

## Antioxidant activity and comparative analysis of major functional compounds in liqueur using coffee and coffee-ground

Jeong Eun Kang<sup>1</sup>, Seon Kyeong Park<sup>1</sup>, Tian Jiao Guo<sup>1</sup>, Jin Yong Kang<sup>1</sup>,  
Du Sang Lee<sup>1</sup>, Jong Min Kim<sup>1</sup>, O-Jun Kwon<sup>2</sup>, Uk Lee<sup>3</sup>, Ho Jin Heo<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Division of Applied Life Science (BK21 plus), Institute of Agriculture and Life Science, Gyeongsang National University, Jinju 52828, Korea

<sup>2</sup>Daegyeong Institute for Regional Program Evaluation, Regional Industry Evaluation Agency for Gyeongbuk, Gyeongsan 38542, Korea

<sup>3</sup>Division of Special Purpose Trees, National Institute of Forest Science, Suwon 16631, Korea

## 커피와 커피박 침출주의 항산화 활성 및 주요 생리활성 물질의 비교 분석

강정은<sup>1</sup> · 박선경<sup>1</sup> · 귀텐자오<sup>1</sup> · 강진용<sup>1</sup> · 이두상<sup>1</sup> · 김종민<sup>1</sup> · 권오준<sup>2</sup> · 이육<sup>3</sup> · 허호진<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>경상대학교 응용생명과학부(BK21 plus), 농업생명과학연구원,  
<sup>2</sup>경북지역산업평가단, <sup>3</sup>국립산림과학원 특용자원연구과

### Abstract

Sensory evaluation, *in vitro* antioxidant activities and main compounds of coffee water-extract, coffee liqueur (CL) and coffee-ground liqueur (CGL) were investigated to consider their industrialization. Sensory evaluation showed that all groups of CGL without 25% CGL (3 month) were relatively higher than CL groups. Total phenolic compounds and *in vitro* antioxidant activities such as 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) radical scavenging activity and ferric reducing/antioxidant power (FRAP) were also performed. The group of 35% CGL had higher total phenolic compounds than others, and the result of DPPH radical scavenging activity was similar to that of total phenolic compounds. In addition, 35% CGL is comparable to the FRAP of coffee water extract (CE). Qualitative and quantitative analysis using high-performance liquid chromatography (HPLC) were performed, and chlorogenic acid as a polyphenolic compound and caffeine as a nonpolyphenolic compound were detected in all samples. Moreover, the HPLC analysis showed that CGLs contain a larger amounts of chlorogenic acid (difference of 0.3~10.5%) and also greater amounts of caffeine (difference of 10.0~18.2%) more than CE. Consequently, these results suggest that coffee-ground as coffee by-products could be used as commercially available food substances because of its physiological molecules remained.

**Key words :** *Coffea arabica*, coffee-ground, antioxidant, chlorogenic acid, caffeine

### 서 론

인간의 수명이 연장되어 고령화되어짐에 따라 당뇨, 치

매, 암, 심혈관계 질환 등의 만성질환인 생활습관병(lifestyle related disease)이 급증하고 있고(1), 이는 환경오염, 서구화된 식습관, 음주, 흡연 등에 의해 발생하는 활성산소(reactive oxygen species, ROS)의 비정상적인 증가에 의한 것으로 알려져 있다(2). 활성산소는 인체 내의 정상적인 대사과정에서도 소량 생성되어지고 세포 기능유지에도 일부 필요하지만, 환경오염이나 화학물질에 대한 노출, 스트레스, 비만 등에 의하여 생성량이 증가하거나 인체 내 제거 시스템의 기능이 약화되는 경우 산화적 스트레스(oxidative

\*Corresponding author. E-mail : hjher@gnu.ac.kr  
Phone : 82-55-772-1907, Fax : 82-55-772-1909  
Received 4 February 2016; Revised 21 March 2016; Accepted 9 May 2016.  
Copyright © The Korean Society of Food Preservation. All rights reserved.

stress) 상승을 유도하여 세포의 생존에 필수적인 에너지(ATP)를 생성하는 미토콘드리아를 손상시켜 세포의 기능 장애와 세포사멸을 야기한다(3,4). 일반적으로 생체에서 생성되는 ROS는 체내에 존재하는 superoxide dismutase(SOD), catalase, glutathione-peroxide(GSH-px), 비타민 E 등과 식품소재 내의 항산화 물질 등에 의하여 조절된다(3). 따라서 천연 항산화 효과를 가진 식용 자원의 발굴과 관련 소재의 개발은 고부가가치 식품 산업에서의 활용도가 높으므로 이를 적극 활용할 필요가 있다(5).

최근 커피산업의 발달로 커피 소비량이 급격히 증가함에 따라 커피(*Coffea arabica*)에 대한 연구는 날이 증가되는 추세이다. 하루 2~3잔의 커피 섭취는 일반 성인의 건강에 항산화 효과와 같은 여러 긍정적인 영향을 주는 것으로 보고되어 있으며 각성효과와 기분전환 등의 정신적인 효과는 물론 뇌 수용체에 작용해 활성산소를 감소시켜 알츠하이머나 파킨슨병 등의 뇌 질환과 대사성 질환의 위험을 감소시키는 것으로도 보고되었다(6-8). 또한 폴리페놀계(polyphenol)의 클로로겐산(chlorogenic acid), 카페익산(caffeic acid)과 비폴리페놀계(nonpolyphenol)의 카페인(cafeine), 트리코넨린(trigonelline), 니코틴산(nicotinic acid), 5 hydroxymethyl furfuraldehyde 등과 같은 항산화물질의 존재가 보고되어 있다(9). 클로로겐산은 커피의 대표적인 항산화 물질로 일반적으로 커피 100 g 안에 2-5 g의 클로로겐산이 존재하며 사람과 동물을 대상으로 한 연구에서 항산화 활성을 확인(10)하였고 카페인은 도파민성 뉴런의 생존을 촉진하는 것으로 알려진 신경 영양성 인자의 발현을 증가시키는 능력을 통해 도파민 시스템의 상태를 개선(11)시키는 것으로 알려져 있다. 세계적으로 하루 평균 22억 잔이 넘게 소비되는 커피의 세계 소비량은 2012년 기준 1억 4,200만 자루로 2008년 대비 6.9% 증가하였으며, 해마다 점차 소비량이 늘어나는 것으로 확인되고 있다(12). 이러한 커피시장의 급성장으로 인해 가공 부산물인 커피박의 처리에 대한 문제가 야기되었다(13-15). 커피박은 커피(추출물)의 제조과정에서 생기는 부산물로, 1 kg의 커피(추출물) 당 약 0.91 kg이 생성된다(16). 커피를 추출한 후 발생하는 커피박은 폐수정화 처리(13), 사료(14), 커피비누, 방향제, 비료를 제조하거나 바이오 디젤 원료(15)등에 사용되어 오고 있으나, 그 사용량은 미미한 상태라 할 수 있다. 이러한 관점에서 커피박의 효율적인 산업적 활용방안 연구가 필요한 실정이다.

따라서 본 연구는 커피 산업의 발달로 인해 다량 발생되어지는 가공 부산물인 커피박의 산업적 활용 가치 재고를 위해 수행되었다. 커피와 커피박을 이용하여 침출주의 알코올 함량(25, 35%)과 숙성기간(1, 2, 3개월)을 달리하여 커피 침출주와 커피박 침출주를 각각 제조하였고, 이에 대한 관능평가를 실시함과 동시에 동량의 건조물을 이용해 *in vitro* 항산화 활성 실험을 진행하였다. 더불어 커피 침출

주와 커피박 침출주의 주요 생리활성 물질 잔존 여부를 비교·분석하기 위해 고성능액체크로마토그래피(high-performance liquid chromatography, HPLC)를 활용하여 커피박의 산업적 가치를 확인하였다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

본 연구에서 사용된 커피 원두 분말은 브라질에서 재배 생산된 브라질 산토스(Santos, Brazil) NY.2 My-Type 17/18 등급을 full city로 중배전 로스팅하고, medium fine grind 크기로 분쇄되어진 제품(Restbean, Namyangju, Korea)을 2015년 5월에 구입하여 실험에 사용하였다. 폴린시오칼토 페놀시약(Folin & Ciocalteu's phenol reagent), 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH), 클로로겐산(chlorogenic acid), 카페인(cafeine)은 Sigma-Aldrich Chemical Co.(St. Louis, MO, USA) 제품을 구입하였다. 그 외 사용된 용매 및 시약은 모두 일급 이상의 등급을 사용하였다.

### 가공 및 저장 조건

분쇄한 커피 원두 분말(400 g)을 물 2 L에 95°C에서 30분 동안 추출하여 커피(coffee extract, CE)를 얻었고, 이를 No. 2 여과지(Whatman plc, Kent, UK)로 여과하여 30°C에서 48시간 동안 건조하여 건조 커피박을 제조하였다. 제조한 커피박(400 g)을 각각 25%와 35% 담금술(Kooksoondang, Brewery Co., Ltd., Seoul, Korea)에 2 L를 침출하여 커피박 침출주(coffee ground liqueur, CGL)와 커피 침출주(coffee liqueur, CL)를 제조하고 커피(침출주)와 함께 1, 2, 3개월간 4°C cold room에서 숙성시켰다. 숙성시킨 침출주는 농축하여 동결건조 한 후 -20°C에 보관하였고, 이를 증류수에 희석하여 동일한 농도(1 mg/mL)로 제조하여 실험에 사용하였다.

### 관능평가

관능평가는 7점 척도법을 이용해 대학생(남학생 9명, 여학생 13명)을 대상으로 시행하였다. 본 실험에서 관능평가는 CL와 CGL의 색, 향, 쓴맛의 정도, 목 넘김 그리고 전체적인 기호도를 설정하여 평가하였으며 주변 환경과 감정, 분위기에 따라 선호도에 영향을 줄 수 있기 때문에 실험 공간은 일정한 실내장소에서 실시하였다. 실험 샘플에 대해 공개되지 않은 상태에서 총 12가지 샘플 25% CL(1, 2, 3개월), 25% CGL(1, 2, 3개월), 35% CL(1, 2, 3개월) 및 35% CGL(1, 2, 3개월)에 대해 관능평가를 실시하였다. 하나의 샘플을 평가한 후에는 반드시 물로 입안을 헹군 후 다음 샘플을 평가하도록 하였다(17).

### 총 페놀 함량 분석

총 페놀 함량은 폴린시오칼토(Folin-Ciocalteu's) 방법으로 측정하였다(18). 각각의 샘플 용액 1 mL에 3차 증류수 9 mL와 폴린시오칼토 페놀시약 1 mL을 첨가하여 실온에서 5분간 반응 시킨 후, 7% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>용액 10 mL을 혼합한 다음 3차 증류수로 25 mL까지 정용하였다. 이 혼합 용액을 실온에서 2시간 동안 반응시킨 후, 분광광도계(Libra S32PC, Biochrom Ltd., Cambridge, UK)를 이용하여 760 nm에서 흡광도를 측정하였고, 측정된 흡광도는 갈릭산으로 작성된 검량선을 이용하여 총 페놀 함량을 계산하였다.

### 항산화 활성

DPPH 라디칼 소거활성은 DPPH에 대한 전자공여능(electron donating ability)으로 샘플에 대한 환원력을 측정하였다. 80% methanol로 용해시킨 0.1 mM DPPH 용액을 517 nm에서 흡광도 값이 1.000±0.020이 나오도록 80% methanol로 희석시켜 사용하였다. 0.15~5 mg/mL 농도의 추출물 0.1 mL에 흡광도 값을 맞춘 DPPH 용액 2.9 mL를 가한 후 균일하게 혼합한 다음 실온에서 30분간 방치한 후 분광광도계를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다(19).

FRAP(ferric reducing antioxidant power) assay에 사용된 시약은 0.3 M sodium acetate buffer(pH 3.6)와 40 mM HCl로 용해시킨 10 mM 2,4,6-tripyridyl-S- triazine(TPTZ) solution, 그리고 20 mM FeCl<sub>3</sub> solution을 사용하였다. 미리 제조된 sodium acetate buffer, TPTZ solution 및 FeCl<sub>3</sub> solution을 각각 10:1:1 (v/v/v)의 비율로 혼합하여 37°C에서 10~15분간 배양시켜 FRAP reagent를 준비하였다. 샘플용액 50 µL와 FRAP reagent 1.5 mL을 혼합하여 실온에서 30분간 방치한 후 593 nm에서 흡광도를 측정하였다(20).

### 고성능액체크로마토그래피(HPLC)를 통한 생리활성물질 분석

CL와 CGL의 생리활성물질을 동정하기 위해 HPLC(Ultra mate 3000 series, Dionex, CA, USA) C<sub>18</sub> column(250×4.6 mm, 5.0 µm, ProtoSIL, BISCHOFF Chromatography, Leonberg, Germany)을 사용하였다. 이동상은 0.1% formic

acid을 함유한 증류수(A)와 100% 메탄올(B)의 조성비를 0~100%(0~42 min), 100~0%(42~45 min)으로 총 45분간 분석하였다. 샘플은 0.45 µm 모세관 여과기(syringe filter)를 이용하여 여과하여 20 µL 주입하였으며, 이동상 유속은 1.0 mL/min으로 하여 UV 검출장치의 파장은 diode array detector(DAD)로 카페인과 클로로겐산을 각각 272와 325 nm에서 검출하였다.

### 통계처리

모든 실험은 3회 반복 실시하여 mean±SD로 나타내었으며, 각 평균값에 대한 검정은 SAS software(version 9.1, SAS institute, Cary, NC, USA)를 이용하여 분산분석(analysis of variance, ANOVA)를 실시하였으며, Duncan의 다중범위검정법(Duncan's multiple range test)으로 각 샘플간의 유의차(p value)를 5% 수준에서 검증 하였다.

## 결과 및 고찰

### 관능평가

총 22명의 소비자에 의해 커피의 색, 향, 쓴맛의 정도, 목 넘김, 전체적인 기호도를 7점 채점법(1점: 매우 나쁘다; 4점: 보통이다; 7점: 매우 좋다)을 이용하여 평가한 결과는 Table. 1과 같다. 전체적인 기호도는 25% CGL(2개월)가 70점으로 점수가 가장 높았고 35% CGL(1개월), 25% CGL(1개월)가 각각 69점으로 두 번째로 높았다. 반면 35% CL(1개월)가 46점, 35% CL(2개월)가 48점으로 점수가 가장 낮았다. 이러한 결과로부터 CGL가 CL보다 기호도가 상대적으로 우수했음을 알 수 있었고, 이는 CL가 CGL에 비해 쓴 맛과 향이 상대적으로 강하다는 결과에서 기인된 것으로 보인다. 관능평가 합산 결과에서 상위 3가지 샘플(25% CGL 2개월, 35% CGL 1개월, 25% CGL 1개월), 하위 2가지 샘플(35% CL 1개월, 35% CL 2개월)을 일반적으로 음용하는 커피(추출물)와 비교하여 총 페놀 함량 분석과 항산화 실험 그리고 고성능액체크로마 토그래피(HPLC) 분석을 실시하였다.

Table. 1 Sensory evaluation of coffee liqueur (CL) and coffee ground liqueur (CGL)

division	samples <sup>1)</sup>	25% CL (1 month)	25% CGL (1 month)	35% CL (1 month)	35% CGL (1 month)	25% CL (2 month)	25% CGL (2 month)	35% CL (2 month)	35% CGL (2 month)	25% CL (3 month)	25% CGL (3 month)	35% CL (3 month)	35% CGL (3 month)
Color		91 <sup>b2)</sup>	91 <sup>b</sup>	83 <sup>g</sup>	83 <sup>g</sup>	87 <sup>d</sup>	91 <sup>b</sup>	86 <sup>c</sup>	84 <sup>f</sup>	94 <sup>a</sup>	86 <sup>c</sup>	86 <sup>c</sup>	88 <sup>c</sup>
Perfume		102 <sup>e</sup>	72 <sup>i</sup>	97 <sup>c</sup>	73 <sup>h</sup>	109 <sup>b</sup>	75 <sup>f</sup>	102 <sup>c</sup>	69 <sup>j</sup>	110 <sup>a</sup>	74 <sup>g</sup>	101 <sup>d</sup>	75 <sup>f</sup>
Bitter Taste		127 <sup>d</sup>	113 <sup>h</sup>	132 <sup>b</sup>	118 <sup>g</sup>	123 <sup>c</sup>	112 <sup>j</sup>	138 <sup>a</sup>	121 <sup>f</sup>	118 <sup>g</sup>	118 <sup>g</sup>	129 <sup>c</sup>	123 <sup>c</sup>
Texture		64 <sup>f</sup>	76 <sup>a</sup>	55 <sup>j</sup>	75 <sup>b</sup>	66 <sup>e</sup>	69 <sup>d</sup>	56 <sup>i</sup>	57 <sup>h</sup>	75 <sup>b</sup>	71 <sup>c</sup>	62 <sup>g</sup>	64 <sup>f</sup>
Whole Preference		67 <sup>c</sup>	69 <sup>b</sup>	46 <sup>j</sup>	69 <sup>b</sup>	56 <sup>h</sup>	70 <sup>a</sup>	48 <sup>i</sup>	56 <sup>h</sup>	65 <sup>d</sup>	62 <sup>f</sup>	57 <sup>g</sup>	64 <sup>c</sup>

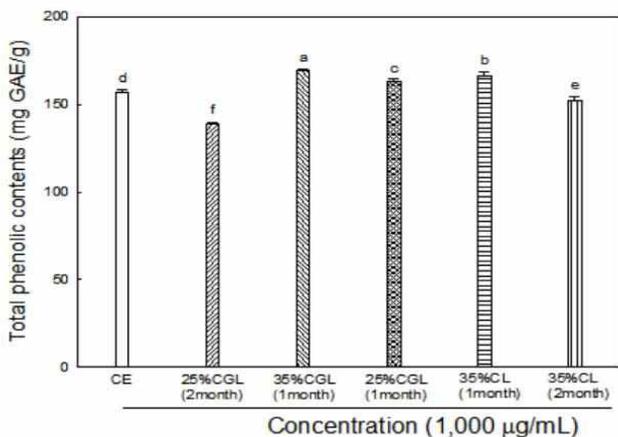
<sup>1)</sup>25%, 35%, Concentration of alcohol; month, leaching period.

<sup>2)</sup>Data were statistically considered at p<0.05, and different letters in the same row (a~j) in table represent statistical difference.

**총 페놀 함량 분석**

CGL의 항산화 활성, 생리 활성 물질 분석 실험을 비교 분석하기 위해 CE, CL, CGL를 동결 건조하여 건조물을 얻고 그 수율을 구한 결과, CE는 약 24%, CGL는 약 7~8%, CL는 약 23~24%로 각각 나타났다.

플라보노이드(flavonoid)류, 페놀산(phenolic acid)류 및 식물성 에스트로겐(phytoestrogen) 등을 포함하는 페놀류는 식물의 2차 대사산물로 식물성 식재료에 널리 분포되어 있으며 산화방지 활성 및 항노화 등의 건강 기능성에 크게 기여한다. 페놀류는 분자 내 하이드록실기를 2개 이상 가지며, 이들이 반응하여 수소 원자를 환원시켜 산화방지 활성을 나타낸다. 페놀류는 단백질 및 기타 거대분자와 결합하는 성질을 가지고 있으며, 라디칼 소거활성에 중요한 인자로서 작용한다고 보고되어있다(21). 관능평가에 활용된 전체 12개 sample 중 선정된 5가지(상위 3가지 샘플: 25% CGL 2개월, 35% CGL 1개월, 25% CGL 1개월; 하위 2가지 샘플: 35% CL 1개월, 35% CL 2개월) 침출주의 건조물을 이용하여 총 페놀 함량을 분석한 결과는 Fig. 1과 같다. 샘플을 분석한 결과 35% CGL(1개월)가 169.5 mg GAE/g of dried extract으로 가장 높은 총 페놀 함량을 나타내었다. 35% CL(1개월), 25% CGL(1개월)가 166.5 mg GAE/g of dried extract으로 CE의 총 페놀 함량인 156.8 mg GAE/g of dried extract보다 상대적으로 높은 함량을 보였다. Kim 등(22)은 로스팅 정도에 따른 CE의 총 페놀화합물 함량은 94.98~199.13 mg GAE/g으로 보고하였으며, 이러한 CE의 총 페놀화합물 함량은 라디칼 소거활성과 같은 항산화력과 연관이 있다고 보고하였다. 이러한 연구 결과를 고려할 때, 본 실험의 동량의 CE 대비 CGL의 총 페놀 함량의 상대적 우수성은 가공 부산물인 커피박의 산업적 활용 가능성을 보여주었다.

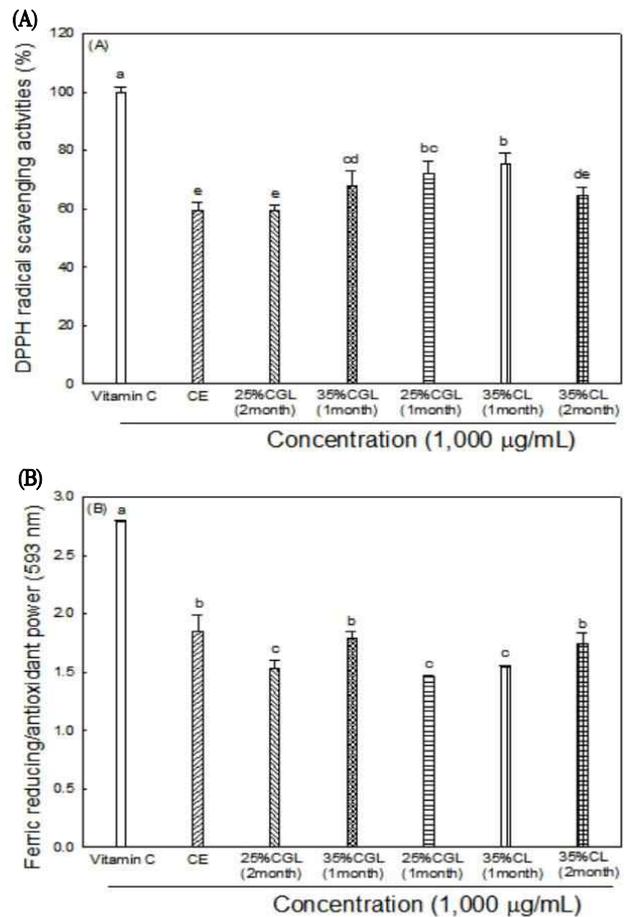


**Fig. 1.** Total phenolic contents (mg GAE/g of dried extract) of coffee extract (CE), coffee liqueur (CL) and coffee-ground liqueur (CGL).

Results were shown as mean±SD (n=3). Data were statistically considered at p<0.05, and different letters (a-f) in graph represent statistical difference.

**항산화 활성**

CE와 CL, CGL의 항산화 활성을 평가하기 위해 자유라디칼(free radical) 소거능을 평가하는 DPPH 라디칼 소거능 및 환원력을 측정하기 위한 FRAP을 측정하였다. DPPH는 비교적 안정한 라디칼을 가지는 물질로 다른 자유라디칼과 결합하여 안정한 복합체를 만들고 있어 항산화능을 가진 물질과 반응하면 라디칼이 소거되어 고유의 청남색을 잃는 특성을 가진다(23). 이를 이용한 DPPH법은 실제 항산화 활성과 연관성이 높은 방법으로 자유라디칼에 전자를 공여하여 지질의 산화를 억제시키는 작용의 척도로 사용되고 있을 뿐 아니라 인체 내에서 자유라디칼에 의한 노화를 억제하는 작용의 척도로도 이용되고 있다(24). CE, 관능평가로부터 선정된 CL와 CGL 5종을 이용하여 DPPH 라디칼 소거활성을 측정한 결과는 Fig. 2A와 같다. Choi 등 (25)에 의하면 CE의 DPPH 라디칼 소거활성은 55.9%로 보고하였으며 본 연구의 CE의 라디칼 활성(59.6%)과 유사하였다. DPPH 라디칼 소거활성은 침출주별로 유의적인 차이



**Fig. 2.** DPPH radical scavenging activity (A) and ferric reducing/antioxidant power (FRAP) (B) of coffee extract (CE), coffee liqueur (CL) and coffee-ground liqueur (CGL).

Results are shown as mean±SD (n=3). Data were statistically considered at p<0.05, and different letters (a-c) in graph represent statistical difference

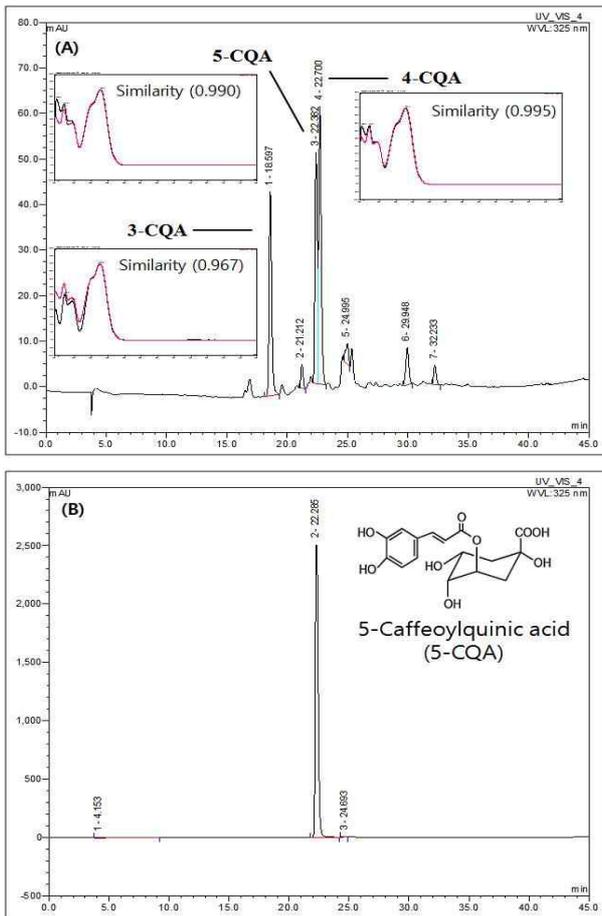


Fig. 3. Chlorogenic acid analysis using HPLC of 35% coffee-ground liqueur (CGL, 1 month) (A), 5-caffeoylquinic acid (B) measured at 325 nm.

3-CQA, 3-Caffeoylquinic acid; 5-CQA, 5-Caffeoylquinic acid; 4-CQA, 4-Caffeoylquinic acid.

를 나타내었으며 35% CL(1개월)가 1,000 µg/mL에서 75.5%로 가장 높은 DPPH 라디칼 소거활성을 나타내었고 25% CGL(1개월)와 35% CGL(1개월)가 각각 72.2%, 67.9%의 라디칼 소거활성을 보였다. 이는 커피에 함유된 클로로젠산과 카페익산 등의 폴리페놀이 가진 항산화 활성에 의해 DPPH 라디칼 소거활성이 나타난 것으로 판단된다(22).

FRAP 분석은 colored ferrous tripyridyl triazine complex에 의해 ferric ion이 ferrous로 전환되어지는 과정을 분석함으로써 샘플 내의 총 항산화력을 측정하는 방법으로 pH 3.6 이하의 조건에서 환원제에 의해 ferric ripyridyltriazine (Fe<sup>3+</sup>-TPTZ) 복합체가 ferrous ripyridyltriazine(Fe<sup>2+</sup>-TPTZ)으로 환원되는 원리에 기초하여 대부분의 항산화제가 환원력을 가지고 있다는 점에서 착안, 고안된 방법이다(27). CL와 CGL의 FRAP 분석 결과는 Fig. 2B와 같다. 분석결과 35% CGL(1개월) 1,000 µg/mL에서 1.793의 흡광도 값이 나왔고 35% CL(2개월)의 흡광도 값은 1.743으로 CE의 흡광도 값인 1.851와 대체로 유사한 경향을 보임으로 커피를 열수 추출한 후에도 여전히 우수한 항산화 활성을 가지고 있는 것으로 판단된다. 이러한 관능평가 및 항산화 실험 결과를 바탕으로 할 때, 본 연구에서는 35% CGL(1개월)의 관능평가 및 항산화 활성이 상대적으로 높은 것으로 나타났으며, 4°C 숙성 조건은 관능평가와 항산화 활성에 큰 영향을 미치지 않는 것으로 판단된다.

고성능액체크로마토그래피(HPLC)를 통한 생리활성물질 분석

커피의 주요 생리활성 물질로 보고된(7) 클로로젠산을 비교하기 위해 CE와 기호도가 높았던 25% CGL(2개월), 35% CGL(1개월), 25% CGL(1개월)과 기호도가 낮았던 35% CL(1개월), 35% CL(2개월)을 HPLC를 이용하여 분석하였다(Fig 3). 분석 결과 모든 샘플에서 3개의 클로로젠산 피크가 나타났고 22.38 min에서 검출된 피크는 표준물질 클로로젠산(5-caffeoylquinic acid, 5-CQA)의 머무름시간 (retention time, RT)과 UV-VIS spectrum을 비교하였을 때 일치하는 것으로 확인되었다(Fig 3A). 또한 나머지 2개의 피크는 5-CQA의 UV-VIS spectrum과 일치하는 것으로 보아 클로로젠산의 이성질체(isomer)임을 알 수 있다. Fujioka와 Shibamoto(27)에 의하면 18.60 min에서 검출된 피크는 3-CQA(3-caffeoylquinic acid)로 판단되고 22.38 min에서 검출된 피크는 5-CQA, 22.70 min에서 검출된 피크는 4-CQA(4-caffeoylquinic acid)로 판단된다. 커피에서 클로로젠산은 5-CQA > 4-CQA > 3-CQA 순으로 존재하며, 5-CQA

Table 2. Three caffeoylquinic acids concentrations in coffee extract (CE), coffee ground liqueur (CGL), and coffee liqueur (CL)

		(unit: µg/mg of dried extract)					
standards <sup>2)</sup>	samples <sup>1)</sup>	CE	25% CGL (1 month)	25% CGL (2 month)	35% CGL (1 month)	35% CL (1 month)	35% CL (2 month)
3-CQA		9.5±0.4 <sup>bc3)</sup>	10.2±0.4 <sup>ab</sup>	10.4±0.8 <sup>ab</sup>	10.8±0.9 <sup>a</sup>	9.3±0.2 <sup>c</sup>	9.6±0.5 <sup>bc</sup>
5-CQA		10.7±0.2 <sup>b</sup>	11.0±0.7 <sup>b</sup>	11.3±0.7 <sup>ab</sup>	12.7±1.6 <sup>a</sup>	11.4±0.4 <sup>ab</sup>	11.4±0.2 <sup>ab</sup>
4-CQA		14.8±0.7 <sup>bc</sup>	14.8±0.8 <sup>bc</sup>	13.3±0.9 <sup>c</sup>	15.1±1.6 <sup>b</sup>	16.8±0.2 <sup>a</sup>	16.1±0.6 <sup>ab</sup>
Total		34.9±0.4 <sup>c</sup>	35.9±1.8 <sup>bc</sup>	35.0±1.1 <sup>c</sup>	38.5±1.1 <sup>a</sup>	37.5±0.7 <sup>ab</sup>	37.1±1.3 <sup>ab</sup>

<sup>1)</sup>25%, 35%, Concentration of alcohol; Month, soaking period.

<sup>2)</sup>3-CQA, 3-Caffeoylquinic acid; 5-CQA, 5-Caffeoylquinic acid; 4-CQA, 4-Caffeoylquinic acid.

<sup>3)</sup>Results are shown as mean±SD (n=3). Data were statistically considered at p<0.05, and different letters <sup>(a-c)</sup> in table represent statistical difference.

는 클로로겐산의 주된 형태로 총 클로로겐산 중에서 36~42%를 차지하는 것으로 알려져 있다(27,28). 연구에 활용된 샘플에서의 클로로겐산의 정량분석 결과는 Table 2와 같다. CE의 클로로겐산 함량은 34.9 µg/mg of dried extract로 CGL, CL의 함량보다 통계적으로 유의적인 값의 차이를 보이지는 않았다. 35% CGL(1개월)이 38.5 µg/mg of dried extract으로 유의적으로 높은 클로로겐산 함량을 보였고, 각각 35% CL(1개월), 35% CL(2개월)이 37.5 µg/mg of dried extract, 37.1 µg/mg of dried extract으로 나타나 클로로겐산은 25% 침출보다 35% 침출 조건에서 용출되는 양이 많은 것으로 판단된다. 또한 CGL와 CL의 클로로겐산 함량은 CE보다 각각 0.3~10.5%, 6.6~7.4% 더 높게 나타났다. 이는

커피의 클로로겐산이 열수 추출보다 알코올 침지 조건에서 잘 용출되는 것으로 판단된다. 클로로겐산은 대표적인 폴리페놀성 화합물로 퀴닉산(quinic acid)과 카페익산(caffeic acid)이 에스터 결합된 형태로 존재한다. 3개의 이성질체인 CQA(caffeoylquinic acid), Di CQA(dicaffeoyl quinic acid) 및 FQA(feruoyl quinic acid)를 포함하고 있으며, 총 클로로겐산은 3개의 이성질체의 합을 나타낸다(29). 이러한 클로로겐산은 체내에서 항산화작용은 물론 항균활성 및 항암성 물질로 작용하여 오늘날 기능성 식품 소재의 성분으로 보고되어 왔다(30).

카페인은 메틸크산틴 계열의 알칼로이드 성분으로써 중추신경흥분작용 물질로 작용하여 각성 상태나 기분이 들뜨고 좋아지는 증상에 관여하는 것으로 알려져 있다(31). 최근에는 라디칼 소거활성과 항산화작용 등의 기능도 보고되어지고 있다(32). 카페인의 정성 분석을 위한 HPLC analysis 결과는 Fig. 4와 같다. 272 nm 파장에서 생리활성 물질을 분석한 결과 19.07 min에서 확인된 피크는 커피의 주요한 생리활성물질로서의 카페인임을 확인하였고, 이는 표준물질 카페인의 머무름 시간과 UV-VIS spectrum을 비교하였을 때 일치하는 것으로 확인되었다. CE와 CL 그리고 CGL를 HPLC 분석을 실시한 결과 동일한 시간에서 모든 샘플에 카페인 피크가 나타났다. 카페인의 정량분석 결과는 Table. 3과 같다. CE의 카페인 함량은 35.6 µg/mg of dried extract로 CGL, CL의 카페인 함량보다 더 많은 것으로 나타났고, CGL와 CL의 카페인 함량은 CE보다 각각 10.0~18.2%, 4.4~9.3% 더 높게 검출되었다.

커피의 특수성분인 카페인은 중추신경계, 심장, 혈관, 신장을 자극하고 소화액 분비를 촉진하는 역할을 하며(33), 산화적 스트레스로 유도된 인지기능 장애를 개선시키는 역할을 한다(34). 또한 과다 섭취시에도 혈액 속이나 체내에 축적되지 않으며 몇 시간 후에는 모두 체외로 배설되므로 과다 섭취로 인한 건강상의 문제는 크지 않을 것으로 판단된다(35). 또한 Yen 등(36)은 커피 열수 추출과정에서 추출되지 못한 토코페롤, 폴리페놀 및 비폴리페놀 화합물 등과 같은 phytochemical들에 의하여 항산화 활성을 나타낸다고 보고하였다. 본 실험에서의 결과 또한 커피박에서 잔존하고 있는 클로로겐산과 카페인이 담금술에 침지시켰을 때 충분히 용출되어진 것으로 판단되어지며, 이러한 커피박의 *in vitro* 항산화 활성과 주요 생리활성 성분의 여전한 존재는

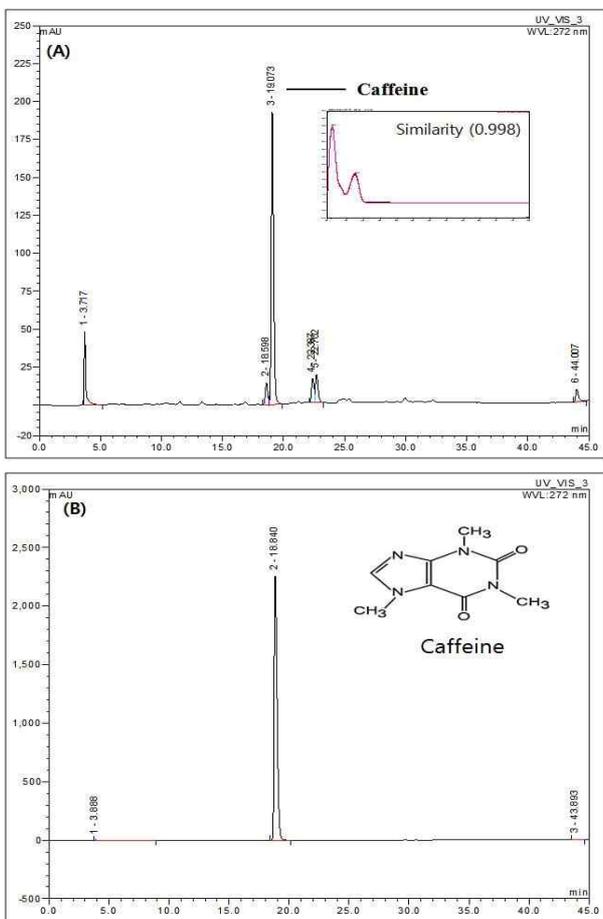


Fig. 4. Caffeine analysis using HPLC of 35% coffee-ground liqueur (CGL, 1 month) (A), caffeine standard (B) measured at 272 nm.

Table 3. Caffeine contents in coffee extract (CE), coffee ground liqueur (CGL), and coffee liqueur (CL)

standards	samples <sup>1)</sup>	(unit: µg/mg of dried extract)					
		CE	25% CGL (1 month)	25% CGL (2 month)	35% CGL (1 month)	35% CL (1 month)	35% CL (2 month)
Caffeine		35.6±3.5 <sup>2)</sup>	39.3±1.1 <sup>ab</sup>	39.2±0.7 <sup>ab</sup>	42.1±0.2 <sup>a</sup>	38.9±0.3 <sup>b</sup>	37.2±1.5 <sup>bc</sup>

<sup>1)</sup>25%, 35%, Concentration of alcohol; Month, soaking period.

<sup>2)</sup>Results are shown as mean±SD (n=3). Data were statistically considered at p<0.05, and different letters <sup>(a-c)</sup> in table represent statistical difference.

커피 부산물로서 커피박의 산업적 활용 가치를 보여주는 것으로 판단된다.

본 연구 결과를 종합해 볼 때, 커피 가공 부산물로 여겨지던 커피박을 활용한 침출주는 CL에 비해 상대적으로 우수한 기호도를 보였을 뿐만 아니라 동량의 건조물에서 CE와 유사한 총 페놀 화합물 함량, 항산화 활성, 클로로겐산 및 카페인의 함량을 나타내었다. 이를 통해 커피 산업의 발달에 비해 재활용이 미비했던 커피박의 산업적 활용 가능성을 확인하였고 더불어 커피박의 식품 소재로의 재활용이 가능할 것으로 사료된다.

## 요 약

본 연구는 커피의 부산물로 발생하는 커피박으로 침출주를 제조함으로써 커피박의 산업적 활용 가치 재고를 알아보기 위하여 진행되었다. 커피박의 항산화 활성과 생리활성 물질을 분석, 비교하기 위하여 커피와 커피박을 각각 25%와 35% 담금술에 침지하여 CL, CGL를 제조하였다. 제조한 담금술을 대학생을 대상으로 관능평가를 실시한 결과 상대적으로 CGL가 CL에 비해 상대적으로 우수한 기호도를 보였다. 기호도가 높은 CGL와 기호도가 낮은 CL의 항산화 활성 정도를 비교하기 위해 동량의 건조물을 이용해 총 페놀 함량과 항산화 활성 실험을 실시하였다. 총 페놀 함량 분석 결과 35% CGL(1개월)이 1,000 µg/mL에서 169.5 mg GAE/g of dried extract으로 가장 높게 나왔고, 항산화 활성 실험 결과 CE와 CL, CGL 모두 유사한 DPPH 라디칼 소거활성과 FRAP 활성을 나타내었다. 따라서 커피 가공 부산물인 커피박에도 DPPH 라디칼 소거활성과 FRAP 활성을 유도하는 phytochemical로서의 생리활성 물질이 잔존하는 것으로 판단된다. 결국 커피박에도 커피와 유사하게 생리활성 물질이 존재하는지 알아보기 위하여 동량의 건조물을 이용해 HPLC 정성·정량 분석을 실시한 결과 CGL(35.0~38.5 mg/g of dried extract)는 CE(34.9 mg/g of dried extract)에 비해 클로로겐산 함량이 0.3~10.5% 가량 더 많았고, CGL(39.2~42.1 mg/g of dried extract)는 CE(35.6 mg/g of dried extract)에 비해 카페인 함량이 10.0~18.2% 가량 더 많은 것으로 나타났다. 본 연구 결과를 종합해볼 때, 커피 가공 부산물인 커피박이 대표적인 생리활성 물질로 알려진 클로로겐산과 카페인을 일정 수준 이상으로 함유하고 있어 커피와 유사한 라디칼 소거활성 등 *in vitro* 항산화 활성을 가지고 있음을 확인하였다. 더불어 침출주의 경우 커피 대비 기호도도 상대적으로 우수하여 산업적으로 충분히 활용 가능할 것으로 판단된다.

## 감사의 글

이 논문은 2015년도 정부(교육부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업(NRF-2015RID1A3A01015931) 및 농촌진흥청 지역특화작목기술개발과제(PJ011345)의 지원을 받아 수행된 결과로 이에 감사드립니다.

## References

1. Tanaka H, Dinunno FA, Monahan KD, Clevenger CM, Desouza CA, Seals DR (2000) Aging, habitual exercise, and dynamic arterial compliance. *Circulation*, 102, 1270-1275
2. Wiseman H (1996) Dietary influences on membrane function: Importance in protection against oxidative damage and disease. *J Nutr Biochem*, 7, 2-15
3. Lodovici M, Guglielmi F, Meoni M, Dolara P (2001) Effect of natural phenolic acids on DNA oxidation *in vitro*. *Food Chem Toxicol*, 39, 1205-1210
4. Kim SH, Choi HJ, Oh HT, Chung MJ, Cui CB, Ham SS (2008) Cytoprotective effect by antioxidant activity of *Codomopsis lanceolata* and *Platycodon grandiflorum* ethyl acetate fraction in human HepG2 cells. *Korean J Food Sci Technol*, 40, 696-701
5. Kang HJ, Mok JY, Cho JK, Jeon IH, Kim HS, Park JM, Jeong SI, Shim JS, Jang SI (2012) Protective effects of leaf and flower extracts from *Cirsium japonicum* var. *ussuriense* on oxidative damage in normal human erythrocytes and plasma. *Kor J Pharmacogn*, 43, 66-71
6. Dorea J, da Costa T (2005) Is coffee a functional food?. *Bt J Nutr*, 93, 773-782
7. Higdon JV, Frei B (2006) Coffee and health: A review of recent human research. *Crit Rev Food Sci*, 46, 101-123
8. Lim DH, Kim WK, Lee MG, Heo HJ, Chun OK, Kim DO (2012) Evidence for protective effects of coffees on oxidative stress induced apoptosis through antioxidant capacity of phenolics. *Food Sci Biotechnol*, 21, 1735-1744
9. Borrelli RC, Visconti A, Mennella C, Anese M, Fogliano V (2002) Chemical characterization and antioxidant properties of coffee melanoidins. *J Agric Food Chem*, 50, 6527-6533
10. Farah A, Donangelo CM (2006) Phenolic compounds in coffee. *Braz J Plant Physiol*, 18, 23-36
11. Martyn C, Gale C (2003) Tobacco, coffee, and

- Parkinson's disease. *BMJ*, 326, 561-562
12. Kim YW, Choi YS, Han JS (2013) A study on the food-related lifestyle and their impacts on coffee product consumption behaviour of franchised coffee brands. *Kor Aca Soc Tour Manage*, 28, 285-303
  13. Rim SH, Zong MS, Park SH (1995) A study on removal of Pb, Cr, Cd in wastewater using exhausted coffee. *J Environ Health sci*, 21, 21-28
  14. Lee HS, Kang JW, Yang WH, Zong MS (1998) A study on preparation of adsorbent from coffee grounds and removal of trichloroethylene in water treatment. *J Environ Health Sci*, 24, 20-31
  15. Lee SB, Kim HJ, Lee JD (2010) Optimum solvent for oil extraction from cellulosic wastes. *J of Korea Society of Waste Management*, 27, 137-143
  16. Silva MA, Nebra SA, Machado Silva MJ, Sanchez CG (1998) The use of biomass residues in the brazilian soluble coffee industry. *Biomass and Bioenergy*, 14, 457-467
  17. Gibson EL (2006) Emotional influences on food choice: sensory, physiological and psychological pathways. *Physiol Behav*, 89, 53-61
  18. Kim DO, Jeong SW, Lee CY (2003) Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chem*, 81, 321-326
  19. Kim DO, Lee KW, Lee HJ, Lee CY (2002) Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals. *J Agric Food Chem*, 50, 3713-3717
  20. Kim HY, Woo KS, Hwang IG, Lee YR, Jeong HS (2008) Effects of heat treatments on the antioxidant activities of fruits and vegetables. *Korean J Food Sci Technol*, 40, 166-170
  21. Othman A, Ismail A, Ghani NA, Adenan I (2007) Antioxidant capacity and phenolic content of cocoa beans. *Food Chem*, 100, 1523-1530
  22. Kim JY, Han YS (2009) Influence of roasting time on antibacterial and antioxidative effects of coffee extract. *Korean J Food Cook Sci*, 25, 496-505
  23. Bravo L (1998) Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutr Rev*, 56, 317-333
  24. Pyo YH, Lee TC, Logendra L, Rosen RT (2004) Antioxidant activity and phenolic compounds of Swiss chard (*Beta vulgaris* subspecies *cycla*) extracts. *Food Chem*, 85, 19-26
  25. Choi YH, Kim SE, Huh J, Han YH, Lee MJ (2012) Antibacterial and antioxidative activity of roasted coffee and red ginseng mixture extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 41, 320-326
  26. Duval B, Shetty K (2001) The stimulation of phenolics and antioxidant activity in pea (*Pisum sativum*) elicited by genetically transformed anise root extract. *J Food Biochem*, 25, 361-377
  27. Benzie IFF, Strain JJ (1996) The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of 'antioxidant power': The FRAP assay. *Anal Biochem*, 239, 70-76
  28. Fujioka K, Shibamoto T (2008) Chlorogenic acid and caffeine contents in various commercial brewed coffees. *Food Chem*, 106, 217-221
  29. Farah A, Monteiro M, Donangelo CM, Lafay S (2008) Chlorogenic acids from green coffee extract are highly bioavailable in humans. *J Nutr*, 138, 2309-2315
  30. Link A, Balaguer F, Goel A (2010) Cancer chemoprevention by dietary polyphenols: Promising role for epigenetics. *Biochem Pharmacol*, 80, 1771-1792
  31. Higgins GA, Grzelak ME, Pond AJ, Cohen-Williams ME, Hodgson RA, Varty GB (2007) The effect of caffeine to increase reaction time in the rat during a test of attention is mediated through antagonism of adenosine A<sub>2A</sub> receptors. *Behav Brain Res*, 185, 32-42
  32. Crozier TWM, Stalmach A, Lean MEJ, Crozier A (2012) Espresso coffees, caffeine and chlorogenic acid intake: potential health implications. *Food Funct*, 3, 30-33
  33. Robertson D, Frolich JC, Carr RK, Watson JT, Hollifield JW, Shand DJ, Oates JA (1978) Effect of caffeine on plasma renin activity, Catecholamines and blood pressure. *N Engl J Med*, 298, 181-186
  34. Ullah F, Ali T, Ullah N, Kim MO (2015) Caffeine prevent D-galactose-induced cognitive deficits, oxidative stress, neuroinflammation and neurodegeneration in the adult rat brain. *Neurochem Int*, 90, 114-124
  35. Lee HW (2000) The study on caffeine containing foods and the effect of caffeine in human. *Culinary Science Hospitality Reserach*, 6, 343-355
  36. Yen WJ, Wang BS, Chang LW, Duh PD (2005) Antioxidant properties of roasted coffee residues. *J Agric Food Chem*, 53, 2658-2663