pISSN 1229-1153 / eISSN 2465-9223 *J. Food Hyg. Saf.*
Vol. 40, No. 6, pp. 469~477 (2025)
https://doi.org/10.13103/JFHS.2025.40.6.469

Journal of Food Hygiene and Safety
Available online at http://www.foodhygiene.or.kr

제주에서 생산된 감귤식초의 항산화 활성

조만재[1] · 강은옥[2] · 이해원[3,4,5]*

[1]제주특별자치도 보건환경연구원 식품분석과, [2]제주특별자치도 상하수도본부
[3]제주대학교 식품생명공학과, [4]제주대학교 푸드테크센터, [5]제주대학교 첨단기술연구소

Antioxidant Activity of Satsuma Mandarin (*Citrus unshiu*) Vinegar Produced in Jeju

Man Jae Cho[1], Eunok Kang[2], Hae-Won Lee[3,4,5]*

[1]*Food Analysis Division, Jeju Special Self-Governing Province Institute of Health and Environment, Jeju, Korea*
[2]*Waterwork Management Division, jeju Special Self-Governing Province Water Supply and Sewage Treatment Headquarters, Jeju, Korea*
[3]*Department of Food Bioengineering, Jeju National University, Jeju, Korea*
[4]*Food Tech Center (FTC), Jeju National University, Jeju, Korea*
[5]*Research Institute of Advanced Technology, Jeju National University, Jeju, Korea*

(Received August 27, 2025/Revised October 10, 2025/Accepted October 22, 2025)

ABSTRACT - Satsuma mandarin (*Citrus unshiu*) vinegar, a fermented product derived from satsuma mandarin as the primary raw material, has attracted growing interest for its potential as a functional food ingredient due to its antioxidant and bioactive properties. In this study, we analyzed various antioxidant-related parameters of satsuma mandarin vinegar produced in Jeju to evaluate its antioxidant potential. The analyzed indicators included total polyphenol, total flavonoid, and total carotenoid contents; vitamin C, naringin, and hesperidin concentrations; ferric reducing antioxidant power (FRAP); phosphomolybdenum complex assay (PMA); sodium acetate; 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) and 2,2′-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS) free radical scavenging capacity; and hydroxyl radical scavenging activity. The total polyphenol, flavonoid, and carotenoid contents ranged from 314.93 to 685.83 μg GAE/g, from 328.72 to 727.66 μg QE/g, and from 0.25 to 0.72 μg/mL, respectively. The concentrations of vitamin C, naringin, and hesperidin ranged from 1.43 to 30.19 μg/mL, from 0.89 to 9.20 μg/mL, and from 18.49 to 85.82 μg/mL, respectively. FRAP and PMA values were measured at 0.61-2.16 mM TE/g and 0.93-2.84 mM AAE/g, respectively. Although the hydroxyl radical scavenging activity was relatively low (14.40-20.74%), DPPH and ABTS radical scavenging activities were comparatively higher, at 66.32-77.57% and 58.96-84.58%, respectively. These findings indicate that multiple bioactive compounds contribute to the antioxidant activity of satsuma mandarin vinegar, suggesting its potential application as a functional food ingredient.

Key words: Satsuma mandarin, Vinegar, Fermentation, Antioxidant, Functional property

현대 사회의 고령화와 건강에 대한 관심 증가로 인해 노화 억제 및 건강 증진에 기여할 수 있는 기능성 생리활성 물질에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다[1]. 노화는 생체 내 산화와 관련된 현상으로 인식되며, 그 주요 원인으로는 활성산소가 지목된다[2]. 활성산소는 강한 산화력을 바탕으로 세포막 및 단백질을 분해하고, 지방 산화 및 DNA 합성 억제를 유도함으로써 생체 기능에 심각한 손상을 일으킨다[3,4]. 항산화 성분이 풍부한 식품 섭취나 생활습관 등을 통해 활성산소를 조절하고 감소시킬 수 있기에 항산화제 섭취를 통해 신체를 보호할 필요가 있다[1].

식초는 대표적인 발효식품으로, 발효 과정에서 다양한 유기산, 아미노산, 에스터, 당류 등이 생성되며, 산미료, 조미료, 보존료 등으로 동서양의 식품 산업 전반에서 폭넓게 활용되고 있다[5,6]. 제조 방식에 따라 식초는 초산 또는

*Correspondence to: Hae-Won Lee, Department of Food Bioengineering, Jeju National University, Jeju 63243, Korea
Tel: +82-64-754-3616; Fax: +82-64-755-3601
E-mail: lhw0875@jejunu.ac.kr

Copyright © The Korean Society of Food Hygiene and Safety. All rights reserved. The Journal of Food Hygiene and Safety is an Open-Access journal distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License(http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

빙초산을 정제수로 희석하여 제조한 희석식초와 곡물당화액이나 과실 등을 원료로 하여 초산발효를 통해 제조한 발효식초로 구별된다[7,8]. 희석식초는 생산 기간이 짧고 제조 원가가 낮다는 장점때문에 널리 사용되어 왔으나, 최근 식생활 수준의 향상과 건강에 대한 관심 증가로 인해 발효식초에 대한 수요가 지속적으로 증가하고 있다[9]. 특히 발효식초에서 다양한 생리활성이 보고됨에 따라, 과일을 활용한 제품 개발과 고급화를 통해 관련 시장 규모도 점차 확대되고 있다[10,11].

감귤은 운향목(*Rutaceae*) 운향과의 감귤나무아과(*Aurantioideae*)에 속하는 과일로, 감귤속(*Citrus*), 금감속(*Fortunella*), 탱자나무속(*Poncirus*)에 포함되는 품종을 통칭하며, 일반적으로는 *Citrus unshiu* 또는 *Citrus reticulata*로 지칭된다[12]. 감귤에는 정균 및 항균 작용을 나타내는 플라보노이드 화합물, 항산화 및 항암 작용을 가진 나린진(naringin), 지질과산화물 생성을 억제하고 노화 지연, 항염증, 모세혈관 보호, 콜레스테롤 저하 등의 생리활성을 나타내는 헤스페리딘(hesperidin), 그리고 고혈압 예방, 혈중 low-density lipoprotein (LDL) 콜레스테롤 감소 및 high-density lipoprotein (HDL) 콜레스테롤 증가를 통해 순환계 질환의 예방 및 개선에 기여하는 것으로 보고된 카로티노이드(carotenoids), 바이오플라보노이드(bioflavonoids), 테르펜류(terpenes) 등을 포함한 60여 종의 생리활성 물질이 함유되어 있는 것으로 알려져 있다[13,14].

시중에 유통 중인 감귤식초는 원료와 가공 방식에 따라 생리활성 물질 함유량과 항산화 능력에 차이가 있으므로, 제품별 분석이 필요하다[15]. 그러나 시중에 유통 중인 감귤식초에 대한 과학적 연구는 아직 부족한 실정이다. 이에 본 연구에서는 감귤식초의 항산화 특성과 생리활성에 대한 기초자료를 확보하고, 감귤자원의 기능성 식품 소재로서의 활용 가능성을 제시하고자 한다.

Materials and Methods

실험재료

본 실험에 사용된 감귤식초는 제주에서 생산되는 감귤식초 3종을 2025년 6월에 온라인으로 구입하였으며, 분석 전까지 4°C에서 냉장 보관하였다. 이 시료들은 모두 감귤 또는 감귤착즙액을 원료로 하여 발효된 발효식초이다(Table 1). 실험에 사용된 2 N Folin-Ciocalteu's reagent, gallic acid, sodium nitrite, 2,4,6-tripyridyl-s-triazine (TPTZ), sodium acetate, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), ascorbic acid, potassium phosphate, naringin, hesperidin, sodium phosphate, ammonium molybdate, 2,2′-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS), potassium persulfate는 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였고, acetone, acetonitrile, metaphosphoric acid, methanol, ethanol는 Merck KGaA (Darmstadt, Germany)에서 구입하였다. Sodium carbonate, aluminum chloride, sodium hydroxide, ferric chloride hexahydrate, acetic acid, hydrochloric acid, sulfuric acid, ferrous sulfate, hydrogen peroxide, salicylic acid는 Junsei Chemical Co., Ltd. (Tokyo, Japan)에서 구입하였으며, quercetin과 trolox는 Tokyo Chemical Industry Co., Ltd. (TCI, Tokyo, Japan) 제품을 사용하였다. 그 외에 사용된 용매 및 기타 시약은 모두 분석용 또는 HPLC 등급의 시약을 사용하였다.

총 폴리페놀 함량

총 폴리페놀 함량은 Lee 등[16]이 제시한 방법을 변형하여 측정하였다. 시료 0.2 mL에 2% sodium carbonate 용액 2 mL을 첨가한 뒤, 실온에서 3분간 반응시켰다. 이후 증류수 2 mL와 2 N Folin-Ciocalteu's 시약을 0.1 mL 첨가하고 암실에서 30분간 반응시킨 후 분광광도계(Cary UV-Vis Compact, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)를 이용하여 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준검량곡선(y=2.5139x-0.1128, R^2=0.9912)은 gallic acid를 0.025, 0.050, 0.100, 0.200, 0.500, 1.000 mg/mL 농도로 제조하여 작성하였고, 총 폴리페놀 함량은 gallic acid 함량을 환산한 μg gallic acid equivalents (GAE)/g으로 나타내었다.

총 플라보노이드 함량

총 플라보노이드 함량은 Shen 등[17]의 방법을 변형하여 측정하였다. 시료 0.5 mL에 증류수 3.2 mL와 5% sodium nitrite 용액 0.15 mL를 가하고, 실온에서 5분간 반응시킨 후, 10% aluminium chloride 용액 0.15 mL를 첨가하여 다시 5분간 반응시켰다. 이후 1 M sodium hydroxide 용액 1.0 mL를 첨가한 뒤, 분광광도계를 이용하여 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준검량곡선(y=2.1156x+0.0070, R^2=0.9999)은 quercetin을 0.025, 0.050, 0.100, 0.200, 0.500, 1.000 mg/mL의 농도로 제조하여 작성하였고, 총 플라보노이드 함량은 quercetin

Table 1. Information on Satsuma mandarin(*Citrus unshiu*) vinegars produced in Jeju, Korea

Sample	Expiration date	Ingredients
A	2027. 6. 5.	Satsuma mandarin(*Citrus unshiu*) juice 89%, organic sugar 10%, and yeast 1%
B	2027. 3. 19.	Satsuma mandarin(*Citrus unshiu*) 70%, sugar, purified water, and yeast
C	2026. 8. 29.	Satsuma mandarin(*Citrus unshiu*) 30%, purified water 45%, yeast, and seed vinegar 25%

함량을 환산한 μg quercetin equivalents (QE)/g으로 나타내었다.

총 카로티노이드 함량

총 카로티노이드 함량은 Lichtenthaler 등[18]의 방법을 변형하여 측정하였다. 시료 5 mL와 acetone 20 mL를 혼합한 뒤 원심분리기(Union 5KR, HanilScience Industrial Co., Incheon, Korea)로 4,000×g에서 20분간 원심분리하여 상등액을 분리하였다. 분리된 상층액은 분광광도계를 이용해 663.2 nm, 646.8 nm, 470 nm에서 흡광도 값을 측정하고, Eq. (1), Eq. (2), Eq. (3)를 이용하여 총 카로티노이드 함량(μg/mL)을 계산하였다.

$$\text{Chlorophyll a } (C_a)=12.25\times A_{663.2}-2.79\times A_{646.8} \quad (1)$$

$$\text{Chlorophyll b } (C_b)=21.50\times A_{646.8}-5.10\times A_{663.2} \quad (2)$$

$$\text{Total carotenoid content } (C_{x+c})=(1000\times A_{470}-1.82\times C_a-85.02\times C_b)/198 \quad (3)$$

비타민 C, 나린진 및 헤스페리딘

비타민 C, 나린진, 헤스페리딘의 함량은 시료를 4,000×g에서 원심분리한 후, 상층액을 Sep-Pak C_{18} cartridge (Waters Associates Inc., Milford, MA, USA)에 통과시키고, 0.45 μm nylon syringe filter (ChemcoKorea Co., Ltd., Cheongju, Korea)로 여과한 뒤 HPLC (Waters 2695, Waters Associates Inc.)로 분석하였다. 비타민 C 함량은 한국 식품의약품안전처 건강기능식품공전[19] 방법에 따라 분석하였으며, 표준물질로는 ascorbic acid를 사용하였다. 해당 표준물질을 증류수로 희석하여 표준검량곡선을 작성한 후 정량하였다(Table 2). 나린진과 헤스페리딘은 Büyüktuncel[20]의 방법을 수정하여 분석하였으며, 표준물질인 naringin과 hesperidin을 메탄올로 희석하여 작성한 표준검량곡선을 이용해 정량하였다 (Table 3).

FRAP 활성

Ferric ion reducing antioxidant power (FRAP) 활성은 Jang 등[21]의 방법을 변형하여 측정하였다. 300 mM sodium acetate와 300 mM acetic acid를 혼합하여 sodium acetate buffer (pH 3.6)를 만들었다. 40 mM hydrochloric acid 용액에 TPTZ 첨가하여 10 mM TPTZ 용액을 만들었다. FRAP 반응용액은 sodium acetate buffer (pH 3.6), 10 mM TPTZ 용액, 20 mM ferric chloride hexahydrate 용액을 10:1:1 비율로 혼합하여 갈색병에 보관하였으며, 사용 전 항온수조(C-WBD2, Changshin Science, Seoul, Korea)에 넣고 37°C에서 10분 이상 예열 뒤 사용하였다. 갈색 튜브에 10배 희석한 시료 0.12 mL와 FRAP 반응용액 3.6 mL, 증류수 0.36 mL를 가하고 혼합한 뒤 항온수조에 넣고 37°C에서 10분간 반응시킨 후 분광광도계를 이용하여 593 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준검량곡선(y=3.1148x+0.3164, R^2=0.9943)은 trolox를 0.02, 0.04, 0.10, 0.2, 0.4 mM의 농도로 제조하여 작성하였고, 시료의 FRAP 활성은 trolox를 환산한 mM trolox equivalents (TE)/g으로 나타내었다.

Table 2. HPLC analysis condition for vitamin C, naringin, and hesperidin

Item	Vitamin C analysis condition	Naringin and hesperidin analysis condition
Instrument	Alliance 2695, Waters	Alliance 2695, Waters
Column	Waters mBondapak NH_2 (10 μm, 3.9×300 mm)	Capcell Pak C18 MG (5 μm, 4.6×250 mm)
Column temperature	Room temperature	40°C
Mobile phase	0.05 M KH_2PO_4:100% acetonitrile (60:40, v/v)	100% Acetonitrile:788 mL water with 2mL formic acid (26:74, v/v)
Flow rate	1.0 mL/min	1.0 mL/min
Detector	PDA at 254 nm	PDA at 280 nm
Injection volume	10 μL	10 μL

Table 3. Antioxidant indicator components of *Citrus unshiu* Vinegars produced in Jeju, Korea

Sample	TPC[1] (μg GAE/g)	TFC[2] (μg QE/g)	TCC[3] (μg/mL)	Vitamin C (μg/mL)	Naringin (μg/mL)	Hesperidin (μg/mL)
A	685.83±4.74[a4,5]	727.66±1.74[a]	0.33±0.01[b]	30.19±1.22[a]	9.20±0.11[a]	85.82±0.23[a]
B	314.93±5.60[c]	430.48±1.92[b]	0.25±0.03[c]	1.43±0.69[c]	1.08±0.06[b]	18.49±0.67[c]
C	361.73±4.17[b]	328.72±1.30[c]	0.72±0.01[a]	9.82±3.14[b]	0.89±0.06[b]	40.07±1.87[b]

[1]TPC: Total phenolic content.
[2]TFC: Total flavonoid content.
[3]TCC: Total carotenoid content.
[4]Each value is expressed as mean±standard deviation (n=3).
[5]Means with different letters (a-e) in the same column significantly different at $P<0.05$.

Phosphomolybdenum complex assay

Phosphomolybdenum complex assay (PMA)은 Choi[22] 등의 방법을 변형하여 측정하였다. 6 M sulfuric acid 100 mL, 28 mM sodium phosphate 100 mL, 4 mM ammonium molybdate 100 mL를 혼합한 후, 증류수 700 mL를 첨가하여 총 1 L의 반응 시약 용액을 제조하였다. 10배 희석된 시료 400 μL에 반응 시약 용액 4 mL를 첨가하여 혼합한 후, 90°C로 설정된 항온수조에서 90분간 반응시켰다. 반응이 완료된 혼합물은 실온에서 냉각한 뒤, 분광광도계를 사용하여 695 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준검량곡선 ($y=6.2336x-0.0134$, $R^2=0.9998$)은 0.025, 0.05, 0.1, 0.2, 0.5 mg/mL의 농도의 ascorbic acid를 이용하여 작성하였고, PMA은 mM ascorbic acid equivalents (AAE)/g으로 환산하여 나타내었다.

DPPH 자유 라디칼 소거능

DPPH 자유 라디칼 소거능(free radical scavenging capacity)은 Blois[23]가 제시한 방법에 따라 측정하였다. 시료 1 mL, 증류수 3 mL 및 0.2 mM DPPH 용액 4 mL를 혼합한 후, 암실에서 30분간 반응시켰다. 혼합액의 흡광도는 분광광도계를 이용하여 517 nm에서 측정하였다. 양성 대조군으로는 10 mg/mL 농도의 ascorbic acid을 사용하였으며, DPPH 자유 라디칼 소거능(SA_{DPPH})은 Eq. (4)를 이용하여 백분율(%)로 계산하였다.

$$SA=[(A-B)/A]\times100 \quad (4)$$

SA: Scavenging activity of the tested samples (%)
A: Absorbance of the control
B: Absorbance of the sample

ABTS 자유 라디칼 소거능

ABTS 자유 라디칼 소거능(free radical scavenging capacity)은 Pellegrini 등[24]의 방법을 변형하여 측정하였다. 7 mM ABTS 용액과 2.45 mM potassium persulfate 용액을 1:1 비율로 혼합한 후, 37°C의 암실에서 24시간 동안 반응시켜 ABTS 자유 라디칼을 생성하였다. 생성된 ABTS 자유 라디칼 용액은 에탄올로 희석하여, 734 nm에서 흡광도가 1.0이 되도록 조절하였다. 이후, 시료 360 μL에 ABTS 용액 3.6 mL를 첨가하고 혼합하여 6분간 반응시킨 후, 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. 양성 대조군으로는 10 mg/mL 농도의 ascorbic acid을 사용하였으며, ABTS 자유 라디칼 소거능(SA_{ABTS})은 Eq. (4)를 이용하여 백분율(%)로 계산하였다.

Hydroxyl 라디칼 소거 활성

Hydroxyl 라디칼 소거 활성(radical scavenging activity)은 Yu 등[25]의 방법을 일부 변형하여 측정하였다. 시료 용액 1 mL, 6 mM ferrous sulfate 용액 1 mL, 6 mM hydrogen peroxide 용액 1 mL 혼합한 후, 실온에서 10분간 반응시켰다. 이어서 에탄올에 녹인 6 mM salicylic acid 용액 1 mL를 추가하여 잘 혼합한 뒤, 37°C에서 1시간 동안 반응시켰으며, 이후 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. 양성 대조군으로는 10 mg/mL 농도의 ascorbic acid을 사용하였으며, Hydroxyl 라디칼 소거 활성(SA_{OH})은 Eq. (4)를 이용하여 백분율(%)로 계산하였다.

통계분석

모든 실험 결과에 대한 통계 처리는 SPSS 24.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 수행하였다. 분산분석(ANOVA) 후, Duncan의 다중 범위 검정(Duncan's multiple range test)을 통해 $P<0.05$ 수준에서 유의적인 차이를 검정하였다. 또한, 항산화 성분과 활성 간의 상관관계는 Pearson 상관계수(Pearson's correlation coefficient)를 이용하여 분석하였으며, 이때 통계적 유의성을 함께 평가하였다.

Results and Discussion

총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량

Hydroxyl기(–OH)를 함유한 페놀성 화합물은 다양한 분자와 상호작용할 수 있는 구조적 특성을 가지며, 식품 유래 천연물로서 항산화, 항염증, 항암 등 다양한 생리활성을 통해 건강 증진에 기여하는 것으로 알려져 있다[26]. 이러한 생리활성 특성으로 인해 기능성 식품 소재로의 응용 가능성이 제시되고 있으며, 이에 대한 과학적 관심과 연구도 꾸준히 증가하고 있다[27]. 감귤식초의 총 폴리페놀 함량은 314.93-685.83 μg GAE/g으로 나타났으며, 이 중 A 시료(685.83 μg GAE/g)가 B와 C 시료들에 비해 유의적으로 높은 함량을 나타내었다(Table 3). 감귤에 함유된 플라보노이드는 발효 과정에서 효소적 가수분해와 미생물 대사를 통해 보다 저분자 형태의 대사산물로 전환되며, 이는 생체이용률을 증가시키고 감귤 식초의 생리활성 증진에 기여하는 것으로 보고

Table 4. FRAP activity and phosphomolybdenum complex assay of *Citrus unshiu* vinegars produced in Jeju, Korea

Sample	FRAP[1] (mM TE/g)	PMA[2] (mM AAE/g)
A	2.16±0.05[a][3,4]	2.84±0.07[a]
B	0.61±0.18[b]	0.93±0.05[b]
C	1.59±0.43[a]	2.38±0.40[a]

[1]FRAP: FRAP activity.
[2]PMA: Phosphomolybdenum complex assay.
[3]Each value is expressed as mean±standard deviation (n=3).
[4]Means with different letters (a-e) in the same column significantly different at $P<0.05$.

되고 있다[28]. 감귤식초의 총 플라보노이드 함량은 328.72-727.66 μg QE/g으로 나타났으며, A 시료(727.66 μg QE/g)는 다른 시료 대비 유의적으로 높은 함량을 나타내었다(Table 3). A 시료는 정제수를 사용하지 않고 감귤 착즙액만을 이용하여 초산발효를 진행한 반면, B 및 C 시료는 감귤과 정제수를 혼합하여 초산발효를 진행하였다. 이러한 원료 조성의 차이가 A 시료의 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량이 다른 시료보다 높게 나타난 주요 요인으로 사료된다.

총 카로티노이드 함량

감귤에는 다양한 폴리페놀, 특히 플라보노이드 계열과 함께 β-카로틴, 크립토잔틴 등의 카로티노이드가 풍부하게 함유되어 있어, 이들 항산화 성분의 복합적인 작용으로 감귤식초의 기능성이 증진될 수 있다[29]. 감귤식초의 총 카로티노이드 함량은 0.25-0.72 μg/mL으로 나타났으며, C 시료(0.72 μg/mL)는 다른 시료에 비해 유의적으로 높은 총 카로티노이드 함량을 보였다(Table 3). C 시료는 A 및 B 시료에 사용되지 않은 씨초를 이용하여 초산발효를 진행하였는데, 이 비살균 상태의 씨초에는 활성 초산균과 다양한 효소계가 포함되어 있어 감귤 기반 발효 과정에서 세포벽 성분의 분해를 촉진한 것으로 사료된다[30]. 이에 따라 지용성 생리활성물질인 카로티노이드의 용출률이 증가하였으며, 발효 효율과 성분의 안정성 또한 향상되었을 가능성이 있다.

비타민 C, 나린진 및 헤스페리딘 함량

감귤은 비타민 C를 비롯하여 나린진 및 헤스페리딘과 같은 플라보노이드 계열의 항산화 성분을 다량 함유하고 있으며, 이들은 체내 활성산소 제거, 항염 및 면역 조절 등 다양한 생리활성을 나타내는 것으로 보고되고 있다[31]. 감귤식초의 비타민 C, 나린진 및 헤스페리딘 함량은 각각 1.43-30.19 μg/mL, 0.89-9.20 μg/mL, 18.49-85.82 μg/mL으로 나타났으며, A 시료의 비타민 C (30.19 μg/mL), 나린진(9.20 μg/mL) 및 헤스페리딘(85.82 μg/mL) 함량이 다른 시료에 비해 유의적으로 높게 나타났다(Table 3). 이러한 결과는 A 시료가 정제수 희석 없이 감귤 착즙액만을 사용하여 제조되었기 때문으로, 감귤 유래 항산화 성분이 고농도로 제조 되었을 가능성을 시사한다. Zacarías-García 등[32]은 귤, 오렌지 등 citrus 품종에 따라 비타민C 함량이 다르게 나타났으며, 비타민C 함량은 ABTS와 DPPH 자유라디칼 소거능과 높은 양의 상관관계가 있다고 보고하였다. 또한, Gorinstein 등[33]은 감귤류의 추출물에 함유된 나린진과 헤스페리딘은 감귤의 주요 플라보노이드 성분으로 항산화와 관련된 잠재력이 있다고 보고하였다. 이와 같은 고농도의 비타민 C, 나린진 및 헤스페리딘은 감귤식초의 항산화 지수를 증가시키는 데 직접적으로 기여했을 가능성이 있으며, 이로 인해 제품의 건강기능적 가치가 향상되었을 것으로 사료된다.

Table 5. Pearson's correlation coefficients (r) between antioxidant compounds and antioxidant activities of *Citrus unshiu* vinegars produced in Jeju, Korea

Factor	TPC[1)]	TFC[2)]	TCC[3)]	Vit C	Naringin	Hesperidin	FRAP[4)]	PMA[5)]	DPPH[6)]	ABTS[7)]	•OH[8)]
TPC	1										
TFC	0.930***[9)]	1									
TCC	-0.228	-0.566	1								
Vit C	0.974***	0.849**	-0.062	1							
Naringin	0.988***	0.974***	-0.365	0.940***	1						
Hesperidin	0.980***	0.843**	-0.039	0.981***	0.942***	1					
FRAP	0.791*	0.556	0.283	0.889**	0.702*	0.852**	1				
PMA	0.746*	0.468	0.431	0.857**	0.643	0.835**	0.969***	1			
DPPH	0.514	0.211	0.562	0.574	0.403	0.663	0.698*	0.741*	1		
ABTS	0.631	0.304	0.605	0.740*	0.510	0.765*	0.885**	0.947***	0.894**	1	
•OH	0.468	0.738*	-0.925***	0.312	0.584	0.316	-0.042	-0.196	-0.235	-0.338	1

[1)]TPC: Total phenolic content.
[2)]TFC: Total flavonoid content.
[3)]TCC: Total carotenoid content.
[4)]FRAP: FRAP activity.
[5)]PMA: Phosphomolybdenum complex assay.
[6)]DPPH: DPPH free radical scavenging capacity.
[7)]ABTS: ABTS free radical scavenging capacity.
[8)]•OH: Hydroxyl radical scavenging activity.
[9)]Significance was determined by Pearson's correlation coefficient and *, **, and *** indicated the significance at $P<0.05$, $P<0.01$, and $P<0.001$.

항산화 활성

FRAP 활성은 항산화 활성이 증가함에 따라 Fe^{3+}가 Fe^{2+}로 환원되는 환원력이 커지며, 이에 따라 측정된 흡광도 값도 증가한다[34]. 감귤식초의 FRAP 활성은 0.61-2.16 mM TE/g 범위 내에서 나타났으며, A 시료(2.16 mM TE/g)와 C 시료(1.59 mM TE/g) 간에는 통계적으로 유의한 차이가 관찰되지 않았다. 반면, B 시료(0.61 mM TE/g)는 가장 낮은 활성을 보였다(Table 4).

Phosphomolybdenum complex assay (PMA)은 Mo (VI)가 Mo (V)로 환원되면서 형성되는 녹색 몰리브덴산염 착물의 흡광도를 측정하여 시료의 총 항산화 활성을 평가하는 방법이다[35]. 감귤식초의 PMA 값은 0.93-2.84 mM AAE/g 범위로 측정되었으며, A 시료(2.84 mM AAE/g)와 C 시료(2.38 mM AAE/g) 간에는 유의한 차이가 없었다(Table 4). B 시료(0.93 mM AAE/g)는 가장 낮은 항산화 활성을 나타냈다. 본 연구에서 측정된 주요 항산화 물질은 A 시료에서 총 카로티노이드를 제외하고 가장 높은 함량을 보였음에도 불구하고, FRAP 및 PMA 결과에서는 A 시료와 C 시료 간 유의한 차이가 나타나지 않았다. 이는 C 시료에 함유된 총 카로티노이드뿐만 아니라 여러 활성 성분들이 복합적으로 항산화 효과에 기여한 결과로 사료된다.

DPPH와 ABTS 자유라디칼 소거능 분석은 항산화 물질이 안정한 라디칼을 환원시켜 소거하는 능력을 평가하는 대표적인 방법으로, 두 분석법 모두 시료의 항산화 활성을 정량화하는 데 널리 활용된다[36]. 감귤식초의 DPPH 자유라디칼 소거능은 66.32-77.57%로 나타났으며, 양성 대조군으로 사용된 ascorbic acid (10 mg/mL)는 85.61%으로 유의적으로 가장 높은 활성을 나타내었다(Fig. 1A). A 시료(77.07%)와 C 시료(77.57%) 간에는 통계적으로 유의한 차이가 없었고, B 시료(66.32%)는 다른 시료들에 비해 유의하게 낮은 활성을 보였다. 그리고 ABTS 자유라디칼 소거능은 58.96-84.58%로 나타났으며, 마찬가지로 ascorbic acid (10 mg/mL)가 86.40%로 가장 높은 활성을 보였다(Fig. 1B). A 시료(84.58%)와 C 시료(83.59%) 사이에는 유의적인 차이가 관찰되지 않았고 B 시료(58.96%)는 유의하게 낮은 활성을 나타냈다. 이러한 결과를 통해 감귤식초의 ABTS 자유라디칼 소거능은 DPPH 결과와 유사한 경향을 나타내며, 두 분석법 모두 시료 간 항산화 활성 비교에 있어 일관된 패턴을 보여주었다. 발효식초와 관련된 선행 연구들을 비교해 보면, 항산화 활성에 영향을 미치는 몇 가지 주요 요인을 확인할 수 있다. Hwang 등[37]의 연구에 따르면, 아로니아 착즙액의 농도가 증가할수록 아로니아 식초의 항산화 활성이 증가하는 경향을 보였으며, 이는 고형분 함량이 항산화 활성에 긍정적인 영향을 미칠 수 있음을 시사한다. Jo 등[38]의 연구에서는 일반 산도의 사과식초에서 DPPH 자유라디칼 소거능이 27.7%, ABTS 자유라디칼 소거능이 36.7%로 나타난 반면, 저산도 사과

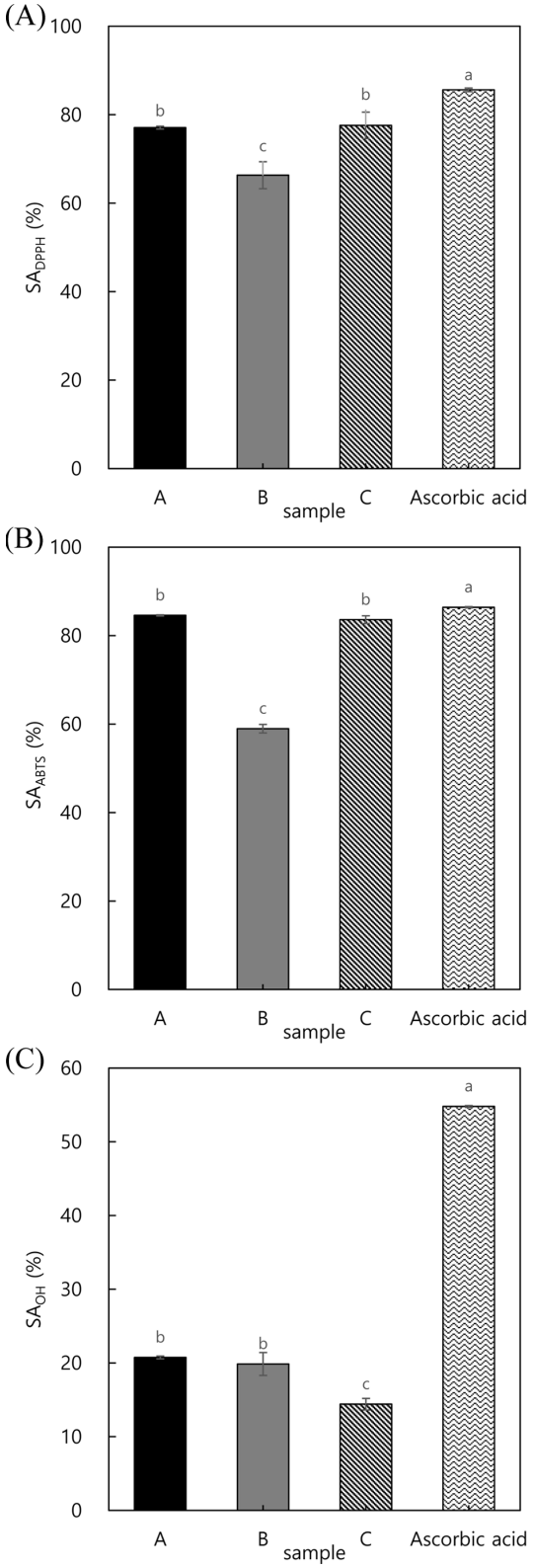

Fig. 1. (A) DPPH free radical scavenging capacity (SA_{DPPH}), (B) ABTS free radical scavenging capacity (SA_{ABTS}), and (C) hydroxyl radical scavenging activity (SA_{OH}) of *Citrus unshiu* vinegars produced in Jeju, Korea. Each bar represents the mean±standard deviation (n=3). Different letters above the bars indicate significant differences according to Duncan's multiple range test (P<0.05).

식초에서는 각각 57.6% 및 99.6%로 더 높은 활성을 보였다. 이를 통해 산도가 낮을수록 항산화 활성이 증가할 수 있음을 확인할 수 있다. 한편, Yi 등[7]의 연구에서는 감귤 미숙과와 완숙과 식초의 항산화 활성을 비교한 결과, DPPH 자유라디칼 소거능은 각각 29.0%와 5.0%, ABTS 자유라디칼 소거능은 각각 62.0%와 17.9%로 나타나, 미숙과 식초가 완숙과 식초보다 높은 항산화 활성을 보였다. 이는 감귤 원료의 숙성도가 항산화 활성에 영향을 미치는 요인임을 보여주는 결과로, 고형분 함량, 산도, 원료의 숙성 정도 등 다양한 조건들이 발효식초의 항산화 활성에 중요한 영향을 줄 수 있음을 시사한다.

Hydroxyl 라디칼 소거 활성 분석은 생체 내에서 가장 반응성이 높은 활성 산소종 중 하나인 hydroxyl 라디칼(•OH)을 소거하는 시료의 능력을 평가함으로써, 항산화 효능을 간접적으로 확인할 수 있는 방법이다[39]. 감귤식초의 Hydroxyl 라디칼 소거능은 14.40-20.74%로 나타났으며, 양성 대조군으로 사용된 ascorbic acid (10 mg/mL)는 54.80%으로 유의적으로 가장 높은 활성을 나타내었다(Fig. 1C). A 시료(20.17%)와 B 시료(19.86%) 간에는 통계적으로 유의한 차이가 없었으며, C 시료(14.40%)는 다른 시료들에 비해 유의하게 낮은 소거 활성을 보였다. 특히, 감귤식초의 hydroxyl 라디칼 소거 활성은 양성 대조군인 ascorbic acid에 비해 전반적으로 매우 낮은 수준을 보였다. 이는 감귤식초에 함유된 항산화 성분들이 hydroxyl 라디칼과 같은 반응성이 매우 높은 활성 산소종을 효과적으로 제거하기에는 한계가 있음을 시사하며, 감귤식초의 항산화 효과는 주로 DPPH, ABTS 및 FRAP과 같은 보다 안정적인 라디칼에 대한 소거 활성에 기인할 가능성이 크다.

항산화 물질과 항산화 활성의 상관관계분석

항산화 물질과 항산화 활성 간의 상관관계를 분석한 결과, 대부분의 항산화 물질은 FRAP 활성, PMA, DPPH 및 ABTS 자유라디칼 소거능과 양의 상관관계를 나타내었다(Table 5). 특히, 총 폴리페놀 함량과 플라보노이드 계열 및 비타민 C는 모든 항산화 활성 지표들과 양의 상관관계를 보여, 감귤식초의 항산화 활성에 일정 부분 영향을 미치는 요인으로 추정된다. 총 폴리페놀 함량은 FRAP 활성(r=0.791), PMA (r=0.746), DPPH 자유라디칼 소거능(r=0.514), ABTS 자유라디칼 소거능(r=0.631), Hydroxyl 라디칼 소거 활성(r=0.468)과 양의 상관관계를 나타냈으며, 총 플라보노이드 함량은 FRAP 활성(r=0.556), PMA (r=0.468), DPPH 자유라디칼 소거능(r=0.211), ABTS 자유라디칼 소거능(r=0.304), Hydroxyl 라디칼 소거 활성(r=0.738)과 양의 상관관계를 나타내었다. 다른 성분에 비해 비타민 C는 FRAP 활성(r=0.889), PMA (r=0.857), ABTS 자유라디칼 소거능(r=0.740)과 비교적 높은 양의 상관관계를 보여주며, 항산화 활성에 일정 부분 기여할 수 있는 성분임을 시사하였다. 플라보노이드계 화합물인 나린진과 헤스페리딘 또한 대부분의 항산화 활성 지표들과 유의한 상관관계를 보였으며, 특히 나린진은 총 플라보노이드 함량(r=0.974) 및 비타민 C (r=0.940)와 높은 상관관계를 나타내었다. 반면, 총 카로티노이드 함량은 대부분의 항산화 화합물들과 유의한 음의 상관관계를 나타냈으며, 특히 항산화 활성 지표 중에서 hydroxyl 라디칼(•OH) 소거 활성과는 매우 높은 음의 상관관계(r=-0.925)를 보여, 카로티노이드가 hydroxyl 라디칼(•OH) 소거에는 기여하지 않거나 오히려 방해 요인으로 작용할 가능성을 시사한다. 이러한 결과는 감귤식초의 항산화 활성에 있어 페놀계 및 플라보노이드계 성분이 일정 부분 기여할 수 있으며, 항산화 활성 평가 지표에 따라 기여하는 항산화 성분이 다를 수 있음을 보여준다.

Acknowledgement

본 연구는 2025년도 중소벤처기업부의 기술개발사업 지원과제(S3452772)에 의해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

국문요약

감귤식초는 감귤을 주원료로 발효하여 제조한 발효식초로 항산화 및 생리활성 특성으로 인해 기능성 식품 소재로서 점점 더 관심을 받고 있다. 본 연구에서는 제주에서 생산된 감귤식초의 항산화 활성을 평가하기 위해 총 폴리페놀 함량, 총 플라보노이드 함량, 총 카로티노이드 함량, 비타민 C, 나린진, 헤스페리딘, FRAP 활성, PMA 분석, DPPH 및 ABTS 자유라디칼 소거능, hydroxyl 라디칼 소거 활성을 포함한 다양한 항산화 활성 관련 지표를 분석하였다. 감귤식초의 총 폴리페놀, 총 플라보노이드, 총 카로티노이드 함량은 각각 314.93-685.83 μg GAE/g, 328.72-727.66 μg QE/g, 0.25-0.72 μg/mL으로 나타났으며, 비타민 C, 나리진, 헤스페리딘 함량은 각각 1.43-30.19 μg/mL, 0.89-9.20 μg/mL, 18.49-85.82 μg/mL로 분석되었다. FRAP 활성과 PMA 분석은 각각 0.61-2.16 mM TE/g, 0.93-2.84 mM AAE/g으로 측정되었고, DPPH 및 ABTS 자유라디칼 소거능은 각각 66.32-77.57%, 58.96-84.58%로 비교적 높은 활성을 나타냈다. 반면, hydroxyl 라디칼 소거 활성은 14.40-20.74%로 다른 분석 지표에 비해 낮은 수치를 보였다. 이러한 결과는 다양한 생리 활성 화합물이 감귤 식초의 항산화 활성에 기여한다는 것을 보여주며, 이는 기능성 식품 성분으로의 잠재적인 활용 가능성을 시사한다.

Conflict of interests

The authors declare no potential conflicts of interests.

ORCID

Man Jae Cho https://orcid.org/0000-0002-0166-4111
Eunok Kang https://orcid.org/0000-0003-3897-265X
Hae-Won Lee https://orcid.org/0000-0002-9420-6354

References

1. Lee, S.O., Lee, H.J., Yu, M.H., Im, H.G., Lee, I.S., Total polyphenol contents and antioxidant activities of methanol extracts from vegetables produced in Ullung island. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **37**, 233-240 (2005).
2. Fridovich, I., The biology of oxygen radicals: The superoxide radical is an agent of oxygen toxicity; superoxide dismutases provide an important defense. *Science*, **201**, 875-880 (1978).
3. Gardner, D.R., Fridovich, I., Superoxide sensitivity of *Escherichia coli* 6-phosphogluconate dehydratase. *J. Biol. Chem.*, **266**, 1478-1483 (1991).
4. Imlay, J.A., Linn, S., DNA damage and oxygen radical toxicity. *Science*, **240**, 1302-1309 (1988).
5. Kim, H.Y., Park, J.R., Park, S.C., Ko, K.A., Seo, J.W., Seong, E.S., Analysis of functionality and antimicrobial activity in fermented vinegar using Schisandra chinensis by-products. *J. Appl. Biol. Chem.*, **67**, 245-252 (2024).
6. Park, H.J., Park, J.E., Kang, H.J., Kim, M.J., Kim, G.H., Eom, H.J., Quality characteristics of apple vinegar using various acetic acid bacteria. *Korean J. Food Nutr.*, **37**, 189-196 (2024).
7. Yi, M.R., Hwang, J.H., Oh, Y.S., Oh, H.J., Lim, S.B., Quality characteristics and antioxidant activity of immature *Citrus unshiu* vinegar. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **43**, 250-257 (2014).
8. Ministry of Food and Drug Safety (MFDS), (2025, August 21). Food code. Retrieved from https://various.foodsafetykorea.go.kr/fsd/#/ext/Document/FC
9. Ko, Y.J., Jeong, D.Y., Lee, J.O., Park, M.H., Kim, E.J., Kim, J.W., Kim, Y.S., Ryu, C.H., The establishment of optimun fermentation conditons for *Prunus mune* vinegar and its quality evaluation. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **36**, 361-365 (2007).
10. Choi, C.Y., Park, E.H., Ryu, S.J., Shin, W.C., Kim, M.D., Metabolome analysis and aroma characteristics of fermented fruit vinegar. *Microbiol. Biotechnol. Lett.*, **46**, 416-424 (2018).
11. Lee, J.K., Kim, J.S., Sohn, H.Y., Antioxidant, anti-thrombosis, and lipid accumulation inhibition activities of different dried vinegars. *J. Life Sci.*, **34**, 296-303 (2024).
12. Lee, E.J., Ju, H.W., Lee, K.S., Quality characteristics of pan bread added with citrus mandarin peel powder. *Culi. Sci. Hos. Res.*, **18**, 27-39 (2012).
13. Chae, I.S., Kim, H.S., Ko, Y.S., Kang, M.H., Hong, S.P., Shin, D.B., Effect of citrus concentrate on the physicochemical properties of Kochujang. *Korea J. Food Sci. Technol.*, **40**, 626-632 (2008).
14. Choi, M.Y., Park, H.J., Kim, J.S., Kim, M.R., Evaluation on antioxidative and antiaging effect of immature fruits from *Citrus unshiu* Markovich. *Kor. J. Hervol.,* **36**, 77-85 (2021).
15. Chung, S.K., Kim, S.H., Choi, Y.H., Song, E.Y., Kim, S.H., Status of citrus fruit production and view of utilization in Cheju. *Food Ind. Nutr.*, **5**, 42-52 (2000).
16. Lee, J.E., Kim, G.W., Kang K.O., Shin, J.Y., Son, J.Y., A study on the brewing characteristics and functionality of *Makgeolli* using germinated rice. *FoodServ. Ind. J.*, **17**, 39-54 (2021).
17. Shen, Y. Jin, L. Xiao, P., Lu, Y., Bao, J., Total phenolics, flavonoids, antioxidant capacity in rice grain and their relations to grain color, size and weight. *J. Cereal Sci.*, **49**, 106-111 (2009).
18. Lichtenthaler, H.K., Buschmann, C., Chlorophylls and carotenoids: measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. *Curr. Protoc. Food Anal. Chem.*, **1**, F4.3.1-F4.3.8 (2001).
19. Ministry of Food and Drug Safety (MFDS), (2025, August 21). Food code. Retrieved from https://various.foodsafetykorea.go.kr/fsd/#/ext/Document/FF
20. Büyüktuncel, E., Fast determination of naringin and hesperidin in natural and commercial citrus juices by HPLC method. *Asian J. Chem.*, **29**, 2384-2386 (2017).
21. Jang, G.W., Choi, S.I., Han, X., Men, X., Kwon, H.Y., Choi, Y.E., Park, B.W., Kim, J.J., Lee, O.H., Development and validation of analytical method and antioxidant effect for berberine and palmatine in *P.amurense*. *J. Food Hyg. Saf.*, **35**, 544-551 (2020).
22. Choi, Y.M., Jeon, S.H., Her, M.R., Yim, S.H., Correlation of antioxidant and radical scavenging activity in *Hydrangea macrophylla* L. extract from various cultivars. *Food Sci. Technol*., **43**, 1-6 (2023).
23. Blois, M.S., Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature*, **181**, 1199-1200 (1958).
24. Fellegrini, N., Ke, R., Yang, M., Rice-Evans, C., Screening of dietary carotenoids and carotenoid-rich fruit extracts for antioxidant activities applying 2,2′-azinobis(3-ethyleneben zothiazoline-6-sulfonic acid radical cation decolorization assay. *Methods Enzymol.*, **299**, 379-389 (1999).
25. Yu, Q., Li, W., Liang, M., Li, G., Wu, Z., Long, J., Yuan, C., Mei, W., Xia, X., Preparation, characterization, and antioxidant activities of extracts from *Amygdalus persica* L. Flowers. *Molecules*, **29**, 633 (2024).
26. Santos-Buelga, C., González-Paramás, A.M., Oludemi, T., Ayuda-Durán, B., González-Manzano, S., Plant phenolics as functional food ingredients. *Adv. Food Nutr. Res.*, **90**, 183-257 (2019).
27. Di Nunzio, M., Picone, G., Pasini, F., Chiarello, E., Caboni, M.F., Capozzi, F., Gianotti, A., Bordoni, A., Olive oil by-product as functional ingredient in bakery products. Influence of processing and evaluation of biological effects. *Food Res. Int.*, **131**, 1-11 (2020).
28. Guo, X., Guo, A., Li, E., Biotransformation of two citrus flavanones by lactic acid bacteria in chemical defined medium.

Bioprocess Biosyst. Eng., **44**, 235-246 (2021).
29. Saini, R.K., Ranjit, A., Sharma, K., Prasad, P., Shang, X., Gowda, K.G.M., Keum, Y.S., Bioactive compounds of citrus fruits: A review of composition and health benefits of carotenoids, flavonoids, limonoids, and terpenes. *Antioxidants*, **11**, 239 (2022).
30. Ge, Y., Wu, Y., Aihaiti, A., Wang, L., Wang, Y., Xing, J., Zhu, M., Hong, J. The metabolic pathways of yeast and acetic acid bacteria during fruit vinegar fermentation and their influence on flavor development. *Microorganisms*, **13**, 477 (2025).
31. Miles, E.A., Calder, P.C., Effects of citrus fruit juices and their bioactive components on inflammation and immunity: a narrative review. *Front. Immunol.*, **12**, 712608 (2021).
32. Zacarías-García, J., Rey, F., Gil, J.V., Rodrigo, M.J., Zacarías, L., Antioxidant capacity in fruit of Citrus cultivars with marked differences in pulp coloration: Contribution of carotenoids and vitamin *C. Food Sci. Technol. Int.*, **27**, 210-222 (2021).
33. Gorinstein, S., Huang, D., Leontowicz, H., Leontowicz, M., Yamamoto, K., Soliva-Fortuny, R., Martin Belloso, O., Martinez Ayala, A.L., Trakhtenberg, S., Determination of naringin and hesperidin in citrus fruit by high-performance liquid chromatography. The antioxidant potential of citrus fruit. *Acta Chromatogr.*, **17**, 108-124 (2006).
34. Hsieh, C., Rajashekaraiah, V., Ferric reducing ability of plasma: a potential oxidative stress marker in stored plasma. *Acta Haematol. Pol.*, **52**, 61-67 (2021).
35. Kara, M., Assouguem, A., Fadili, M.E., Benmessaoud, S., Alshawwa, S.Z., Kamaly, O.A., Saghrouchni, H., Zerhouni A.R., Bahhou, J., Contribution to the evaluation of physicochemical properties, total phenolic content, antioxidant potential, and antimicrobial activity of vinegar commercialized in Morocco. *Molecules*, **27**, 770 (2022).
36. Olszowy, M., Dawidowicz, A.L., Is it possible to use the DPPH and ABTS methods for reliable estimation of antioxidant power of colored compounds? *Chem. Pap.*, **72**, 393-400 (2018).
37. Hwang, E.S., Do Thi, N., Quality characteristics and antioxidant activity of vinegar by the addition of aronia juice (*Aronia melanocarpa*). *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **49**, 167-176 (2020).
38. Jo, D., Park, E.J., Kim, G.R., Yeo, S.H., Jeong, Y.J., Kwon, J.H., Quality comparison of commercial cider vinegars by their acidity levels. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **44**, 699-703 (2012).
39. Moore, J., Yin, J.J., Yu, L., Novel fluorometric assay for hydroxyl radical scavenging capacity (HOSC) estimation. *J. Agric. Food Chem.*, **54**, 617-626 (2006).