



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

韓 英 淑 教授指導
碩士學位 請求論文

배전시간을 달리한 커피의 항균효과
및 항산화성에 관한 연구

2009

誠信女子大學校 大學院

食品營養學科

金 智 暎

배전시간을 달리한 커피의 항균효과
및 항산화성에 관한 연구

韓 英 淑 教授指導

이 論文을 碩士學位 論文으로 提出함

2009年 5月

誠信女子大學校 大學院

食品營養學科

金智暎

認 准 書

金智暎의 碩士學位 論文으로 認准함.

審査委員 _____ 印

審査委員 _____ 印

審査委員 _____ 印

誠信女子大學校 大學院

논문개요

본 연구에서는 배전시간을 달리한 커피 추출물에서의 항균효과와 항산화성을 알아보려고 하였다. 커피를 메탄올과 물로 추출하여 각 추출물의 항균효과를 측정하기 위하여 유해 균주로 식중독균인 *Escherichia coli* (*E. coli*, ATCC 25922), *Salmonella choleraesuis* subsp. *Choleraesuis* (*Sal. choleraesuis*, ATCC 13076), *Staphylococcus aureus* subsp. *Aureus* (*S. aureus*, ATCC 25923)와 충치균 *Streptococcus sobrinus* (*Strep. sobrinus*, ATCC 27607), *Streptococcus mutans* (*Strep. mutans*, ATCC 25175) 구취균 *Porphyromonas gingivalis* (*Porph. gingivalis*, ATCC 33277), *Prevotella intermedia* (*Pre. intermedia*, ATCC 25611)에 대하여 항균활성을 paper disc method 로 살펴보았으며, 각 추출물의 최소저해농도 (Minimum inhibitory concentration)를 구하였다. 또한 항산화력을 측정하기 위하여 DPPH 자유기 소거 효능 및 총 페놀화합물 함량을 확인한 결과는 다음과 같다.

1. 각 시료의 메탄올 추출물의 수율은 20 분 동안 배전한 시료의 추출물이 24.00 %로 가장 높은 수율을 나타내었고, 12 분 동안

배전한 시료의 추출물은 20.02 %로 가장 낮은 수율을 나타내었다. 물 추출물에서는 25 분 동안 배전한 시료의 추출물이 18.58 %로 가장 높은 수율을 나타내었고, 5 분 동안 배전한 시료의 추출물이 2.70 %로 가장 낮은 수율을 나타내었다.

2. Paper disc method 를 사용한 커피 추출물의 항균효과는 메탄올 추출물은 7 종의 균주 중 6 종의 균주에서 항균효과를 나타내었으며, 특히 *S. aureus* 에서 12, 14, 16, 20, 25 분 배전한 시료에서 항균성을 나타내었다. 물 추출물은 7 종의 균주 중 5 종의 균주에서 항균효과를 나타내었으나 대부분의 clear zone 이 6~8 mm 정도로 약한 항균효과를 나타내었다. 한편, 메탄올 추출물에서 *E. coli*, 물 추출물에서는 *Sal. choleraesuis* 와 *Pre. intermedia* 의 균주에 대해서 항균 효과를 나타내지 않았다.

3. 각 추출물에 대하여 broth microdilution method 를 시행하여 유해균에 대한 최소저해농도를 측정한 결과, 메탄올 추출물에서 12 분 배전한 시료의 추출물에서 *S. aureus* 에 대하여 16.125 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 MIC 를 나타내었다. 물 추출물에서는 5 종의 균주에서 항균성을 나타낸 시료의 모든 추출물에서 1,000 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 항균 활성을 나타내었다.

4. DPPH 를 이용한 커피의 추출물에 대한 자유기 소거 효과를 본 결과는 메탄올 추출물에서 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도일 때 67.08~92.25%, 물 추출물에서 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도일 때 66.43~93.27%로 ascorbic acid (AA)와 butylated hydroxytoluene (BHT)의 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 처리했을 때의 결과와 유사하게 비교적 높은 자유기 소거 효과를 보였다. 특히 배전시간이 0, 5, 8, 10 분인 커피 추출물에서 유의적 차이가 없이 가장 높은 항산화성을 나타내었고, 배전시간 20 분에서 자유기 소거 효과가 크게 감소하였다.

5. 총 페놀화합물 함량을 Folin-Denis method 를 이용하여 측정하였다. 메탄올 추출물에서는 87.6~126.5 mg/g 으로 배전시간이 0 분일 때 가장 높은 함량을 보였고, 물 추출물에서는 95.0~199.1 mg/g 으로 배전시간이 8 분일 때 가장 높은 함량을 보였다. 메탄올 추출물과 물 추출물의 페놀화합물의 함량을 비교하였을 때, 대체로 물 추출물에서 총 페놀화합물 함량이 높은 경향을 보였다.

배전시간에 따라 커피에 함유된 성분의 조성이 변한다고 알려져 있고, 이에 따라 메탄올과 물에 추출되는 특정 성분 및 그 양이 변하였다. 이렇게 성분이 다른 추출물을 통하여 항균효과와 항산화성을 측정하였을 때 각각 다른 효과를 보였고, 따라서 커피 가공 공정을

중 하나인 배전시간의 조절로 커피의 향균효과와 향산화성을
변화시킬 수 있다는 가능성을 제시하였다.

목 차

논문개요

I. 서론	1
II. 재료 및 방법	5
1. 실험재료	5
1) 커피 (<i>Coffee arabica</i>)	5
2) 시약 및 기구	7
3) 사용균주 및 배지	7
2. 실험 방법	10
1) 커피 추출물 조제	10
2) 커피 추출물의 항균력 측정	12
3) 커피의 최소저해농도 (Minimum inhibitory concentration) 측정	12
4) DPPH 자유기 소거효과 측정	13
5) 총 페놀화합물 함량측정	14
3. 통계방법	15

Ⅲ. 결과 및 고찰	16
1. 커피 추출물의 용매별 수율	16
2. 커피 추출물의 항균력	18
3. 커피의 최소저해농도 (Minimum inhibitory concentration) 측정	28
4. DPPH 자유기 소거효과	32
5. 총 페놀화합물 함량	37
V. 결론	42
Reference	
Abstract	

List of Tables

Table 1. List of Microorganisms and media used for antibacterial activity tests.....	9
Table 2. Number of samples, name of solvent, roasting time of <i>Coffee arabica</i> beans.....	11
Table 3. Yield ratios of extraction of <i>Coffee arabica</i> beans by solvents	18
Table 4. Antibacterial activity of methanol extract from <i>Coffee arabica</i> beans on several microorganisms.....	26
Table 5. Antibacterial activity of water extract from <i>Coffee arabica</i> beans on several microorganism.....	27
Table 6. Minimum inhibitory concentration of methanol extract from <i>Coffee arabica</i> beans against several microorganism.	30
Table 7. Minimum inhibitory concentration of water extract from <i>Coffee arabica</i> beans against several microorganisms	31
Table 8. DPPH radical scavenging effect of coffee. Samples on the horizontal axis are same with samples in Table 2. A : ascorbic acid (AA), B : butylated hydroxytoluene (BHT)	35
Table 9. Determination of amount of phenol compound in coffee extract by Folin–Denis method. Samples on the horizontal axis are same with samples in Table 2	39

List of Figures

Figure 1. Roasted <i>Coffee arabica</i> beans	6
Figure 2. Antimicrobial activity of the methanol extract of <i>Coffee arabica</i> beans on <i>Salmonella choleraesuis subsp. Choleraesuis</i> ATCC 13076	22
Figure 3. Antimicrobial activity of the methanol extract of <i>Coffee arabica</i> beans on <i>Staphylococcus aureus subsp. Aureus</i> ATCC 25923	23
Figure 4. Antimicrobial activity of the methanol extract of <i>Coffee arabica</i> beans on <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	24
Figure 5. Antimicrobial activity of the methanol extract of <i>Coffee arabica</i> beans on <i>Streptococcus sobrinus</i> ATCC 27607 ..	25
Figure 6. DPPH radical scavenging effect of coffee. Samples on the horizontal axis are same with samples in Table 2. A : ascorbic acid (AA), B : butylated hydroxytoluene (BHT)	36
Figure 7. Determination of amount of phenol compound in coffee extract by Folin–Denis method. Samples on the horizontal axis are same with samples in Table 2. M : methanol, W : water.....	40
Figure 8. Relationship between phenolic compound content and DPPH radical scavenging effect of coffee.	41

I. 서론

커피는 꼭두서니과 (Rubiaceae) 코페아속 (Coffea)에 속하며, 상업적으로 재배하는 품종은 크게 아라비카 (Arabica)와 로부스타 (Robusta-canephora), 그리고 리베리카 (Liberica) 3 가지 품종으로 나뉜다 (1, 2). 그 중 향기와 맛이 좋아 최고의 품질로 인정 받고 있는 아라비카종은 에티오피아 원산으로서 해발 500~1000 m 의 높은 지대와 15~25 ℃의 온도에서 잘 자라고, 브라질 · 콜롬비아 · 멕시코 · 과테말라 · 에티오피아 등지에서 생산되며 전세계 커피 생산량의 75%를 차지한다 (1-3).

이러한 커피는 쓴맛, 신맛, 단맛, 떫은맛 등으로 다양하게 조화 되어 만들어 지는 기호 음료로서 9 세기경부터 에티오피아에서 재배되기 시작한 이래로 현재 전세계적으로 1 년에 6 억잔이나 소비되며, 석유 다음으로 교역량이 큰 상품 가치가 높은 음료라 하겠다 (2, 4).

커피 원료인 커피 생두의 주요 구성성분은 생산지, 품종, 재배 등에 따라 약간의 차이는 있으나 일반적으로 10~13%의 수분, 37~60%의 탄수화물, 9~18%의 지방질, 11~13%의 단백질,

3.0~4.5%의 무기질, 0.9~2.4%의 카페인과 5.5~10%의 클로르제닉산 (chlorogenic acid)으로 되어 있다 (5, 6).

그러나 이러한 구성성분은 가공 제조 공정에 따라 다시 크게 변화를 가져올 수 있다. 일반적으로 커피의 제조 공정은 배합, 배전, 분쇄, 추출 등의 공정을 거치게 되는데, 특히 배전공정은 배전 시간과 온도에 따라 커피의 복합적인 물리 화학적 변화를 가져오게 된다 (7, 8). 보통 배전 공정을 거친 커피의 가용성 성분은 카라멜화 된 당 10~17%, 클로르제닉산 약 4.5%, 유기산 약 2%, 환원당 1~2%, 단백질 1~2%, 회분 약 3%, 카페인 1~2%, 트리코넨린 약 1% 그리고 휘발성 물질 약 0.35% 정도로 구성이 되어 있다 (9).

최근 생활수준의 향상과 더불어 식생활과 질병과의 연계성에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 또한 이와 더불어 다양한 기능성 식품의 개발 및 기존 유지되어 온 식품에서의 생리활성 물질에 대한 연구를 통하여 그 기능성이 보다 향상된 식품을 개발 하고자 하는 노력이 꾸준히 진행되고 있다. 그 중 다류에 대한 관심과 더불어 다양한 음료에 대한 기능성 연구도 동시에 활발히 진행 되고 있다. 특히 음료 중 전세계적으로 가장 소비량이 높은 커피의 기능성에 대한 연구는 그 가치가 높다고 하겠다.

커피의 경우 다양한 방법을 통하여 그 생리활성적 효과를 증명하기 위한 시도가 많이 이루어져 있으며 이에 대한 많은 연구가

이루어 졌다. 먼저 커피의 항산화 및 항균작용에 대한 연구로 다양한 음료에서 페놀 화합물의 함량을 측정한 결과 레드와인보다 커피의 페놀함량이 높은것으로 나타났다 (10). 또한 자유기와 바이러스 감염의 해로운 활동을 막는 효과를 가지고 있다는 결과도 있으며 (11), 커피의 섭취가 LDL 의 산화에 대한 감수성을 줄임으로서 LDL-콜레스테롤과 MDA (Malondialdehyde)를 줄인다는 보고가 있다 (12). 둘째, 생리적인 효과에 대한 연구가 진행되어있다. 그 예로 알코올과 연관된 췌장염의 위험을 감소시킨다는 보고가 있으며 (13), 또한 노화유발과 천식증세를 완화시킨다는 보고도 있다 (14, 15). 세번째로 커피가 에너지 대사에 영향을 미친다는 보고도 있다. 커피의 오랜 기간의 섭취는 낮은 2 형 당뇨의 발병과 연관되어 있다는 보고가 있다 (16). 네번째로는 정신과 신경활성에 관한 연구로, 커피와 카페인의 섭취는 파킨슨병과 알츠하이머 질병의 발병을 낮추는데 연관이 있다고 보고되었다 (17-20).

이렇게 다양한 커피의 생리활성 효과가 보고 되어 있어 기능성 식품으로서의 커피의 가능성을 제시 하였으나 아직 구체적인 작용 기작에 대한 연구는 미비한 실정이다. 그러나 항산화 및 항균성에 관한 연구는 커피의 함유 추출물을 이용한 분석을 통해 좀더 깊이 연구가 진행되어 있다. 기존 보고에 의하면 커피에 함유되어 있는 폴리페놀 성분이 항산화 효과에 영향을 주는 것으로 이해하고 있으며

(21) 이에 따라 구체적인 항산화 효과에 대한 연구가 추가적으로 필요할 것으로 생각된다. 또한 커피의 성분 중의 하나인 클로르제닉산은 폴리페놀의 한 종류로서 항산화 효과와 더불어 항균성에 대한 효과가 이미 보고되어 있다 (22). 따라서 커피의 항균 효과에 관한 연구도 동시에 진행되어야 할 것으로 생각된다.

본 연구에서는 커피의 배전 시간에 따른 커피 성분의 변화와 추출 용매에 따른 추출 성분의 변화를 착안하여 배전 시간에 따른 커피 성분을 메탄올과 물을 이용하여 각각 추출하여, 커피 추출물을 식중독 균 (*Escherichia coli*, *Salmonella choleraesuis* subsp. *Choleraesuis*, *Staphylococcus aureus* subsp. *Aureus*), 충치균 (*Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus mutans*), 구취균 (*Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*)에 대하여 항균효과를 확인해 보고자 하였다. 동시에 항산화 효과를 DPPH 자유기 소거효과 (DPPH scavenging effect)와 총 페놀화합물 함량 (Total phenolic contents) 측정을 통하여 확인하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험재료

1) 커피 (*Coffee arabica*)

본 실험에서 커피의 품종은 Columbia valencia supremo SHB 를 사용하였다. 커피는 로스팅기 (CR-01, taehwan, Korea)에서 210 ± 10 °C로 0, 5, 8, 10, 12, 14, 16, 20, 25 분씩 배전하였다 (Figure 1). 각각의 시료를 분쇄기 (SHM-7211, Cuckoo, Korea)로 분쇄하여 추출용 시료로 사용하였다.



0 min



5 min



8 min



10 min



12 min



14 min



16 min



20 min



25 min

Figure 1. Roasted *Coffee arabica* beans.

2) 시약 및 기구

커피 추출용매로 methanol (Duksan, Korea)과 3차 증류수를 사용하였으며, 커피 추출물을 적절한 농도로 희석하는데 Dimethyl sulfoxide (yakuri pure chemical, Japan)를 사용하였다. Paper disc는 Whatman (England)사의 6.0mm AA disc를 사용하였으며, 96 well microplate는 Becton Dickinson (NJ, U.S.A.) 사의 제품을 사용하였다. Filter paper는 Advantec (U.S.A.)의 제품을 사용하였다. 기타 분석에 사용한 시약은 Sigma (U.S.A.)사와 yakuri pure chemical (Japan)사의 제품을 사용하였다.

3) 사용균주 및 배지

실험에 사용된 균주는 한국미생물보존센터에서 식중독 균주와 충치 균주를, 생물자원센터로부터 구취 균주를 분양받아 계대하여 37 °C에서 24~48 시간 배양하여 활성화시켜 사용하였다. 식중독 균주로는 *Escherichia coli* (*E. coli*, ATCC 25922), *Salmonella choleraesuis* subsp. *Choleraesuis* (*Sal. choleraesuis*, ATCC 13076), *Staphylococcus aureus* subsp. *Aureus* (*S. aureus*, ATCC 25923) 3 가지 균주를 사용하였고, 충치 균주는 *Streptococcus sobrinus* (*Strep. sobrinus*, ATCC 27607), *Streptococcus mutans* (*Strep. mutans*, ATCC 25175) 2 가지 균주를 사용하였으며, 구취 균주는 *Porphyromonas gingivalis*

(*Porph. gingivalis*, ATCC 33277), *Prevotella intermedia* (*Pre. intermedia*, ATCC 25611) 2 가지 균주를 사용하였다. 배지는 Trypticase Soy Agar (TSA) (BBL, Becton Dickinson, MD, U.S.A.)와 Trypticase Soybean Broth (TSB) (BBL, Becton Dickinson, MD, U.S.A.)를 사용하였고, 균주 접종 후 37 °C incubator 에서 24 시간 배양하였다. Incubator 의 습도는 항상 95 % 이상으로 유지하였다 (Table 1).

Table 1. List of Microorganisms and media used for antibacterial activity tests.

Microorganism tested		Gram	Media used	Temp. (°C)
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	(-)	TSA & TSB	37
<i>Salmonella choleraesuis subsp. Choleraesuis</i>	ATCC 13076	(-)		
<i>Staphylococcus aureus subsp. Aureus</i>	ATCC 25923	(+)		
<i>Streptococcus sobrinus</i>	ATCC 27607	(+)		
<i>Streptococcus mutans</i>	ATCC 25175	(+)		
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	ATCC 33277	(-)		
<i>Prevotella intermedia</i>	ATCC 25611	(-)		

2. 실험 방법

1) 커피 추출물 조제

커피 추출물 조제는 준비된 시료를 100 % methanol 과 3 차 증류수에 각각 1:10 (w/v)의 비율로 혼합하여 75 °C에서 3 시간 동안 2 회 반복하여 reflux 하였다. 이 추출액을 filter paper (Advantec No.2)로 여과한 후 회전진공증발기 rotary vacuum evaporator (EYELA, Japan)로 감압 농축한 다음 freeze dryer (OPR-FDY-8612, OPERON, Korea)로 동결건조 하였다 (Table 2).

Extraction yield (%)

$$= (\text{solid in extract gr} / \text{raw material gr (dry weight)}) \times 100$$

Table 2. Number of samples, name of solvent, roasting time of *Coffee arabica* beans.

No. of samples	Solvent	Roasting time (min)
M1	Methanol	0
M2		5
M3		8
M4		10
M5		12
M6		14
M7		26
M8		20
M9		25
W1	Water	0
W2		5
W3		8
W4		10
W5		12
W6		14
W7		16
W8		20
W9		25

2) 커피 추출물의 항균력 측정

세균에 대한 항균력을 측정하기 위하여 paper disc methods (23)를 이용하였다. 각 균주 1 백금이를 취하여 10 ml 의 broth 에 접종하고, 37 °C에서 18 시간 동안 배양하여 활성화시켰다. 이 활성화된 균주 100 μ l를 TSA 배지에 도말 하였다. 그리고 멸균된 paper disc (6.0 mm diameter and 1.0 mm thickness, Whatman AA disc, England)에 1.0 mg/disc 의 농도로 각 추출물을 흡수 시켜 추출용매를 휘발시키고 난 후, 균주를 도말한 TSA 배지 표면 위에 놓아 37 °C에서 24 시간 동안 배양하였다. 그 후 disc 주위의 inhibition zone 의 직경 (mm)을 측정하였다. 대조군으로 DMSO 를 같은 부피로 흡수 시켜 휘발시킨 disc 를 사용하였다. 위 실험은 3 회 반복 측정하였다.

3) 커피의 최소저해농도 (Minimum inhibitory concentration) 측정

7 종의 균주에 대한 최소저해농도 (MIC)는 broth microdilution method (24)에 의해 다음과 같이 결정하였다. 즉, well plate 에 TSB 를 100 μ l씩 분주하고 100 μ l의 추출물을 다양한 농도 (2,000, 1,000, 500, 250, 125, 62.5, 31.25, 15.625 μ g/disc)가 되도록

two-fold dilution 하여 준비한 다음 균의 농도를 2×10^5 c.f.u/ml 이 되도록 희석시켜 $100 \mu\text{l}$ 씩 첨가하였다. 그 후 37°C 에서 24 시간 배양한 뒤, 650 nm 에서 microplate reader (Biog Inc. U.S.A.)로 흡광도를 측정하였다. Turbidity 가 나타나지 않은 well 의 해당 시료 농도를 MIC 값으로 결정하였다. 위 실험은 3 회 반복 측정하였다.

4) DPPH 자유기 소거효과 측정

DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical scavenging method (25)는 free radical 을 갖는 안정한 화합물인 DPPH 를 기질로서 항산화 활성을 측정하는 방법이다. DPPH 1 g 을 MeOH 14.3 ml 에 녹여 DPPH 용액을 만들었다. DPPH 용액 $900 \mu\text{l}$ 에 시료 $100 \mu\text{l}$ 를 넣어 시료의 농도가 0.1, 1, 10 및 $100 \mu\text{g/ml}$ 이 되게 하여 암실에서 30 분간 반응 시킨 후 517 nm 에서 흡광도를 측정하였다. 각각의 시료는 모두 3 회 측정하여 평균값과 표준편차를 구하였다. 대조군은 DPPH 용액에 시료를 넣는 대신 MeOH 을 넣어 실험하였고, blank 는 DPPH 용액과 시료 대신 MeOH 을 넣어 실험하였다. 커피 추출물의 효과는 대조군에 비해 억제한 비율로 결과를 계산하였다. 양성대조군으로 Ascorbic acid (AA)와 Butylated Hydroxytoluene

(BHT) 0.1, 1, 10 및 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 을 같은 방법으로 처리하여 비교 분석하였다. DPPH 자유기 소거효과는 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{DPPH radical scavenging effect (\%)} = \{1 - (A - B) / (C - D)\} \times 100$$

A : OD at 517 nm with test substance and DPPH

B : OD at 517 nm with test substance, but without DPPH

C : OD at 517 nm without test substance, but with DPPH

D : OD at 517 nm without test substance and DPPH

5) 총 페놀화합물 함량측정

총 페놀화합물 함량분석에 널리 사용되는 Folin-Denis method (26)는 페놀성 물질이 phosphomolybdic acid 와 반응하여 청색을 나타내는 현상을 이용한 것으로 다음과 같이 측정하였다. 커피 추출물에 100% MeOH 를 가하여 1 mg/ml 로 만들어 페놀성 화합물 함량 측정용 시료로 사용하였다. 시료를 200 μl 로 취하고 3 차 증류수 1,800 μl 를 혼합한 후 2 N Folin-Clocalteu's Phenol Reagent (SIGMA, F9252)을 0.2 N 로 희석한 시약을 2 ml 혼합하여 섞어 준 후 3 분간 방치 하였다. 이것에 10 % Na_2CO_3 2 ml 를 혼합하여 섞어 60 분 방치 후 분광광도계 (molecular devices,

SPECTRA max PLUS 384)로 760 nm 에서 흡광도를 측정하였다. 분석은 각 시료당 3 회 반복 실시하였고, 측정된 흡광도는 gallic acid 를 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 % gallic acid 당량으로 환산하였다.

3. 통계처리

본 실험에서 얻은 결과들은 SAS program 을 이용하여 분산분석 (ANOVA)을 실시하였고, 각 측정 평균값 간의 유의성은 $p < 0.05$ 수준으로 Duncan' s multiple range test 로 검증하였다.

Ⅲ. 결과 및 고찰

1. 커피 추출물의 용매별 수율

시료를 100 % methanol 과 3 차 증류수에 각각 1:10 (w/v)의 비율로 혼합하여 75 °C에서 3 시간씩 2 회 reflux 하여 얻은 메탄올 추출물과 물 추출물의 수율은 Table 3 과 같다. 0, 5, 8, 10, 12, 14, 16, 20, 25 분 동안 배전한 커피의 메탄올 추출물의 수율은 각각 21.18, 21.88, 20.88, 20.24, 20.02, 21.18, 22.88, 24.00, 20.82 %를 나타내었다. 그 중 20 분 동안 배전한 시료의 추출물이 24.00 %로 가장 높은 수율을 나타내었고, 12 분 동안 배전한 시료의 추출물은 20.02 %로 가장 낮은 수율을 나타내었다. 물 추출물의 수율은 배전시간에 따라 각각 2.76, 2.70, 3.80, 4.00, 5.92, 12.40, 17.90, 17.48, 18.58%의 수율을 나타냈다. 물 추출물의 경우에는 25 분 동안 배전한 시료의 추출물이 18.58 %로 가장 높은 수율을 나타내었고, 4 분 동안 배전한 시료의 추출물이 2.70%로 가장 낮은 수율을 나타내었다. 커피 추출물의 전반적인 수율 결과를 확인해보면, 메탄올 추출물이 물 추출물보다 수율이 높은 것을 확인할 수 있었다. 그리고 메탄올 추출물에서는 배전시간에 따른 수율의 차이가

크지 않았으나 메탄올 추출물의 수율 결과와 다르게 물 추출물에서는 배전시간에 따라 수율이 증가하는 경향을 나타내었다. 따라서 메탄올을 이용한 커피의 수율 능력이 더 높다는 것을 확인할 수 있었으며, 배전 시간에 따라 물의 수율이 증가하는 것은 배전 시간에 따른 커피의 성분변화가 유도되어 수용성 성분으로 분해 되어서 생긴 결과라고 생각할 수 있다.

Table 3. Yield ratios of extraction of *Coffee arabica* beans by solvents.

Solvent	No. of samples	Yield (% , W/W) ^a
MeOH	M1	21.18
	M2	21.88
	M3	20.88
	M4	20.24
	M5	20.02
	M6	21.18
	M7	22.88
	M8	24.00
	M9	20.82
Water	W1	2.76
	W2	2.70
	W3	3.80
	W4	4.00
	W5	5.92
	W6	12.40
	W7	17.90
	W8	17.48
	W9	18.58

^a Extraction yield (%)

$$= (\text{solid in extract gr/ raw material gr (dry weight)}) \times 100$$

2. 커피 추출물의 항균력

커피 추출물의 항균효과를 paper disc method 로 조사한 결과 Table 4, 5 와 Figure 2~5 에 나타낸 바와 같다.

메탄올 추출물은 7 종의 균주 중 *E. coli* 1 종을 제외하고 6 종의 균주에서 항균성을 나타내었다 (Table 4). 먼저 식중독 균주에서는 *Sal. choleraesuis* 에서 0, 5, 8, 10, 12 분, *S. aureus* 에서 12, 14, 16, 20, 25 분 배전한 커피의 추출물에서 항균성을 나타냈다. 여기서 특이하게도 그람 음성균인 *Sal. choleraesuis* 에서는 배전시간을 짧게 수행한 추출물에서, 그람 양성균인 *S. aureus* 에서는 배전 시간을 길게 처리했을 때 그 효과를 나타내었다. 커피 배전 시간에 따른 자세한 성분 분석은 이후 조사되어야 할 것으로 생각된다. 그리고 충치 균주에서는 *Strep. sobrinus* 에서 10, 12, 14, 16, 20, 25 분, *Strep. mutans* 에서 25 분 동안 배전한 커피의 추출물에서 항균성을 보였다. 구취 균주는 *Porph. gingivalis* 에서 16, 20, 25 분, *Pre. intermedia* 에서 14, 20 분 동안 배전한 커피의 추출물에서 항균성을 나타냈다.

물 추출물은 7 종의 균주 중 *Sal. choleraesuis* 와 *Pre. intermedia* 2 종을 제외한 5 종의 균주에서 항균효과를 나타내었다

(Table 5). 먼저 식중독 균주를 보면, *E. coli* 에서 메탄올 추출물에서는 효과를 보이지 않았지만 물 추출물에서는 10, 12, 14 분에서 효과를 보였고, *S. aureus* 에서 14, 16 분 배전한 커피의 추출물에서 항균성을 나타냈다. 충치 균주에서는 *Strep. sobrinus* 와 *Strep. mutans* 모두 25 분 동안 배전한 커피의 추출물에서 항균성을 보였다. 구취 균주는 *Porph. gingivalis* 에서 8, 10, 12 분 동안 배전한 커피의 추출물에서 항균성을 나타냈다.

기존에 보고된 커피의 항균 성분을 확인해 보면, 먼저 카페인의 경우 사상균류 (filamentous fungi)에 대하여 항균작용을 보이며 곰팡이가 만들어내는 아플라톡신 (aflatoxin)의 생산을 억제한다는 보고가 있다 (27, 28). 또한 *E. coli* O157:H7 에 대하여 0.25~2.00 %의 카페인의 경우 항균작용을 보인다는 보고도 있다 (29). 그리고 카페산 (Caffeic acid)의 경우는 *Pseudomonas*, *E. coli*, *S. aureus* 그리고 *Bacillus cereus* 에 대하여 항균성을 보이며 (30-32) 카페산과 더불어 프로토퀸테귀익산 (Protocatechuic acid)은 *L. pneumophila* 에 대해 항균성을 나타내었다 (33). 그리고 페놀 화합물의 항균 효과는 보다 많은 연구가 되어 있는데 이것의 경우 세포막의 구조와 기능에 변화를 주어 항균작용을 일으킨다고 보고되어 있다 (34-36).

아직 정확하게는 밝혀져 있지 않지만 이렇게 커피에 함유되어 있는 다양한 성분들이 복잡하게 작용하여 커피의 향균 효과를 보인다고 판단된다. 그리고 이러한 커피의 추출물은 배전시간에 따라 다양한 성분의 변화를 가져오게 됨으로써 각기 다른 향균 효과를 보이게 되는 것으로 생각된다. 일반적으로 배전 공정에 따라 카페인의 경우는 그 성분의 변화가 크게 나지 않는 것으로 알려져 있으며 (37), 트리코넬린 (Trigonelline)의 경우는 화학적으로 급격히 분해가 되어 주요 휘발성 성분을 만든다고 알려져 있다 (38, 39). 그리고 클로르제닉산 (Chlorogenic acid)의 경우도 배전 공정 중 쉽게 분해가 되어 여러 페놀 화합물을 생성한다고 보고되어 있다. (40). 따라서 배전 시간에 따른 정확한 성분 분석과 동시에 커피의 향균 효과에 대한 연구가 추후 추가적으로 진행이 되어야 할 것으로 생각된다.

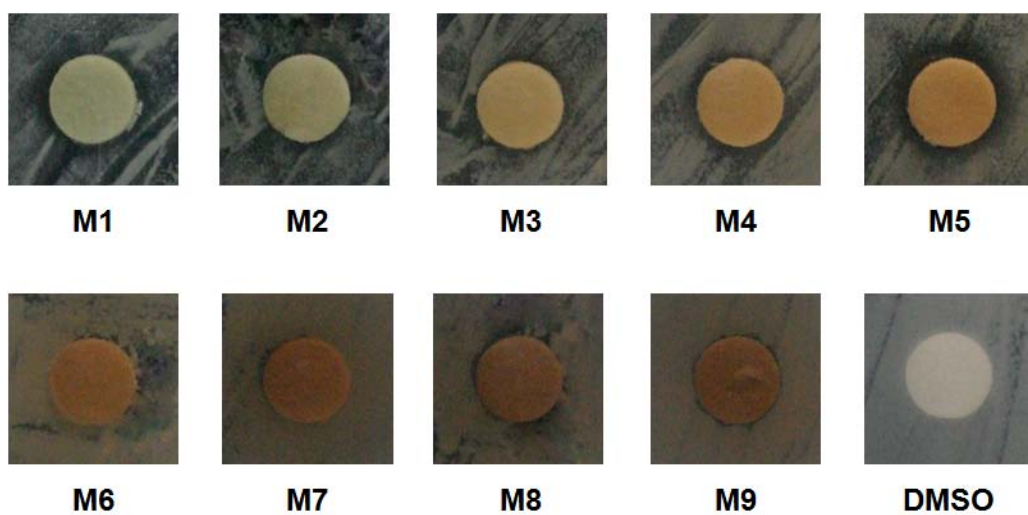


Figure 2. Antimicrobial activity of the methanol extract of *Coffee arabica* beans on *Salmonella choleraesuis* subsp. *Choleraesuis* ATCC 13076.

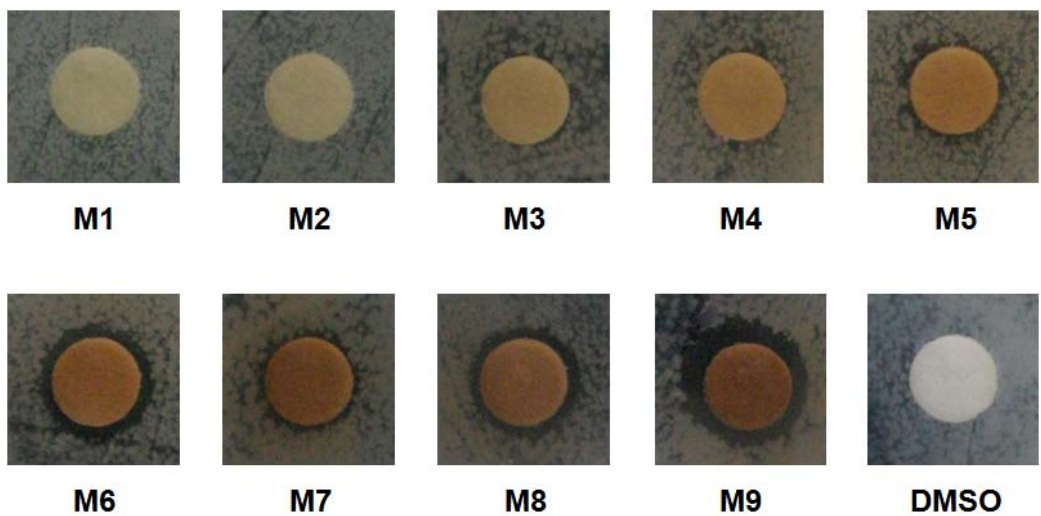


Figure 3. Antimicrobial activity of the methanol extract of *Coffea arabica* beans on *Staphylococcus aureus* subsp. *Aureus* ATCC 25923.

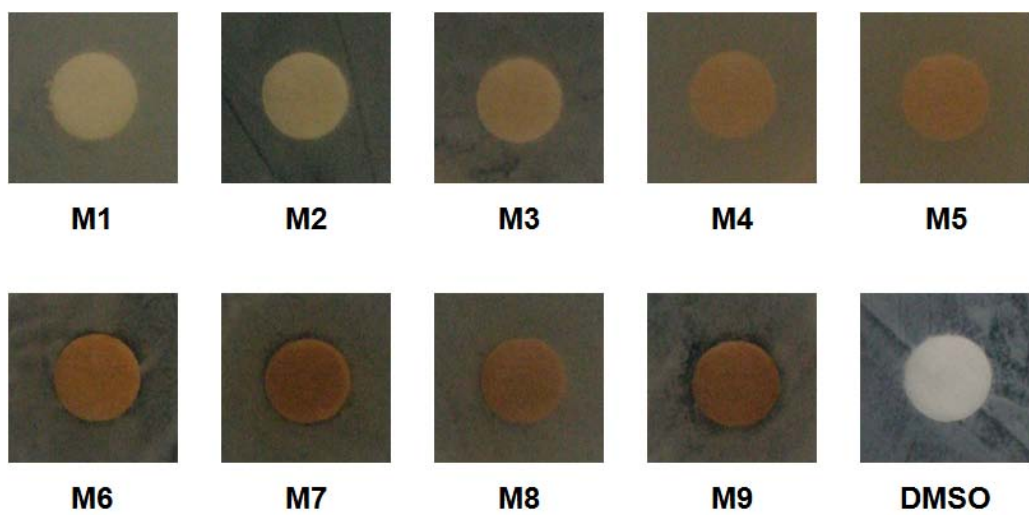


Figure 4. Antimicrobial activity of the methanol extract of *Coffea arabica* beans on *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

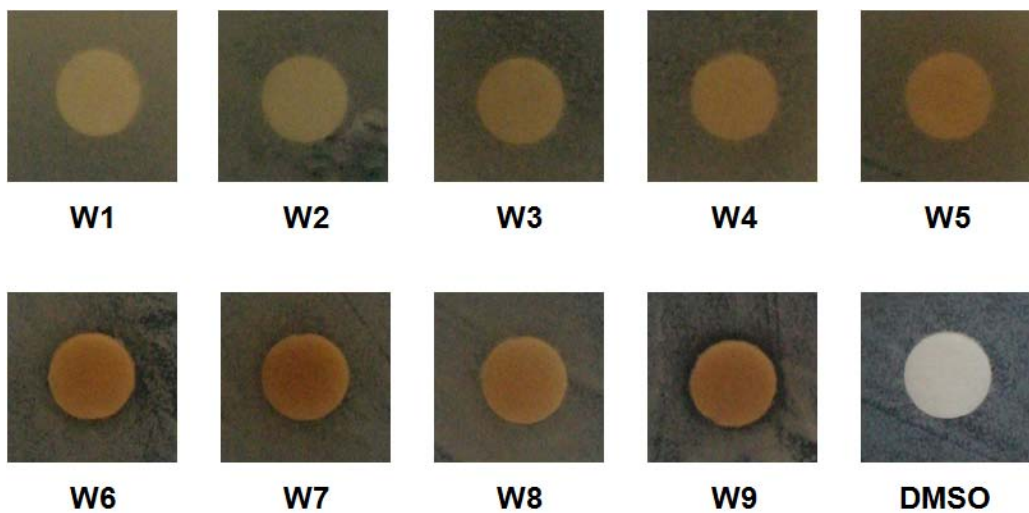


Figure 5. Antimicrobial activity of the water extract of *Coffea arabica* beans on *Streptococcus sobrinus* ATCC 27607.

3. 커피 추출물의 최소저해농도 (Minimum inhibitory concentration)

각 추출물에 대하여 broth microdilution method 를 시행하여 균의 최소저해농도를 측정한 결과는 Table 6, 7 과 같았다. 메탄올 추출물에서는 식중독 균주인 *Sal. Choleraesuis* 에서 0, 5, 8, 10, 12 분 동안 배전한 커피의 추출물 모두 1,000 $\mu\text{g/ml}$ 의 최소저해농도를 나타냈다. *S. aureus* 에서 12, 14, 16, 20, 25 분 배전한 커피의 추출물에서 16.125, 32.25, 250, 32.25, 1,000 $\mu\text{g/ml}$ 의 최소저해농도를 나타냈다. 충치 균주에서는 *S. aureus* 에서 10, 12, 14, 16, 20, 25 분 배전한 커피의 추출물에서 각각 1,000 $\mu\text{g/ml}$ 의 최소저해농도를, *Strep. mutans* 에서 25 분 동안 배전한 커피의 추출물에서 1,000 $\mu\text{g/ml}$ 의 최소저해농도를 보였다. 구취 균주는 *Porph. gingivalis* 에서 16, 20, 25 분, *Pre. intermedia* 에서 14, 20 분 동안 배전한 커피의 추출물에서 각각 1,000 $\mu\text{g/ml}$ 의 최소저해농도를 나타냈다. 특히 12 분 배전한 시료의 메탄올 추출물에서 *S. aureus* 에 대하여 16.125 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 MIC 값 중 가장 낮은 값을 나타내어 적은 양으로 항균 활성을 나타내고 있음을 알 수 있었다 (Table 6). 물 추출물에서는 식중독 균주인 *E. coli*

에서 10, 12, 14 분, *S. aureus* 에서 14, 16 분 동안 배전한 추출물에서 1,000 $\mu\text{g/ml}$ 의 최소저해농도를 나타내고 있음을 알 수 있었다. 충치 균주에서는 *Strep. sobrinus* 와 *Strep. mutans* 모두 25 분 동안 배전한 커피의 추출물에서 1,000 $\mu\text{g/ml}$ 의 최소저해농도를 보였다. 구취 균주는 *Porph. gingivalis* 에서 8, 10, 12 분 동안 배전한 커피의 추출물에서 1,000 $\mu\text{g/ml}$ 의 최소저해농도를 나타냈다. 기존연구에 의하면, 커피내의 single compound 중 methylglyoxal 과 diacetyl 은 *S. aureus* (ATCC 25923)에 대한 MIC 로 각각 $110.2 \pm 5.9 \mu\text{g/ml}$, $114.2 \pm 11.4 \mu\text{g/ml}$ 의 항균효과를 보였던 반면, 6 g 의 커피를 100ml 의 물에 10 분 동안 추출한 커피의 물 추출물에서는 24,900 $\mu\text{g/ml}$ 로 항균효과를 보이지 않았다 (21). 이 연구와 비교하여 본 실험 결과는 커피의 물 추출물에서 동일 균주에 대해 1,000 $\mu\text{g/ml}$ 의 MIC 를 보여 기존의 결과보다 높은 항균성을 갖는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 커피 시료와 용매와의 비율의 변화와 추출시간의 증가에 기인한 것으로 생각된다.

Table 6. Minimum inhibitory concentration of methanol extract from *Coffee arabica* beans against several microorganisms.

No. of samples	MIC ($\mu\text{g/ml}$)						
	<i>E. coli</i>	<i>Sal. choleraesuis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Strep. sobrinus</i>	<i>Strep. mutans</i>	<i>Porph. gingivalis</i>	<i>Pre. intermedia</i>
M1	- ¹⁾	1,000	-	-	-	-	-
M2	-	1,000	-	-	-	-	-
M3	-	1,000	-	-	-	-	-
M4	-	1,000	-	1,000	-	-	-
M5	-	1,000	16.125	1,000	-	-	-
M6	-	-	32.25	1,000	-	-	- 1,000
M7	-	-	250	1,000	-	1,000	-
M8	-	-	32.25	1,000	-	1,000	1,000
M9	-	-	1,000	1,000	1,000	1,000	-

¹⁾ - : No inhibition

Table 7. Minimum inhibitory concentration of water extract from *Coffee arabica* beans against several microorganisms.

No. of samples	MIC ($\mu\text{g/ml}$)						
	<i>E. coli</i>	<i>Sal. choleraesuis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Strep. sobrinus</i>	<i>Strep. mutans</i>	<i>Porph. gingivalis</i>	<i>Pre. intermedia</i>
W1	- ¹⁾	-	-	-	-	-	-
W2	-	-	-	-	-	-	-
W3	-	-	-	-	-	1,000	-
W4	1,000	-	-	-	-	1,000	-
W5	1,000	-	-	-	-	1,000	-
W6	1,000	-	1,000	-	-	-	-
W7	-	-	1,000	-	-	-	-
W8	-	-	-	-	-	-	-
W9	-	-	-	1,000	1,000	-	-

¹⁾ - : No inhibition

4. DPPH 자유기 소거 효과

자유기 소거 효과의 측정에 사용된 DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)는 안정한 자유 라디칼로서 그것의 비공유전자로 인해 517 nm 부근에서 최대 흡광도를 나타내며 전자 또는 수소를 받으면 517 nm 부근에서 흡광도가 감소하며 각 추출물에서 이러한 라디칼을 환원시키거나 상쇄시키는 능력이 크면 높은 항산화 활성 및 활성 산소를 비롯한 다른 라디칼에 대한 소거 활성을 기대할 수 있으며 인체 내에서 활성 라디칼에 의한 노화를 억제하는 척도로도 이용할 수 있다 (40).

배전시간을 달리한 커피의 추출물에 대한 자유기 소거 효과를 본 결과는 Table 8 과 같다. 먼저 메탄올 추출물을 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 자유기 소거 효과를 확인해본 결과 67.08~92.25%로 AA 와 BHT 의 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 처리했을 때의 결과와 유사하게 비교적 높은 자유기 소거 효과를 보였다.

물 추출물을 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 자유기 소거 효과를 확인해본 결과 66.43~93.27%로 AA 와 BHT 의 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 처리했을 때의 결과와 유사하게 높은 자유기 소거 효과를 보였다. Table 8 에서 보여주는 것과 같이 배전시간에 따라 자유기

소거효과가 변화하였으며, 다소 증가하다가 감소하는 경향을 보였다. 특히 배전시간이 0, 5, 8, 10 분인 커피 추출물에서 유의적 차이가 없이 가장 높은 항산화성을 나타내었고, 배전시간 20 분에서 자유기 소거 효과가 크게 감소하였다. 이것은 이전 논문에서 배전 시간에 따라 갈색도와 항산화성이 비례관계를 보이다가 배전 시간 14 분을 기점으로 오히려 항산화성이 다소 감소한다는 보고와 유사한 결과라 하겠다 (41).

그리고 메탄올과 물의 추출물을 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 처리한 자유기 소거 효과와 AA 와 BHT 의 동일농도로 처리한 결과를 비교해 보았을 때 AA $80.44 \pm 0.65\%$ 와 BHT $34.96 \pm 2.88\%$ 의 자유기 소거 효과에 비해서 메탄올 추출물에서 $-1.39 \pm 11.36\% \sim 16.83 \pm 3.94\%$, 물 추출물에서 $-0.07 \pm 2.67\% \sim 13.49 \pm 4.11\%$ 로 항산화 효과가 낮게 측정되었다. 따라서 이러한 결과들을 종합해 보았을 때, 커피의 자유기 소거 효과는 AA 와 BHT 의 항산화 능력에 비해서는 다소 약하지만 일정 농도 이상일 경우에는 상당한 항산화 효과를 갖는 것으로 생각된다.

추출물의 수율 결과와 연관지어 생각해 보면, 물 추출물에서는 배전시간이 길어질수록 그 수율이 증가하였으나, 항산화능은 배전시간에 따라 다소 감소하는 경향을 보였다. 이러한 결과는 배전 시간에 따라 커피의 성분 중 항산화성을 보이던 비수용성 물질이

수용성 물질로 분해가 되는 것으로 생각된다. 일반적인 페놀 화합물 성분들이 항산화 작용을 보이며, 또한 커피의 함유물인 카페인도 항산화 작용에 직·간접적으로 영향을 미치는 것으로 생각된다는 보고도 있다 (42). 그리고 항산화 효과를 보이는 커피 성분중 클로르제닉산의 경우 배전 공정에 따라 분해가 된다는 것으로 감안할 때 항산화성이 다소 감소하는 결과를 생각해 볼 수 있다.

Table 8. DPPH radical scavenging effect of coffee. Samples on the horizontal axis are same with samples in Table 2. A : Ascorbic acid (AA), B : Butylated Hydroxytoluene (BHT).

No. of samples	DPPH radical scavenging effect (%) (Mean±SD)			
	0.1 μ g/ml	1 μ g/ml	10 μ g/ml	100 μ g/ml
M1	7.81 ± 1.78 ^A	4.80 ± 1.36 ^A	16.83 ± 3.49 ^A	86.74 ± 0.95 ^{AB}
M2	1.54 ± 2.28 ^B	3.00 ± 1.97 ^{AB}	8.29 ± 0.53 ^B	79.07 ± 0.66 ^{CD}
M3	2.91 ± 3.47 ^{AB}	1.65 ± 0.27 ^{AB}	16.61 ± 1.25 ^A	91.09 ± 2.30 ^A
M4	3.53 ± 1.78 ^{AB}	4.95 ± 1.67 ^A	17.93 ± 3.12 ^A	92.25 ± 1.03 ^A
M5	-7.95 ± 4.16 ^D	-6.72 ± 3.20 ^C	-1.39 ± 11.36 ^C	85.52 ± 0.45 ^B
M6	0.22 ± 2.90 ^{BC}	2.42 ± 2.12 ^{AB}	11.33 ± 0.20 ^{AB}	84.09 ± 2.40 ^{BC}
M7	1.32 ± 4.86 ^B	0.48 ± 0.50 ^A	11.09 ± 1.95 ^{AB}	83.96 ± 1.44 ^{BC}
M8	4.04 ± 2.97 ^{AB}	3.58 ± 2.10 ^{AB}	7.34 ± 0.47 ^B	67.08 ± 2.76 ^B
M9	-5.18 ± 3.60 ^{CD}	-3.67 ± 1.69 ^C	6.56 ± 1.21 ^B	74.02 ± 7.89 ^D
F-value	6.59 ^{***}	13.14 ^{***}	6.51 ^{***}	20.59 ^{***}
W1	-6.83 ± 0.26 ^A	-5.21 ± 2.07 ^A	6.10 ± 2.16 ^{BC}	93.27 ± 0.47 ^A
W2	-5.86 ± 3.57 ^A	-7.25 ± 0.39 ^{ABC}	13.49 ± 4.11 ^A	93.26 ± 0.21 ^A
W3	-10.54 ± 2.57 ^A	-5.77 ± 2.85 ^{AB}	9.02 ± 0.51 ^{BA}	92.69 ± 0.32 ^{BA}
W4	-7.30 ± 3.01 ^A	-9.86 ± 0.76 ^{CD}	8.34 ± 2.94 ^B	91.97 ± 0.30 ^{BAC}
W5	-9.33 ± 1.49 ^A	-7.40 ± 2.19 ^{ABC}	9.20 ± 2.28 ^{BA}	91.73 ± 0.40 ^{BC}
W6	-12.83 ± 5.16 ^A	-11.37 ± 2.03 ^D	6.29 ± 4.76 ^{BC}	90.72 ± 0.26 ^C
W7	-9.76 ± 3.20 ^A	-7.43 ± 2.55 ^{ABC}	2.20 ± 1.06 ^{DC}	88.23 ± 0.88 ^D
W8	-7.22 ± 5.54 ^A	-9.61 ± 0.63 ^{CD}	-0.07 ± 2.67 ^D	69.25 ± 2.05 ^B
W9	-8.93 ± 3.25 ^A	-9.30 ± 1.60 ^{BCD}	-1.18 ± 0.22 ^D	66.43 ± 0.37 ^F
F-value	1.07	3.53 ^{**}	9.31 ^{***}	528.41 ^{***}

A,B,C means in a row followed by different superscripts are significantly different ($p < 0.05$) by Duncan's multiple range test. * $p < 0.05$ ** $p < 0.01$ *** $p < 0.001$

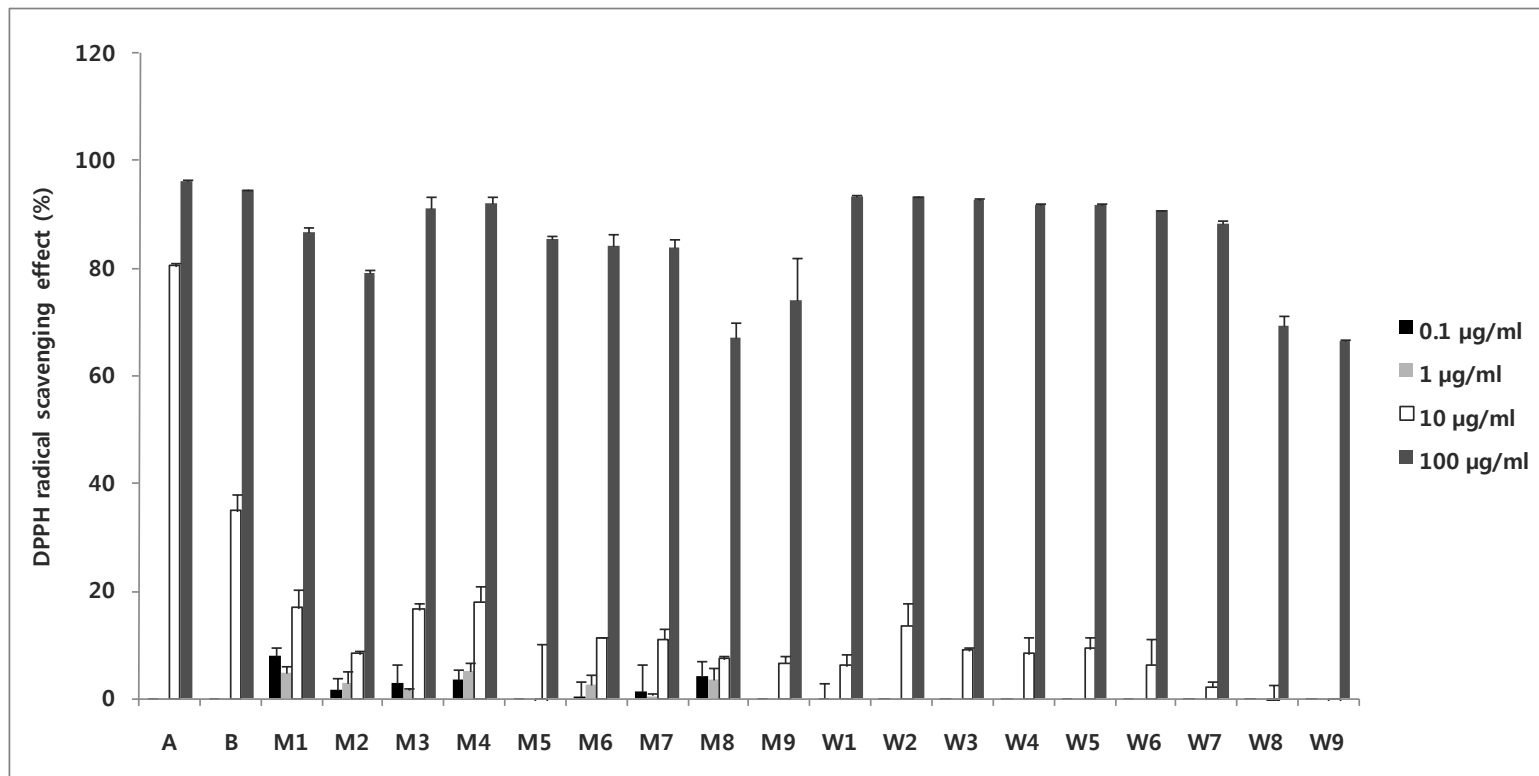


Figure 6. DPPH radical scavenging effect of coffee. Samples on the horizontal axis are same with samples in Table 2. A : Ascorbic acid (AA), B : Butylated Hydroxytoluene (BHT).

5. 총 페놀화합물 함량

앞서 DPPH 자유기 소거 효과측정에서 커피가 상당한 항산화 능력을 가진 것으로 측정이 되었는데, 일반적으로 식품의 항산화 능력은 그 식품이 함유하고 있는 총 페놀성 물질 (Phenolic compound)의 양과 연관되어있다. 따라서 자유기 소거 효과 측정에 사용된 커피 추출물의 총 페놀화합물 함량을 Folin-Denis method를 이용하여 측정하였다. 그 결과는 Figure 7 과 같다. 먼저 메탄올 추출물에서는 87.6~126.5 mg/g 의 함량을 보였고, 물 추출물에서는 95.0~199.1 mg/g 의 함량을 보였다. 배전시간대별 메탄올 추출물과 물 추출물의 페놀화합물의 함량을 비교하였을 때, 대체로 물에서 총 페놀화합물 함량이 높은 경향을 보였다. 또한 물 추출물의 결과를 보면 앞에서 보여준 자유기 소거 효과 결과와 유사하게 배전시간이 경과함에 따라 총 페놀화합물 함량이 다소 감소하는 경향을 보였다. 메탄올과 물 추출물에서 총 페놀화합물 함량에 따른 자유기 소거효과는 Figure 8 에서 보여주는 바와 같이 상관관계를 보였으며 메탄올 추출물에서는 상관관계수 (correlation coefficient; r^2)가 0.8022 였으며, 물 추출물에서는 0.7853 을 나타내었다. 이 결과는 총 페놀화합물의 함량과 항산화력과 연관이 있다는 보고와

일맥상통한다고 볼 수 있다 (43). 따라서 커피 추출물의 총 페놀화합물 함량의 변화는 자유기 소거 효과에 영향을 미칠 것으로 생각된다.

Table 9. Determination of amount of phenol compound in coffee extract by Folin–Denis method. Samples on the horizontal axis are same with samples in Table 2.

No. of samples	Amount of phenol compound (mg/g) (Mean±SD)		
M1	126.50	±	9.54 ^A
M2	94.72	±	5.66 ^D
M3	119.79	±	1.00 ^{AB}
M4	119.40	±	10.91 ^{AB}
M5	115.72	±	1.92 ^{AB}
M6	117.55	±	5.27 ^{AB}
M7	109.49	±	4.71 ^{BC}
M8	87.64	±	4.26 ^D
M9	98.57	±	7.12 ^{CD}
F-value	13.03 ^{***}		
W1	167.18	±	2.61 ^{CB}
W2	166.48	±	3.68 ^{BC}
W3	199.13	±	5.59 ^D
W4	194.00	±	8.38 ^A
W5	177.93	±	5.62 ^B
W6	158.58	±	13.25 ^C
W7	127.20	±	14.41 ^D
W8	99.95	±	8.31 ^E
W9	94.98	±	6.93 ^E
F-value	60.32 ^{***}		

^{A,B,C} means in a row followed by different superscripts are significantly different (p<0.05) by Duncan's multiple range test. *p<0.05 **p<0.01 ***p<0.001

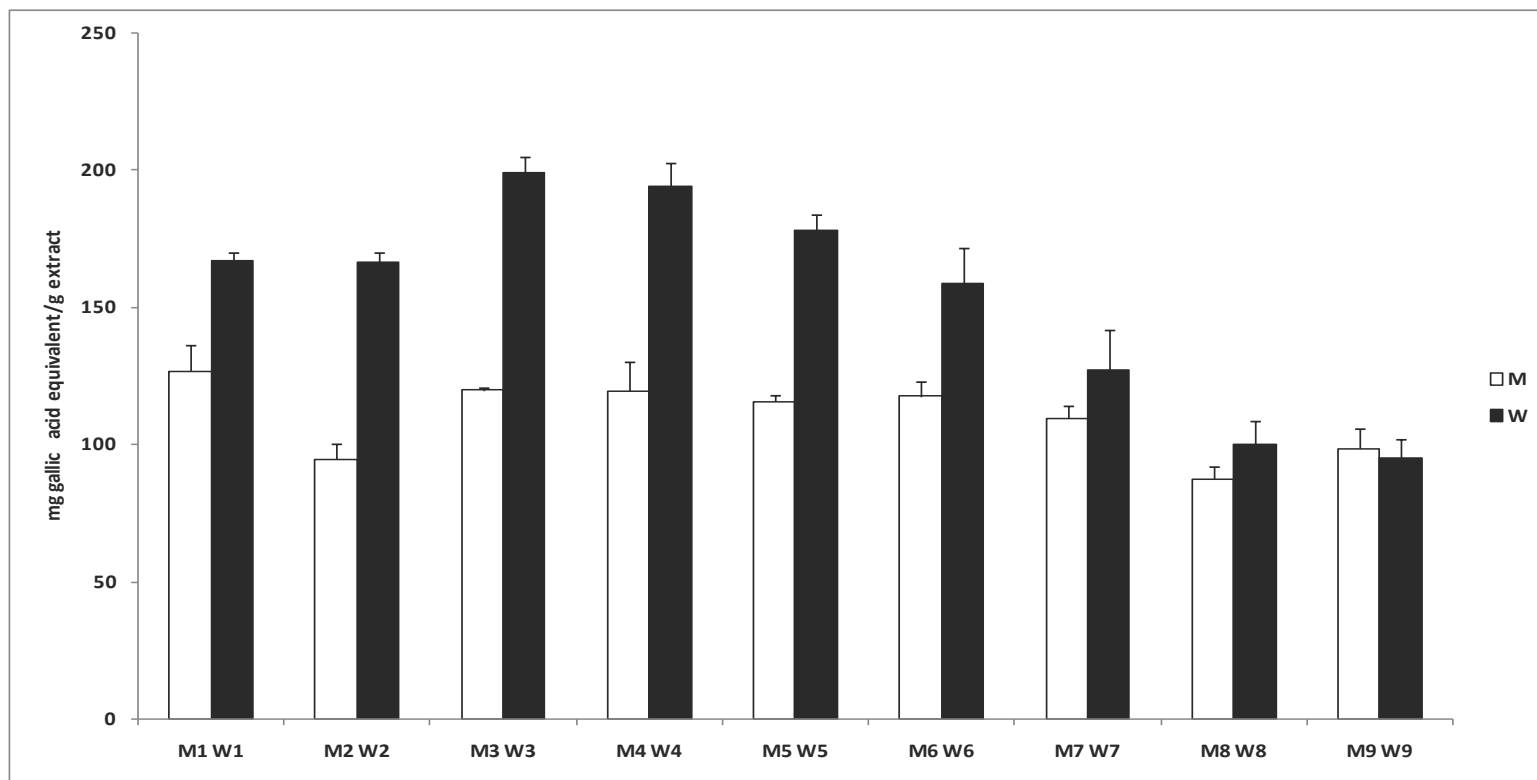


Figure 7. Determination of amount of phenol compound in coffee extract by Folin–Denis method. Samples on the horizontal axis are with samples in Table 2. M: methanol, W: water.

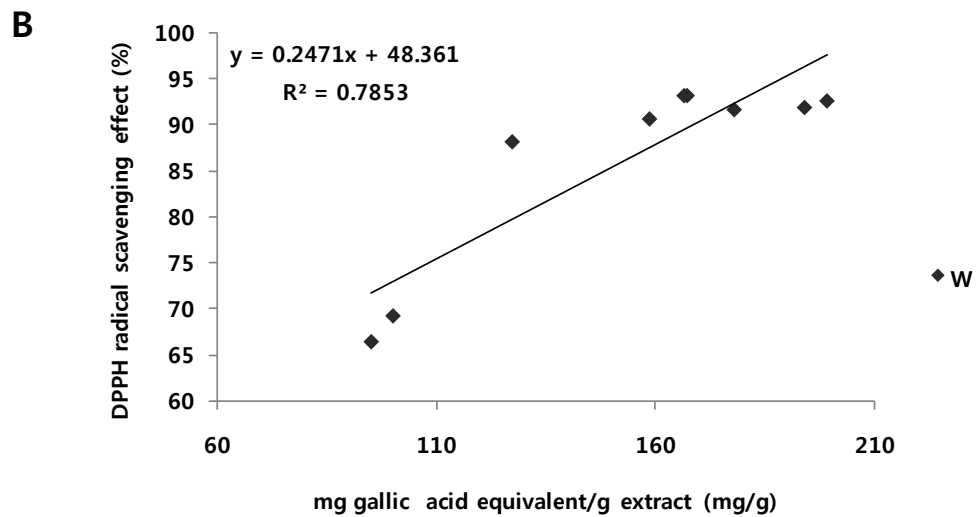
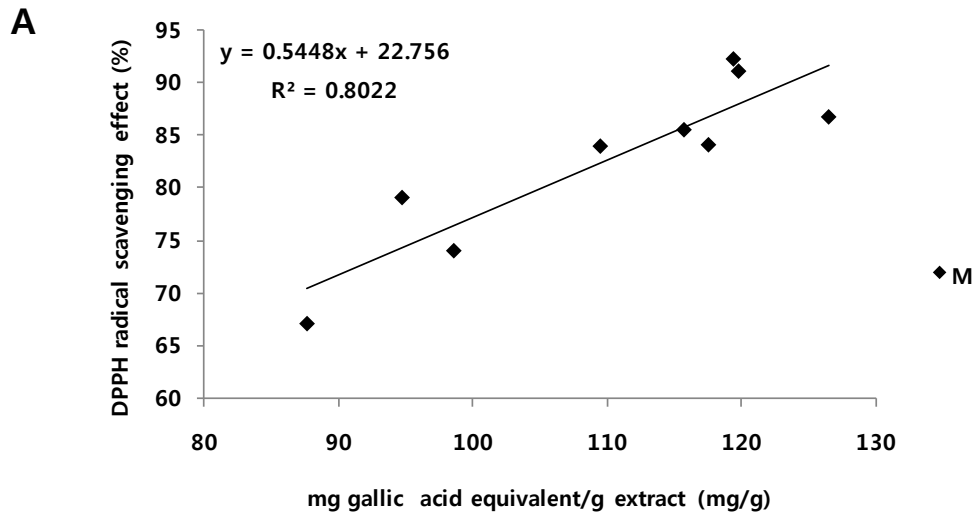


Figure 8. Relationship between phenolic compound content and DPPH radical scavenging effect of coffee.

V. 결 론

본 연구에서는 배전시간을 달리한 커피 추출물에서의 항균효과와 항산화성을 알아보려고 하였다. 커피를 메탄올과 물로 추출하여 각 추출물의 항균효과를 측정하기 위하여 유해 균주로 식중독균인 *Escherichia coli* (*E. coli*, ATCC 25922), *Salmonella choleraesuis subsp. Choleraesuis* (*Sal. choleraesuis*, ATCC 13076), *Staphylococcus aureus subsp. Aureus* (*S. aureus*, ATCC 25923)와 충치균 *Streptococcus sobrinus* (*Strep. sobrinus*, ATCC 27607), *Streptococcus mutans* (*Strep. mutans*, ATCC 25175) 구취균 *Porphyromonas gingivalis* (*Porph. gingivalis*, ATCC 33277), *Prevotella intermedia* (*Pre. intermedia*, ATCC 25611)에 대하여 항균활성을 paper disc method 로 살펴보았으며, 각 추출물의 최소저해농도 (Minimum inhibitory concentration)를 구하였다. 또한 항산화력을 측정하기 위하여 DPPH 자유기 소거 효능 및 총 페놀화합물 함량을 확인하였다.

1. 각 시료의 메탄올 추출물의 수율은 20 분 동안 배전한 시료의 추출물이 24.00%로 가장 높은 수율을 나타내었고, 12 분 동안 배전한 시료의 추출물은 20.02%로 가장 낮은 수율을 나타내었다. 물 추출물에서는 25 분 동안 배전한

시료의 추출물이 18.58%로 가장 높은 수율을 나타내었고, 5 분 동안 배전한 시료의 추출물이 2.70%로 가장 낮은 수율을 나타내었다.

2. Paper disc method 를 사용한 커피 추출물의 항균효과는 메탄올 추출물은 7 종의 균주 중 6 종의 균주에서 항균효과를 나타내었으며, 특히 *S. aureus* 에서 12, 14, 16, 20, 25 분 배전한 시료에서 항균성을 나타내었다. 물 추출물은 7 종의 균주 중 5 종의 균주에서 항균효과를 나타내었으나 대부분의 clear zone 이 6~8 mm 정도로 약한 항균효과를 나타내었다. 한편, 메탄올 추출물에서 *E. coli*, 물 추출물에서는 *Sal. choleraesuis* 와 *Pre. intermedia* 의 균주에 대해서 항균 효과를 나타내지 않았다.

3. 각 추출물에 대하여 broth microdilution method 를 시행하여 유해균에 대한 최소저해농도를 측정한 결과, 메탄올 추출물에서 12 분 배전한 시료의 추출물에서 *S. aureus* 에 대하여 16.125 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 MIC 를 나타내었다. 물 추출물에서는 5 종의 균주에서 항균성을 나타낸 시료의 모든 추출물에서 1,000 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 항균 활성을 나타내었다.

4. DPPH 를 이용한 커피의 추출물에 대한 자유기 소거 효과를 본 결과는 메탄올 추출물에서 100 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도일 때 67.08~92.25%, 물 추출물에서 100 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도일 때 66.43~93.27%로 ascorbic acid (AA)와 butylated

hydroxytoluene (BHT)의 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 처리했을 때의 결과와 유사하게 비교적 높은 자유기 소거 효과를 보였다. 특히 배전시간이 0, 5, 8, 10 분인 커피 추출물에서 유의적 차이가 없이 가장 높은 항산화성을 나타내었고, 배전시간 20 분에서 자유기 소거 효과가 크게 감소하였다.

5. 총 페놀화합물 함량을 Folin-Denis method 를 이용하여 측정하였다. 메탄올 추출물에서는 87.64~126.50 mg/g 으로 배전시간이 0 분일 때 가장 높은 함량을 보였고, 물 추출물에서는 94.98~199.13 mg/g 으로 배전시간이 8 분일 때 가장 높은 함량을 보였다. 메탄올 추출물과 물 추출물의 페놀화합물의 함량을 비교하였을 때, 대체로 물 추출물에서 총 페놀화합물 함량이 높은 경향을 보였다.

배전시간에 따라 커피에 함유된 성분의 조성이 변한다고 알려져 있고, 이에 따라 메탄올과 물에 추출되는 특정 성분 및 그 양이 변하였다. 이렇게 성분이 다른 추출물을 통하여 항균효과와 항산화성 을 측정하였을 때 각각 다른 효과를 보였고, 따라서 커피 가공 공정 중 하나인 배전시간의 조절로 커피의 항균효과와 항산화성을 변화시킬 수 있다는 가능성을 제시하였다. 이 논문의 결과를 바탕으로 추후에 배전시간에 따른 구체적인 성분의 변화에 대한 연구와 항균효과 및 항산화성을 포함한 특정 생리활성기능을 연관 지어

연구를 진행한다면 기존의 기호 음료로서의 커피에서 특정 생리활성성분이 강화된 기능성 음료로서의 커피로 발전할 수 있을 것으로 기대된다.

References

1. Seo HS, Kang HJ, Jung EH, Hwang IK. Application of GC-SAW(Surface Acoustic Wave) Electronic Nose Classification of Origins and Blended Commercial Brands in Roasted Ground Coffee Beans. KOREAN J. FOOD COOCKERY SCI. 22(3):299-306 (2006)
2. Smith AW. Coffee. vol.1. Elsevier Applied Science Publisher: 1 (1985)
3. Belachew M. Coffee. Weissbaden: Horowitz: 763 (2003)
4. Schilter B, Cavin C, Tritscher A, constable A. Coffee Recent Developments. Blackwell Science KK: 165-166 (2001)
5. Moon JW. Changes in Flavor Characteristics and Shelf - life of Roasted Coffee in Different Packaging Conditions during Storage. KOREAN J. FOOD SCI. TECHNOL. 31(2): 441-447 (1999)
6. Sivetz M. Coffee Processing Technology. AVI Publishing Co. (1963)

7. Clarke R, Macrae K. Coffee Chemistry. Elsevier Applied Science Publishers, Ltd. UK. (1987)
8. Sivetz M, Yamaha H. Status of international coffee market. Food Industry 4(15): 270 (1995)
9. Reineccius G. The maillard reation and coffee flavor. ASIC (16): 249–257 (1995)
10. Karakaya S, El SN, Tas AA. Antioxidant activity of some foods containing phenolic compounds. Int J Food Sci Nutr 52: 501–508 (2001)
11. Namba T, Matsuse T. A historical study of coffee in Japanese and Asian countries: focusing the medicinal uses in Asian traditional medicines. Yakushigaku Zasshi 37: 65–75 (2002)
12. Yukawa GS, Mune M, Otani H, Tone Y, Liang XM, Iwahashi H, Sakamoto W. Effects of coffee consumption on oxidative susceptibility of low-density lipoproteins and serum lipid levels in humans. Biochemistry 69: 70–74 (2004)
13. Morton C, Klatsky AL, Udaltsova N. Smoking, coffee, and pancreatitis. Am J Gastroenterol 99: 731–738 (2004)
14. Nakanishi N, Nakamura K, Nakajima K, Suzuki K, Tatara K. Coffee consumption and decreased serum gamma-

- glutamyltransferase: a study of middle-aged Japanese men. *Eur J Epidemiol* 16: 419–423 (2000)
15. Schwartz J, Weiss ST. Caffeine intake and asthma symptoms. *Ann Epidemiol* 2: 627–635 (1992)
16. Salazar-Martinez E, Willett WC, Ascherio A, Manson JE, Leitzmann MF, Stampfer MJ, Hu FB. Coffee consumption and risk for type 2 diabetes mellitus. *Ann Intern Med* 140: 1–8 (2004)
17. Abbott RD, Webster Ross G, White LR, Sanderson WT, Burchfiel CM, Kashon M, Sharp DS, Masaki KH, Curb JD, Petrovitch H. Environmental, life-style, and physical precursors of clinical Parkinson's disease: recent findings from the Honolulu-Asia Aging Study. *J Neurol* 250(3): III30–III39 (2003)
18. Sabate. Caffeine, postmenopausal estrogen, and risk of Parkinson's disease. *J. Neurology* 60(5): 790–795 (2003)
19. Lindsay J, Laurin D, Verreault R, Hebert R, Helliwell B, Hill GB, McDowell I. Risk factors for Alzheimer's disease: a prospective analysis from the Canadian Study of Health and Aging. *Am J Epidemiol* 156: 445–453 (2002)

20. Heuser I. Prevention of dementias: state of the art. *Dtsch Med Wochenschr* 128: 421–422 (2003)
21. Daglia M, Papetti A, Gregotti C, Bert F, and Gazzani G. In Vitro Antioxidant and ex Vivo Protective Activities of Green and Roasted Coffee. *J. Agric. Food Chem.* 48(5): 1449–1454 (2000)
22. Daglia M, Papetti A, Grisoli P, Aceti C, Spini V, Dacarro C, Gazzani G. Isolation, Identification, and Quantification of Roasted Coffee Antibacterial Compounds. *J. Agric. Food Chem.* 55(25): 10208–10213 (2007)
23. Chu YH, Chang CL, Hsu HF. Flavonoid content of several vegetables and their antioxidant activity. *J Sci Food Agric.* 80: 561–566 (2000)
24. Conner DE, Beuchat LR. Effect of essential oil from plants on growth of spoilage yeast. *J. Food Sci.* 49: 429 (1984)
25. Crozier A, Lean ME, McDonald MS, Black C. Quantitative analysis of the flavonoid content of commercial tomatoes, onions, lettuce and celery. *J Agric Food Chem* 45: 590–595 (1997)

26. A.O.A.C.: Official Methods of Analysis, 13th ed., Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C. (1980)
27. Buchanan RL, Fletcher AM. Methylxanthine inhibition of aflatoxin production. *J. Food Sci.* 43: 654–655 (1978)
28. Nartowicz VB, Buchanan RL, Segall S. Aflatoxin production in regular and decaffeinated coffee beans. *J. Food Sci.* 44: 446–448 (1979)
29. Ibrahim SA, Salameh MM, Phetsomphou S, Yang H, Seo CW. Application of caffeine, 1,3,7-trimethylxanthine to control *Escherichia coli* O157:H7. *Food Chem.* 99: 645–650 (2006)
30. Garrote G, Cruz JM, Moure A, Dominguez H, Parajo JC. Antioxidant activity of byproducts from the hydrolytic processing of selected lignocellulosic materials. *Trends Food Sci. Technol.* 15: 191–200 (2004)
31. Baranowski JD, Nagel CW. Inhibition of *Pseudomonas fluorescens* by hydroxycinnamic acids and their alkyl esters. *J. Food Sci.* 47: 1587–1589 (1982)
32. Herald, P. J., Davidson, P. M. Antibacterial activity of selected hydroxycinnamic acids. *J. Food Sci.* 48: 1378–1379 (1983)

33. Dogazaki C, Shindo T, Furuhashi K, Furuyama M. Identification of chemical antibacterial components against *Legionella pneumophila* in a coffee beverage. *J. Pharm. Soc. Jpn.* 122(7): 487–494 (2002)
34. Sikkema J, De Bont JAM, Poolman B. Mechanism of membrane toxicity of hydrocarbons. *Microbiol. Rev.* 59: 201–222 (1995)
35. Walsh SE, Maillard JY, Russel AD, Catrenich CE, Charbonneau DL, Bartolo RG. Activity and mechanisms of action of selected biocidal agents on Gram-positive and-negative bacteria. *J. Appl. Microbiol.* 94: 240–247 (2003)
36. Burt S. Essential oils. Their antibacterial properties and potential applications in foods: A review. *Int. J. Food Microbiol.* 94: 223–253 (2004)
37. Macrae R. Nitrogenous compounds: 115–152. In: *Coffee Chemistry*. Clarke R, Macrae R (eds). Elsevier Applied Science Publishers. Barking, UK (1985)
38. Viani R, Horman I. Thermal behavior of trigonelline. *J. Food Sci.* 29: 1216–1217 (1974)

39. Viani R, Horman I. Thermal behavior of trigonelline in coffee. Proc. Coll. ASIC. Montepellier, France: 275–278 (1975)
40. Shin YS, Lee JE, Yeon IK, Do HW, Cheung JD, Kang CK, Choi SY, Youn SJ, Cho JG, Kwoen DJ. Antioxidant and Antimicrobial Effects of Extract with Water and Ethanol of Oriental Melon (*Cucumis melo* L. var *makuwa* Makino). J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem. 51(3). 194–199. (2008).
41. Kim KJ, Park SK. Changes in Major Chemical Constituents of Green Coffee Beans during the Roasting. Korea J. FOOD SCI. TECHNOL. 38(2):153–158 (2006)
42. Rhi JW, Shin HS. Antioxidative Effect of Brown Materials Extracted from Roasted Coffee Beans. KOREA J. FOOD SCI. TECHNOL. 28(1): 109–116 (1996)
43. Rhi JW, Shin HS. Physicochemical Properties of Antioxidant Fractions Extracted from Freeze – Dried Coffee by Various Solvents. KOREA J. FOOD SCI. TECHNOL. 25(3): 220–224 (1993)

Abstract

Study on the antibiotic and antioxidative effects of the coffee by different roasting time.

Kim, Ji Young

Department of Food and Nutrition

Graduate school

Sungshin Women's University

This study aimed to know about the antibiotic and antioxidative effects of the coffee extracts by different roasting time. To measure the antibiotic effect of each coffee extracted by methanol and water, the harmful bacteria were used including food poisoning pathogens such as *Escherichia coli* (*E. coli*, ATCC25922), *Salmonella choleraesuis subsp. Choleraesuis* (*Sal. choleraesuis*, ATCC13076), and *Staphylococcus aureus subsp. Aureus* (*S. aureus*, ATCC 25923), dental caries pathogens such as *Streptococcus sobrinus* (*Strep. sobrinus*, ATCC27607) and

Streptococcus mutans (*Strep. mutans*, ATCC25175), and halitosis pathogens such as *Porphyromonas gingivalis* (*Porph. gingivalis*, ATCC33277) and *Prevotella intermedia* (*Pre. intermedia*, ATCC25611) for antibiotic activities by paper disc method, and also the minimum inhibitory concentration (MIC) of each extract was calculated. In addition, the efficacy of DPPH free radical elimination and contents of phenol compounds were confirmed to measure the antioxidative effects of each coffee extract.

1. The extracts yield was found as different with different roasting time of coffee. The maximum yield of methanol extract was found as 24.00% at 20 min roasting time where as minimum yield was found as 20.02% at 12 min roasting time. Likewise, the maximum yield of water extract was found as 18.58% at 25 min roasting time where as minimum yield was 2.70% at 5 min roasting time

2. Antibiotic effects of each extract were determined by paper disc method. Methanol extract of different coffee sample showed

antibiotic effect against various strains except *E. coli*. Methanol extract with 12, 14, 16, 20, and 25 minute roasting time showed the most potent activity in *S. aureus*. Likewise, except *Sal. choleraesuis* and *Pre. intermedia* strain, water extracts showed the antibiotic effects against various strains, however, their antibiotic effects were weak demonstrating only 6–8 mm of clear zones.

3. Upon measuring MICs for the harmful pathogens using broth microdilution method to each extract, the methanol extracts of 12 minute roasting time showed MIC 16.125 $\mu\text{g/ml}$ against *S. aureus*. Water extract samples had showed the antibiotic effects against 5 types of pathogens at a concentration of 1,000 $\mu\text{g/ml}$.

4. The results of free radical elimination for the different coffee extracts using DPPH were compared with positive controls: ascorbic acid (AA) and butylated hydroxytoluene (BHT). Methanol extracts and water extracts of different coffee samples at 100 $\mu\text{g/ml}$ of concentration showed 67.1 ~ 92.3% and

66.4 ~ 93.3 radical scavenging activity respectively. However, as the roasting time lasted longer, it showed the trend to somewhat lower the elimination effect of free radical in both methanol and water extracts, especially in case of roasting for more than 20 minutes.

5. The total phenol contents in different coffee samples were measured by Folin–Denis method. It showed the highest level of phenol contents at non roasted coffee whereas content of phenol was different with different roasting time ranging from 87.6 ~ 126.5 mg/g in methanol extracts. In water extract, the content of phenol was maximum at 8 minutes roasting time whereas in other sample content was varied with 95.0 ~ 199.1 mg/g in water extracts. Comparing with the methanol and water extracts, the contents of phenol compounds was higher in water extract of different coffee samples.

It is known to be changed the contents of coffee by the roasting time, and specific contents and their quantities extracted from methanol and water varied accordingly. When we

measured the antibiotic and antioxidative effects through these different components of extracts, it showed different effects; therefore, it provided the possibility to change the antibiotic and antioxidative effects of the coffee controlling roasting time which is one of the coffee processing procedures. Based on the results of this paper, it is expected to develop the coffee as the functional beverage which specific physiological active compounds are strengthened from the coffee, a routine beverage if further studies on the compound changes by the roasting time and on the specific physiological active compounds including antibiotic effects and antioxidative are conducted.