

배전시간에 따른 커피 추출물의 항균 및 항산화 효과

김지영 · 한영숙[†]

성신여자대학교 식품영양학과

Influence of Roasting Time on Antibacterial and Antioxidative Effects of Coffee Extract

Ji-Young Kim and Young-Sook Han[†]

Department of Food & Nutrition, Sungshin Women's University

Abstract

The influence of roasting time on antibacterial and antioxidative effects of methanol and water coffee extracts was investigated. Extract yield differed with roasting time. The maximum yield of methanol extract was 20.02% and 24.00% at respective roasting times of 12 and 20 min. The maximum yield of water extracts was 2.70% and 18.58% at 5 and 25 min roasting time, respectively. Antibacterial effects of each extract were determined by the classical minimal inhibitory concentration (MIC) paper disc diffusion method. Methanol extracts of different coffee samples inhibited growth of various strains except *Escherichia coli*. Extracts obtained following roasting times of 12, 14, 16, 20, and 25 min in particular displayed the most potent activity against *Staphylococcus aureus*. Among these extracts, that obtained from 12 min roasted coffee samples produced a MIC of 16.125 µg/mL against *S. aureus*. Water extracts applied at 1,000 µg/mL were growth inhibitory except against *Salmonella choleraesuis* and *Prevotella intermedia*. However, growth inhibition by water extracts was weak, with inhibitory zones of only 6-8 mm diameter produced. Determinations of free radical elimination for the different coffee extracts using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl were compared with ascorbic acid and butylated hydroxytoluene positive controls. Methanol and water extracts of different coffee samples (100 µg/mL) showed 67.1 ~ 92.3% and 66.4 ~ 93.3% radical scavenging activity, respectively. However, longer roasting time (especially >20 min) tended to somewhat lower free radical elimination using both extracts. Total phenol in different coffee samples measured by the Folin-Denis method revealed the highest level of phenol contents with non-roasted coffee, whereas phenol content differed with different roasting time, ranging from 87.6 ~ 126.5 mg/g in methanol extracts. In water extracts, the phenol content was maximum at 8 min roasting time, whereas in other samples the content was varied from 95.0 ~ 199.1 mg/g.

Key words: coffee, roasting, antibacterial, antioxidative, extract

1. 서론

최근 생활수준의 향상과 더불어 다양한 음료에 대한 기능성 연구도 동시에 활발히 진행되고 있다. 특히 음료 중 전 세계적으로 가장 소비량이 높은 커피의 기능성에 대한 연구는 그 가치가 높다. 커피의 경우 다양한 방법을 통하여 그 생리활성적 효과를 증명하기 위한 연구가 진행되고 있다.

커피는 꼭두서니과(Rubiaceae) 코페아속(*Coffea*)에 속하

며, 상업적으로 재배하는 품종은 크게 아라비카(*Arabica*)와 로부스타(*Robusta-canephora*), 그리고 리베리카(*Liberica*) 3가지 품종으로 나뉜다(Smith AW 1985, Seo HS 2006). 그 중 향기와 맛이 좋아 최고의 품질로 인정 받고 있는 아라비카종은 에티오피아 원산으로서 해발 500~1,000 m의 높은 지대와 15~25°C의 온도에서 잘 자라고, 브라질·콜롬비아·멕시코·과테말라·에티오피아 등지에서 생산되며 전 세계 커피 생산량의 75%를 차지한다(Smith AW 1985, Belachew M 2003, Seo HS 2006). 이러한 커피는 쓴맛, 신맛, 단맛, 떫은 맛 등으로 다양하게 조화 되어 만들어지는 기호 음료로서 9세기경부터 에티오피아에서 재배되기 시작한 이래로 현재 전 세계적으로 1년에 6억잔이나 소비되며, 석유 다음으로 교역량이 많은 상품 가치가

[†]Corresponding author: Young-Sook Hahn, Department of Food & Nutrition, Sungshin Women's University
Tel: 02-920-7210
Fax: 02-921-3197
E-mail: yshan@sungshin.ac.kr

높은 음료이다(Smith AW 1985, Schilter B 등 2001). 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 구성되어 있다(Sivetz M 1963, Moon JW 1999). 그러나 이러한 구성성분은 배합, 배전, 분쇄, 추출 등의 공정을 거치게 되면서, 복합적인 물리, 화학적 변화를 가져오게 된다(Clarke RJ 1987). 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%으로 구성되어 있다(Reineccius G 1995).

커피의 항산화에 대한 연구로 다양한 음료에서 페놀 화합물의 함량을 측정된 결과 레드와인보다 커피의 페놀 함량이 높은 것으로 나타났다(Karakaya S 등 2001). 또한 자유기와 바이러스 감염의 해로운 활동을 막는 효과를 가지고 있다는 결과도 있으며(Namba T와 Matsuse T 2002), 커피의 섭취가 LDL의 산화에 대한 감수성을 줄임으로서 LDL-콜레스테롤과 MDA(Malondialdehyde)를 줄인다는 보고가 있다(Yukawa GS 등 2004). 둘째, 생리적인 효과에 대한 연구가 진행되어있다. 그 예로 알코올과 연관된 체장염의 위험을 감소시킨다는 보고가 있으며(Morton C 등 2004), 또한 노화유발과 천식 증세를 완화시킨다는 보고도 있다(Nakanishi N 등 2000, Schwartz J와 Weiss ST 1992). 셋째, 커피가 에너지 대사에 영향을 미친다는 보고도 있다. 오랜 기간 동안의 커피 섭취는 2형 당뇨병의 발병을 낮춘다는 보고가 있다(Salazar-Martinez E 등 2004). 넷째, 정신과 신경활성에 관한 연구로, 커피와 카페인의 섭취는 파킨슨병과 알츠하이머 질병의 발병을 낮추는데 연관이 있다는 보고도 있다(Lindsay J 등 2002, Abbott RD 등 2003, Heuser I 2003, Sabate 2003). 이렇게 다양한 커피의 생리활성 효과가 보고되어 있어 기능성 식품으로서의 커피의 가능성을 제시 하였으나 아직 구체적인 작용 기작에 대한 연구는 미비하다. 또한 커피의 항균성 효과에 대한 연구도 부족하여 추가적인 연구가 필요한 실정이다.

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, 항산화 효과를 DPPH 자유기 소거효과(DPPH scavenging effect)와 총 페놀화합물 함량(Total phenolic contents) 측정하였고, 동시에 커피 추출물을 식중독균(*Escherichia coli*, *Salmonella choleraesuis subsp. Choleraesuis*, *Staphylococcus aureus subsp. Aureus*), 충치균(*Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus mutans*), 구취균(*Porphyro-*

monas gingivalis, *Prevotella intermedia*)에 대하여 그 항균효과를 확인하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험재료

1) 커피(*Coffee arabica*)

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

2) 시약 및 기구

커피 추출용매로 methanol(Duksan, Korea)과 3차 증류수를 사용하였으며, 커피 추출물을 적절한 농도로 희석하는데 Dimethyl sulfoxide(DMSO, Yakuri pure chemical, Japan)를 사용하였다. Paper disc는 Whatman(England)사의 6.0 mm 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℃에서 24~48시간 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) 3가지 균주를 사용하였고, 충치 균주는 *Streptococcus sobrinus*

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	(-)		

(*Strep. sobrinus*, ATCC 27607), *Streptococcus mutans*(*Strep. mutans*, ATCC 25175) 2가지 균주를 사용하였으며, 구취 균주는 *Porphyromonas gingivalis*(*Porph. gingivalis*, ATCC 33277), *Prevotella intermedia*(*Pre. intermedia*, ATCC 25611) 2가지 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 incubator에서 24시간 배양하였다. Incubator의 습도는 항상 95% 이상으로 유지하였다(Table 1).

2. 실험방법

1) 커피 추출물 조제

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

2) 커피 추출물의 항균력 측정

세균에 대한 항균력을 측정하기 위하여 paper disc methods(Shin SM 등 2005)를 이용하였다. 각 균주 1백균이를 취하여 10 mL의 broth에 접종하고, 37°C에서 18시

간 동안 배양하여 활성화시켰다. 이 활성화 된 균주 100 µL를 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/disc의 농도로 각 추출물을 흡수 시켜 추출용매를 휘발시킨 후, 균주를 도말한 TSA 배지 표면 위에 놓아 37°C에서 24시간 동안 배양하였다. 그 후 disc 주위의 inhibition zone의 직경(mm)을 측정하였다. 대조군으로 DMSO를 같은 부피로 흡수 시켜 휘발시킨 disc를 사용하였다. 위 실험은 3회 반복하였다.

3) 커피의 최소저해농도(Minimum inhibitory concentration) 측정

7종의 균주에 대한 최소저해농도(MIC)는 broth micro-dilution method(Conner DE와 Beuchat LR 1984)에 의해 다음과 같이 결정하였다. 즉, well plate에 TSB를 100 µL씩 분주하고 100 µL의 추출물을 다양한 농도(2,000, 1,000, 500, 250, 125, 62.5, 31.25, 15.625 µg/well)가 되도록 two-fold dilution하여 준비한 다음 균의 농도를 2×10^5 c.f.u/mL이 되도록 희석시켜 100 µL씩 첨가하였다. 그 후 37°C에서 24시간 배양한 뒤, 650 nm에서 microplate reader(Biog Inc. U.S.A.)로 흡광도를 측정하였다. Turbidity가 나타나지 않은 well의 해당 시료 농도를 MIC 값으로 결정하였다. 위 실험은 3회 반복하였다.

4) DPPH 자유기 소거효과 측정

DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical scavenging method(Chu YH 등 2000)는 free radical을 갖는 안정한 화합물인 DPPH를 기질로서 항산화 활성을 측정하는 방법이다. DPPH 1 g을 메탄올 14.3 mL에 녹여 DPPH 용액을 만들었다. DPPH 용액 900 µL에 시료 100 µL를 넣어 시료의 농도가 0.1, 1, 10 및 100 µg/mL이 되게 하여 암실에서 30분간 반응 시킨 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각각의 시료는 모두 3회 측정하여 평균값을 구하였다. 대조군은 DPPH용액에 시료를 넣는 대신 메탄올을 넣어 실험하였고, blank는 DPPH용액과 시료 대신 메탄올을 넣어 실험하였다. 커피 추출물의 효과는 대조군에 비해 억제된 비율로 결과를 계산하였다. 양성대조군으로 ascorbic acid (AA)와 butylated hydroxytoluene (BHT) 0.1, 1, 10 및 100 µg/mL을 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

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

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

D : OD at 517 nm without test substance and DPPH

5) 총 페놀화합물 함량측정

총 페놀화합물 함량분석에 널리 사용되는 Folin-Denis method(A.O.A.C 1980)는 페놀성 물질이 phosphomolybdic acid와 반응하여 청색을 나타내는 현상을 이용한 것으로 다음과 같이 측정하였다. 커피 추출물에 100% 메탄올을 가하여 1 mg/mL로 만들어 페놀성 화합물 함량 측정용 시료로 사용하였다. 시료를 200 µL로 취하고 3차 증류수 1,800 µL를 혼합한 후 2 N Folin-Clocalteu's Phenol Reagent(SIGMA, F9252)을 0.2 N로 희석한 시약을 2 mL 혼합하여 섞어 준 후 3분간 방치 하였다. 이것에 10% Na₂CO₃ 2 mL를 혼합하여 섞어 60분 방치 후 분광광도계(SPECTRA max PLUS 384, MOLECULAR DEVICES, U.S.A.)로 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 분석은 각 시료 당 3회 반복 실시하였고, 측정된 흡광도는 gallic acid를 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 % gallic acid 당량으로 환산하였다.

3. 통계처리

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

III. 결과 및 고찰

1. 커피 추출물의 용매별 수율

시료를 100% 메탄올과 3차 증류수에 각각 1:10(w/v)의 비율로 혼합하여 75℃에서 3시간씩 2회 reflux하여 얻은 메탄올 추출물과 물 추출물의 수율은 Table 3과 같다. 0, 5, 8, 10, 12, 14, 16, 20, 25분 동안 배전한 커피의 메탄

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

Solvent	No. of samples	Yield (%. W/W) ^a
Methanol	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 (%) = (solid in extract gr/ raw material gr (dry weight)) × 100

올 추출물의 수율은 각각 21.18, 21.88, 20.88, 20.24, 20.02, 21.18, 22.88, 24.00, 20.82%를 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. 커피 추출물의 전반적인 수율을 확인한 결과, 메탄올 추출물이 물 추출물보다 수율이 높은 것을 확인할 수 있었다. 그리고 메탄올 추출물에서는 배전시간에 따른 수율의 차이가 크지 않았으나 메탄올 추출물의 수율 결과와

Table 4. Antibacterial activity of methanol extract from *Coffee arabica* beans on several microorganisms

No. of samples (1 mg/disc)	Clear zone diameter						
	<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	-	+	-	-	-	-	-
M2	-	+	-	-	-	-	-
M3	-	+	-	-	-	-	-
M4	-	+	-	+	-	-	-
M5	-	++	+	+	-	-	-
M6	-	-	++	+	-	-	+
M7	-	-	+	-	-	+	-
M8	-	-	+	+	-	+	+
M9	-	-	++	+	+	+	-

- : No inhibition (6 mm)

+ : Very slight inhibition (6~7 mm)

++ : Moderate inhibition (7~9 mm)

+++ : Heavy inhibition (9~11 mm)

다르게 물 추출물에서의 수율은 배전시간에 따라 시그모이드 곡선(sigmoid curve)의 형태를 나타내었다. 이는 배전 시간에 따라 커피의 성분변화가 유도되어 수용성 성분으로 분해되어 생긴 결과라고 생각할 수 있다.

2. 커피 추출물의 항균력

커피 추출물의 항균효과를 paper disc method로 조사한 결과 메탄올 추출물은 7종의 균주 중 *E. coli* 1종을 제외하고 6종의 균주에서 항균성을 나타내었다(Table 4). 먼저 식중독 균주에서는 *Sal. choleraesuis*에서 0, 5, 8, 10, 12분, *S. aureus*에서 12, 14, 16, 20, 25분 배전한 커피의 추출물에서 항균성을 나타냈다. 여기서 특이하게도 그람 음성균인 *Sal. choleraesuis*에서는 배전시간을 짧게 수행한 추출물에서, 그람 양성균인 *S. aureus*에서는 배전시간을 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, 25분, *Strep. mutans*에서 25분 동안 배전한 커피의 추출물에서 항균성을 보였다. 구취 균주는 *Porph. gingivalis*에서 16, 20, 25분, *Pre. intermedia*에서 14, 20분 동안 배전한 커피의 추출물에서 항균성을 나타냈다.

물 추출물은 7종의 균주 중 *Sal. choleraesuis*와 *Pre. intermedia* 2종을 제외한 5종의 균주에서 항균효과를 나타내었다(Table 5). 식중독 균주를 보면, *E. coli*에서 메탄올 추출물에서는 효과를 보이지 않았지만 물 추출물에서는 10, 12, 14분에서 효과를 보였고, *S. aureus*에서 14, 16분 배전한 커피의 추출물에서 항균성을 나타냈다. 충치 균주에서는 *Strep. sobrinus*와 *Strep. mutans* 모두 25분 동안 배전한 커피의 추출물에서 항균성을 보였다. 구취 균주는 *Porph. gingivalis*에서 8, 10, 12분 동안 배전한 커피의 추출물에서 항균성을 나타냈다.

기존에 보고된 커피의 항균 성분을 확인해 보면, 카페인의 경우 사상균류(filamentous fungi)에 대하여 항균작용을 보이며 곰팡이가 만들어내는 아플라톡신(aflatoxin)의 생산을 억제한다는 보고가 있다(Buchanan RL과 Fletcher AM 1978, Nartowicz VB 등 1979). 또한 *E. coli* O157:H7에 대하여 0.25~2.00%의 카페인의 경우 항균작용을 보인다는 보고도 있다(Ibrahim SA 등 2006). 그리고 카페산(Caffeic acid)의 경우는 *Pseudomonas*, *E. coli*, *S. aureus* 그리고 *Bacillus cereus*에 대하여 항균성을 보이며(Baranowski JD와 Nagel CW 1982, Herald PJ와 Davidson PM 1983, Garrote G 등 2004) 카페산과 더불어 프로토퀴테유익산(Protocatechuic acid)은 *L. pneumophila*에 대해 항균성을 나타내었다(Dogazaki C 등 2002). 그리고 페놀 화합물의 항균 효과는 보다 많은 연구가 되어 있는데 이것의 경우 세포막의 구조와 기능에 변화를 주어 항균작용을 일으킨다고 보고되어 있다(Sikkema J 등 1995, Walsh SE 등 2003, Burt S 2004). 아직 정확하게는 밝혀져 있지 않지만 이렇게 커피에 함유되어 있는 다양한 성분들이 복잡하게 작용하여 커피의 항균 효과를 보인다고 판단된다. 그리고 이러한 커피의 추출물은 배전시간에 따라 다양한 성분의 변화를 가져오게 됨으로써 각기 다른 항균 효과를 보이게 되는 것으로 생각된다. 일반적으로 배전 공정에 따라 카페인의 경우는 그 성분의 변화가 크게 나지 않는 것으로 알려져 있으며(Macrae R 1985), 트리코넨린(Trigonelline)의 경우는 화학적으로 급격히 분해가 되어 주요 휘발성 성분을 만든다고 알려져 있다(Viani R과 Horman I 1974). 그리고 클로르제닉산(Chlorogenic acid)의 경우도 배전 공정 중 쉽게 분해가 되어 여러 페놀 화합물을 생성한다고 보고되어있다(Shin YS 등 2008). 따라서 배전 시간에 따른 정확한 성분 분석과 동시에 커피의 항균 효과에 대한 연구가 추후 추가적으로 진행되어야 할 것으로 생각된다.

Table 5. Antibacterial activity of water extract from *Coffea arabica* beans on several microorganisms

No. of samples (1 mg/disc)	Clear zone diameter						
	<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	-	-	-	-	-	-	-
W2	-	-	-	-	-	-	-
W3	-	-	-	-	-	+	-
W4	+	-	-	-	-	+	-
W5	+	-	-	-	-	+	-
W6	+	-	+	-	-	-	-
W7	-	-	+	-	-	-	-
W8	-	-	-	-	-	-	-
W9	-	-	-	+	+	-	-

- : No inhibition (6 mm)

+ : Very slight inhibition (6~7 mm)

++ : Moderate inhibition (7~9 mm)

+++ : Heavy inhibition (9~11 mm)

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

No. of samples	MIC (µg/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 (6 mm)

3. 커피 추출물의 최소저해농도(Minimum inhibitory concentration)

각 추출물에 대하여 broth microdilution method를 시행하여 균의 최소저해농도를 측정된 결과는 Table 6, 7과 같았다. 메탄올 추출물에서는 식중독 균주인 *Sal. Choleraesuis*에서 0, 5, 8, 10, 12분 동안 배전한 커피의 추출물 모두 1,000 µg/mL의 최소저해농도를 나타냈다. *S. aureus*에서 12, 14, 16, 20, 25분 배전한 커피의 추출물에서 16.125, 32.25, 250, 32.25, 1,000 µg/mL의 최소저해농도를 나타냈다. 충치 균주에서는 *S. aureus*에서 10, 12, 14, 16, 20, 25분 배전한 커피의 추출물에서 각각 1,000 µg/mL의 최소저해농도를, *Strep. mutans*에서 25분 동안 배전한 커피의 추출물에서 1,000 µg/mL의 최소저해농도를 보였다. 구취 균주는 *Porph. gingivalis*에서 16, 20, 25분, *Pre. intermedia*에서 14, 20분 동안 배전한 커피의 추출물에서 각각 1,000 µg/mL의 최소저해농도를 나타냈다. 특히 12분 배전한 시료의 메탄올 추출물에서 *S. aureus*에 대하여 16.125 µg/mL의 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, 14분, *S. aureus*에서 14, 16분 동안 배전한 추출물에서 1,000 µg/mL의 최소저해농도를 나타내고 있음을 알 수 있었다. 충치 균주에서는 *Strep. sobrinus*와 *Strep. mutans* 모두 25분 동안 배전한 커피의 추출물에서 1,000 µg/mL의 최소저해농도를 보였다. 구취 균주는 *Porph. gingivalis*에서 8, 10, 12분 동안 배전한 커피의 추출물에서 1,000 µg/mL의 최소저해농도를 나타냈다(Table 7). 기존연구에 의하면, 커피내의 single compound 중 methylglyoxal과 diacetyl은 *S. aureus*(ATCC 25923)에 대한 MIC로 각각 110.2±5.9 µg/mL, 114.2±11.4 µg/mL의 항균효과를 보였던 반면, 6 g의 커피를 100 mL의 물에 10분 동안 추출한 커피의 물 추출물에서는 24,900 µg/mL로 항균 효과를 보이지 않았다(Daglia M 등 2007). 이 연구와 비교하여 본 실험 결과는 커피의 물 추출물에서 동일 균주에 대해 1,000 µg/mL의 MIC를 보여 기존의 결과보다 높은 항균성을 갖는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 커피 시료와 용매의 비율의 변화와 추출시간의 증가에 기인한 것으로 생각된다.

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

No. of samples	MIC (µg/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 (6 mm)

4. DPPH 자유기 소거 효과

자유기 소거 효과의 측정에 사용된 DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)는 안정한 자유 라디칼로서 그것의 비공 유전자로 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(Shin YS 등 2008).

배전시간을 달리한 커피의 추출물에 대한 자유기 소거 효과를 본 결과는 Table 8과 같다. 먼저 메탄올 추출물을 100 µg/mL의 농도로 자유기 소거 효과를 확인해 본 결과 67.08~92.25%로 AA와 BHT의 100 µg/mL의 농도로 처리했을 때의 결과와 유사하게 비교적 높은 자유기 소거 효과를 보였다.

물 추출물을 100 µg/mL의 농도로 자유기 소거 효과를 확인한 결과 66.43~93.27%로 AA와 BHT의 100 µg/mL의 농도로 처리했을 때의 결과와 유사하게 높은 자유기 소거 효과를 보였다. 배전시간에 따라 자유기 소거효과가

변화하였으며, 다소 증가하다가 감소하는 경향을 보였다. 특히 배전시간이 0, 5, 8, 10분인 커피 추출물에서 유의적 차이가 없이 가장 높은 항산화성을 나타내었고, 배전 시간 20분에서 자유기 소거 효과가 크게 감소하였으며, 25분에 가장 낮은 항산화성을 나타내었다. 이것은 이전 논문에서 배전시간에 따라 갈색도와 항산화성이 비례관계를 보이다가 배전시간 14분을 기점으로 오히려 항산화성이 다소 감소한다는 보고와 유사한 결과라 하겠다(Kim KJ와 Park SK 2006).

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

추출물의 수율 결과와 연관지어 생각해 보면, 물 추출

Table 8. DPPH radical scavenging effect of coffee extract

No. of samples	DPPH radical scavenging effect (%) (Mean±SD)			
	0.1 µg/mL	1 µg/mL	10 µg/mL	100 µg/mL
A	-5.92 ± 3.31	-1.08 ± 0.58	80.44 ± 0.65	96.25 ± 0.27
B	-11.79 ± 0.79	-6.02 ± 2.76	34.96 ± 2.88	94.51 ± 0.11
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 ^e
M9	-5.18 ± 3.60 ^{cd}	-3.67 ± 1.69 ^c	6.56 ± 1.21 ^b	74.02 ± 7.89 ^d
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

A : Ascorbic acid (AA), B : Butylated Hydroxytoluene (BHT).

^{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

물에서는 배전시간이 길어질수록 그 수율이 증가하였으나, 항산화능은 배전시간에 따라 다소 감소하는 경향을 보였다. 이러한 결과는 배전시간에 따라 커피의 성분 중 항산화성을 보이던 비수용성 물질이 수용성 물질로 분해가 되는 것으로 생각된다(Kim KJ와 Park SK 2006). 일반적인 페놀 화합물 성분들이 항산화 작용을 보이며, 또한 커피의 함유물인 카페인도 항산화 작용에 직·간접적으로 영향을 미치는 것으로 생각된다는 보고도 있다(Rhi JW와 Shin HS 1996). 그리고 항산화 효과를 보이는 커피 성분중 클로로제닉산의 경우 배전 공정에 따라 분해가 된다는 것으로 감안 할 때 항산화성이 다소 감소하는 결과를 생각해 볼 수 있다.

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 Table 9와 같다. 메탄올 추출물에서는

Table 9. Determination of amount of phenol compound in coffee extract by Folin-Denis method

No. of samples	Amount of phenol compound (mg/g) (Mean±SD)
M1	126.50 ± 9.54 ^a
M2	94.72 ± 5.66 ^{cd}
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}
W1	167.18 ± 2.61 ^{cb}
W2	166.48 ± 3.68 ^{bc}
W3	199.13 ± 5.59 ^a
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

^{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

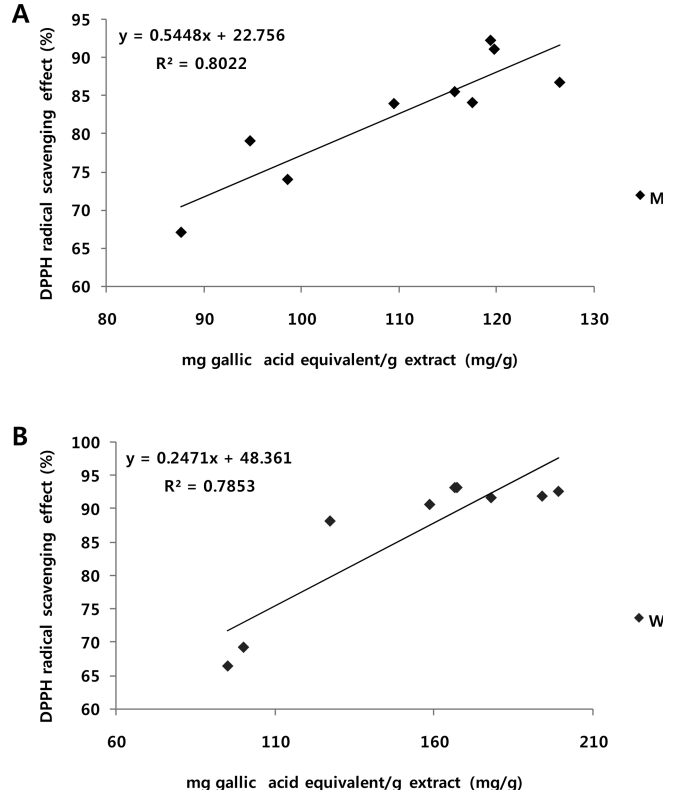


Fig. 1. Relationship between phenolic compound content and DPPH radical scavenging effect of coffee. M: Methanol, W: Water

87.64~126.50 mg/g의 함량을 보였고, 물 추출물에서는 94.98~199.13 mg/g의 함량을 보였다. 배전시간대별 메탄올 추출물과 물 추출물의 페놀화합물의 함량을 비교하였을 때, 대체로 물 추출물에서 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 Fig. 1에서 보여주는 바와 같이 메탄올 추출물에서는 r²=0.8022, 물 추출물에서는 r²=0.7853의 결정계수(coefficient of determination; r²)를 나타내었다. 이 결과는 총 페놀화합물의 함량과 항산화력과 연관이 있다는 보고와 유사하다고 볼 수 있다(Rhi JW와 Shin HS 1993). 따라서 커피 추출물의 총 페놀화합물 함량의 변화는 자유기 소거 효과에 영향을 미칠 것으로 생각된다.

IV. 요약 및 결론

본 연구에서는 배전시간을 달리한 커피 추출물에서의 항균효과와 항산화성을 알아보기 위해 커피를 메탄올과 물로 추출하여 식중독균 3종, 충치균 2종, 구취균 2종에

대한 항균활성 및 항산화력을 측정하였다. 배전시간에 따른 메탄올 추출 수율은 큰 차이가 없었으나 물 추출 수율에 비해 비교적 높았으며, 물 추출 수율은 배전시간에 따라 시그모이드 곡선(sigmoid curve) 형태를 나타내었다. 커피 추출물을 이용하여 항균 효과를 측정한 결과 메탄올 추출물은 7종의 균주 중 6종의 균주에서 항균효과를 나타내었으며 물 추출물은 7종의 균주 중 5종의 균주에서 항균효과를 나타내었으나 비교적 약한 항균효과 보였다. 또한 12분 배전 메탄올 추출물이 *S. aureus*에 대하여 16.125 µg/mL의 농도로 MIC를 나타낸 것을 포함하여 항균성을 나타낸 모든 시료에서 최소 1,000 µg/mL MIC를 나타내었다. 그리고 항산화력 측정으로 DPPH 자유기 소거 효과에서는 메탄올 추출물에서 100 µg/mL의 농도일 때 67.08~92.25%, 물 추출물에서 100 µg/mL의 농도일 때 66.43~93.27%로 ascorbic acid (AA)와 butylated hydroxytoluene (BHT)의 100 µg/mL의 농도로 처리했을 때의 결과와 유사하게 비교적 높은 자유기 소거 효과를 보였다. 또한 메탄올 추출물에서의 총 페놀화합물 함량은 87.64~126.50 mg/g으로 배전시간이 0분일 때 가장 높은 함량을 보였고, 물 추출물에서는 95.0~199.1 mg/g으로 배전시간이 8분일 때 가장 높은 함량을 보였다. 메탄올 추출물과 물 추출물의 페놀화합물의 함량을 비교하였을 때, 대체로 물 추출물에서 총 페놀화합물 함량이 높은 경향을 보였다. 이렇게 배전시간에 따라 커피에 함유된 성분의 조성이 변하면서 메탄올과 물에 추출되는 특정 성분 및 그 양이 변하였고, 각 시료의 항균효과와 항산화력은 변화를 보였다. 따라서 커피 가공 공정 중 하나인 배전시간의 조절로 커피의 항균효과와 항산화력을 변화시킬 수 있다는 가능성을 제시하였다. 따라서 이 논문의 결과를 바탕으로 추후에 배전시간에 따른 구체적인 성분의 변화에 대한 연구와 항균효과 및 항산화력을 포함한 특정 생리활성기능을 연관 지어 연구를 진행한다면 기존의 기호 음료로서의 커피에서 특정 생리활성성분이 강화된 기능성 음료로서의 커피로 발전할 수 있을 것으로 기대된다.

V. 감사의 글

이 논문은 성신여자대학교 2006년도 후기 학술연구 조성비 지원에 의하여 이루어진 내용으로서 이에 감사드립니다.

참고문헌

- A.O.A.C. 1980. Official Methods of Analysis. 13th ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington D.C.
- Abbott RD, Webster Ross G, White LR, Sanderson WT, Burchfiel CM, Kashon M, Sharp DS, Masaki KH, Curb JD, Petrovitch H. 2003. 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
- Baranowski JD, Nagel CW. 1982. Inhibition of *Pseudomonas fluorescens* by hydroxycinnamic acids and their alkyl esters. *J Food Sci* 47(5):1587-1589
- Belachew M. 2003. Coffee. in von Uhlig, Siegbert, ed., *Encyclopaedia Aethiopia*. Weissbaden. Horowitz. pp 763
- Buchanan RL, Fletcher AM. 1978. Methylxanthine inhibition of aflatoxin production. *J Food Sci* 43(2):654-655
- Burt S. 2004. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods-A review. *Int J Food Microbiol* 94(3):223-253
- Chu YH, Chang CL, Hsu HF. 2000. Flavonoid content of several vegetables and their antioxidant activity. *J Sci Food Agric* 80(5):561-566
- Clarke RJ. 1987. Roasting and grinding. In R. J. Clarke & R. Macrae (Eds.), *Coffee: Technology* (Vol. 2, pp 73-107). London: Elsevier Applied Science.
- Conner DE, Beuchat LR. 1984. Effect of essential oil from plants on growth of spoilage yeast. *J Food Sci* 49(2):429
- Crozier A, Lean ME, McDonald MS, Black C. 1997. Quantitative analysis of the avonoid content of commercial tomatoes, onions, lettuce and celery. *J Agric Food Chem* 45(3):590-595
- Daglia M, Papetti A, Grisoli P, Aceti C, Spini V, Dacarro C, Gazzani G. 2007. Isolation, Identification, and Quantification of Roasted Coffee Antibacterial Compounds. *J Agric Food Chem* 55(25):10208-10213
- Dogazaki C, Shindo T, Furuhashi K, Furuyama M. 2002. Identification of chemical antibacterial components against *Legionella pneumophila* in a coffee beverage. *J Pharm Soc Jpn* 122(7):487-494
- Garrote G, Cruz JM, Moure A, Dominguez H, Parajo JC. 2004. Antioxidant activity of byproducts from the hydrolytic processing of selected lignocellulosic materials. *Trends Food Sci Technol* 15(3-4):191-200
- Herald PJ, Davidson PM. 1983. Antibacterial activity of selected hydroxycinnamic acids. *J Food Sci* 48(4):1378-1379
- Heuser I. 2003. Prevention of dementias: state of the art. *Dtsch Med Wochenschr* 128(9):421-422
- Ibrahim SA, Salameh MM, Phetsomphou S, Yang H, Seo CW. 2006. Application of caffeine, 1,3,7-trimethylxanthine to control *Escherichia coli* O157:H7. *Food Chem* 99(4):645-650
- Karakaya S, El SN, Tas AA. 2001. Antioxidant activity of some foods containing phenolic compounds. *Int J Food Sci Nutr* 52(6):501-508
- Kim KJ, Park SK. 2006. Changes in Major Chemical Constituents of Green Coffee Beans during the Roasting. *Korea J Food Sci Technol* 38(2):153-158

- Lindsay J, Laurin D, Verreault R, Hebert R, Helliwell B, Hill GB, McDowell I. 2002. Risk factors for Alzheimer's disease: a prospective analysis from the Canadian Study of Health and Aging. *Am J Epidemiol* 156(5):445-453
- Macrae R. 1985. Nitrogenous compounds. 115-152. In: *Coffee Chemistry*. Clarke RJ, Macrae R (eds). Elsevier Applied Science Publishers. Barking, UK.
- Moon JW. 1999. 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
- Morton C, Klatsky AL, Udaltsova N. 2004. Smoking, coffee, and pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 99(4):731-738
- Nakanishi N, Nakamura K, Nakajima K, Suzuki K, Tatara K. 2000. Coffee consumption and decreased serum gamma-glutamyl-transferase: a study of middle-aged Japanese men. *Eur J Epidemiol* 16(5):419-423
- Namba T, Matsuse T. 2002. A historical study of coffee in Japanese and Asian countries: focusing the medicinal uses in Asian traditional medicines. *Yakushigaku Zasshi* 37(1): 65-75
- Nartowicz VB, Buchanan RL, Segall S. 1979. Aflatoxin production in regular and decaffeinated coffee beans. *J Food Sci* 44(2):446-448
- Reineccius G. 1995. The maillard reaction and coffee flavor. *ASIC* 16:249-257
- Rhi JW, Shin HS. 1993. Physicochemical Properties of Antioxidant Fractions Extracted from Freeze - Dried Coffee by Various Solvents. *Korean J Food Sci Technol* 25(3):220-224
- Rhi JW, Shin HS. 1996. Antioxidative Effect of Brown Materials Extracted from Roasted Coffee Beans. *Korean J Food Sci Technol* 28(1):109-116
- Sabate. 2003. Caffeine, postmenopausal estrogen, and risk of Parkinson's disease. *J Neurology* 60(5):790-795
- Salazar ME, Willett WC, Ascherio A, Manson JE, Leitzmann MF, Stampfer MJ, Hu FB. 2004. Coffee consumption and risk for type 2 diabetes mellitus. *Ann Intern Med* 140:1-8
- Schilter B, Cavin C, Tritscher A, constable A. 2001. *Coffee Research Developments*. Blackwell Science KK:165-166
- Schwartz J, Weiss ST. 1992. Caffeine intake and asthma symptoms. *Ann Epidemiol* 2:627-635
- Seo HS, Kang HJ, Jung EH, Hwang IK. 2006. Application of GC-SAW(Surface Acoustic Wave) Electric Nose Classification of Origins and Blended Commercial Brands in Roasted Ground Coffee Beans. *Korean J Food Cookery Sci* 22(3):299-306
- Shin SM, Park JY, Hahn YS. 2005. Antimicrobial effect of Kimchi ingredients of methanol extract on pathogenic microorganisms. *Korean J Food Cookery Sci* 21(1):53-63
- Shin YS, Lee JE, Yeon IK, Do HW, Cheung JD, Kang CK, Choi SY, Youn SJ, Cho JG, Kwoen DJ. 2008. 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
- Sikkema J, De Bont JAM, Poolman B. 1995. Mechanism of membrane toxicity of hydrocarbons. *Microbiol Rev* 59(2): 201-222
- Sivetz M. 1963. Aromatization-properties-brewing-decaffeination-plant design. In "Coffee Processing Technology," Vol. 2, Avi Publishing Company, Westport, CT.
- Smith, A. W. 1985. Introduction. In *Coffee: Chemistry* (Vol. 1), eds R. J. Clarke & R. Macrae. Elsevier Applied Science Publishers Ltd. London. UK. pp. 141
- Viani R, Horman I. 1974. Thermal behavior of trigonelline. *J Food Sci* 39(6):1216-1217
- Walsh SE, Maillard JY, Russel AD, Catrenich CE, Charbonneau DL, Bartolo RG. 2003. Activity and mechanisms of action of selected biocidal agents on Gram-positive and-negative bacteria. *J Appl Microbiol* 94(2):240-247
- Yukawa GS, Mune M, Otani H, Tone Y, Liang XM, Iwahashi H, Sakamoto W. 2004. Effects of coffee consumption on oxidative susceptibility of low-density lipoproteins and serum lipid levels in humans. *Biochemistry* 69(1):70-74

2009년 6월 8일 접수; 2009년 8월 7일 심사(수정); 2009년 8월 7일 채택