



Research Article

Effects of ethanol extraction and acetic acid fermentation on the functional properties of roasted coffee beans

에탄올 추출 및 초산균 발효가 커피 원두 기능성에 미치는 영향

Seo-Yeon You, Hyeon Hwa Oh, Hyun-Il Jun, So-Won Jang, Geun-Seoup Song*

유서연 · 오현화 · 전현일 · 장소원 · 송근섭*

Department of Food Science and Technology, Jeonbuk National University, Jeonju 54896, Korea

전북대학교 식품공학과

Abstract This study evaluated the effect of acetic acid fermentation added to coffee concentrate using the concentrate of fermented coffee bean ethanol extract. The ethanol concentration that can extract a high content of coffee's active ingredients (caffeine, chlorogenic acid) was 50% (v/v). The ethanol extract from coffee was concentrated to a solid content of 7.94% (w/v) and added at a concentration of 7-10% to prepared coffee liquor containing 6% ethanol. Additionally, 20% seed vinegar was introduced to initiate acetic acid fermentation. During the fermentation period of coffee vinegar with different concentrations of coffee extracts (CVCE1-CVCE4) lasting 30 days, the viable cell counts, physicochemical properties (soluble solid contents, pH, and total acidity), organic acids, free sugars, and ethanol content were measured. The number of viable cells was 4.50-7.33 log CFU/mL on the 10th day of fermentation, and the growth of bacteria tended to decrease as the content of coffee solids increased. As acetic acid fermentation progresses, the ABTS and DPPH radical scavenging activities of coffee vinegar decreased, while pancreatic lipase inhibition activity increased. The analysis showed that the amount of coffee extract concentrate added affects the fermentation characteristics of acetic acid bacteria, resulting in a difference in the functionality of coffee vinegar.

Keywords coffee, vinegar, antioxidant, antimicrobial, anti-obesity



OPEN ACCESS

Citation: You SY, Oh HH, Jun HI, Jang SW, Song GS. Effects of ethanol extraction and acetic acid fermentation on the functional properties of roasted coffee beans. Food Sci. Preserv., 32(4), 684-693 (2025)

Received: January 03, 2025

Revised: March 05, 2025

Accepted: March 10, 2025

*Corresponding author

Geun-Seoup Song
Tel: +82-63-270-2568
E-mail: songgs@jbnu.ac.kr

Copyright © 2025 The Korean Society of Food Preservation. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

1. 서론

콜롬비아산 커피는 생두의 형태로 대한민국에 수입되는 양이 브라질과 베트남에 이어 연간 3.0톤 가량이며, 전체 수입되는 커피의 15%에 해당된다(Kim, 2023). 생두로 수입된 커피는 로스팅 과정을 거쳐 원두로 가공되어 음료 제조에 이용되는데, 이때 생두에 함유된 카페인의 함량은 감소하지 않으나 클로로겐산의 함량은 열처리 조건에 의해 급격히 감소되는 것으로 보고된다(Kim 등, 2022). 커피 생두의 열처리 조건은 기호성에 영향을 주는 인자로 로스팅 과정을 거쳐 원두로 가공된 후 음료로 이용된다(Park 등, 2024). 그러나, 커피 음료의 기호성을 증가시키기 위한 로스팅은 보통 200°C 이상의 고온에서 가열처리됨에 따라 벤조피렌 및 5-hydroxymethylfurfural(HMF) 등의 유해성분이 생성되는 것으로 알려졌다(Kung 등, 2024; Yeon, 2015).

미생물에 의해 발효된 커피는 생두를 수침 및 증숙하여 미생물을 접종하여 발효시킨 후 원두로 제조하기 위해 로스팅 과정을 거친다. 이와 같은 과정에서 증숙시 조직이 연화되어 있고 미생물 발효에 의해 유효 성분 등이 가수분해되어 일반생두와 같은 로스팅 조건에서는 클로로겐산 등의 감소가

급격히 진행될 수 있다(Gang, 2023). 따라서 발효 커피 생두 로스팅 조건은 일반 생두보다 더 까다로울 수 있고, 커피 원두의 추출시 고온의 열수를 가하는 방법은 커피 유효성분의 파괴를 야기할 수 있어 고온의 열처리에 산화되는 유효성분 손실을 최소화 할 수 있는 방법이 필요하다(Park 등, 2024; Shin, 2018).

커피에 함유된 클로로젠산은 퀸산(quinic acid)과 카페인산(caffeic acid) 등이 탄소 3, 4, 5번에 위치한 하이드록시기에서 에스터 반응으로 유도된 화합물로 이들 중 5-카페오일퀴닉산은 전체 클로로젠산 함량의 약 80%를 차지한다(Kwon, 2020). 커피의 주요 항산화 성분으로 알려진 클로로젠산은 산화적 스트레스로부터 유발된 병리적인 현상에 대해 예방 효과가 있는 것으로 보고된다(Nabavi 등, 2014). 카페인산은 열에 안정적이며 온도가 높으면 용해도가 증가하는 특징이 있고(Kim, 2014), 알칼로이드 물질의 일종으로 교감 신경계를 자극하여 적당량 섭취 시 피로 해소 효과가 있으며 약리학적 성질을 지닌 기능성 성분이지만 과다 섭취 시 수면장애, 고혈압, 심혈관 질환을 유발할 수 있어 일일 섭취량이 400 mg 이하로 권고된다(Kim 등, 2022; Shin 등, 2023). 카페인 저감화와 클로로젠산의 고함량은 커피의 건강기능성을 향상하기 위한 전략으로 로스팅 조건, 열수 추출 조건 및 발효 등의 여러 연구가 수행됐으나 커피는 음료로 섭취하는 기호식품이기 때문에 로스팅 후 제조된 커피 원두에 함유된 기능성 성분을 최대한 확보하는 전략이 필요하다(Kim 등, 2016).

본 연구는 콜롬비아산 커피 생두를 유산균 발효한 후 로스팅한 발효 커피 원두를 이용하여 커피의 유효성분(카페인, 클로로젠산)이 고함량으로 함유된 에탄올 추출농도를 선정하였다. 선정된 에탄올 농도에서 추출된 커피 추출물을 농축하여(고형분 함량 7.94%(w/v)) 농축액 함량 기준 7-10%의 4단계로 구분하여 커피주를 제조하고 초산 발효를 하여 초산 발효물의 기능성에 관한 연구를 수행하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 실험재료

본 연구에 사용된 콜롬비아 발효 커피와 초산 발효에 이용된 *Acetobacter pasteurianus* SRCM 101486은 (재)발효미생물산업진흥원(Microbial Institute for Fermentation Industry, MIFI, Sunchang, Korea)에서 분양받아 사용하였다. 한편, 항균 활성에 사용된 *Bacillus cereus* KACC 10097, *Staphylococcus aureus* KACC 1927, *Escherichia coli* KACC 10115는 한국 농업미생물자원센터(Korean Agricultural Culture Collection (KACC), Wanju, Korea)에서, *Salmonella typhimurium* KCTC 1126은 한국생물자원센터(Korean Collection for Type Culture(KCTC), Jeongeup, Korea), *Listeria monocytogenes* KCCM 43155는 한국미생물보존센터(Korean Culture Center

of Microorganisms(KCCM), Seoul, Korea)에서 분양받았다. 균주배양에 사용된 yeast extract는 Angel yeast사(Angel yeast Co., Ltd, Yichang, China)에서, agar, nutrient agar, nutrient broth는 BD사(Becton, Dickinson & Co., Franklin Lakes, NJ, USA), 주정은 대한주정판매사(Korea Ethanol Supplies Company Co., Ltd, Daegu, Korea)로부터 구매하여 사용하였다. 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl(DPPH), 2,2-azino-bis-3-ethylenebenzothiazoline-6-sulfonic acid(ABTS), ($\pm$)-6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid(Trolox), porcine pancreatic lipase, gallic acid, Folin-Ciocalteu reagent, chlorogenic acid, neochlorogenic acid, caffeine, orlistat, glucose 등은 Sigma(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)에서 구매하여 사용하였으며, 그 밖의 시약들은 analytical 및 HPLC grade를 사용하였다.

2.2. 에탄올 추출 농도별 발효 커피 원두 특성 측정

2.2.1. 발효 커피 원두 에탄올 추출

콜롬비아 발효 커피 원두는 분쇄기(The smart grinder™ pro, Breville, Sydney, Australia)를 이용해 분쇄한 가루에 에탄올(Samchun Co., Pyeongtaek, Korea)을 농도별(0, 25, 50, 75, 100%(v/v))로 10배수 첨가하여 교반(20°C, 3시간)하였다. 다음 원심분리기(CR21, Hitachi Koki Co., Ltd., Tokyo, Japan)를 이용하여 원심분리(10,000 ×g, 4°C, 10분)한 후 상등액을 모아 감압 여과한 여액을 취해 커피 원두 에탄올 추출물로 하여 차후 분석에 사용하였다.

2.2.2. 총페놀성 화합물 함량 측정

총페놀성 화합물 함량(total phenolic content, TPC)은 ISO 14502-1(2005)의 방법을 변형하여 측정하였다. 96 well plate에 시료 20 μ L와 10% Folin-Ciocalteu's phenol reagent 100 μ L를 첨가하여 3분 반응하였다. 다음 반응 정지액인 7.5% Na_2CO_3 80 μ L를 첨가하고, 암실에서 1시간 방치한 후 microplate reader(S1LFA, BioTek Instruments Inc., Winooski, Vermont, USA)를 이용하여 흡광도(파장 765 nm)를 측정하였다. 총페놀성 화합물 함량은 갈산(gallic acid)을 표준물질로 하여 시료 1 g 당 mg gallic acid로 나타내었다.

2.2.3. 클로로젠산 및 카페인 함량 측정

HPLC system(Hitachi CM5000, Hitachi Co., Ltd., Tokyo, Japan)으로 클로로젠산(chlorogenic acid; 5-O-caffeoyl-quinic acid; CGA), 네오클로로젠산(neochlorogenic acid, trans-5-O-caffeoyl-quinic acid) 및 카페인(caffeine) 함량을 분석하였다. 컬럼은 YMC사의 Triart C18(250×4.6 mm, 5 μ m, YMC Co., Kyoto, Japan)을 이용하였으며, 컬럼 온도는 37°C로 유지하였다. 성분 분리는 gradient mode이며, 이동상 A는 0.1% 아세트

산을 함유하는 아세트나이트릴 용액, 이동상 B는 0.1% 아세트산을 함유하는 물이었다. 용매 조건은 0-4분은 용매 A를 13%로 유지, 4-45분은 37%로 증가, 45-47분은 100%로 증가, 47-51분은 100% 유지, 51-53분은 13%로 감소, 53-65분은 13%로 유지하도록 설정하였다. 유속은 0.8 mL/min, 시료 주입량은 10 µL이었다. 검출기는 diode array detector(Hitachi Chromaster® 5430, Hitachi Co., Ltd., Tokyo, Japan)를 사용하였으며, 클로로젠산과 네오클로로젠산의 검출 파장은 324 nm, 카페인의 검출 파장은 274 nm이었다. 측정된 물질의 각 peak은 동일 조건에서 분석한 표준물질의 peak 면적 비율과 머무름 시간을 비교하여 시료 1 g에 해당하는 클로로젠산, 네오클로로젠산 및 카페인 함량을 mg으로 산출하였다.

2.3. 발효 커피 원두 에탄올 추출물의 제조 및 초산 발효

2.3.1. 발효 커피 원두 에탄올 추출물 및 커피주의 제조

발효 커피 원두 에탄올 추출물은 원두 분말에 50% 알코올을 10배수 첨가한 다음 교반(20°C, 3시간)하여 제조하였다. 커피 추출물은 원심분리(10,000 ×g, 4°C, 10분)하여 상층액을 회수하고 다시 용매를 넣는 과정을 3회 반복하였다. 얻어진 상층액은 회전식 감압농축기(RV 10, IKA Korea®. Ltd., Seoul, Korea)를 이용하여 알코올을 증발시켰으며, 최종 농축된 커피 농축액의 고형분 함량은 7.94%(w/v)로 분석되었다. 커피 농축액(coffee extract, CE)의 최종 첨가비율(7-10%)을 기준으로 각각 CE1(7%), CE2(8%), CE3(9%), CE4(10%)로 명명하였고, 1%(w/v) yeast extract 및 7%(w/v) glucose를 동일하게 첨가한 후 고압 멸균(121°C, 15분)하였다. 실온으로 냉각시킨 후 6%(v/v) 주정(95% ethanol)을 각각 후첨하여 커피주를 제조하였다.

2.3.2. 종초 제조와 커피주의 초산발효

초산균(*A. pasteurianus* SRCM 101486)은 3% GYE broth (1% yeast extract, 5% glucose, 3% 주정)에 1 백금이를 접종하여 진탕 배양기(ISF-7100R, Jeio Tech Co., Ltd., Daejeon, Korea)에서 활성화(120 rpm, 30°C, 72시간)한 후에 6% GYE broth(1% yeast extract, 5% glucose, 6% 주정)에 1%(v/v) 접종하여 진탕 배양(100 rpm, 30°C, 60시간)하였다. 다음 배양액은 GY broth(1% yeast extract, 5% glucose)를 이용하여 흡광도를 1.00(파장 600 nm; at 7.51 log CFU/mL)으로 조절하여 종초로 사용하였다. 커피주에 제조된 종초를 20%(v/v) 첨가하여 진탕 배양(100 rpm, 30°C, 30일)하였다. 품질 및 기능성 분석을 위해 10일 간격으로 시료를 5 mL씩 취하고 원심분리(15,000 ×g, 4°C, 10분)하여 얻은 상등액을 분석 시료로 이용하였다.

2.4. 품질 특성 분석

2.4.1. 생균수 및 이화학적 특성

pH는 pH meter(SevenMulti, Mettler Toledo GmbH, Giessen, Germany)를 사용하여 측정하였으며, 수용성 고형분은 당도계(PAL-1, Atago Co., Ltd., Tokyo, Japan)를 사용하여 측정하였다. 총산도는 시료 1 mL에 0.1 N NaOH를 첨가하여 pH 8.3에 도달할 때까지 소모된 양을 acetic acid 함량으로 산출하였다. 생균수는 시료 100 µL를 멸균 peptone 수에 십진 희석법으로 희석하고 3% GYE agar(1% yeast extract, 5% glucose, 3% ethanol, 2.5% agar)에 도말하여 30°C에서 72시간 배양한 다음 나타난 colony 수를 log CFU/mL로 나타내었다.

2.4.2. 유기산, 유리당 및 에탄올 함량

유기산, 유리당 및 에탄올의 변화는 Kim과 Song(2002)의 방법을 이용하여 측정하였다. 분석을 위한 시료는 희석하여 0.22 µm membrane filter(Futecs Co., Ltd., Daejeon, Korea)로 여과하여 HPLC system(Shimadzu LC 10A, Shimadzu Co., Kyoto, Japan)으로 분석하였다. HPLC system의 분석조건은 0.008 N H₂SO₄를 이동상으로 Aminex HPX-87H column (300×7.8 mm, 9 µm, Bio-Rad Laboratories Inc., Hercules, CA, USA)을 통과하는 유속은 0.6 mL/min으로, 컬럼 온도는 35°C를 유지하도록 하였다. 유기산 검출기는 UV-VIS detector (SPD-10A, Shimadzu Co., Kyoto, Japan)로 유리당 및 에탄올 검출은 RID detector(RID-10A, Shimadzu Co., Kyoto, Japan)를 사용하였다. 분리된 유기산, 유리당 및 에탄올의 각 peak은 동일조건에서 분석한 표준물질 mixture의 peak 면적비와 머무름 시간을 비교하여 함량을 산출하였다.

2.5. 커피주 초산 발효물의 기능성 평가

2.5.1. 항산화 활성

ABTS radical scavenging activity(ABTS assay)는 Grandois 등(2017)의 방법을 이용하여 측정하였다. 96 well plate에 시료 10 µL와 50 µM ABTS 라디칼 용액 200 µL를 첨가하여 암실에서 15분 반응하였다. 반응액은 microplate reader를 이용하여 흡광도(파장 414 nm)를 측정하였다. ABTS assay는 시료 1 mL당 항산화 활성이 50%에 이르는 시료의 희석배율(dilution factor, DF)을 IC₅₀으로 산출하여 양성대조구인 Trolox의 IC₅₀ (µg/mL)과 비교하였다.

DPPH radical scavenging activity(DPPH assay)는 Magalhães 등(2006)의 방법을 변형하여 측정하였다. 96 well plate에 시료 50 µL와 150 µM DPPH radical 용액 200 µL를 첨가하여 암실에서 20분 반응하였다. 반응액은 microplate reader를 이용하여 흡광도(파장 517 nm)를 측정하였다. DPPH assay는 시료 1

mL당 항산화 활성이 50%에 이르는 시료의 희석배율(DF)을 IC_{50} 으로 산출하여 양성대조구인 Trolox의 $IC_{50}(\mu\text{g/mL})$ 과 비교하였다.

2.5.2. 항비만 활성

2.5.2.1. Pancreatic lipase 저해활성

Lipase inhibition activity는 Dechakhamphu와 Wongchum (2015)의 방법을 변형하여 측정하였다. 효소액은 1 mM EDTA가 포함된 0.01 M MOPS buffer(pH 6.8)에 pancreatic lipase (100 unit/mL)를 1 mg/mL로 용해하였다. 기질 용액은 DMSO에 p -nitrophenol butyrate(p -NPB)를 0.01 M로 용해하여 사용하였다. 96 well plate에 5 mM $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 가 포함된 0.1 M Tris-HCl buffer(pH 7.0) 100 μL , 시료 100 μL , 효소액 50 μL 및 기질 용액 10 μL 를 첨가하여 37°C 배양기에서 30분 반응하였다. 반응액은 microplate reader를 이용해서 흡광도(파장 405 nm)를 측정하였다. 시료 1 mL당 항비만 활성이 50%에 이르는 시료의 희석배율(DF)을 IC_{50} 으로 산출하여 양성대조구인 olistat의 $IC_{50}(\mu\text{g/mL})$ 과 비교하였다.

2.5.3. 항균 활성

항균 활성은 Shon 등(2008)의 방법을 이용하였다. Nutrient broth(NB) 1 mL에 식중독 유발균을 접종하여 진탕배양(200 rpm, 37°C, 10시간)하였다. 균주 배양액은 NB를 이용해 흡광도(파장 600 nm)를 0.20으로 조절한 다음 50 μL 를 멸균 면봉으로 nutrient agar(NA)에 도말하였다. 각 균이 도말된 NA의 표면에 6 mm paper disc(ADVANTEC Co., Ltd, Tokyo, Japan)를 얹고 그 위에 시료를 20 μL 를 점적하여 정치배양(37°C, 18시간) 하였다. 항균 활성은 paper disc 주위로 형성된 투명한 직경(clear zone diameter, mm)을 측정하였다.

2.6. 통계처리

각 실험은 3회 반복하여 얻은 결과를 SPSS package program

(Ver. 12.0K, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 평균과 표준편차로 나타내었다. 각 시료 간의 유의성은 one-way ANOVA로 분산 분석한 후에 Duncan's multiple range test로 비교하였다($p < 0.05$).

3. 결과 및 고찰

3.1. 발효 커피 원두 추출의 에탄올 농도 영향

에탄올 농도에 따른 발효 커피 원두 추출물의 총페놀성 화합물(TPC), 클로로겐산 및 카페인의 함량은 원두 1g 당 함량으로 환산하여 비교하였으며 Table 1과 같다. TPC 함량은 에탄올 농도의 증가에 따라 50%까지 증가하여 50% 에탄올 추출물에서 41.56 mg GAE/g으로 가장 높았으며, 50% 이후 농도에서 감소하는 경향을 보였다. 커피에 함유된 페놀성 화합물은 mono-caffeoylquinic acid type인 chlorogenic acid(3-O-caffeoylquinic acid, 3-CQA), neochlorogenic acid(5-O-caffeoylquinic acid, 5-CQA), cryptochlorogenic acid(4-O-caffeoylquinic acid, 4-CQA)가 보고되고 있다(Kwon, 2020). 에탄올 농도에 따른 발효 커피 원두의 클로로겐산(3-CQA) 및 네오클로로겐산(5-CQA)의 함량은 3.38-10.74 mg/g 및 0.03-2.43 mg/g으로 분석되었다. 발효 커피 원두에 함유된 클로로겐산(3-CQA)의 함량은 50% 에탄올 농도에서 추출되었을 때 10.74 mg/g으로 가장 높았다. 또한 50% 에탄올 추출물에서 네오클로로겐산(4-CQA) 함량은 2.46 mg/g, 카페인(cafeine) 함량은 11.96 mg/g으로 분석되었다. 커피의 생리활성 성분이라고 할 수 있는 클로로겐산 및 카페인의 함량은 추출 방법 및 품종에 따라 압출식의 경우 각각 클로로겐산은 5.17-69.78 mg/mL, 카페인은 74.38-139.3 mg/mL 수준이었으며(Kim 등, 2013), 콜드블루의 경우 클로로겐산은 4.29 mg/g, 카페인은 14.78 mg/g(Park, 2020)으로 압출식이 높은 경향으로 보고되었다. 본 연구에 사용된 콜롬비아산 발효 생두는 유산균의 증식을 위한 생두를 증숙하는 과정에서 열처리 조건이 추가되어 일반 생두에 비해 생리활성 성분이 적은 수준

Table 1. Contents of total phenolic compounds, chlorogenic acid, neochlorogenic acid, and caffeine in coffee extracts with different ethanol concentrations

Components	Ethanol concentration (% v/v)				
	0	25	50	75	100
Total phenolic compound (mg GAE ¹⁾ /g)	27.82±0.20 ^{2b3)}	32.59±0.60 ^d	41.56±0.31 ^c	30.91±0.55 ^c	5.48±0.28 ^a
Chlorogenic acid (mg/g)	10.21±0.14 ^c	10.43±0.11 ^c	10.74±0.16 ^d	9.11±0.10 ^b	3.38±0.35 ^a
Neochlorogenic acid (mg/g)	2.45±0.02 ^c	2.46±0.02 ^c	2.43±0.03 ^c	2.06±0.02 ^b	0.03±0.02 ^a
Caffeine (mg/g)	10.38±0.04 ^b	11.31±0.04 ^c	11.96±0.02 ^d	11.93±0.07 ^d	3.47±0.04 ^a

¹⁾GAE is gallic acid equivalent and it's unit is mg of gallic acid in 1 g sample.

²⁾Values are mean±SD (n=3).

³⁾Different superscript letters (^{a-d}) in the same row indicate significant differences according to Duncan's multiple range test ($p < 0.05$).

이었다. 따라서, 이들 유산균 발효 생두를 로스팅 후 압출식으로 추출하였을 때, 생리활성성분의 함량은 더 높을 수는 있으나 추출이후 성분의 열변성이 더 가속화될 가능성이 있다. 따라서, 본 연구에서 사용된 에탄올을 이용한 상온 추출법은 유산균 발효 원두 생리활성성분의 열변성을 최소화하면서 함량을 고품량으로 추출하기 위해 실시되었고, 이와 같은 목적으로 에탄올 50%(v/v)를 추출용매로 사용하였을 때, 클로로겐산 및 카페인의 함량이 다른 농도에 비해 가장 높았기 때문에 50% 에탄올을 발효커피원두의 추출용매로 선택하였다.

3.2. 커피주 초산 발효물의 품질 특성

3.2.1. 생균 수 및 이화학적 특성

커피 농축액(CE) 첨가량별로 제조된 커피주(CE1, CE2, CE3, CE4)에 종초를 20%(v/v) 첨가하여 초산 발효를 진행하면서 발효 시간에 따른 생균 수 및 이화학적 특성을 분석하였다(Table 2).

커피주(CE1, CE2, CE3, CE4)의 초산 발효물을 각각 커피 식초(coffee vinegar with coffee extract, CVCE)로 하여 CE 첨가량별로 각각 CVCE1, CVCE2, CVCE3, CVCE4라 구분하였다. 커피 식초의 수용성 고형분은 발효 0일 12.60-13.30 °Brix 이고 발효 30일 12.90-13.05 °Brix였다. 커피 식초의 pH는 발효 0일 pH 4.16-4.21에서 발효 10일에 pH 3.50-3.93으로 감소하고, 30일에 이르러 pH 2.99-3.38로 감소하였다. 총산도는 발효 0일 0.36%에서 발효 10일 0.73-2.79%로 증가하고 발효 30일에 2.67-6.79%에 도달하였다. 발효 30일이 지났을 때, CVCE1-3까지는 총산도가 6.30-6.79%로 식품공전의 식초의 총산 4-20% 규격에 적합한 식초로 확인되었으나, CVCE4는 총산도가 2.67%로 규격 미달로 분석되었다. 커피주 초산 발효물의 생균수 변화는 발효 0일 6.53-6.96 log CFU/mL에서 발효 10일에는 4.50-7.33 log CFU/mL로 농축액의 첨가량에 따라 초산균의 생균수가 차이가 있었으며, 발효 20일까지 4.02-6.18 log CFU/mL로 초산균의 생육이 확인되었으나, 발효 30일 경과 후는 초산

Table 2. Viable cell counts and physicochemical properties of fermented product by acetic acid bacteria with different concentration of coffee extracts for 30 days

Content			Fermentation time (day)			
			0	10	20	30
Viable cell counts (log CFU/mL)		CVCE1 ¹⁾	6.71±0.01 ^{2)ba3)}	7.33±0.01 ^{cB}	6.14±0.24 ^{aB}	ND ⁵⁾
		CVCE2	6.53±0.02 ^{bA}	7.21±0.05 ^{cB}	6.13±0.09 ^{aB}	ND
		CVCE3	6.96±0.06 ^{dB}	5.26±0.37 ^{bA}	6.18±0.23 ^{cB}	2.31±0.86 ^a
		CVCE4	6.62±0.09 ^{bA}	4.50±0.71 ^{aA}	4.02±1.06 ^{aA}	ND
Physicochemical properties	Soluble solid (°Brix)	CVCE1	12.60±0.00 ^{bA}	12.50±0.00 ^{aAB}	12.50±0.00 ^{aAB}	12.90±0.00 ^{cA}
		CVCE2	12.70±0.00 ^{bB}	12.45±0.07 ^{aA}	12.45±0.07 ^{aA}	13.10±0.00 ^{cAB}
		CVCE3	12.90±0.00 ^{aC}	12.70±0.14 ^{aB}	12.70±0.14 ^{aB}	13.30±0.14 ^{bB}
		CVCE4	13.30±0.00 ^{aCD}	13.05±0.07 ^{aC}	13.10±0.00 ^{abC}	13.05±0.07 ^{aA}
	pH	CVCE1	4.21±0.00 ^{dD}	3.36±0.08 ^{cA}	3.08±0.01 ^{abA}	2.99±0.02 ^{abA}
		CVCE2	4.18±0.00 ^{cC}	3.50±0.11 ^{bAB}	3.08±0.06 ^{aA}	2.98±0.01 ^{aA}
		CVCE3	4.17±0.00 ^{dB}	3.72±0.15 ^{cBC}	3.18±0.07 ^{abA}	3.03±0.04 ^{aA}
		CVCE4	4.16±0.00 ^{cA}	3.93±0.05 ^{bD}	3.39±0.01 ^{aB}	3.38±0.01 ^{aB}
	Total acidity (%)	CVCE1	0.36±0.00 ^{aA}	2.79±0.00 ^{bD}	6.00±0.03 ^{cD}	6.73±0.00 ^{dC}
		CVCE2	0.36±0.00 ^{aA}	2.06±0.00 ^{bC}	5.28±0.05 ^{cC}	6.79±0.17 ^{dC}
		CVCE3	0.36±0.00 ^{aA}	1.34±0.14 ^{bB}	4.00±0.17 ^{cB}	6.30±0.17 ^{dB}
		CVCE4	0.36±0.00 ^{aA}	0.73±0.17 ^{bA}	2.55±0.00 ^{cA}	2.67±0.00 ^{cA}

¹⁾CVCE1, coffee vinegar with 7% of coffee extracts; CVCE2, coffee vinegar with 8% of coffee extracts; CVCE3, coffee vinegar with 9% of coffee extracts; CVCE4, coffee vinegar with 10% of coffee extracts.

²⁾Values are mean±SD (n=3).

³⁾Different superscript letters (^{a-d}) in the same row indicate significant differences according to Duncan's multiple range test (p<0.05).

⁴⁾Different superscript letters (^{A-D}) in the same column indicate significant differences according to Duncan's multiple range test (p<0.05).

⁵⁾ND, not detected.

균은 대부분 사멸하는 경향으로 분석되었다. CVCE3의 경우 발효 30일 경과까지 초산균의 생균 수가 2.31 log CFU/mL로 잔존하고 있고, 총산도가 6.30%로 CVCE1 및 CVCE2보다 초산 발효가 지연되고 있음을 보였다. CVCE4는 균의 생육이 저해되어 총산도의 증가가 중단된 것으로 추정되었다. 본 연구에서는 에탄올 용매를 이용해 커피의 유용성분을 추출하고 커피 농축액의 첨가량을 달리하였을 때 초산균의 생육에 미치는 영향과 그에 따른 총산도의 변화가 식초의 규격에 도달하는 한계 농도를 파악하기 위해서 실시되었다. 따라서, 커피 농축액의 첨가농도가 커피 식초의 제조에 적합한 정도는 7-9% 수준으로 6.30-6.79%의 초산이 생성되는 것으로 분석되었으며, 10%의 첨가량에서는 초산균의 생육 저해가 일어나 총산도의 함량이 미달되는 경향을 보였다.

3.2.2. 유기산, 유리당 및 에탄올 함량 변화

커피 식초(CVCE1, CVCE2, CVCE3, CVCE4)의 유기산, 유리당 및 에탄올의 함량은 발효 전(발효 0일)과 발효 후(발효 30일) 시료 100 mL 당 중량(g)을 백분율로 환산하여 Table 3에 나타내었다. 유기산 분석에서는 초산만 확인되어 초산 함량이 발효 0일 0.26-0.36%(w/v)에서 발효 30일 2.72-6.88%(w/v)로 증가하였다. 유리당은 발효 0일 7.88-7.93%(w/v)에서 발효 30일 8.05-8.36%(w/v)로 소량 증가하는 경향을 보였다. 에탄올 함량은 발효 0일 7.24-7.36%에서 발효 30일에 0.04-3.29%로 감소하였다. 이와 같은 경향은 CVCE4를 제외한 커피주의 초산 발효가 주로 에탄올의 산화에 의해 진행되었으며, 첨가된 포도당은 초산 발효 시 거의 이용되지 않거나 초산 발효 중 커피 농축액에 함유된 다당류로부터 분해된 당류가 유입되어 발효 30일이 지난 후 소량 증가한 것으로 추정된다. CVCE4는 발효 30일에도 에탄올이 3.29% 잔류하는 것으로 분석되었고, Table

2의 생균수와 총산도 함량 결과로부터 초산균의 생육 저해에 의한 에탄올로부터 초산의 생산이 원활하지 않았던 것으로 판단된다.

3.3. 커피주 초산 발효물의 기능성

3.3.1. 항산화 활성

커피 식초(CVCE1-CVCE4)의 항산화 활성은 발효 전(발효 0일)과 발효 후(발효 30일) 시료에 대해 ABTS와 DPPH의 라디칼 소거능을 50% 저해하는 희석배수를 IC₅₀ 값으로 정의하여 비교하였다(Table 4). 발효 0일의 ABTS 라디칼 소거능의 IC₅₀ 값은 18.88-55.30 dilution factor(DF)로 커피 추출 농축액의 첨가량 증가에 따라 유의적으로 증가하였다. 발효 30일의 ABTS 소거능의 IC₅₀ 값은 16.49-43.57 DF로 초산 발효물의 IC₅₀ 값이 감소하여 활성이 감소하는 경향으로 나타났다. DPPH 라디칼 소거능 또한 발효 0일 차 IC₅₀ 값이 50.18-73.82 DF로 커피 농축액의 첨가량 증가에 따라 유의적으로 증가하였으나, 발효 30일 차 초산 발효물의 IC₅₀ 값은 35.09-66.93 DF로 감소하여 활성이 감소하는 경향을 보였다. 한편, 커피 식초의 발효 0일차의 TPC 함량은 1.64-2.31 mg GAE/g이었으나 발효 30일 차의 함량이 전반적으로 감소하여 1.55-2.21 mg GAE/g으로 감소폭이 가장 큰 것은 CVCE3로 확인되었다(Table 4). 즉, 초산발효 과정은 에탄올의 산화에 의해 생성되며, 산소의 존재하에 진탕 조건에서 실시되기 때문에 페놀성 화합물의 함량은 감소할 것으로 예상된다. Kim 등(2013)에 따르면 이들 페놀성 화합물은 항산화 활성의 원인 물질로 라디칼 소거 활성에 영향을 준다고 보고하였으며, 커피주에 함유된 페놀성 화합물은 초산 발효후 감소하였고, 이들의 감소가 최종 커피식초의 항산화 활성의 감소에 영향을 준 것으로 판단된다.

Table 3. Organic acid, free sugar and ethanol contents of fermented product by acetic acid bacteria with different concentration of coffee extracts after 30 days

Components		Fermentation time (day)	Sample			
			CVCE1 ¹⁾	CVCE2	CVCE3	CVCE4
Organic acid (% w/v)	Acetic acid	0	0.26±0.02 ^{2)a3)}	0.35±0.01 ^a	0.36±0.00 ^a	0.34±0.11 ^a
		30	6.75±0.01 ^c	6.88±0.05 ^c	6.45±0.08 ^b	2.72±0.08 ^a
Free sugar (% w/v)	Glucose	0	7.89±0.01 ^a	7.88±0.00 ^a	7.93±0.01 ^b	7.89±0.02 ^a
		30	8.05±0.01 ^a	8.12±0.09 ^a	8.30±0.00 ^b	8.36±0.02 ^b
Ethanol (% v/v)		0	7.24±0.01 ^a	7.25±0.01 ^a	7.28±0.04 ^{ab}	7.36±0.04 ^b
		30	0.04±0.00 ^a	0.04±0.00 ^a	0.04±0.00 ^a	3.29±0.00 ^b

¹⁾CVCE1, coffee vinegar with 7% of coffee extracts; CVCE2, coffee vinegar with 8% of coffee extracts; CVCE3, coffee vinegar with 9% of coffee extracts; CVCE4, coffee vinegar with 10% of coffee extracts.

²⁾Values are mean±SD (n=3).

³⁾Different superscript letters (^{a-c}) in the same row indicate significant differences according to Duncan's multiple range test (p<0.05).

Table 4. Antioxidant activity and lipase inhibition activity of fermented product by acetic acid bacteria with different concentration of coffee extracts after 30 days

Components		Fermentation time (day)	Sample			
			CVCE1 ¹⁾	CVCE2	CVCE3	CVCE4
Antioxidant activity (IC ₅₀ ⁴⁾ , Dilution factor)	ABTS	0	18.88±0.61 ^{2a3)}	38.90±0.33 ^b	50.30±0.15 ^c	55.30±0.42 ^d
		30	16.49±1.62 ^a	34.35±0.33 ^b	41.89±0.82 ^c	43.57±0.23 ^d
	DPPH	0	50.18±1.24 ^a	57.27±1.10 ^b	66.19±1.21 ^c	73.82±1.47 ^d
		30	35.09±1.90 ^a	44.90±1.14 ^b	53.59±1.01 ^c	66.93±1.16 ^d
Total phenolic contents (mg GAE ⁵⁾ /g)		0	1.64±0.08 ^a	1.76±0.06 ^b	2.02±0.06 ^c	2.31±0.04 ^d
		30	1.55±0.03 ^a	1.73±0.07 ^b	1.86±0.02 ^c	2.21±0.01 ^d
Pancreatic lipase inhibition activity (IC ₅₀ , Dilution factor)		0	12.68±0.08 ^c	14.59±0.08 ^d	14.70±0.07 ^d	16.56±0.17 ^b
		30	333.73±9.16 ^b	362.48±0.46 ^d	334.38±7.42 ^c	126.94±0.67 ^a

¹⁾CVCE1, coffee vinegar with 7% of coffee extracts; CVCE2, coffee vinegar with 8% of coffee extracts; CVCE3, coffee vinegar with 9% of coffee extracts; CVCE4, coffee vinegar with 10% of coffee extracts.

²⁾Values are mean±SD (n=3).

³⁾Different superscript letters (^{a-d}) in the same row indicate significant differences according to Duncan's multiple test (p<0.05).

⁴⁾IC₅₀ value is expressed as the effective dilution factor (DF) at which ABTS, DPPH radical scavenging assay, and pancreatic lipase inhibition activity were decreased by 50%. The positive control of ABTS and DPPH radical scavenging activities is Trolox (54.47 µg/mL and 18.30 µg/mL at IC₅₀), and its pancreatic lipase inhibition activity is orlistat (34.63 ng/mL at IC₅₀).

⁵⁾GAE is gallic acid equivalent and its unit is mg of gallic acid in 1 g sample.

3.3.2. 항비만 활성

커피주 초산 발효물(CVCE1-CVCE4)의 항비만 활성은 췌장 라이페이스의 저해 활성을 발효 전(0일) 발효 후(30일)에 대해 커피 농축액의 첨가량을 달리하여 비교하였고, 커피주 초산 발효물이 효소의 활성을 50% 저해하는 희석배수를 IC₅₀ 값을 Table 4에 나타내었다. 커피 식초의 췌장 라이페이스 저해 활성을 IC₅₀ 값으로 비교하였을 때, 발효 0일 12.68-16.56 DF에서 발효 30일 126.94-362.48 DF로 초산 발효물의 효소 저해 활성이 7.67-26.32 DF로 증가하였다. 양성대조군으로 사용된 orlistat은 췌장 라이페이스의 효소에 지질과 경쟁적으로 반응해 지질의 가수분해를 억제하여 지질의 흡수 및 축적을 억제하는 효과를 가지지만, 장기 섭취시 두통과 위장장애 등 부작용을 유발한다고 알려져 있다(Liu 등, 2020). 본 연구에 사용된 orlistat의 IC₅₀ 값은 라이페이스의 저해 정도를 파악하기 위한 reference로 사용되었고, 커피 농축액의 첨가량 증가에 따라 커피 식초의 라이페이스 저해 활성은 발효 0일에 비해 발효 30일에서 7.66-28.59배 증가하는 것으로 분석되었다. 폴리페놀은 췌장 라이페이스의 효소활성을 지질과 비경쟁적인 반응으로 저해하며, 초산은 라이페이스의 활성을 저해하여 지질의 가수분해를 억제하게 하여 항비만 효능이 있다고 보고된다(Chen 등, 2017; Jang 등, 2021; Ryu 등, 2017). 커피 식초는 커피 농축액의 첨가에 따라 커피 폴리페놀이 함유되어 있고, 초산 발효에 따라 생성된 초산의 존재하에 라이페이스의 저해활성이 일어난 것으로 판단된다. 특히, 췌장 라이페이스의 저해활성이 가장 우수

했던 CVCE2의 경우, 발효 30일 차의 총산도가 6.79%로 가장 높고(Table 2), 초산의 함량이 6.88%(Table 3)로 총산도 증가의 주요 유기산으로 확인되었으며, TPC의 함량 감소가 0.03 mg GAE/g(Table 4)으로 상대적으로 가장 적었기 때문에 이와 같은 요인이 항비만 활성에 기인한 것으로 판단된다.

3.3.3. 항균 활성

커피 식초(CVCE1-CVCE4)의 항균 활성은 식품 유해균의 생육 저해능을 발효 전(0일) 발효 후(30일)에 대해 농축액의 첨가량을 달리하여 투명환의 직경의 크기(mm)를 비교하여 Table 5에 나타내었다. 발효 0일 차의 커피 식초는 Table 3에서 분석된 자료를 참조하였을 경우, 초산의 함량이 0.26-0.34%(w/v)로 20% 중초 첨가에 의해 초산이 함유되었음에도 항균 활성이 나타나지 않았다. 반면, 초산의 농도가 2.72-6.75%(w/v)인 발효 30일 차 커피 식초는 *B. cereus* KACC 10097에서 20.33-26.83 mm, *L. monocytogenes* KCCM 43155에서 18.47-26.39 mm, *S. aureus* KACC 1927에서 22.04-30.93 mm, *E. coli* KACC 10115에서 29.13-38.02 mm, *S. typhimurium* KCTC 1126에서 18.82-27.63 mm로 식품 유해균 저해환이 형성되었다. 식초에 함유된 초산의 항균작용은 세균의 세포 내 pH 저하에 의한 전자전달계의 영향과 세포벽 및 세포막 손상에 의한 것으로 보고되는데, 커피 식초의 항균 활성은 초산 발효에 의한 초산의 함량증가가 식품유래 유해세균의 증식 억제에 효과가 있을 것으로 기대된다(Jang 등, 2021; Woo 등, 2004).

Table 5. Anti-microbial activity of fermented product by acetic acid bacteria with different concentration of coffee extracts after 30 days

Clear zone diameter (mm)		Fermentation time (day)	Sample			
			CVCE1 ¹⁾	CVCE2	CVCE3	CVCE4
Food borne pathogen strains	<i>B. cereus</i> (KACC 10097)	0	ND ²⁾	ND	ND	ND
		30	26.83±2.16 ^{3) b4)}	26.50±0.35 ^b	26.68±0.79 ^b	20.33±0.85 ^a
	<i>L. monocytogenes</i> (KCCM 43155)	0	ND	ND	ND	ND
		30	25.20±0.42 ^b	26.39±0.23 ^c	24.75±0.40 ^b	18.47±0.90 ^a
	<i>S. aureus</i> (KACC 1927)	0	ND	ND	ND	ND
		30	30.26±0.17 ^b	30.86±0.34 ^b	30.93±0.43 ^b	22.04±0.83 ^a
	<i>E. coli</i> (KACC 10115)	0	ND	ND	ND	ND
		30	38.02±0.57 ^b	37.99±0.44 ^b	29.35±0.63 ^a	29.13±0.80 ^a
	<i>S. typhimurium</i> (KCTC 1126)	0	ND	ND	ND	ND
		30	27.13±1.13 ^b	27.63±0.28 ^b	27.18±0.40 ^b	18.82±0.86 ^a

¹⁾CVCE1, coffee vinegar with 7% of coffee extracts; CVCE2, coffee vinegar with 8% of coffee extracts; CVCE3, coffee vinegar with 9% of coffee extracts; CVCE4, coffee vinegar with 10% of coffee extracts.

²⁾ND, not detected.

³⁾Values are mean±SD (n=3).

⁴⁾Different superscript letters (^{a-c}) in the same row indicate significant differences according to Duncan's multiple test (p<0.05).

4. 요약

콜롬비아산 커피 생두를 유산균 발효한 후 로스팅한 발효 커피 원두를 이용하여 커피의 유효성분(카페인, 클로로젠산)을 고 함량으로 추출할 수 있는 에탄올 추출농도를 선정하였고, 50% 에탄올 용액을 추출 용매로 하였다. 에탄올 커피 추출물을 농축 하여 7-10%를 첨가한 커피주를 제조하고 초산균 종초를 20% (v/v) 첨가하여 초산 발효를 진행하였다. 발효 기간 10일 간격으로 생균 수, 이화학적 특성(수용성 고형분 함량, pH 및 총산도), 유기산, 유리당 및 에탄올 함량을 분석하였다. 생균 수는 접종 초기 6.53-6.96 log CFU/mL에서 발효 10일 차에서 7.33 log CFU/mL로 최대이었으며, 30일 경과 후 균이 확인되지 않아 발효를 완료하였다. 발효 30일 차의 커피주 발효물의 총산도는 CVCE2(8%)에서 6.79%로 가장 높았고, 유기산, 유리당은 각각 초산 6.88%(w/v), 포도당 8.12%(w/v)이었으며, 에탄올은 검출되지 않았다. 커피주 초산 발효물의 항산화 활성은 CVCE4(10%)에서, 항비만 효능은 CVCE2(8%)에서 가장 높았으며, 식품 유해균 6종에 대한 항균 활성은 발효 전의 커피주에서는 활성이 없었으나 초산 발효 후 활성이 증가하였다. 커피 농축액의 첨가량에 따라 CVCE3(9%)까지 초산균의 생육 및 초산 생성능이 증가하였으나 CVCE4(10%)의 경우 저해됨이 나타났다. 커피 농축액을 함유한 커피주의 초산 발효물은 커피 생리활성성분인 클로로젠산을 함유하여 항산화 활성을 보유하였으나, 항산화 활성이 초산 발효로 감소하는 경향을 보였다. 본 연구는 에탄올 추출 시 발효 커피의 생리 활성 성분을 최대

한 함유한 커피 농축액을 제조하고 이를 이용한 커피주 초산 발효물의 항산화, 항비만, 항균 활성을 평가하였으며, 발효 커피의 기능성 증진의 연구자료로 활용될 것으로 기대된다.

Funding

None.

Acknowledgements

None.

Conflict of interests

The authors declare no potential conflicts of interest.

Author contributions

Conceptualization: Oh HH, Jun HI, Song GS. Methodology: You SY, Oh HH, Jang SW. Formal analysis: You SY, Oh HH, Jang SW. Validation: Oh HH, Jun HI, Song GS. Writing - original draft: You SY, Oh HH. Writing - review & editing: Oh HH, Jun HI, Song GS.

Ethics approval

This article does not require IRB/IACUC approval because there are no human and animal participants.

ORCID

Seo-Yeon You (First author)

<https://orcid.org/0009-0005-4219-1364>

Hyeon Hwa Oh

<https://orcid.org/0009-0005-9612-5469>

Hyun-Il Jun

<https://orcid.org/0009-0003-3044-1683>

So-Won Jang

<https://orcid.org/0000-0003-2820-5692>

Geun-Seoup Song (Corresponding author)

<https://orcid.org/0000-0003-4035-691X>

References

- Chen T, Li Y, Zhang L. Nine different chemical species and action mechanisms of pancreatic lipase ligands screened out from *Forsythia suspensa* leaves all at one time. *Molecules*, 22, 795 (2017)
- Dechakhamphu A, Wongchum N. Screening for anti-pancreatic lipase properties of 28 traditional Thai medicinal herbs. *Asian Pac J Trop Biomed*, 5, 1042-1045 (2015)
- Gang DH. A study on the chemical properties and antioxidant activity of coffee using *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus plantarum* as starters. MS Thesis, Kangwon National University, Korea, p 2-4 (2023)
- Grandois JL, Guffond D, Hamon E, Marchioni E, Werner D. Combined microplate-ABTS and HPLC-ABTS analysis of tomato and pepper extracts reveals synergetic and antagonist effects of their lipophilic antioxidative components. *Food Chem*, 223, 62-71 (2017)
- ISO. Determination of substances characteristic of green and black tea-part 1: Content of total polyphenols in tea – Colorimetric method using Folin-Ciocalteu reagent. International Organization for Standardization. Geneva. Switzerland, p 1-8 (2005)
- Jang SW, Jun HI, OH HW, Jeong DY, Song GS. Quality characteristics of aronia vinegar imparted by varying concentrations of seed vinegar. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 50, 522-530 (2021)
- Kim DH, Yeon SJ, Jang KI. Quality characteristics and antioxidant activity of espresso coffee prepared with green bean fermented by lactic acid bacteria. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 45, 1799-1807 (2016)
- Kim JA. Variation of caffeine content in roasted coffee (*Coffea arabica* L.) as affected by extraction conditions extraction time, temperature, and volume. MS Thesis, Seoul Venture University, Korea, p 26-27 (2014)
- Kim JS. Last Year (2022) Coffee (Green Bean+Bean) Import the Greatest Ever. Report of Korea Customs Service (2023)
- Kim MJ, Park JE, Lee JH, Choi NR, Hong MH, Pho YH. Antioxidant capacity and bioactive composition of a single serving size of regular coffee varieties commercially available in Korea. *Korean J Food Sci Technol*, 45, 299-304 (2013)
- Kim SA, Chung SW, An HJ, Lim CK, Jeon MK, Jang YJ. Changes in morphology, total polyphenols, caffeine, and chlorogenic acid in beans of arabica coffee (*Coffea arabica*) during roasting. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 51, 344-351 (2022)
- Kim YS, Song GS. Characteristics of kiwifruit-added traditional *kochujang*. *Korean J Food Sci Technol*, 34, 1091-1097 (2002)
- Korea Customs Service. Last year('22) coffee (green bean+bean) import the greatest ever. Available from: <https://www.korea.kr/briefing/pressReleaseView.do?newsId=156549917>. Accessed Jan. 31, 2023.
- Kung HC, Huang BW, Cheruiyot NK, Lee KL, Chang-Chien GP. Insights into acrylamide and furanic compounds in coffee with a focus on roasting methods and additives. *Food Res Int*, 192, 114800 (2024)
- Kwon SS. The study on the biological activities and the development for the food material in *Coffea arabica* and *Coffea canephora*. Ph D Thesis, Kangwon National University, Korea, p 18 (2020)
- Liu TT, Liu XT, Chen QX, Shi Y. Lipase inhibitors for obesity: A review. *Biomed Pharmacother*, 128, 110314 (2020)
- Magalhães LM, Segundo MA, Reis S, Lima JLFC. Automatic method for determination of total antioxidant capacity using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl assay. *Anal Chim Acta*, 558, 310-318 (2006)
- Nabavi SM, Daglia M, Sureda A. Dietary polyphenols: Well beyond the antioxidant capacity. *Curr Pharm Biotechnol*, 15, 297 (2014)
- Park BY, Choi JW, Kim SH, Yun YR, Lee YR, Lee YM, Jung JH. Antioxidant activity of premature mandarin vinegar according to harvest period and raw material conditions. *Korean J Food Sci Technol*, 52, 333-341 (2020)
- Park JJ, Hong KB, Park SS. Research trends on the quality characteristics of coffee based on coffee bean processing. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 53, 115-126 (2024)
- Ryu EA, Choi JH, Seong GU, Chung SK. Isolation of polyphenol compounds from *Ganoderma lucideum* and pancreatic lipase inhibitory activities. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 49, 28-34 (2020)
- Shin BK, Koo NG, Lee YJ, Lee MS, Mun GC, Kim HJ, Lee YT. Physicochemical properties and bioactive compounds of coffee extracts prepared by partial substitution with wheat and barley grass. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 52, 509-515 (2023)
- Shin MN. The effect of water penetration on fermentation and roasting of coffee green bean. *The Journal of Korea Coffee & Culture Study*, 4, 51-62 (2018)

Sohn HY, Ryu HY, Jang HS, Park YM, Kim SY. Evaluation of antimicrobial, antithrombin, and antioxidant activity of aerial part of *Saxifraga stolonifera*. J Microbiol Biotechnol, 36, 195-200 (2008)

Woo SM, Jang SY, Kim OM, Youn KS, Jeong YJ. Antimicrobial

effects of vinegar on the harmful food-born organisms. Korean J Food Preserv, 11, 117-121 (2004)

Yeon SJ. Quality characteristics and antioxidant activities of fermented coffee with lactic acid bacteria. MS Thesis, Chungbuk University, Korea, p 18 (2015)