice	720±1	187.0±1.1
Carrot pressed juice	428±9	82.7±2.2
50% citrus press cake	979±8	295.2±7.8
CCJ-1	735±8	172.7±1.1
CCJ-2	756±9	122.5±0.1
CCJ-3	863±9	207.7±1.1
CCJ-4	898±12	224.4±0.1
Commercial citrus juice	591±1	97.9±1.1
Commercial carrot juice	454±8	295.2±7.8

감귤착즙액을 60~70%로 달리하여 제조한 혼합주스에서도 이와 유사한 유리당 함량 분포를 보였다.

#### 감귤당근 혼합주스의 총 페놀과 총 플라보노이드의 함량

Table 4는 감귤당근 혼합주스의 총 페놀과 총 플라보노이드 함량을 보여주고 있다. 총 페놀 함량은 감귤착즙액과 당근착즙액이 각각 720 mg%와 428 mg%이었는데, 50% 감귤착즙액은 979 mg%로 가장 높은 함량을 나타내었다. 감귤당근 혼합주스에서는 50% 감귤착즙액을 첨가한 시제품인 CCJ-3과 CCJ-4의 총 페놀 함량은 각각 863 mg%과 898 mg%로, 50% 감귤착즙액을 첨가하지 않은 시제품인 CCJ-1(735 mg%)보다 각각 1.17과 1.22배 높았으며, 시판 감귤주스(591 mg%)보다 각각 1.46과 1.51배 높았다.

총 플라보노이드 함량은 감귤착즙액과 당근착즙액이 각각 187 mg%와 82 mg%이었는데, 50% 감귤착즙액은 295 mg%로 가장 높은 함량을 나타내었다. 감귤당근 혼합주스에서는 50% 감귤착즙액을 첨가한 시제품인 CCJ-3과 CCJ-4의 총 플라보노이드 함량은 각각 207과 224 mg%로, 50% 감귤착즙액을 첨가하지 않은 시제품인 CCJ-1(172 mg%)보다 각각 1.2와 1.3배 높았다. 따라서 감귤착즙액의 첨가로 총 페놀과 총 플라보노이드 함량이 증가됨을 알 수 있었다.

#### 감귤당근 혼합주스의 항산화 활성

감귤당근 혼합주스의 항산화 활성은 DPPH radical과 superoxide anion radical의 소거능으로 평가하였다. 시제품의 DPPH radical 소거능(Table 5)은 시료 간 소거활성의 차이가 가장 큰 2,500 µg/mL 농도에서의 측정치로 나타내었고, 대조구인 ascorbic acid, butylated hydroxy anisol, trolox는 높은 소거활성을 나타내는 50 µg/mL에서의 측정치로 나타내었다. DPPH radical 소거능은 2,500 µg/mL의 농도에서 50% 감귤착즙액을 첨가한 시제품인 CCJ-3과 CCJ-4가 각각 58.7%와 63.3%로, 50% 감귤착즙액을 첨가하지 않은 시제품인 CCJ-1(19.2%)보다 각각 3.05와 3.29배 높았으며, 시판 감귤주스(14.8%)보다 각각 3.96과 4.27배 높았다.

감귤당근 혼합주스 시제품의 superoxide anion radical 소거활성 또한 시료 간 소거활성의 차이가 가장 큰 625 µg/mL 농도에서의 측정치로 나타내었고, 대조구인 ascorbic acid,

Table 5. DPPH radical scavenging activity of citrus and carrot mixed juice

Sample	DPPH radical scavenging activity	
	Scavenging activity (%)	IC <sub>50</sub> <sup>1)</sup> (µg/mL)
	At 2,500 µg/mL	
Citrus pressed juice	23.6±2.3	>5,000
Carrot pressed juice	<5%	>5,000
50% Citrus press cake	29.0±2.7	4,837.6±139.7
CCJ-1	19.2±1.9	>5,000
CCJ-2	28.5±1.8	4,841.3±77.8
CCJ-3	58.7±0.1	2,037.0±7.0
CCJ-4	63.3±0.1	1,844.8±6.9
Commercial citrus juice	14.8±0.7	>5,000
Commercial carrot juice	24.0±0.9	>5,000
	At 50 µg/mL	
Ascorbic acid	92.6±0.1	10.0±0.1
Butylated hydroxy anisol	92.5±0.3	12.3±0.1
Trolox	80.5±1.0	22.1±0.1

<sup>1)</sup>IC<sub>50</sub> values were calculated from the regression lines using thirteen different concentrations in triplicate experiments.

trolox, quercetin은 시료와 유사한 활성을 나타내는 100 µg/mL에서의 측정치로 나타내었다. Superoxide anion radical 소거활성은 50% 감귤착즙액을 첨가한 시제품 CCJ-3과 CCJ-4가 각각 59.2%와 63.8%로, 50% 감귤착즙액을 첨가하지 않은 시제품인 CCJ-1(35.3%)보다 각각 1.67과 1.80배 높았으며, 시판 감귤주스(32.0%)보다 1.85와 2.0배 높았다 (Table 6).

한편 50% 감귤착즙액인 경우는 총 페놀 함량이 979 mg%로 가장 높았으나 DPPH radical과 superoxide anion radical 소거활성은 그리 높지 않은 반면, 혼합주스 시제품은 감귤착즙액에 당근착즙액과 50% 감귤착즙액을 첨가함으로써 항산화 활성이 더 높았는데, 이는 감귤착즙액, 당근착즙액 그리고 감귤착즙액에 함유되어 있는 성분 간의 상호작용에 기

Table 6. Superoxide radical scavenging activity of citrus and carrot mixed juice

Sample	Superoxide radical scavenging activity (%)	
	Scavenging activity (%)	IC <sub>50</sub> <sup>1)</sup> (µg/mL)
	At 625 µg/mL	
Citrus pressed juice	38.7±0.5	824.0±30.1
Carrot pressed juice	6.0±1.0	>5,000
50% citrus press cake	37.2±0.1	>5,000
CCJ-1	35.3±1.5	869.3±26.2
CCJ-2	40.2±1.2	779.4±9.6
CCJ-3	59.2±0.3	473.5±8.9
CCJ-4	63.8±0.6	415.1±0.1
Commercial citrus juice	32.0±0.2	1,022.5±27.4
Commercial carrot juice	24.9±1.7	>5,000
	At 100 µg/mL	
Ascorbic acid	60.5±2.1	69.6±2.4
Trolox	21.9±1.7	333.0±5.7
Quercetin	33.7±0.1	228.8±17.1

<sup>1)</sup>IC<sub>50</sub> values were calculated from regression lines using thirteen different concentrations in triplicate experiments.

Table 7. Cell toxicity and inhibition of NO production of citrus and carrot mixed juice in LPS-induced RAW 264.7 cell

Sample	Median lethal conc. (TC <sub>50</sub> , µg/mL)	NO inhibition (%) (at 1,000 µg/mL)
Citrus pressed juice	>1000	9.8±5.1
Carrot pressed juice	>1000	35.3±0.3
50% citrus press cake	>1000	12.2±0.1
CCJ-1	>1000	18.2±0.1
CCJ-2	>1000	23.9±1.1
CCJ-3	>1000	20.9±0.9
CCJ-4	>1000	28.5±2.6
Commercial citrus juice	>1000	15.1±4.2
Commercial carrot juice	>1000	22.0±0.2

인하는 것으로 추정되었으며, 앞으로 이에 대한 연구가 필요하다.

**감귤당근 혼합주스의 항염증 활성**

NO는 인체의 다양한 세포에서 생성되는데, 과잉 생성될 경우 각종 암의 발생 및 염증반응과 관계가 있음이 알려져 있다. 특히 대식세포에서 NO 생성은 염증관련 인자를 활성화시키므로 염증반응에서 중요한 역할을 한다(22).

본 실험에서는 마우스 대식세포인 RAW 264.7에 대하여 각각의 시료로 처리한 결과 100 ng/mL에서 모든 시료의 독성이 관찰되지 않아, LPS로 자극을 준 후 100 ng/mL 농도에서 각 시료의 NO 생성 저해능을 분석하였다(Table 7). 그 결과, 당근착즙액이 35.3%로 가장 높았고 감귤착즙액이 9.8%로 가장 낮게 나타났다. 감귤당근 혼합주스 시제품에서는 CCJ-4(28.5%)>CCJ-2(23.9%)>CCJ-3(20.9%)>CCJ-1(18.2%) 순으로 나타났다.

당 또는 물과 같이 섭취한 고지방 고탄수화물 식사에서는 세포막 단백질 발현 및 혈장 내독소의 증가로 산화와 염증스트레스를 증가시키지만 오렌지주스와 같이 섭취한 고지방 고탄수화물 식사에서는 산화 및 염증 스트레스의 유도를 막아준다는 보고가 있다(23).

본 실험에서는 50% 감귤착즙박의 총 페놀과 총 플라보노이드의 함량이 가장 높았으나, DPPH 유효기와 superoxide anion 소거능은 50% 감귤착즙박을 10% 첨가한 감귤당근 혼합주스가 가장 높아 총 페놀 함량과 일치하지 않았다. 또한 LPS로 염증을 유도한 마우스대식세포 RAW 264.7에서의 NO 생성 저해능도 유사한 결과를 보였다. 따라서 감귤당근 혼합주스 제조 시 50% 감귤착즙박을 첨가하면 항산화능 또는 항염증 활성이 높은 감귤당근 혼합주스를 제조할 수 있을 것으로 기대되었다.

한편 위에서 분석한 황산화 활성 및 항염증 활성은 각 주스를 동결건조 시킨 후 일정농도로 시료를 제조하여 측정한 것으로, 실제 주스인 경우는 수분함량 및 고형분 함량이 모두 다르기 때문에 주스를 실제 부피로 음용 시 갖는 기능성과는 차이가 있을 것으로 추정된다.

Table 8. Sensory evaluation test (average value) of citrus and carrot mixed juice (n=20)

Attributes	Citrus and carrot mixed juice			
	CCJ-1	CCJ-2	CCJ-3	CCJ-4
Color	2.25 <sup>b</sup>	3.15 <sup>c</sup>	1.85 <sup>a</sup>	2.75 <sup>b</sup>
Flavor	2.75 <sup>b</sup>	3.20 <sup>c</sup>	1.65 <sup>a</sup>	2.40 <sup>b</sup>
Taste	2.50 <sup>a</sup>	2.10 <sup>a</sup>	2.45 <sup>a</sup>	2.95 <sup>a</sup>
Overall preference	2.60 <sup>b</sup>	2.80 <sup>b</sup>	1.90 <sup>a</sup>	2.70 <sup>b</sup>

Same letters (a-d) in each column are not significantly different at the 5% level using Duncan's multiple range p<0.05 in ANOVA test.

Lower score indicates more preference.

**감귤당근 혼합주스의 관능평가**

감귤당근 혼합주스에 대한 관능평가는 검사요원 20명을 대상으로 시제품 4종을 무작위로 제공하여 색상(color), 향(flavor), 맛(taste), 전반적인 선호도(overall preference)를 순위법으로 평가하여 평균값으로 나타내었다(Table 8).

색상과 향은 시제품 CCJ-3이 가장 선호도가 높았으며, CCJ-1과 CCJ-4가 두번째 그리고 CCJ-2가 가장 낮은 선호도를 나타내었다. 맛은 4가지 시제품 모두 동일한 선호도를 나타내었다. 전반적인 선호도는 시제품 CCJ-3이 가장 높았으며, 다음으로 3가지 시제품 모두 동일한 선호도를 나타내었다. 시제품 CCJ-2의 경우는 혼합주스의 풍미를 증진시키기 위해 첨가물로 vitamin C, citric acid, oligosaccharides를 첨가하여 제조하였는데, 관능적으로 우수성이 감지되지 않았다. 이상의 결과로부터 시제품 CCJ-3은 색상, 향, 맛 그리고 전반적인 선호도가 상대적으로 가장 높은 것으로 나타났다.

결론적으로 감귤착즙액 65%에 당근 착즙액 30%와 50% 감귤착즙박 5%를 첨가한 시제품 CCJ-3이 비교적 높은 총 페놀 및 총 플라보노이드 함량을 나타내었고 항산화 활성과 NO 생성 저해능이 높으며, 4개의 시제품 중에서 상대적으로 선호도가 가장 높았다. 차후 7점 기호도 검사법을 이용하여 시판 주스와 비교하여 절대적인 기호도가 어느 위치에 있는지 평가할 필요가 있다.

**요 약**

제주산 친환경 감귤과 당근의 착즙액과 감귤착즙박을 이용하여 4개의 감귤당근 혼합주스 시제품을 제조한 후 이화학적 특성과 항산화 활성을 측정하였다. 각 시제품의 조성은 CCJ-1이 감귤착즙액 : 당근착즙액 : 50% 감귤착즙박(착즙박 : 물=1:1) : 올리고당 등 첨가물이 70:30:0:0, CCJ-2가 65:30:0:5, CCJ-3이 65:30:5:0, CCJ-4가 60:30:10:0이었다. 산도는 감귤착즙박을 첨가한 시제품(CCJ-3, 4)이 각각 0.82와 0.80으로 첨가하지 않은 시제품(CCJ-1)의 0.95보다 낮았다. 유리당 함량은 fructose가 2.11~5.76 g/100 g, glucose가 1.20~2.75 g/100 g, sucrose가 3.00~4.21 g/100 g으로, 특히 fructose 함량에서 많이 차이를 나타내었다. 총 페놀 함량은

CCJ-3과 CCJ-4가 각각 863 mg%과 898 mg%로 CCJ-1(735 mg%)보다 각각 1.17배와 1.22배 높았다. DPPH radical 소거능은 2,500 µg/mL의 농도에서 CCJ-3과 CCJ-4가 각각 58.7%와 63.3%로 CCJ-1(19.2%)보다 각각 3.05배와 3.29배 높았다. Superoxide anion radical 소거활성도 CCJ-3과 CCJ-4가 625 µg/mL에서 CCJ-1보다 각각 1.67배와 1.80배 높았다. NO 생성 저해능은 CCJ-3과 CCJ-4가 각각 20.9%와 28.5%로 CCJ-1(18.2%)보다 각각 1.15배와 1.57배 높았다. 감귤당근 혼합주스에 대한 관능평가 결과 시제품 CCJ-3은 색상, 향, 맛 그리고 전반적인 선호도가 4개의 시제품 중에서 상대적으로 가장 높은 것으로 나타났다. 결론적으로 감귤착즙액 65%에 당근 착즙액 30%와 50% 감귤착즙박을 5% 첨가한 시제품 CCJ-3이 비교적 높은 항산화 활성과 항염증 활성을 나타내었고 선호도가 상대적으로 가장 높게 나타났다.

### 감사의 글

본 연구는 교육과학기술부의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 광역경제권 선도산업 인재양성사업의 지원에 의해 제주대학교 생명과학기술혁신센터에서 이루어진 것으로 이에 감사드립니다.

### 문헌

- Nantz MP, Rowe CA, Nieves C Jr, Percival SS. 2006. Immunity and antioxidant capacity in humans is enhanced by consumption of a dried, encapsulated fruit and vegetable juice concentrate. *J Nutr* 136: 2606-2610.
- Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. 2006. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact* 160: 1-40.
- Williams GM, Latropoulos MJ, Whysner J. 1999. Safety assessment of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene as antioxidant food additives. *Food Chem Toxicol* 37: 1027-1038.
- National Academy of Agricultural Science, RDA. 2009. Table of food functional composition first edition. 11-1390802-000139-01.
- Kim SU, Yoon YB, Choi EH. 2000. Change in quality of mixed juice of fruits vegetables by aseptic treatment and packing with nitrogen gas during storage. *Korean J Food Sci Technol* 32: 1271-1277.
- Sohn KS, Lee JH. 2002. Application of advanced processing technology in the production of juices. *Food Ind Nutr* 7: 20-26.
- Sohn KS, Seog EJ, Lee JH. 2006. Quality changes of orange juice as influenced by clarification methods. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35: 378-382.
- Sohn KS, Lee JH. 2006. Clarification of mixed fruit and vegetable juices using various clarification methods. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35: 629-634.
- Kang YJ, Yang MH, Ko WJ, Park SR, Lee BG. 2005. Studies on the major components and antioxidative properties of whole fruit powder and juice prepared from premature mandarin orange. *Korean J Food Sci Technol* 37: 783-788.
- Kim YD, Mahinda S, Koh KS, Jeon YJ, Kim SH. 2009. Reactive oxygen species scavenging activity of Jeju native citrus peel during maturation. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 462-469.
- Kang YH. 2005. Effect of commercial plant cell wall degrading enzymes on extraction of p-hydroxybenzoic acid from carrot alcohol insoluble residue (AIR) and cellulose fraction. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 1633-1637.
- Eun JB, Jung YM, Woo GJ. 1996. Identification and determination of dietary fibers and flavonoids in pulp and peel of Korean tangerine (*Citrus aurantium* var.). *Korean J Food Sci Technol* 28: 371-377.
- Lee MH, Huh D, Jo DJ, Lee GD, Yoon SR. 2007. Flavonoids components and functional properties of citrus peel hydrolysate. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36: 1358-1364.
- Lee MH, Kim MS, Lee LG, Shin HG, Sohn HY. 2011. Evaluation of biological activity and characterization of taste and function-enhanced yam chips. *Korean J Microbiol Biotechnol* 39: 153-160.
- KFAD. 2011. *Korea Food Code*. Munyoung, Seoul, Korea. 10-1-1-37.
- AOAC. 2005. *Official methods*. 18th ed. Association of Official Analytical Chemist, Washington, DC, USA. Chap 4, p 33-36.
- Zhang Q, Zhang J, Shen J, Silva A, Dennis AD, Barrow CJ. 2006. A simple 96-well microplate method for estimation of total polyphenol content in seaweeds. *J Appl Phycol* 18: 445-450.
- Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1198-1200.
- Liu F, Ooi VEC, Chang ST. 1997. Free radical scavenging activities of mushroom polysaccharide extracts. *Life Sci* 60: 763-771.
- Lee HY, Seog HM, Nam YJ, Chung DH. 1987. Physico-chemical properties of Korean mandarin (*Citrus reticula*) orange juices. *Korean J Food Sci Technol* 19: 338-345.
- Song EY, Choi YH, Kang KH, Koh JS. 1998. Free sugar, organic acid, hesperidin, naringin and inorganic elements changes of Cheju citrus fruits according to harvest date. *Korean J Food Sci Technol* 30: 306-312.
- Nussler AK, Billiar TR. 1993. Inflammation, immunoregulation, and inducible nitric oxide synthase. *J Leukoc Biol* 54: 171-178.
- Ghanim H, Sia CL, Upadhyay M, Korzeniewski K, Viswanathan P, Abuaysheh S, Mohanty P, Dandona P. 2010. Orange juice neutralizes the proinflammatory effect of a high-fat, high-carbohydrate meal and prevents endotoxin increase and toll-like receptor expression. *Am J Clin Nutr* 91: 940-949.

(2011년 10월 7일 접수; 2012년 4월 23일 채택)