KOREAN J. FOOD SCI. TECHNOL. Vol. 52, No. 4, pp. 333~341 (2020)
https://doi.org/10.9721/KJFST.2020.52.4.333

KOREAN JOURNAL OF
한국식품과학회지
FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY
©The Korean Society of Food Science and Technology

수확시기 및 원료 조건에 따른 풋귤 식초의 항산화 활성

박보연[1] · 최재원[1] · 김성현[1] · 윤예랑[1] · 이영란[2] · 이영미[2] · 정지혜[1,*]
[1]세계김치연구소, [2](주)제주자연초

Antioxidant activity of premature mandarin vinegar according to harvest period and raw material conditions

Boyeon Park[1], Jae Won Choi[1], Sung Hyun Kim[1], Ye-Rang Yun[1], Young ran Lee[2], Young mi Lee[2], and Ji-Hye Jung[1,*]
[1]*Hygienic Safety and Analysis Center, World Institute of Kimchi*
[2]*Jeju Nature & Vinegar Co., Ltd.*

Abstract This study aimed at comparing the antioxidant activity of premature mandarin (PM) vinegars by varying harvest periods (July, August, and September) and raw material conditions (PM fruit, PMF; PM fruit with 10% dried Citri Unshius Pericarpium Immaturus (CUPI), PMF-D, and PM fruit with 10% roasted CUPI, PMF-R). We found that the PM harvested in July exhibited the highest phenol content. Meanwhile, the July and August harvests showed stronger DPPH radical scavenging and reducing power. The phenol content of PMF-R vinegar was 0.62±0.02 μg GAE/mL, more than two times higher than that of PMF vinegar. The DPPH radical scavenging capacity and reducing power were the highest in the PMF-R vinegar, at 4.71±0.07 and 7.47±0.28 nL/mL, respectively. Therefore, it could be expected that PM vinegar prepared by adding roasted CUPI and harvested in July would exhibit high antioxidant activity and could be used as functional vinegar.

Keywords: antioxidant activity, premature mandarin, vinegar, citri unshius pericarpium immaturus, harvest period

서 론

건강에 대한 소비와 관심은 매년 지속적으로 증가하고 있으며, 최근에는 면역력 증진 및 노화 방지를 위한 다양한 식품 원료 및 제품이 개발되고 있다. 체내에서 에너지를 발생하는 과정에서 생성되는 활성 산소(reactive oxygen species, ROS)는 면역력 저하 및 신체 노화의 원인이 되며, 스트레스, 흡연, 강한 자외선 등으로 발생한다(Kim 등, 2019). 항산화 활성은 활성 산소를 효과적으로 제거하고 지질 과산화 반응을 억제하는 등의 산화적 스트레스로부터 신체를 보호하여 세포 구조 및 기능을 유지하게 한다(Shahidi와 Ambigaipalan, 2015). 특히 암, 당뇨병 및 심혈관 질환과 같은 많은 만성 질환의 예방이 항산화 활성과 관련이 있다고 보고되면서 천연 항산화 물질에 대한 관심은 높아지고 있다(Rajendran 등, 2014). 이 중 폴리페놀 및 플라보노이드 화합물은 과채류 등의 식물체에 많이 함유되어 있으며, 항산화, 항암 및 항염 효과를 가진다고 알려져 많은 주목을 받고 있다(Dai와 Mumper, 2010; Lu와 Foo, 2000; Urquiaga와 Leighton, 2000).

항산화 식품으로 알려져 있는 식초는 비휘발성인 유기산, 아미노산, 당류, 에스테르 등과 소량의 휘발성 성분을 함유하여 독특한 방향과 신맛을 가지며, 강한 산성으로 식품에서 유해 미생물의 생육을 억제하는 효과를 갖는 대표적인 발효 식품으로 알려져 있다(Baek 등, 2014). 식초는 과실류, 곡류, 주류 등을 주원료로 알코올 발효 및 초산 발효를 이용하여 제조하는 양조식초와 발효과정 없이 초산을 희석하고 물, 착색료, 향신료 등의 각종 감미료를 첨가하여 양조식초와 유사하게 제조하는 합성식초로 구분 된다(Moon 등, 1997). 국내 식초는 주정을 희석하고 무기염류를 첨가한 주정식초, 30% 이상의 과즙을 함유하는 과실식초, 4% 이상의 곡물을 함유하는 곡물식초가 대부분이다. 최근에 식초에 관한 건강 기능성의 연구가 보고되면서 부재료를 첨가하지 않는 100% 과즙 원료 및 높은 곡물 함량으로 제조하는 천연 발효식초의 수요가 증가하고 있으며, 다양하고 고급화된 식초가 제조되어 상품화되고 있다(Jeong과 Lee, 2000; Mo 등, 2013).

감귤류는 비타민, 무기질, 페놀 화합물, 테르페노이드 및 펙틴을 포함하여 약 170여 가지 이상의 항산화 물질을 함유하고 있는 것으로 규명되었으며, 항산화, 항염증, 항균, 알콜성 간질환, 동맥경화, 암 및 심혈관 질환에 대한 생체 활성 등이 보고되었다(Zou 등, 2016). 풋귤(Premature mandarin)은 감귤의 미숙과로 완숙과 보다 높은 식이섬유, 유기산, 폴리페놀 및 플라보노이드(hesperidin, naringin, rutin) 등을 함유한 것으로 알려져 있다(Choi 등, 2007; Kang 등, 2005; Kim, 2009; Park 등, 2011). 감귤의 과피는 전체 과일의 약 40-50%를 형성하며, 전 세계적으로 감귤을 이용한 가공식품 제조 과정에서 발생되는 수천 톤의 과피는 대부분 농업 폐기물로 버려진다(Negro 등, 2016). 그러나 감귤의 과피에는 페놀 화합물, 카로티노이드 및 비타민 C 등의 생리활

*Corresponding author: Ji-Hye Jung, Hygienic Safety and Analysis Center, World Institute of Kimchi, Gwangju 61755, Republic of Korea
Tel: 82-62-610-1851
Fax: 82-62-610-1810
E-mail: jhjung@wikim.re.kr
Received April 7, 2020; revised May 18, 2020;
accepted June 1, 2020

성 성분이 다량 함유되어 과육보다 높은 항산화 활성을 나타내는 것으로 알려져 있으며, 다양한 식품에서 잠재적인 항산화 소재로 사용될 수 있다고 전망하였다(Singh 등, 2020). Peng 등(2018)의 연구에서도 간장에 감귤 과피를 첨가하여 기능성을 높였으며, Kaderides 등(2020)은 오렌지 과피를 캡슐화 하여 쿠키에 첨가하여 기능성 성분을 증가시키는데 활용하였다. 그러나 아직까지 국내에서는 풋귤의 과피(청피, Citri Unshius Pericarpium Immaturus)를 포함한 감귤의 과피에 대한 생리활성 규명 및 식품 소재의 활용이 미흡한 실정이다.

한편, 식품의 열처리 가공은 저장성과 식품의 품질을 향상시키는 목적으로 사용되고 있으며, 최근 일부 과채류에서 열처리 과정으로 생리활성이 증가하는 것으로 보고되었다(Dewanto 등, 2002; Kim 등, 2008). Hwang 등(2016)의 연구에서도 감귤 과피의 항산화 성분 및 항산화 활성이 로스팅 처리를 통해 총 페놀 및 플라보노이드 함량과 항산화 증진 효과가 검증되었다.

완숙 감귤의 과즙을 이용하여 식초를 제조한 연구가 다수 보고되어 있지만(Kang 등, 2006; Kim과 Choi, 2005; Kim 등, 1997), 현재까지 풋귤에 관한 연구로 풋귤수로 처리한 발아콩 유래의 두즙 펩타이드를 포함하는 근력 및 근육량 향상용 조성물(Song 등, 2016), 미숙 감귤을 이용한 식초 제조 및 기능성에 대한 연구(Yi 등, 2014), 감귤 미숙과 식초의 특성과 항산화 활성(Yi 등, 2014), 풋귤의 항산화 및 항균 활성(Choi 등, 2019) 등 일부만이 보고되고 있다.

완숙 감귤에 관한 연구에 비해 풋귤에 관한 연구가 미비한 실정으로, 특히 풋귤의 수확시기에 따른 항산화 효과 및 청피를 식품 소재로 이용한 연구는 거의 보고된바 없다. 따라서 본 연구에서는 항산화 기능성이 증진된 풋귤 식초를 개발하기 위하여 주원료인 풋귤의 수확시기별 항산화 성분 및 활성 분석과 식초의 원료 조건(건조 및 로스팅 처리 청피 첨가 유무)에 따른 발효특성, 유기산, 페놀 및 플라보노이느 함량 및 항산화 활성을 비교하여 최적 제조 조건을 확립하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에서 사용된 풋귤은 제주도 애월읍에서 무농약으로 재배되었으며, 2019년 7월부터 9월까지 한 달 간격으로 수확하여(7월 15일, 8월 15일, 9월 15일) 시료로 사용하였다.

착즙액 및 청피 제조

수확된 풋귤은 흐르는 물에 세척하여 이물질을 제거하고 껍질째 분쇄하여 착즙액 형태로 식초 제조 및 분석 시료로 사용하였다. 청피는 풋귤을 세척하여 물기를 제거한 다음 껍질 부분을 취하여 열풍건조기(HS-DO-1.5, HAN SUNG F&C Co., Ltd, Incheon, Korea)를 사용하여 55°C에서 60시간 건조하여 건조 청피(Dried Citri Unshius Pericarpium Immaturus)를 제조하였으며, 로스팅 청피(Roasted Citri Unshius Pericarpium Immaturus)는 roaster (THCR-005, Taehwan Automation Industry Co., Gyeonggi-do, Korea)를 이용하여 200°C에서 10분, 250°C에서 10분간 로스팅하여 식힌 후 식초 제조 시료로 사용하였다.

식초제조

풋귤 식초는 청피의 첨가 여부에 따라서 원료 조건을 달리하여 청피를 첨가하지 않는 풋귤 식초(PMF), 건조 청피 10% 첨가 풋귤 식초(PMF-D), 로스팅 청피 10% 첨가 풋귤 식초(PMF-R)의 3가지로 제조하였다. 모든 식초는 7월 수확된 풋귤 착즙액을 주원료로 사용하여, 건조 또는 로스팅 청피, 설탕 및 정제수를 부원료로 첨가하였으며, 자세한 함량 비율은 Table 1과 같다. 준비된 시료에 수곡 형태의 누룩 10% (v/v)를 접종하여 25-30°C에서 5일간 발효하였다. 초산발효는 알코올 발효액을 여과하여 고형물을 제거하고 증류수로 알코올 함량을 7% (v/v)로 희석하여 28-30°C에서 18일 배양하였으며, 발효가 완료된 후 여과하여 분석시료로 사용하였다.

시험용액 제조

수확시기별 풋귤 착즙액과 원료조건을 달리하여 제조된 풋귤 식초를 여과한 원액을 총 페놀 및 플라보노이드 함량을 측정에 사용하였으며, 일정 농도로 희석한 원액을 DPPH 라디칼 소거능(DPPH radical scavenging activity) 및 환원력(reductive potential activity) 측정에 사용하였다.

산도 및 색도 분석

산도 측정은 0.1% phenolphthalein을 지시약으로 하여 0.1 N NaOH 용액으로 중화 적정하고 acetic acid로 환산하여 나타내었다. 색도는 Chroma meter (CR-400, Konica Minolta, Tokyo, Japan)를 이용하여 L (명도, lightness), a (적색도, redness) 및 b (황색도, yellowness) 값을 측정하였다.

유기산 분석

유기산 함량을 측정하기 위해 균질화된 시료 1 mL을 취하고 25 mL의 초순수를 첨가하여 30분간 초음파 추출을 한 뒤, 0.2 μm 멤브레인 필터를 사용하여 여과하였다. 필터 후 외부 표준 검량선 범위 안에 포함되는 수준으로 추출액을 희석하여 분석 용액으로 사용하였다. 유기산 분석은 HPLC-PDA (Waters, Milford, MA, USA)를 사용하여 분석하였으며, 유기산의 표준물질은 Sigma-Aldrich사(St. Louis, MO, USA)의 표준품인 옥살산(oxalic acid),

Table 1. Raw material ratio of premature mandarin vinegars

Raw material (%)	Samples[1)]		
	PMF	PMF-D	PMF-R
Premature mandarin fruit juice	70	70	70
Dried Citri Unshius Pericarpium Immaturus	0	10	0
Roasted Citri Unshius Pericarpium Immaturus	0	0	10
Sugar	20	10	10
Water	10	10	10
Total	100	100	100

[1)]PMF, Premature mandarin fruit vinegar; PMF-D, Premature mandarin fruit with 10% dried Citri Unshius Pericarpium Immaturus vinegar; and PMF-R, Premature mandarin fruit with 10% roasted Citri Unshius Pericarpium Immaturus vinegar.

구연산(citric acid), 주석산(tartaric acid), 사과산(malic acid), 석신산(succinic acid), 젖산(lactic acid), 푸마르산(fumaric acid)와 아세트산(acetic acid)을 사용하였다. 분석조건으로 컬럼은 Aminex HPX-87H (7.8×300 mm, 90 μm), 이동상은 0.008 N H_2SO_4, 유속은 0.6 mL/min, 주입량은 10 μL, UV검출기 파장은 210 nm를 이용하였다. 검출된 유기산은 표준 유기산을 HPLC에 주입하여 얻어진 standard chromatogram상 peak의 retention time (RT)을 비교하여 정성을 확인하였고, 표준 유기산의 peak의 면적으로부터 작성한 검량선을 이용하여 각 시료 중의 유기산을 정량 분석하였다.

총 페놀 및 플라보노이드 함량 측정

식초의 총 페놀 함량은 Folin-Denis의 방법으로 측정하였다(Folin과 Denis, 1912). 시료 0.1 mL에 Folin-Ciocalteu's phenol reagent (Sigma-Aldrich Co.) 5 mL를 첨가하여 1분간 반응시킨 후에 5% Na_2CO_3 (Duksan Pure Chemical Co., Ltd., Ansan, Korea) 3 mL를 혼합한다. 암소에서 1시간 동안 반응시켜 spectrophotometer (SPECTROstar Nano, BMG Labtech, Ortenberg, Germany)로 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 페놀 함량은 gallic acid (Sigma-Aldrich Co.)를 표준물질로 사용하여 작성한 검량곡선으로 함량을 계산한 후에 시료 mL당 μg gallic acid equivalent (GAE)로 나타내었다.

총 플라보노이드 함량은 Zhishen의 방법에 따라 측정하였다(Zhishen 등, 1999). 시료 500 μL에 5% $NaNO_2$ 75 μL를 첨가하여 상온에서 5분간 반응시킨 후에 10% $AgCl_3$ 150 μL를 첨가하였다. 이 용액에 1 M NaOH 0.5 mL와 증류수 275 μL를 첨가하여 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 플라보노이드 함량은 catechin (Sigma-Aldrich Co.)을 표준물질로 사용하여 작성한 검량곡선으로 함량을 계산한 후에 시료 mL당 μg catechin equivalent (CE)으로 나타내었다.

항산화 활성 측정

DPPH (2,2'-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) 라디칼 소거능은 Blois의 방법을 참고하여 측정하였다(Blois, 1958). 시료액 0.2 mL에 60 μM DPPH 용액 2.8 mL를 첨가하여 암소에서 30분간 반응시킨 후에 515 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 대조구는 비타민 C (Sigma-Aldrich Co.)를 사용하였다. 각 시료의 라디칼 소거능은 하기 식에 의해 시료 첨가구 및 무첨가구 사이의 흡광도 차이를 백분율(%)로 하였다. DPPH radical 소거능 및 DPPH radical의 흡광도를 50% 감소시키는데 필요한 시료의 농도(the half maximal effective concentration, EC_{50}, nL/mL)는 다음의 식에 의하여 얻어진 결과를 내사법으로 계산하여 나타내었다.

DPPH radical scavenging activity (%)=[1−(A/B)]×100

A: Absorbance of sample
B: Absorbance of blank

환원력은 Oyaizu(1986)의 방법을 참고하여 측정하였다. 시료 1 mL에 0.2 M phosphate buffer (pH 6.6, Sigma-Aldrich Co.) 2.5 mL와 1% (w/w) potassium ferricyanide [$K_3Fe(CN)_6$] (Sigma-Aldrich Co.) 2.5 mL를 혼합하였다. 혼합물을 50°C에서 20분간 반응시킨 후 10% (w/w) trichloroacetic acid (Sigma-Aldrich Co.) 2.5 mL를 가하여 3,000 rpm에서 10분간 원심분리 하였다. 상층액 2.5 mL을 취하여 1% (w/w) $FeCl_3$ (Sigma-Aldrich Co.) 0.5 mL 가하고 700 nm에서 흡광도를 측정하였다.

통계 분석

모든 실험은 3회 이상 반복 측정하였고 SPSS 19.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 평균 및 표준편차를 구하였다. 분산분석(ANOVA)을 실시하여 유의적 차이가 있는 항목은 Duncan의 다중범위검정(Duncan's multiple range test)을 실시하여 시료간의 유의차를 $p<0.05$에서 검정하였다.

결과 및 고찰

풋귤 수확시기에 따른 총 페놀 및 플라보노이드 함량

수확 시기가 다른 세 종류(7월, 8월, 및 9월)의 풋귤 착즙액에 대한 총 페놀 및 플라보노이드 함량을 분석한 결과는 Fig. 1과 같다. 7월 수확된 풋귤 착즙액은 1.02±0.02 μg GAE/mL, 8월 수확된 풋귤 착즙액은 0.78±0.01 μg GAE/mL, 9월 수확된 풋귤 착즙액은 0.75±0.02 μg GAE/mL 였으며, 7월에 수확된 풋귤 착즙액이 8월과 9월에 수확된 풋귤 착즙액 보다 약 1.3배 높은 총 페놀 함량을 나타내었고, 8월과 9월에 수확된 풋귤의 총 페놀 함량은 비슷한 수준으로 유의적인 차이는 없었다. 총 플라보노이드 함량은 7월 수확된 풋귤 착즙액이 0.13±0.01 μg CE/mL, 8월 수확된 풋귤 착즙액이 0.14±0.02 μg CE/mL, 9월 수확된 풋귤 착즙액 0.13±0.01 μg CE/mL으로 수확시기에 따른 유의적 차이가 없었다.

일반적으로 수확시기에 따른 감귤의 총 페놀 및 플라보노이드 함량은 수확시기가 늦어질수록 감소하는 것으로 알려져 있지만(Kim 등, 2001), 품종(Kim 등, 2009), 재배연도 및 기후조건(Moon 등, 2015) 등에 따라서 증가할 수 있다고 보고되었다. Kang 등(2005)의 연구에서 8-10월 감귤 착즙액의 총 폴리페놀 함량은 수확시기가 늦어질수록 감소하였으며, 본 실험의 7-9월 풋귤 착즙

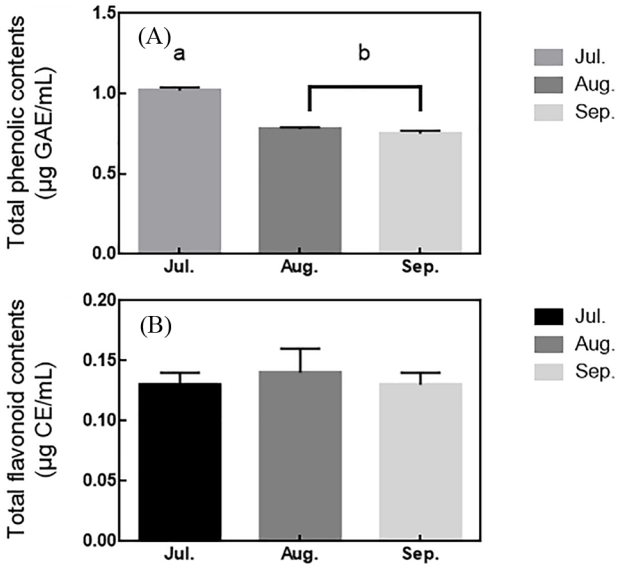

Fig. 1. Comparison of total phenols (A) and flavonoids (B) contents according to harvest period of premature mandarins. The contents of total phenols and flavonoids were expressed as μg gallic acid equivalent (GAE) and μg catechin equivalent (CE) per mL of sample, respectively. Jul, Premature mandarins harvested in July; Aug, Premature mandarins harvested in August; Sep, Premature mandarins harvested in September. Data are shown as the mean±SD (n=3). Different letters indicate significant differences among samples ($p<0.05$).

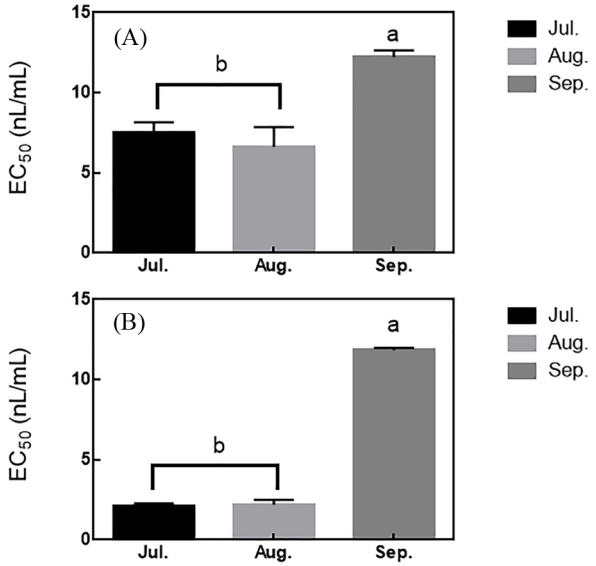

Fig. 2. Comparison of DPPH radical scavenging activity (A) and reductive potential activity (B) according to harvest period of premature mandarin. Vitamin C was used as a positive control for DPPH radical scavenging and reductive potential activity, and the results were 158.33±15.07 and 129.18±0.91 μg/mL, respectively. Jul, Premature mandarins harvested in July; Aug, Premature mandarins harvested in August; Sep, Premature mandarins harvested in September. Data are shown as the mean±SD (n=3). Different letters indicate significant differences among samples (p<0.05).

액에서도 비슷한 경향을 보였다. Kim 등(2009)의 연구에서 14가지 제주 재래종 감귤 착즙액의 총 플라보노이드 함량은 수확시기가 늦어질수록 함량이 감소하는 경향을 보였으나 일부 품종은 과숙이 될수록 함량이 증가하였으며, 총 폴리페놀 함량은 8월 하순에 가장 높았으나 12월 하순 이후 증가하는 경향을 보였다. Lee 등(2015)은 영귤의 플라보노이드 함량이 성숙과가 미숙과 보다 높다고 보고하였다. 이전의 보고와 본 연구 결과를 통해 감귤의 수확시기에 따른 총 페놀 및 플라보노이드 함량은 품종에 따라서 변화되는 경향이 다양하였으며, 본 연구에서 풋귤은 7월에 총 페놀 함량이 가장 높았고, 숙성도에 따른 플라보노이드 함량 변화는 나타나지 않는 것으로 확인되었다.

풋귤 수확 시기에 따른 항산화 활성

수확 시기가 다른 세 종류의 풋귤 착즙액의 항산화 활성을 DPPH 라디칼 소거능과 환원력으로 확인하였다. DPPH는 화학적으로 안정화된 자유라디칼을 지닌 수용성 물질로 페놀 및 플라보노이드 화합물과 같은 항산화 활성이 있는 물질과 만나면 빠른 속도로 전자를 내어주면서 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazine으로 전환되어 색깔이 변하는 특징을 가진다(Hong 등, 2012). DPPH 라디칼 소거능은 이와 같은 원리를 이용하여 시료의 항산화성을 측정하는 보편적인 방법으로, 풋귤 착즙액의 수확 시기에 따른 DPPH 라디칼 소거능은 Fig. 2의 (A)와 같다. EC_{50} 값은 7월 수확된 풋귤 착즙액은 7.48±0.68 nL/mL, 8월에 수확된 착즙액은 6.63±1.23 nL/mL, 9월에 수확된 착즙액은 12.23±0.42 nL/mL 이였다. 항산화 활성이 높은 것으로 알려져 있는 비타민 C (158.33±15.07 μg/mL) 보다 모든 시료에서 EC_{50} 값이 낮은 것으로 확인되었으며, 특히 8월에 수확된 착즙액의 DPPH 라디칼 소거능이 가장 높았다. 7월 및 8월에 수확된 풋귤 착즙액의 EC_{50} 값은 유의적인 차이를 나타내지 않았지만, 9월에 수확된 풋귤 시료보다 높은 DPPH 라디칼 소거능을 나타내었다(p<0.05). 채소류 및 과실류에서 높은 총 페놀 함량은 DPPH 라디칼 소거 활성과 서로 밀접한 관계가 있다고 보고(Kähkönen 등, 1999; Kim 등, 2012)된 것과, 전자공여능이 페놀산 및 기타 페놀성 물질에 대한 항산화 작용의 지표로서 이러한 물질들의 환원력이 클수록 전자공여능이 높다는 보고(Kang 등, 1996)처럼 본 연구에서도 총 페놀 함량이 많은 풋귤 착즙액에서 높은 DPPH 라디칼 소거능을 보였다.

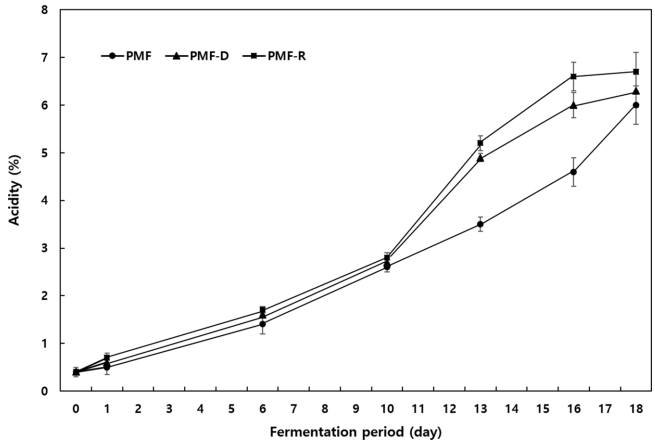

Fig. 3. Acidity of premature mandarin vinegars with different raw material conditions during fermentation. PMF, Premature mandarin fruit vinegar; PMF-D, Premature mandarin fruit with 10% dried Citri Unshius Pericarpium Immaturus vinegar; PMF-R, Premature mandarin fruit with 10% roasted Citri Unshius Pericarpium Immaturus vinegar. Data are shown as the mean±SD (n=3).

환원력은 산화를 일으킨 후 반응을 정지시키고 $FeCl_3$를 첨가하여 Fe^{3+}이 Fe^{2+}로 환원되는 반응을 이용한 것으로 이때 Fe^{2+}의 농도로 시료의 환원력을 측정 할 수 있으며, 흡광도 수치 그 자체로 환원력을 나타내므로 환원력이 우수할수록 흡광도 수치가 크며 진하게 발색되는 것으로 알려져 있다(Chung, 2010). 풋귤 수확 시기에 따른 환원력 측정 결과는 Fig. 2의 (B)와 같다. 환원력 측정 결과, 대조군으로 사용한 비타민 C의 EC_{50} 값은 129.18±0.91 μg/mL, 7월에 수확된 풋귤 착즙액은 2.06±0.21 nL/mL, 8월에 수확된 풋귤 착즙액은 2.20±0.29 nL/mL, 9월에 수확된 풋귤 착즙액은 11.85±0.14 nL/mL로 확인되었다. 7월 및 8월에 수확된 풋귤 착즙액은 9월에 수확된 풋귤 착즙액 보다 유의적으로 높은 환원력을 갖는 것으로 확인되었다(p<0.05). Park 등(2011)은 4종류 감귤의 항산화 효과를 비교한 결과 총 폴리페놀의 함량과 환원력이 높은 상관관계를 가진다고 보고하여 본 연구의 경향과 일치하였다.

감귤류에 포함된 항산화 물질과 항산화 활성의 상호연관성을 밝히기 위한 다양한 연구가 진행되었다. Franke 등(2004)의 연구에서 감귤류의 항산화능이 총 폴리페놀 함량과 연관되어 있지만, 비타민 C 함량과 뚜렷한 상관관계를 발견되지 않았다. 그러나 Del Caro 등(2004)의 연구에서는 일부 감귤류의 항산화 효과와 비타민 C 함량과의 상관관계를 확인하였고, Rekha 등(2012)은 감귤 주스의 총 페놀 함량 및 비타민 C가 항산화능에 직접적인 관련이 있다고 보고되었다. 본 연구에서도 수확시기에 따른 풋귤 착즙액의 항산화 활성은 총 폴리페놀 함량과 연관성이 있는 반면, 플라보노이드 함량과 상관관계는 발견되지 않았다. 향후 풋

귤에 포함된 다양한 성분의 규명과 동시에 항산화 활성에 대한 비교 연구가 필요할 것으로 사료된다.

풋귤 수확시기에 따른 총 페놀 및 플라보노이드 함량과 항산화 활성 분석 결과를 바탕으로 항산화 기능성이 높은 식초 제조를 위한 풋귤 착즙액은 7월에 수확된 것을 사용하는 것이 항산화를 증진시키는데 기여할 것으로 사료된다. 따라서 7월에 수확된 풋귤 착즙액을 사용하여 청피 첨가 여부에 따른 식초를 제조하고 발효특성, 색도, 유기산 함량, 총 페놀 및 플라보노이드 함량 및 항산화 활성을 측정하였다.

원료 조건에 따른 초산 발효 특성

항산화 기능성이 강화된 풋귤 식초를 개발하기 위해 청피의 첨가 조건을 달리하여 제조된 풋귤 식초의 발효특성을 확인하였다(Fig. 3). 풋귤 식초(PMF), 건조 청피 첨가 풋귤 식초(PMF-D), 로스팅 청피 첨가 풋귤 식초(PMF-R)를 18일간 발효시켜 산도 변화를 측정한 결과 발효 속도는 배양 10일차까지는 시료간에 차이가 없었으나, 13일차에 PMF-D 및 PMF-R 시료에서 먼저 5%의 산도에 도달하면서 차이를 보였다. 발효가 종료된 후에 산도는 PMF-R 시료에서 6.7%로 가장 높았으며, PMF-D 시료는 6.3%, PMF 시료는 6.0%로 확인되었다. 발효 효율은 PMF-R 시료가 95.7%, PMF-D 시료가 90.0%, PMF 시료가 85.7% 순으로, 모든 시료에서 85%의 높은 발효 효율을 나타냈다. Yi 등(2014)의 연구에서는 미숙 감귤 과즙의 초산 발효 시 발효 효율이 70% 이상으로 확인되었으며, 이러한 결과는 완숙 감귤 과즙보다 미숙 감귤 과즙의 자체 산도가 높아 초산 내성을 가지는 초산균이 산생성능을 높인 것으로 추정하였다. 또한 미숙 감귤 과즙의 첨가 비율에 따라 산 생성능에 차이를 가지며, 과즙의 첨가 비율이 높을수록 5% 산도에 도달하는 기간이 짧았다고 보고하였다(Yi 등, 2014). 본 연구에서 풋귤의 초산 발효 시 청피의 첨가가 발효 속도 및 산 생성능에 긍정적인 영향을 미치는 것을 확인하였으며, 청피의 첨가는 풋귤의 초산 발효에서 발효 기간을 단축시키고 우수한 발효 효율을 가질 수 있을 것으로 사료된다.

원료 조건에 따른 초산 발효 기간 중 색도 변화

청피의 첨가 조건을 달리하여 제조된 풋귤 식초의 발효기간에 따른 색도 변화를 확인하였다. 색도는 명도 L값(lightness), 적색도 a값(redness)과 황색도 b값(yellowness)을 측정하여 확인하였으며, 발효 기간(0-18일)에 따른 색도 변화의 결과는 Table 2와 같다. 초산 발효가 완료된 풋귤 식초(PMF)의 L값, a값, b값 평균값은 88.11±0.14, –0.92±0.02, 25.29±0.02였으며, 발효 기간에 따른 색도 변화 범위는 L값 44.60-96.09, a값 –2.11-9.53, b값 20.04-51.34로 확인되었다. 건조 청피 첨가 풋귤 식초(PMF-D)의 L값, a값, b값 평균값은 81.89±0.24, –2.50±0.04, 44.79±0.02였으며, 발효기간에 따른 색도 변화 범위는 L값 38.83-91.94, a값 –4.57-10.91, b값 34.74-56.69로 확인되었다. 로스팅 청피 첨가 풋귤 식초(PMF-R)의 L값, a값, b값 평균값은 83.27±0.12, 1.06±0.01, 56.69±0.04로 나타났으며, 발효기간에 따른 색도 변화 범위는 L값 28.44-88.65, a값 –1.13-18.48, b값 46.78-56.69로 확인되었다.

모든 시료에서 발효 초기에서 중기까지 L값은 증가하고, a값과 b값은 감소하는 경향을 보였다. L값과 a값에서는 시료 간에 큰 차이가 나타나지 않았지만, b값에서 풋귤 식초에 비해 건조 청피가 첨가된 풋귤 식초가 약 1.7배, 로스팅 청피가 첨가된 풋

Table 2. Changes in color value according to raw material conditions of premature mandarin vinegars during fermentation

Sapmles[1)]	Fermentation time (days)	Color value		
		L	a	b
PMF	0	44.60±0.06	9.53±0.03	51.34±0.02
	1	58.65±0.05	2.72±0.01	34.95±0.01
	6	95.58±0.02	-1.87±0.00	20.04±0.00
	10	96.09±0.01	-2.11±0.01	22.34±0.00
	13	94.32±0.01	-1.91±0.01	23.20±0.01
	16	94.17±0.02	-1.88±0.00	23.47±0.01
	18	88.11±0.14	-0.92±0.02	25.29±0.02
PMF-D	0	38.83±0.03	10.91±0.01	56.69±0.03
	1	48.94±0.04	4.45±0.01	49.44±0.04
	6	91.94±0.00	-4.57±0.00	34.74±0.01
	10	89.72±0.01	-4.44±0.00	42.08±0.01
	13	70.29±0.16	-1.36±0.01	42.34±0.01
	16	85.56±0.18	-3.37±0.03	44.81±0.01
	18	81.89±0.24	-2.50±0.04	44.79±0.02
PMF-R	0	28.44±0.07	18.48±0.02	46.78±0.15
	1	43.97±0.04	10.21±0.00	53.52±0.02
	6	85.95±0.01	-0.61±0.01	49.51±0.00
	10	88.65±0.01	-1.13±0.01	55.41±0.01
	13	78.31±0.09	1.80±0.02	55.62±0.02
	16	73.95±0.30	2.76±0.05	54.78±0.08
	18	83.27±0.12	1.06±0.01	56.69±0.04

[1)]PMF, Premature mandarin fruit vinegar; PMF-D, Premature mandarin fruit with 10% dried Citri Unshius Pericarpium Immaturus vinegar; and PMF-R, Premature mandarin fruit with 10% roasted Citri Unshius Pericarpium Immaturus vinegar.
Data are shown as the mean±SD (n=3). Means with different superscripts in the same column are significantly different at $p<0.05$ according to Duncan's multiple range test.

Table 3. Comparison of organic acids according to raw material conditions of premature mandarin vinegars (Unit: mg/L)

Organic acids	Sapmles[1)]		
	PMF	PMF-D	PMF-R
Acetic acid	13,288±585[c1)]	20,093±986[a]	18,361±1,243[b]
Citric acid	6,926±1,190	7,899±661	7,395±760
Succinic acid	1,006±30[c]	1,626±1120[a]	1,364±112[b]
Tartaric acid	575±116	583±10	569±133
Total organic acids	21,795	30,201	27,689

[1)]PMF, Premature mandarin fruit vinegar; PMF-D, Premature mandarin fruit with 10% dried Citri Unshius Pericarpium Immaturus vinegar; and PMF-R, Premature mandarin fruit with 10% roasted Citri Unshius Pericarpium Immaturus vinegar.
Data are shown as the mean±SD (n=3). Means with different superscripts in the same column are significantly different at $p<0.05$ according to Duncan's multiple range test.

귤 식초가 약 2.2배 높은 결과를 나타내었다. Kim 등(2013)이 식초의 색은 발효 방법에 상관없이 사용된 원료에 영향을 받는다고 보고한 것처럼 유의적인 차이를 나타내지 않았지만 각 원료에 따른 색도의 변화가 확인되었다.

원료 조건에 따른 풋귤 식초의 유기산 함량

아세트산를 비롯한 유기산은 과일식초의 산미와 지미를 형성할 뿐만 아니라, TCA 회로를 활성화하여 젖산 분해를 촉진하는 기능성이 있는 것으로 보고되어 있다(Nakanc, 1988). 청피의 첨가 조건에 따라 제조된 풋귤 발효 식초의 유기산을 분석한 결과, 식초의 기본적인 품질지표가 되는 아세트산, 구연산, 석신산 및 주석산이 확인되었다(Table 3). 시료간 유기산 함량 결과를 확인해보면 건조 청피 첨가 풋귤 식초(PMF-D)가 30,201 mg/L으로 가장 높은 함량을 나타냈으며, 그 다음으로 로스팅 청피 첨가 풋귤 식초(PMF-R)가 27,689 mg/L, 풋귤 식초(PMF)가 21,795 mg/L의 순으로 확인되었다. 특히, PMF-D 시료는 PMF 시료보다 유기산 함량이 1.4배 높았다. 식초의 품질지표가 되는 아세트산 함량은 PMF-D 시료에서 20,093±986 mg/L으로 가장 높았으며, PMF-R 시료에서 18,361±1,243 mg/L, PMF 시료에서 13,288±585 mg/L으로 시료간의 유의적 차이가 확인되었다($p<0.05$). 아세트산을 제외하고 유기산 종류별 함량을 비교해보면 모든 시료에서 구연산, 석신산과 주석산의 순으로 나타난다. 과일 식초에서 특정 유기산의 함량이 높은 것은 과일 자체의 유기산 구성에 영향을 받는 것으로 보고되었다(Lee 등, 1972). 총 유기산에 대한 아세트산 함량의 비율(acetic acid/total organic acids)은 풋귤 식초는 61.0%이고, 건조 또는 로스팅 처리된 청피를 첨가한 풋귤 식초는 66.3-69.8%로 가공 처리된 청피가 첨가된 식초의 아세트산 함량이 높은 것을 확인할 수 있었다.

이상의 결과는 풋귤 식초 제조 시 건조 및 로스팅 청피의 첨가가 아세트산을 포함한 총 유기산 함량에 영향을 미치며 다양한 생리활성 및 관능적 특성에 기여할 것으로 사료된다.

원료 조건에 따른 풋귤 식초의 총 페놀 및 플라보노이드 함량

발효가 완료된 풋귤 식초(PMF), 건조 청피 첨가 풋귤 식초(PMF-D), 로스팅 청피 첨가 풋귤 식초(PMF-R)의 총 페놀 함량을 측정한 결과는 Fig. 4의 (A)와 같다. PMF 시료는 0.30±0.02 μg GAE/mL, PMF-D 시료는 0.55±0.04 μg GAE/mL, PMF-R 시료는 0.62±0.02 μg GAE/mL의 총 페놀 함량이 확인되었다. 식초에 사용하는 원료 및 원료의 함량이 총 페놀 함량에 영향을 준다고 보고(Na 등, 2013; Yim 등, 2016)된 것과 같이 본 연구에서도 건조 및 로스팅 청피가 첨가된 풋귤 식초가 풋귤 식초보다 1.8-2배 높은 총 페놀 함량을 나타내었다.

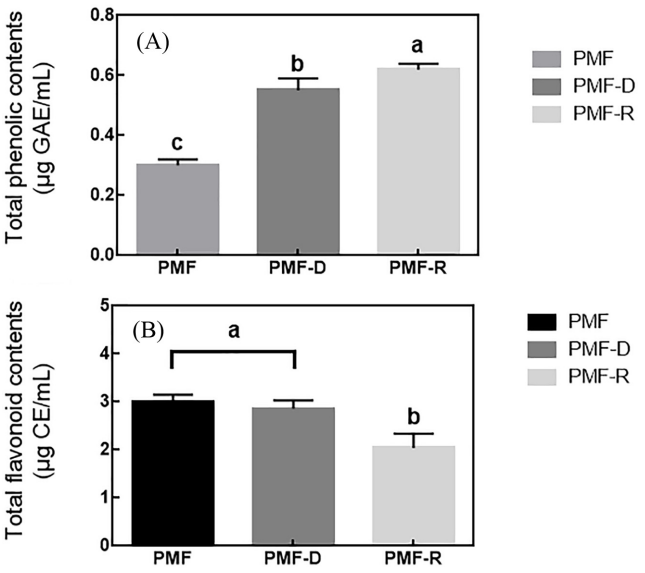

Fig. 4. Comparison of total phenols (A) and flavonoids (B) contents according to raw material conditions of premature mandarin vinegars. The contents of total phenols and flavonoids were expressed as μg gallic acid equivalent (GAE) and μg catechin equivalent (CE) per mL of sample, respectively. PMF, Premature mandarin fruit vinegar; PMF-D, Premature mandarin fruit with 10% dried Citri Unshius Pericarpium Immaturus vinegar; and PMF-R, Premature mandarin fruit with 10% roasted Citri Unshius Pericarpium Immaturus vinegar. Data are shown as the mean±SD (n=3). Different letters indicate significant differences among samples ($p<0.05$).

Hwang 등(2016)의 연구결과에 따르면 진피의 로스팅 과정을 통해서 총 페놀 함량이 증가하였으며, Kim 등(2008)은 참외 등 과채류를 110-150℃에서 2시간 열처리했을 때, 낮은 온도보다 높은 온도에서 총 페놀 함량이 증가하였다고 보고했다. 이와 유사하게 본 연구에서도 건조 청피보다 로스팅 청피를 첨가한 풋귤 식초의 총 페놀 함량이 더 높아졌다. 이러한 결과는 열처리에 의해 새로운 형태의 페놀 화합물이 생성되거나, 단백질과 결합된 고분자의 페놀성 화합물이 저분자 형태로 전환되거나, 또는 이러한 페놀 화합물의 결합이 고온 상태에서 파괴되어 페놀 화합물이 생성된다고 보고와 일치하였다(Kim 등, 2008). 이전 연구와 유사하게 본 연구에서도 청피의 가공 처리(건조 또는 로스팅) 과정을 통해 증가된 페놀 함량이 식초의 총 페놀 함량에 영향을 미치는 것으로 여겨진다.

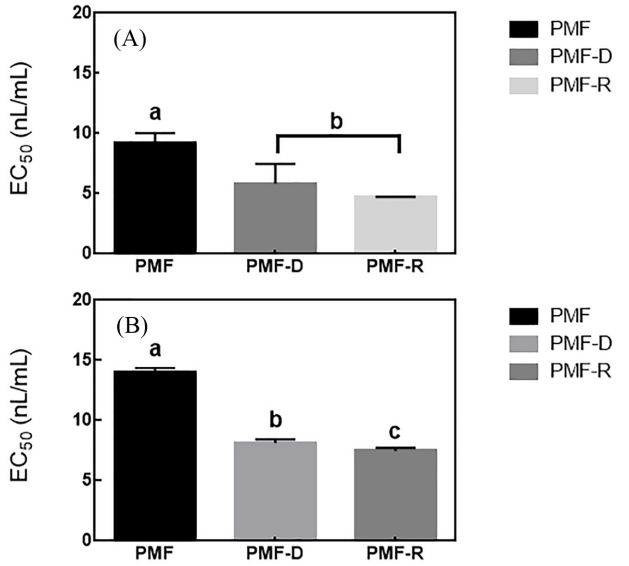

Fig. 5. Comparison of DPPH radical scavenging activity (A) and reductive potential activity (B) according to raw material conditions of premature mandarin vinegars. Vitamin C was used as a positive control for DPPH radical scavenging and reductive potential activity, and the results were 96.16±3.58 and 255.77±1.24 μg/mL, respectively. PMF, Premature mandarin fruit vinegar; PMF-D, Premature mandarin fruit with 10% dried Citri Unshius Pericarpium Immaturus vinegar; and PMF-R, Premature mandarin fruit with 10% roasted Citri Unshius Pericarpium Immaturus vinegar. Data are shown as the mean±SD (n=3). Different letters indicate significant differences among samples (p<0.05).

청피 첨가에 따른 풋귤 식초의 총 플라보노이드 함량을 측정한 결과는 Fig. 4의 (B)와 같다. PMF 시료는 3.00±0.15 μg CE/mL, PMF-D 시료는 2.86±0.17 μg CE/mL, PMF-R 시료는 2.04±0.30 μg CE/mL의 플라보노이드 함량이 확인되었다. 풋귤 식초와 건조 청피가 첨가된 풋귤 식초는 비슷한 플라보노이드 함량을 나타내며 유의적으로 차이가 없었으며, 로스팅 청피를 첨가한 풋귤 식초가 가장 낮았다(p<0.05). 지금까지 보고된 청피의 주요 성분은 플라보노이드 계열의 hesperidin과 naringin이 있으며, 이들의 자유 라디칼 소거능이 보고되었으나(Baik 등, 2001; Nugroho 등, 2009), 본 결과에서는 청피의 첨가가 풋귤 식초의 플라보노이드 함량을 증가시키지 못했다. Hyon 등(2009)는 당유자 과피를 발효한 후 hesperidin과 일부 플라보노이드 성분이 다른 형태의 화합물로 전환되었다고 보고하였으며, 일부 과채류에서 열처리 온도와 시간에 따라 플라보노이드 함량이 감소된 것처럼 우리의 결과에서도 일부 플라보노이드 성분이 발효 및 열 처리 과정 중에 전환되거나 감소된 것으로 사료된다(Choi 등, 2006; Dewanto 등, 2002).

원료 조건에 따른 풋귤 발효 식초의 항산화 활성

청피 종류별 첨가에 따른 풋귤 식초(PMF), 건조 청피 첨가 풋귤 식초(PMF-D), 로스팅 청피 첨가 풋귤 식초(PMF-R)의 DPPH 라디칼 소거능과 환원력을 확인하였다(Fig. 5). DPPH 라디칼 소거능(EC_{50} 값)은 PMF 시료는 9.16±0.87 nL/mL, PMF-D 시료는 5.83±1.66 nL/mL, PMF-R 시료는 4.71±0.07 nL/mL로 확인되었다. 모든 시료는 항산화 활성이 높은 것으로 알려져 있는 비타민 C (96.16±3.58 μg/mL)보다 높은 라디칼 소거능을 나타냈으며, 건조 및 로스팅 청피 첨가 풋귤 식초가 풋귤 식초보다 유의적으로 높은 활성을 보였다(p<0.05). 건조 또는 로스팅 청피가 첨가된 풋귤 식초간의 라디칼 소거능은 유의적 차이를 나타내지 않았다. Singh 등(2020)은 감귤의 과피 부분에는 페놀 화합물(phenolic acids, flavanones 및 polymethoxylated flavones), 카로티노이드, 비타민 C 및 에센셜 오일과 같은 다양한 항산화 물질을 풍부하게 함유하고 있으며, 이러한 화합물은 자유 라디칼에 대한 높은 항산화 잠재력을 가진다고 보고한 것처럼 우리의 연구 결과에서도 청피의 다양한 페놀 화합물이 DPPH 라디칼 소거능을 증가시킨 것으로 사료된다.

환원력 측정 결과는 EC_{50} 값은 PMF 시료는 14.01±0.35 nL/mL, PMF-D 시료는 8.13±0.30 nL/mL, PMF-R 시료는 7.47±0.28 nL/mL로 확인되었다. DPPH 라디칼 소거능 결과와 유사하게 모든 시료에서 대조군인 비타민 C (255.77±1.24 μg/mL) 보다 환원력이 높게 나타났으며, 로스팅 청피 첨가 풋귤 식초가 유의적으로 가장 높은 환원력을 가지는 것으로 확인되었다(p<0.05). 과채류의 질소 화합물과 환원당이 열처리 과정에서 maillard reaction 반응을 일으키면서 휘발성 물질, 갈색 색소와 같은 maillard 반응 물질을 생성하며, 이러한 물질은 항산화능을 갖는다고 알려져 있다(Jung과 Lee, 1991). 건조 및 로스팅 과정에서 열처리에 의해 증가된 청피의 페놀성분은 자유 라디칼에 수소 원자를 제공하여 안정된 비 라디칼로 전환되면서 항산화 효과를 가지며, maillard 반응 생성물 또한 항산화 활성을 높이는데 기여한 것으로 사료된다(Lee 등, 2011). 본 연구에서 DPPH 라디칼 소거능과 환원력은 총 페놀 함량과 높은 상관성이 확인되었으나, 총 플라보노이드 함량과 상호 연관성은 나타나지 않았다.

요 약

항산화 활성이 우수한 풋귤 식초를 개발하기 위하여 풋귤의 수확 시기(7월-9월)에 따른 총 페놀 및 플라보노이드 함량 및 항산화 활성을 측정하고, 3가지 원료 조건(풋귤 분쇄액, 10% 건조 청피 첨가 풋귤 분쇄액, 10% 로스팅 청피 첨가 풋귤 분쇄액)으로 제조된 풋귤 식초의 발효 특성, 항산화 성분 및 항산화 활성을 비교하였다. 7월에 수확된 풋귤 착즙액은 1.02±0.02 μg GAE/mL의 가장 높은 총 페놀 함량이 확인되었으며, 플라보노이드 함량은 수확시기에 따른 유의적인 차이가 존재하지 않았다. 항산화 활성은 7월-8월에 수확된 풋귤 착즙액이 9월에 수확된 풋귤 착즙액보다 유의적으로 높은 DPPH 라디칼 소거능 및 환원력을 나타내었으며, 이러한 결과를 바탕으로 7월에 수확된 풋귤 착즙액을 식초 원료로 선정하였다. 원료 조건을 달리하여 제조된 식초의 최종 산도는 풋귤 식초가 6.0%, 건조 청피 첨가 풋귤 식초가 6.3%, 로스팅 청피 첨가 풋귤 식초가 6.7%로 모두 85%의 높은 발효 효율을 보였다. 건조 또는 로스팅 청피가 첨가된 풋귤 식초는 발효 13일차에 5% 산도에 도달하였으며, 풋귤 식초보다 발효 기간이 단축되고 높은 산 생성능을 나타내었다. 원료조건에 따라 색도의 변화가 확인되었지만 유의적인 차이는 없었다. 유기산 함량은 건조 청피가 첨가된 풋귤 식초가 acetic acid를 비롯한 총 유기산 함량이 30,201 mg/L으로 가장 높았으며, 특히 풋귤 식초보다 1.4배 높았다. 총 페놀 함량은 로스팅 청피 첨가 풋귤 식초에서 0.62±0.02 μg GAE/mL으로 풋귤 식초와 약 2배 이상의 차이를 보였으나, 총 플라보노이드 함량은 풋귤 식초가 3.00±0.15 μg CE/mL로 가장 높았다. DPPH 라디칼 소거능의 EC_{50} 값은 건조 및 로스팅 청피 첨가 풋귤 식초가 각각 5.83±1.66 nL/mL, 4.71±0.07 nL/mL으로 풋귤 식초(9.16±0.87 nL/mL)보다 유의적으로 높은 활성을 나타냈으며, 환원력에서는 로스팅 청피 첨가 풋

귤 식초가 7.47±0.28 nL/mL으로 활성이 가장 높았다. 이상의 결과로부터 7월에 생산된 풋귤 착즙액을 원료로 로스팅 청피를 첨가한 풋귤 식초는 초산 발효가 우수하고 높은 유기산 및 페놀 함량으로 우수한 항산화 활성을 나타내어 기존 풋귤 식초보다 항산화능이 강화된 기능성 식초로 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 중소벤처기업부와 한국산업기술진흥원의 “지역기업 개방형혁신 바우처(R&D, P0010697)” 사업의 지원을 받아 수행된 연구결과임.

References

Baek SY, Park HY, Lee CH, Yeo SH. Comparison of the fermented property and isolation of acetic-acid bacteria from traditional Korean vinegar. Korean J. Food Preserv. 21: 903-907 (2014)

Baik SO, Bock JY, Chun HJ, Jeong SI, Baek SH, Oh HB, Kim IK. Analysis and quantitative distribution of glycosided flavonoids in citruses and Korean chung-pi. Analytical Sci. Tehchnol. 14: 340-348 (2001)

Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature 181: 1199-1200 (1958)

Choi MH, Kim KH, Yook HS. Antioxidant and antibacterial activity of premature mandarin. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 48: 622-629 (2019)

Choi SY, Ko HC, Ko SY, Hwang JH, Park JG, Kang SH, Han SH, Yun SH, Kim SJ. Correlation between flavonoid content and the NO production inhibitory activity of peel extracts from various citrus fruits. Biol. Pharm. Bull. 30: 772-778 (2007)

Choi Y, Lee SM, Chun J, Lee HB, Lee J. Influence of heat treatment on the antioxidant activities and polyphenolic compounds of Shiitake (*Lentinus edodes*) mushroom. Food Chem. 99: 381-387 (2006)

Chung HJ. Antioxidative activities of different part extracts of *Physalis alkekengi* var. *francheti* (Winter Cherry). Korean J. Food Preserv. 17: 867-873 (2010)

Dai J, Mumper RJ. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. Molecules 15: 7313-7352 (2010)

Del Caro A, Piga A, Vacca V, Agabbio M. Changes of flavonoids, vitamin C and antioxidant capacity in minimally processed citrus segments and juices during storage. Food Chem. 84: 99-105 (2004)

Dewanto V, Wu X, Adom KK, Liu RH. Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. J. Agric. Food Chem. 50: 3010-3014 (2002)

Folin O, Denis W. On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. J. Biol. Chem. 12: 239-243 (1912)

Franke SIR, Ckless K, Silveira JD, Rubensam G, Brendel M, Erdtmann B, Henriques HAP. Study of antioxidant and mutagenic activity of different orange juices. Food Chem. 88: 45–55 (2004)

Hong SM, Kang MJ, Lee JH, Jeong JH, Kwon SH, Seo KI. Production of vinegar using *Rubus coreanus* and its antioxidant activities. Korean J. Food Preserv. 19: 594-603 (2012)

Hwang HJ, Park JA, Choi JI, Kim HS, Cho MS. Roasting conditions for optimization of citri unshii pericarpium antioxidant activity using response surface methodology. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 45: 261-268 (2016)

Hyon JS, Kang SM, Han SW, Kang MC, Oh MC, Oh CK, Kim DW, Jeon YJ, Kim SH. Flavonoid component changes and antioxidant activities of fermented *Citrus grandis* osbeck peel. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 38: 1310-1316 (2009)

Jeong Y, Lee MA. View and prospect of vinegar industry. Food Ind. Nutr. 5(1), 7-12 (2000)

Jung HJ, Lee SR. Browning and mutagenicity of roasted barley and sesame seeds. Korean J. Food Sci. Technol. 23: 280-285 (1991)

Kaderides K. Mourtzinos I, Goula AM. Stability of pomegranate peel polyphenols encapsulated in orange juice industry by-product and their incorporation in cookies. Food Chem. 310:125849 (2020)

Kahkonen MP, Hopia AI, Vuorela HJ, Rauha JP, Pihlaja K, Kujala TS, Heinonen M. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. J. Agric. Food Chem. 47: 3954-3962 (1999)

Kang SK, Jang MJ, Kim YD. Isolation and culture conditions of *Acetobacter* sp. for the production of citron (*Citrus junos*) vinegar. Korean J. Food Preserv. 13: 357-362 (2006)

Kang YH, Park YK, Lee GD. The nitrite scavenging and electron donating ability of phenolic compounds Korean J. Food Sci. Technol. 28: 232-239 (1996)

Kang YJ, Yang MH, Ko WJ, Park SR, Lee BG. 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 (2005)

Kim HH, Heo MR, Lee S, Yim SH. Validation of analytical method and antioxidant properties of *Eriobotrya japonica* Lindl. Leaf extract according to extraction solvent. Korean J. Food Sci. Technol. 51: 301-308 (2019)

Kim HY, Woo KS, Hwang IG, Lee YR, Jeong HS. Effects of heat treatments on the antioxidant activities of fruits and vegetables. Korean J. Food Sci. Technol. 40: 166-170 (2008)

Kim KH, Kim HJ, Byun MW, Yook HS. Antioxidant and antimicrobial activities of ethanol extract from six vegetables containing different sulfur compounds. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 41: 577-583 (2012)

Kim KO, Kim SM, Kim SM, Kim DY, Jo DJ, Yeo SH, Jeong YJ, Kwon JH. Physicochemical properties of commercial fruit vinegars with different fermentation methods. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 42: 736-742 (2013)

Kim ML, Choi KH. Sensory characteristics of citrus vinegar fermented by *Gluconacetobacter hansenii* CV1. Korean J. Food Cook Sci. 21: 263-269 (2005)

Kim YC, Koh KS, Koh JS. Changes of flavonoids in the peel of jeju native citrus fruits during maturation. Food Sci. Biotechnol. 10: 16-20 (2001)

Kim YD, Ko WJ, Koh KS, Jeon YJ, Kim SH. Composition of flavonoids and antioxidative activity from juice of jeju native citrus fruits during maturation. Korean J. Nutr. 42: 278-290 (2009)

Kim YT, Seo KI, Jung YJ, Lee YS, Shim KH. The production of vinegar using citron (*Citrus junos* Seib.) juice. J. East. Asian. Soc. Diet. Life. 7: 301-307 (1997)

Lee DS, Woo SK, Yang CB. Studies on the chemical composition of major fruits in Korea-On non-volatile organic acid and sugar contents of apricot (maesil), peach, grape, apple and pear and its seasonal variation. Korean J. Food Sci. Technol. 4: 134-139 (1972)

Lee JE, Kim JH, Kim MY. Changes in phenolic composition, antioxidant and antidiabetic properties of jeju *Citrus sudachi* as influenced by maturity. J. Life Sci. 25: 1311-1318 (2015)

Lee SG, Lee EJ, Park WD, Kim JB, Choi SW. Antioxidant and anti-inflammatory activities of extracts from Korean traditional medicinal prescriptions. Korean J. Food Sci. Technol. 43: 624-632 (2011)

Lu Y, Foo LY. Antioxidant and radical scavenging activities of polyphenols from apple pomace. Food Chem. 68: 81-85 (2000)

Mo HW, Jung YH, Jeong JS, Choi KH, Choi SW, Park CS, Choi MA, Kim ML, Kim MS. Quality characteristics of vinegar fermented using omija (*Schizandra chinensis Baillon*). J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 42: 441-449 (2013)

Moon SH, Assefa AD, Ko EY, Park SW. Comparison of flavonoid contents and antioxidant activity of yuzu (*Citrus junos* Sieb. ex Tanaka) based on harvest time. Korean J. Hortic. Sci. Technol. 33: 283-291 (2015)

Moon SY, Chung HC, Yoon HN. Comparative analysis of commercial vinegars in physicochemical properties, minor components and organoleptic tastes. Korean J. Food Sci. Technol. 29: 663-670 (1997)

Na HS, Choi GC, Yang SI, Lee JH, Cho JY, Ma SJ, Kim JY. Comparison of characteristics in commercial fermented vinegars made with different ingredients. Korean J. Food Preserv. 20: 482-487 (2013)

Nakanc S. Food useful for preventing alcohol in toxication containing persimmon-vinegar and optimum fruits, with blood alcohol concentration reducing action. Japan patent 63: 562-566 (1988)
Negro V, Mancini G, Ruggeri B, Fino D. Citrus waste as feedstock for bio-based products recovery: Review on limonene case study and energy valorization. Bioresour. Technol. 214: 806-815(2016)
Nugroho A, Park MG, Jin SE, Choi JS, Park HJ. Quantitative analysis of flavanone glycosides and peroxynitrite scavenging effect of the five oriental medicinal drugs (Aurantii nobilis Pericarpium, Citrii unshiu Pericarpium, Citrii unshiu Semen, Aurantii Fructus, Poncirii Fructus). Kor. J. Pharmacogn. 40: 370-375 (2009)
Oyaizu M. Antioxidative activities of browning reaction prepared from glucosamine. Jpn. J. Nutr. 44: 307-315 (1986)
Park GH, Lee SH, Kim HY, Jeong HS, Kim Ey, Yun YW, Nam SY, Lee BJ. Comparison in antioxidant effects of four citrus fruits. J. Food Hyg. Saf. 26: 355-360 (2011)
Peng M, Liu J, Liu Z, Fu B, Hu Y, Zhou M, Fu C, Gao B, Wang C, Li, D, Xu N, Effect of citrus peel on phenolic compounds, organic acids and antioxidant activity of soy sauce. LWT-Food Sci. Technol. 90: 627-635 (2018)
Rajendran P, Nandakumar N, Rengarajan T, Palaniswami R, Gnanadhas EN, Lakshminarasaiah U, Gopas J, Nishigaki I. Antioxidants and human diseases. Clin. Chim. Acta. 436: 332-347 (2014)
Rekha C, Poornima G, Manasa M, Abhipsa V, Devi PJ, Kumar VHT, Kekuda PTR. Ascorbic acid, total phenol content and antioxidant activity of fresh juices of four ripe and unripe citrus fruits. Chem. Sci. Trans. 1: 303-310 (2012)
Shahidi F, Ambigaipalan P. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects-A review. J. Funct. Foods. 18: 820-897 (2015)
Singh B, Singh JP, Kaur A, Singh N. Phenolic composition, antioxidant potential and health benefits of citrus peel. Food Res. Int. 132: 109-114 (2020)
Song JH, Jang JH, Park SH, Jung HW, La CS, Kim WK. Composition for increasing muscular strength and muscle mass comprising bean juice-peptides derived from germinated bean treated with green mandarin water. Korean patent 1020180036167 (2016)
Urquiaga I, Leighton F. Plant polyphenol antioxidants and oxidative stress. Biol. Res. 33: 55-64 (2000)
Yi MR, Hwang JH, Oh YS, Oh HJ, Lim SB. Quality characteristics and antioxidant activity of immature *Citrus unshiu* vinegar. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 43: 250-257 (2014)
Yim SH, Cho KS, Choi JH, Lee JH, Lee B, Kim MS, Jiang GH, Eun JB. Physicochemical characteristics and antioxidant activity of pear vinegars using 'Wonhwang', 'Niitaka' and 'Chuhwangbae' fruits. Korean J. Food Preserv. 23: 174-179 (2016)
Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. Food Chem. 64: 555-559 (1999)
Zou Z, Xi W, H Y, Nie C, Zhou ZQ. Antioxidant activity of *Citrus* fruits. Food Chem. 196: 885-896 (2016)