

로스팅 커피와 홍삼 혼합추출물의 항균 및 항산화 효과

최유현¹ · 김상은¹ · 허진² · 한영환² · 이문조^{1*}

¹㈜에이치씨글로벌 기술연구소

²동국대학교 과학기술대학 바이오학부

Antibacterial and Antioxidative Activity of Roasted Coffee and Red Ginseng Mixture Extracts

Yu Hyun Choi¹, Sang Eun Kim¹, Jin Huh², Yeong Hwan Han², and Moon Jo Lee^{1*}

¹Dept. of Technical Research Center, Heechang Dairy Food Co. Ltd., Gyeongnam 626-230, Korea

²The Division of Bio Science, Dongguk University, Gyeongbuk 780-714, Korea

Abstract

This study was conducted to investigate the antibacterial and antioxidative activities of water and ethanol extracts from a mixture of roasted coffee and red ginseng. The antibacterial effects of each extract were determined by the classical paper disc method. A water extract of mixture samples inhibited growth of all strains, but antibacterial effects were mostly weakened. Ethanol extracts showed stronger antibacterial effects than water extracts in all strains except Gram negative *Escherichia coli* and the fungi strain *Candida albicans*. Also, the antibacterial effect of the *Bacillus cereus* strain appeared in all samples, and the ES2 sample formed a clear zone of 19 and 20 mm against *Pseudomonas aeruginosa* and *S. Typhimurium* respectively (MIC=0.25 and 0.125 mg/mL). Determinations of free radical elimination for the different mixture extracts using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) were compared with ascorbic acid and butylated hydroxytoluene as positive controls. The water and ethanol extracts of mixture samples (100 µg/mL) showed 55.38~60.01% and 59.37~70.50% DPPH scavenging activities, respectively. DPPH scavenging activities of all mixture samples were slightly higher than roasted coffee and red ginseng samples. However, DPPH scavenging activity decreased when red ginseng extract composed more than 70% of the total extract. The total polyphenol in the mixture samples measured by the Folin-Denis method revealed the highest level of polyphenol content in ethanol extract of sample 3, whereas polyphenol content differed with different mixture ratios, ranging from 105.16~119.79 mg/g in ethanol extract. In the water extract, the polyphenol content was greatest with water extract of sample 1, whereas in other samples the content varied from 93.75~109.18 mg/g.

Key words: roasted coffee, red ginseng, antibacterial, antioxidative, polyphenol content

서론

커피는 쓴맛, 신맛, 떫은 맛 및 구수한 맛 등의 독특한 맛과 향기 등이 조화되어 만들어지는 대표적인 기호식품 중의 하나이다. 일반적으로 음용하는 커피음료는 커피 원두를 배전(roasting) 과정을 거쳐서 커피 고유의 향과 맛이 나오며, 복합적인 물리 화학적 변화를 가져오게 된다. 최근 생활수준의 향상과 더불어 다양한 음료에 대한 기능성 연구도 동시에 활발히 진행되고 있다. 커피의 항산화에 대한 연구로 다양한 음료에서 페놀화합물의 함량을 측정할 결과 레드와인보다 커피의 페놀함량이 높은 것으로 나타났다(1). 그 외 커피의 섭취효과에 관련된 연구는 커피의 섭취가 LDL-콜레스테롤과 MDA(malondialdehyde)의 수치를 낮추는 효과(2), 체지방의 위험을 감소시킨다는 보고(3), 열발생과 지방분해를 증

가시켜 체중 감소에 영향을 미치고 체지방을 개선(4,5), 2형 당뇨의 발병을 낮춘다는 보고가 있으며(6), 붉은 원두의 유기용매 추출물 및 열수추출물의 건조물에 대한 항산화성(7)과 항균성도 연구가 되고 있다(8,9).

인삼은 우리나라를 비롯한 중국, 일본 등 동양에서 강장제로서 정신을 안정시키고, 장복하면 몸이 가뿐하게 되어 수명이 연장된다고 많은 고서에 기록되어 있으며 특히 홍삼은 수삼을 증숙한 후 건조하여 제조한 것으로(10) 이러한 과정에서 수삼 또는 백삼과는 다른 성분인 2-methyl-3,3-hydroxypyrene(maltol)이 생성된다고 알려져 있다(11). 그리고 홍삼의 유효성분인 사포닌이 발효미생물인 젖산균뿐만 아니라 식물 병원성 곰팡이의 생육을 저해하는 것으로 알려져 있다(12,13). 또한 일부 병원 미생물에 대한 홍삼의 생육억제 효과에 관한 연구들이 활발히 진행되고 있다(14). 홍삼

*Corresponding author. E-mail: lmj@heechang.co.kr
Phone: 82-55-911-3070, Fax: 82-55-912-1212

의 생리활성물질에 대한 효능과 관련된 연구로는 스트레스를 방어해주는 항정신작용(15), 홍삼의 사포닌이 뇌허혈에 수반하는 신경세포의 손상과 학습행동 장애의 예방적 효과(16), 면역증강 효과(17), 혈당 강하작용(18), 독성물질 해독작용(19), 콜레스테롤 대사 개선작용(20), 골다공증에 대한 예방효과(21), 항 스트레스 및 항 피로작용(22), 항암작용(23), 면역기능증진(24) 등의 다양한 생리활성 효과가 보고되어 있다.

하지만 홍삼의 다양한 효능들이 알려지면서 식품으로 응용하고 있으나 홍삼 자체의 향미와 맛이 강해 식품보다는 약용으로 많이 이용되고 있으며 실용화할 수 있는 식품의 개발에 관한 연구는 미흡한 실정이다. 또한 많은 효능이 밝혀진 커피와 홍삼을 혼합하여 응용할 경우 홍삼을 이용한 기호식품으로 개발이 가능할 뿐만 아니라 홍삼이 첨가된 커피는 기능성이 더 증대될 것으로 예상되지만, 현재까지 커피와 홍삼의 혼합추출물에 대한 항균 및 항산화에 대한 연구는 아직 보고된 바가 없어 홍삼과 커피 혼합비율에 따라 물과 에탄올을 이용하여 각각 추출한 후 항균력과 항산화력을 확인하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에 사용된 커피의 품종은 에티오피아 모카 시다몬 G2를 사용하였다. 커피는 로스팅기(PRO-1, IMEX, Seoul, Korea)에서 210±10°C로 15분간 로스팅 하였으며 로스팅 된 커피를 분쇄기(Caimano, ANFIM, Milano, Italy)로 분쇄하여 추출용 시료로 사용하였다. 홍삼은 국내산 6년근 홍삼으로 홍삼근 70%와 홍미삼 30%가 함유된 분말을 (주)한국인삼공사(Daejeon, Korea)에서 구입하여 재료로 사용하였다.

추출물의 제조

커피분말과 홍삼분말의 혼합물은 커피에 대해 홍삼의 비

율을 10%씩 증가시키면서 혼합하였다(Table 1). 열수 추출물은 커피, 홍삼 및 각 샘플 시료에 증류수를 1:10(w/v)의 비율로 혼합하여 100°C에서 3시간 동안 환류냉각하면서 2회 반복 추출하였고, 에탄올 추출물은 각 시료 분말에 에탄올을 1:10(w/v)의 비율로 가하고 환류냉각관을 이용하여 80°C에서 3시간 동안 2회 반복하여 추출하였다. 열수 및 에탄올 추출물은 filter paper(No 2, Advantec, Tokyo, Japan)로 여과한 후 감압농축기(N-1000S, EYELA, Tokyo, Japan)로 농축한 다음 freeze dryer(FDS8518, Ilshinbiobase, Dongducheon, Korea)로 동결건조한 분말을 실험용 시료로 사용하였다. 기타 분석에 사용한 시약은 Sigma(St. Louis, MO, USA) 제품을 사용하였다.

사용 균주 및 배지

실험에 사용된 균주는 한국생명공학연구원 생명자원센터(KCTC, Daejeon, Korea)에서 분양받아 계대하여 37°C에서 24~48시간 배양하여 활성화시켜 사용하였다. Gram negative 대조균으로 *Escherichia coli*, gram positive 대조균은 *Bacillus subtilis*, 식중독 균으로 *Bacillus cereus*를, 설사유발균은 *Campylobacter jejuni*, 칸디다증균은 *Candida albicans*, 녹농균은 *Pseudomonas aeruginosa*를 장티푸스균은 *Salmonella Typhimurium*을 사용하였다. 배지는 nutrient broth 및 agar(Difco BRL, Grand Island, NY, USA)를 사용하였고, 균주 접종 후 37°C incubator에서 24시간 배양하였다.

항균력 측정

세균에 대한 항균력 측정은 paper disc methods를 이용하였다. 각 균주 1 백금이를 취하여 10 mL의 nutrient broth에 접종하고 37°C에서 18시간 동안 배양하여 활성화시켰다. 이 활성화 된 균주 100 µL를 nutrient agar 배지에 도말하였다. 그리고 각 추출물을 증류수 및 에탄올에 1.0 mg/disc의 농도로 용해하여 멸균된 paper disc(8.0 mm diameter×1.5 mm thickness, Advantec, Tokyo, Japan)에 흡수시켜 균주를 도말한 배지 표면 위에 놓아 37°C에서 24시간 동안 배양하였다. 그 후 disc 주위의 inhibition zone의 직경(mm)을 3회 반복 측정하였다.

최소저해농도 측정

균주에 대한 최소저해농도(minimum inhibitory concentration)는 broth micro dilution method(25)에 의해 다음과 같이 변경하였다. 96 well plate(BD Falcon, Franklin Lakes, NJ, USA)에 nutrient broth를 100 µL씩 분주하고 100 µL의 열수 및 에탄올 추출물을 다양한 농도(2, 1, 0.5, 0.25, 0.125 mg/well)로 dilution하여 첨가한 다음 균의 농도를 2×10⁵ CFU/mL이 되도록 희석하여 50 µL씩 첨가하였다. 그 후 37°C에서 24시간 배양한 뒤 650 nm에서 micro-plate reader(Synergy HT, BIO-TEK, Winooski, VT, USA)로 흡광도를 측정하였다. Turbidity가 나타나지 않은 well의 해당 시

Table 1. Names of samples and extraction solvent, mixture ratio of roasted coffee and red ginseng

Sample name ¹⁾		Mixture ratio (%) (roasted coffee : red ginseng)
Water extract	Ethanol extract	
WRG	ERG	0:100
WCO	ECO	100:0
WS1	ES1	90:10
WS2	ES2	80:20
WS3	ES3	70:30
WS4	ES4	60:40
WS5	ES5	50:50
WS6	ES6	40:60
WS7	ES7	30:70
WS8	ES8	20:80
WS9	ES9	10:90

¹⁾WRG: water extract of red ginseng, ERG: ethanol extract of red ginseng, WCO: water extract of coffee, ECO: ethanol extract of coffee, WS: water extract of sample, ES: ethanol extract of sample.

료 농도를 MIC 값으로 결정하였다.

DPPH 자유기 소거 효과 측정

DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 자유기 소거 효과 측정은 free radical을 갖는 안정한 화합물인 DPPH를 기질로서 항산화 활성을 측정하는 방법(26)을 변경하여 시료의 농도는 열수 및 에탄올 추출물을 각 용매에 1 mg/mL이 되도록 하였고, 대조군으로 ascorbic acid(AA)와 butylated hydroxytoluene(BHT)도 같은 농도로 처리하여 비교 분석하였다. DPPH를 100 µM 농도로 메탄올에 용해시켜 96 well plate에 225 µL씩 분주하고 여기에 시료를 25 µL씩 첨가하여 최종 반응 용액이 250 µL가 되도록 하였다. 이를 30분간 반응시켜 micro-plate reader를 사용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였고, 시료의 무첨가군과 첨가군의 값을 비교하여 free radical 소거활성을 측정하였다. DPPH radical 소거활성은 다음과 같이 계산하였다.

DPPH radical scavenging activity (%) =

$$\left(1 - \frac{\text{시료첨가구의 흡광도}}{\text{무첨가구의 흡광도}}\right) \times 100$$

총 폴리페놀 함량 측정

총 폴리페놀 함량 분석에 널리 사용되는 Folin-Denis method(25)는 페놀성 물질이 phosphomolybdic acid와 반응하여 청색을 나타내는 현상을 이용한 것으로 다음과 같이 측정하였다. 동결건조된 각 샘플에 증류수 및 에탄올을 가하여 1.0 mg/mL로 만들어 페놀성 화합물 함량 측정용 시료로

사용하였고, 시료를 200 µL 취하여 증류수 1,800 µL에 혼합한 후 2 N Folin-Clocalteu's phenol reagent를 0.2 N로 희석한 시약을 2 mL 혼합하여 섞어준 후 3분간 방치하였다. 여기에 10% Na₂CO₃ 2 mL를 혼합하여 섞어 60분 방치 후 분광광도계(UV-1201, Shimadzu, Kyoto, Japan)로 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준곡선은 gallic acid를 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 시료 중 gallic acid 함량(gallic acid equivalent mg/g)으로 나타내어 총 폴리페놀 함량을 구하였다.

통계처리

통계분석은 SPSS 통계프로그램(Statistical Package for the Social Science, Ver. 12.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 각 측정군의 평균과 표준편차를 산출하고 처리간의 차이 유무를 one-way ANOVA(Analysis of Variation)으로 분석한 뒤 Duncan's multiple range test를 이용하여 p<0.05 수준에서 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

커피와 홍삼 혼합추출물의 항균력

로스팅한 커피와 홍삼분말 함량을 달리한 추출물의 항균 효과를 측정된 결과를 보면 열수 추출물은 7종의 균주 중 *E. coli* 1종에서 약한 항균성을 나타내고 6종의 균주에서 모두 항균성을 나타내었다(Table 2). 커피와 홍삼 추출물은 그람 음성균주에서는 모두 항균력이 없었으나, 그람 양성균주

Table 2. Antibacterial activity of water and ethanol extracts from mixtures of roasted coffee and red ginseng powder on several microorganisms

Samples	Clear zone diameter (mm)						
	Gram negative			Gram positive			Fungi
	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>B. cerues</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>C. albicans</i>
WRG	- ¹⁾	-	-	11	11	11	-
WCO	-	-	-	14	12	13	-
WS1	-	-	-	11	10	10	-
WS2	14	14	12	14	15	15	17
WS3	-	12	15	13	15	14	15
WS4	-	-	-	-	9	-	9
WS5	15	14	-	14	10	11	11
WS6	-	-	-	11	13	12	-
WS7	-	-	-	-	11	-	-
WS8	-	12	10	-	-	-	9
WS9	-	11	-	-	-	-	-
ERG	-	-	-	-	-	-	-
ECO	-	14	-	-	-	-	-
ES1	-	14	-	9	-	-	-
ES2	-	15	12	13	19	20	-
ES3	-	16	11	14	16	16	-
ES4	-	9	-	-	-	14	-
ES5	-	15	-	-	-	-	-
ES6	-	15	-	-	-	-	-
ES7	-	12	-	-	-	-	-
ES8	-	11	9	9	14	17	-
ES9	-	10	-	-	11	19	-

¹⁾-: Not detected.

에서는 11~14 mm로 항균력이 나타났다. 혼합 추출물의 경우에서도 그람 음성균보다 그람 양성균에서 비교적 높은 항균력을 보였으며 홍삼분말에 대해 커피 분말의 함량이 높아질수록 우수한 항균력을 보였다. 각 균주별로 보면 *E. coli*에서는 WS2와 WS5 2개의 추출물에서만 항균력이 나타났다. 그리고 *P. aeruginosa*에서 WS2, WS3, WS5, WS8 및 WS9 추출물, *S. Typhimurium*에서 WS2, WS3 및 WS8의 추출물에서 항균성을 보였다. *B. cereus*, *B. subtilis* 및 *L. monocytogenes*에서는 그람 음성균주에 비해 여러 혼합비율의 추출물에서 9~15 mm의 항균력이 나타났지만 홍삼분말의 함량이 높아질수록 항균력이 낮아지는 경향을 보이며 WS8과 WS9에서는 항균력이 나타나지 않았다. 진균인 *C. albicans*에서는 WS2 추출물이 inhibition zone이 17 mm로 가장 강한 항균력을 보였고, WS3 추출물도 15 mm로 항균력이 높게 나타났다. 각 균주에 대한 열수추출물의 항균력은 커피와 홍삼분말의 함량이 80:20으로 혼합된 WS2 추출물이 모든 균주에 대해 12~17 mm의 항균력이 나타나 우수한 항균활성을 보였다.

에탄올 추출물은 7종의 균주 중 *E. coli*와 *C. albicans* 2종을 제외한 5종의 균주에서만 항균활성이 나타났다(Table 2). 그람 음성균주를 보면 *P. aeruginosa*에서 홍삼분말 추출물을 제외한 모든 샘플에서 9~16 mm의 항균성이 나타나 항균활성이 좋았으며, *S. Typhimurium*은 ES2와 ES3 추출물에서 약한 항균성을 보였다. 그람 양성 3종에서는 전반적으로 ES2 및 ES3의 추출물에서 높은 항균력을 보였고, 열수

추출물과는 다르게 홍삼 분말의 함량이 높은 ES8과 ES9의 추출물도 *B. subtilis* 및 *L. monocytogenes*에 대해 항균활성이 높게 나타났다. 특히 ES2 추출물은 *L. monocytogenes* 균주에서 20 mm의 inhibition zone을 형성하여 열수 및 에탄올 추출물 중 가장 강력한 항균력을 보였다.

커피의 항균력을 갖는 성분에 대한 연구로는 카페인의 경우 사상균류(filamentous fungi)에 대하여 항균작용을 보이며 곰팡이가 만들어내는 아플라톡신(aflatoxin)의 생산을 억제한다는 보고가 있으며(27,28), *E. coli* O157:H7에 대하여 0.25~2.00%의 카페인이 항균작용을 보인다는 보고도 있다(29). 그리고 카페산(caffeic acid)의 경우는 *Pseudomonas*, *E. coli*, *S. aureus* 그리고 *B. cereus*에 대하여 항균성을 보인다고 연구가 진행되어 있다(30-32). 또한 Choi 등(33)은 홍삼 추출물을 연두부에 첨가하면 항균력이 증대하여 저장성이 길어진다고 보고하였다. 이러한 커피와 홍삼의 혼합 추출물은 시료 추출에 사용한 용매 및 혼합 비율에 따른 주요 항균 물질의 함량 차이 및 성분 조성의 차이를 가져오게 됨으로써 각기 다른 항균 효과를 보이게 되는 것으로 생각된다.

커피와 홍삼 혼합추출물의 최소저해농도

각 추출물에 대하여 균의 최소저해농도를 측정된 결과는 Table 3과 같다. 열수 추출물에서는 그람 음성균주인 *E. coli*에 대한 최소저해농도는 WS2와 WS5 추출물이 0.5 mg/mL이었다. *P. aeruginosa*에서 WS2와 WS5 추출물이 0.5 mg/mL, WS3, WS8 및 WS9 추출물은 1.0 mg/mL의 최소저해농

Table 3. Minimum inhibitory concentration of water and ethanol extracts from mixtures of roasted coffee and red ginseng powder

Samples	Minimum inhibitory concentration (mg/mL)						
	Gram negative			Gram positive			Fungi
	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>B. cereus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>C. albicans</i>
WRG	— ¹⁾	—	—	1.0	1.0	1.0	—
WCO	—	—	—	0.5	1.0	0.5	—
WS1	—	—	—	1.0	1.0	—	—
WS2	0.5	0.5	1.0	0.5	0.5	0.5	0.25
WS3	—	1.0	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
WS4	—	—	—	—	—	—	2.0
WS5	0.5	0.5	—	0.5	1.0	1.0	1.0
WS6	—	—	—	1.0	1.0	1.0	—
WS7	—	—	—	—	1.0	—	—
WS8	—	1.0	1.0	—	—	—	2.0
WS9	—	1.0	—	—	—	—	—
ERG	—	—	—	—	—	—	—
ECO	—	0.5	—	—	—	—	—
ES1	—	0.5	—	—	—	—	—
ES2	—	0.5	1.0	0.5	0.25	0.125	—
ES3	—	0.5	1.0	0.5	0.5	0.5	—
ES4	—	—	—	—	—	0.5	—
ES5	—	0.5	—	—	—	—	—
ES6	—	0.5	—	—	—	—	—
ES7	—	1.0	—	—	—	—	—
ES8	—	1.0	—	2.0	0.5	0.25	—
ES9	—	2.0	—	—	1.0	0.125	—

¹⁾ —: No inhibition.

도를 나타내었고, *S. Typhimurium*에서는 WS2와 WS3 추출물이 각각 1.0 및 0.5 mg/mL의 최소저해능도를 나타냈다. 그람 양성균주에서 홍삼추출물과 커피추출물의 최소저해능도는 *B. cereus*, *B. subtilis*, *L. monocytogenes* 3종의 균주에서 0.5 및 1.0 mg/mL이었고 WS2와 WS3 추출물은 모두 0.5 mg/mL의 농도로 최소저해능을 보였다. 진균의 *C. albicans*에서는 가장 우수한 항균효과를 보였던 WS2 추출물이 0.25 mg/mL의 농도로 가장 낮은 MIC 값을 나타내었다.

에탄올 추출물에서는 그람 음성균인 *E. coli*와 진균인 *C. albicans*에서는 최소저해능도가 나타나지 않아 배전시간에 따른 로스팅 커피의 메탄올 추출물이 *E. coli* 균주에서 항균력을 보이지 않은 결과와 유사하였다(25). *P. aeruginosa*에서는 홍삼분말 추출물을 제외한 대부분의 추출물에서 최소저해능도가 0.5 mg/mL와 1.0 mg/mL로 나타났고, *S. Typhimurium*에서는 ES2 및 ES3 추출물만이 1.0 mg/mL의 최소저해능도 값을 보였다. 그람 음성균주에서는 열수 추출물과 비슷한 결과로 ES2 및 ES3 추출물이 *B. cereus*, *B. subtilis*, *L. monocytogenes* 모두에서 최소저해능도가 나타났으며, ES2의 추출물은 그람양성균인 *B. subtilis*와 *L. monocytogenes* 두 균주에서 0.25 mg/mL 및 0.125 mg/mL로 가장 낮은 농도의 최소저해능을 보였다. 그리고 *L. monocytogenes* 균주에서는 ES8과 ES9 추출물이 0.25 mg/mL 및 0.125 mg/mL의 최소저해능도가 나타나 다른 균주에 비해 항균력이 우수한 것을 알 수 있다. Kim과 Han(25)의 연구에 의하면 커피 단독의 메탄올 및 열수 추출물이 대부분의 균주에서 1.0 mg/mL의 농도에서 최소저해능이 나왔으나, 커피와 홍삼의 혼합 추출물에서는 이보다 낮은 농도에서도 최소저해능도가 나타나 두 물질을 혼합하여 처리하였을 때 더 효율적인 것으로 나타났다.

커피와 홍삼 혼합추출물의 DPPH 자유기 소거 효과

커피의 항산화효과를 강화시키기 위하여 홍삼분말을 첨가하여 추출한 혼합 추출물에서 DPPH radical 소거능을 측정된 결과는 Table 4와 같다. 각각의 항산화 활성은 시료 1.0 µg/mL의 농도에서 측정된 것으로 홍삼 및 커피분말 추출물의 경우 DPPH radical 소거능은 홍삼분말의 열수 및 에탄올 추출물이 51.14% 및 55.36%이었으며 커피의 열수 및 에탄올 추출물은 각각 55.92%와 57.05%이었다. 두 분말을 일정 비율로 혼합하여 추출한 샘플의 경우에는 DPPH radical 소거능이 열수추출은 55.38~61.01%로 다소 증가한 결과를 보였고 WS1 추출물이 61.01%로 가장 높게 나타났다. 에탄올 추출물의 경우에도 59.30~70.50%로 DPPH radical 소거능이 홍삼과 커피분말을 단독으로 처리한 결과에 비하여 높은 소거능을 나타내어 혼합으로 추출할 경우 항산화 활성이 증가함을 알 수 있었다. 또한 홍삼분말의 함량이 높은 WS9 및 ES9 추출물은 55.38% 및 59.30%이었고, 커피분말의 함량이 많은 WS1과 ES1 추출물은 61.01% 및 67.19%로 커피분말의 함량이 증가할수록 소거능이 증가하는 것

Table 4. DPPH radical scavenging effect and the content of total polyphenols in water and ethanol extracts from mixtures of roasted coffee and red ginseng powder

Samples	DPPH radical scavenging effect (%)	Amount of polyphenol compound (mg/g)
WRG ¹⁾	51.14±0.23 ^{a2)}	87.64±4.26 ^a
WCO	55.92±1.55 ^{bc}	94.72±5.66 ^{abc}
WS1	61.01±0.21 ^c	109.18±2.61 ^e
WS2	60.63±0.01 ^{de}	107.89±1.73 ^{de}
WS3	60.17±0.79 ^{def}	106.53±0.96 ^{de}
WS4	57.81±1.78 ^{bcd}	98.57±2.31 ^{bc}
WS5	57.50±2.90 ^{abc}	98.72±7.12 ^{bc}
WS6	58.26±0.26 ^{cde}	101.18±5.62 ^{cd}
WS7	58.34±0.58 ^{cde}	101.34±4.23 ^{cd}
WS8	55.46±1.36 ^b	94.13±2.21 ^{abc}
WS9	55.38±1.67 ^b	93.57±1.17 ^{ab}
ERG	55.36±0.29 ^a	93.87±3.26 ^a
ECO	57.05±1.21 ^{ab}	97.31±2.13 ^a
ES1	67.19±0.91 ^d	117.55±5.27 ^d
ES2	70.15±0.15 ^e	119.40±1.00 ^d
ES3	70.50±1.63 ^e	119.79±10.91 ^d
ES4	65.92±1.39 ^d	115.72±1.92 ^{cd}
ES5	60.15±0.14 ^c	107.13±1.73 ^b
ES6	61.14±0.60 ^c	109.49±4.71 ^{bc}
ES7	59.37±1.49 ^{bc}	105.37±2.16 ^b
ES8	59.37±2.85 ^{bc}	105.16±3.15 ^b
ES9	59.30±1.60 ^{bc}	105.27±1.82 ^b
Ascorbic acid	89.38±0.82	—
BHT	67.91±1.49	—

The data were expressed as mean±SD of three determinations. ¹⁾W: water extract, E: ethanol extract.

²⁾Values with different letters in the same column are significantly ($p<0.05$) different by Duncan's multiple range test.

으로 나타났다. 이는 Rhi와 Shin(7)이 보고한 커피의 함유물인 caffeine도 항산화 작용에 직·간접적으로 영향을 미친다고 생각된다는 것으로 감안할 때 커피 함량이 높을수록 항산화 효과가 다소 높아지는 결과를 생각해 볼 수 있다.

그리고 에탄올 추출물의 ES2, ES3 추출물은 ascorbic acid의 89.38%보다는 항산화 효과가 낮게 측정되었지만 BHT의 67.91% 자유기 소거 효과에 비해 각각 70.15% 및 70.50%로 유사하게 높은 자유기 소거 효과를 보였다. 이러한 결과들을 종합해 보았을 때, 커피와 홍삼 분말을 단독으로 추출할 경우에는 AA와 BHT의 항산화 능력에 비해서는 다소 약하지만 커피 분말을 70% 이상 혼합할 경우에는 BHT의 항산화 효과와 비슷한 효과를 보여 상당한 항산화 효과를 갖는 것으로 생각된다.

홍삼추출물의 경우 에탄올 추출이 물 추출에 비해 높은 항산화능을 보인다는 결과(34)와 커피 추출물의 메탄올 추출물과 물 추출물의 항산화 효과 비교에서도 메탄올 추출물이 높게 타나났다는 연구 결과(25)와 같은 경향으로 본 연구 결과에서도 물 추출보다는 에탄올 추출물의 항산화능이 높게 나타났다.

커피와 홍삼 혼합추출물의 총 페놀화합물 함량

DPPH 자유기 소거 효과측정에서 커피와 홍삼분의 혼합

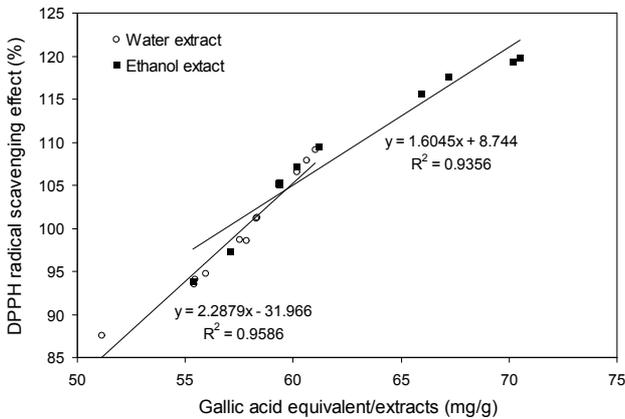


Fig. 1. Relationship between the content of phenolic compounds and DPPH radical scavenging effect of coffee.

추출물이 상당한 항산화 능력을 가진 것으로 측정되었는데 일반적으로 식품의 항산화 능력은 그 식품이 함유하고 있는 총 페놀성 물질의 양과 연관되어 있다. 커피와 홍삼분말의 함량을 달리하여 혼합 후 물과 에탄올 추출물에 대한 총 페놀화합물의 결과는 Table 4에 나타내었다. 홍삼분말의 열수 추출물과 에탄올 추출물의 총 페놀화합물은 87.64 mg/g, 93.87 mg/g이었고, 커피분말의 열수 및 에탄올 추출물은 94.72 mg/g과 97.31 mg/g으로 나타났다. 각 혼합 추출물에서는 열수 추출물에서 94.13~107.89 mg/g의 함량을 보였고, 에탄올 추출물에서는 105.16~119.79 mg/g의 함량을 보였다. 혼합비율별 열수 추출물과 에탄올 추출물의 페놀화합물의 함량을 비교하였을 때 대체로 에탄올 추출물에서 총 페놀화합물 함량이 높은 경향을 보였다. 또한 항산화능과 총 페놀화합물과의 상관관계를 살펴본 결과 DPPH 자유기 소거능과 총 페놀화합물 간에 상관관계가 열수 추출물은 $r^2=0.958$, 에탄올 추출물은 $r^2=0.935$ 의 높은 상관관계($p<0.01$)를 보였다(Fig. 1). 이 결과는 총 페놀화합물의 함량과 항산화력이 연관이 있다는 Holasova 등(35)이 보고한 phenol 함량이 높을수록 항산화력이 증가한다는 보고와 유사하다고 볼 수 있다. 따라서 커피 추출물의 총 페놀화합물 함량의 변화는 자유기 소거 효과에 영향을 미칠 것으로 생각된다.

요 약

본 연구에서는 홍삼분말과 커피분말의 혼합비율에 따른 추출물에서의 항균효과와 항산화성을 알아보기 위해 물과 에탄올로 추출하여 그람 음성균 3종과 그람 양성균 3종 및 진균 1종에 대한 항균활성 및 항산화력을 측정하였다. 각각의 추출물을 이용하여 항균 효과를 측정할 결과 열수 추출물은 모든 균주에서 항균활성을 보였으나 비교적으로 약한 항균효과를 보였고, 에탄올 추출물은 그람음성 균주 *E. coli*와 진균인 *C. albicans* 2종에서는 항균효과를 보이지 않았지만 나머지 균주에서는 열수 추출보다 우수한 항균효과를 보였다. *B. cereus* 균주에서는 모든 샘플에서 항균효과가 나타났

고, ES2 샘플은 *P. aeruginosa*와 *S. Typhimurium* 균주에서 각각 19 및 20 mm의 clear zone을 형성하였고, 0.25 및 0.125 mg/mL의 농도로 MIC를 나타내어 가장 우수한 항균효과를 보였다. 또한 항균성을 보인 대부분의 시료에서 0.5~1.0 mg/mL의 MIC 농도를 나타내었다. 그리고 DPPH 자유기 소거 효과를 이용한 항산화력 측정에서는 열수 추출물에서 55.38~60.01%, 에탄올 추출물에서 59.37~70.50%로 AA보다는 약하지만 BHT의 결과와 비슷하여 비교적 높은 자유기 소거 효과를 보였다. 총 폴리페놀화합물 함량은 열수 추출물에서 93.57~109.18 mg/g으로 커피와 홍삼의 혼합비율이 9:1일 때 가장 높은 함량을 보였고, 에탄올 추출물에서는 105.16~119.79 mg/g으로 혼합비율이 7:3일 때 가장 높은 함량을 보였다. 열수 추출물과 에탄올 추출물의 총 페놀화합물의 함량을 비교하였을 때, 대체로 에탄올 추출물에서 총 페놀화합물 함량이 높은 경향을 보였다. 혼합 비율에 따라 각 시료의 항균 효과와 항산화력 역시 변화를 보였다. 따라서 홍삼의 일반 식품 이용가능성으로 커피와의 함량 조절로 커피의 항균효과와 항산화력을 변화시킬 수 있다는 가능성을 알 수 있었다. 이 연구를 바탕으로 추후 특정 생리활성물질의 분석과 생리활성기능을 연관 지어 연구를 진행한다면 기존의 기능성 음료로서의 커피에서 기능성 음료로서의 커피로 발전할 수 있을 것으로 기대된다.

문 헌

- Karakaya S, El SN, Tas AA. 2001. Antioxidant activity of some foods containing phenolic compounds. *Int J Food Sci Nutr* 52: 501-508.
- 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. *Biochem* 69: 70-74.
- Morton C, Klatsky AL, Udaltsova N. 2004. Smoking, coffee, and pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 99: 731-738.
- Park JY, Kim JY, Lee SP, Lee JH. 2010. The effect of green coffee bean extract supplementation on body fat reduction in overweight/obese women. *Korean J Nutr* 43: 374-381.
- Greenberg JA, Boozer CN, Geliebter A. 2006. Coffee, diabetes, and weight control. *Am J Clin Nutr* 84: 682-693.
- 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.
- Rhi JW, Shin HS. 1993. Antioxidative effect of brown materials extracted from roasted coffee beans. *J Food Sci Technol* 25: 220-224.
- Daglia M, Papetti A, Dacarro C, Gazzani G. 1998. Isolation of an antibacterial component from roasted coffee. *J Pharm Biomed Anal* 18: 219-225.
- Antonio AG, Moraes RS, Perrone D, Maia LC. 2009. Species, roasting degree and decaffeination influence the antibacterial activity of coffee against *Streptococcus mutans*. *Food Chem* 118: 782-788.
- Park JS, Cho YJ, Pyee JH, Hong HD. 2006. Meta-analysis of studies and patents on Korean ginseng in recent 5 years in Korea and prospective needs. *J Ginseng Res* 30: 212-219.

11. Ku SK, Choi HY. 2009. Antioxidant activity and quality characteristics of red ginseng sweet jelly (yanggaeng). *Korean J Food Cookery Sci* 25: 219-226.
12. Nam SH. 1979. Studies on the effect of Korean ginseng components on acetic acid fermentation. *MS Thesis*. Korea University, Seoul, Korea.
13. Cho TH, Oh SW, Yu IH, Yu TJ. 1986. Influences of *Fusarium solani* and *Phytophthora cactorum* on the changes in saponin components of Korean ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer). *J Ginseng Res* 10: 180-189.
14. Kwak YS, Hwang MS, Kim SC, Kim CS, Do JH, Park CK. 2006. A growth inhibition effect of saponin from red ginseng on some pathogenic microorganisms. *J Ginseng Res* 30: 128-131.
15. Bhattachary SK, Mirata SK. 1991. Anxiolytic activity of *Panax ginseng* roots: man experimental study. *J Ethnopharmacol* 34: 87-92.
16. Yun HC, Choi HJ, Yun JS. 1992. Effect of ginseng saponins on monoamines and serum corticosterone in heat-stress mice. *Acta Pharmacol Sin* 10: 492-496.
17. Jang SK, Kim JH, Chung YS, Ahan OC, Kang M, Lee DK, Kim SK. 1994. An experimental study on the effect of immunopotential and anticancer effect of red ginseng extract. *Korean J Ginseng Sci* 18: 151-159.
18. Kimura M, Wakai I, Kikuchi T. 1981. Hypoglycemic components from *Ginseng radix* and the action insulin release. *Proc Symp Wakan Yaku* 14: 125-130.
19. Kim WJ, Kim SK, Hwang SY, Lee HL, Choi JS, Kwak YS. 1999. Korean red ginseng improves survival and sperm quality in guinea pigs exposed to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. Proceedings of '99 Korea-Japan Ginseng Symposium, Seoul, Korea. p 134-149.
20. Joo CN. 1980. The protective effect of Korean ginseng saponins on aortic atheroma formation in prolonged cholesterol fed rabbits. Proceedings of 3rd Int'l Ginseng Symposium, Korea Ginseng Research Institute. p 27-36.
21. Kwak YS, Wee JJ, Hwang SY, Kyung JS, Nam KY, Kim SK. 2000. Effect of crude saponin from Korean red ginseng on clinical parameters of ovariectomized rat. *J Ginseng Res* 24: 46-50.
22. Fulder S, Hallstrom C, Caruthers M. 1980. The effect of ginseng on the performance of nurses on night duty. Proceedings of 3rd Int'l Ginseng Symposium, Korea Ginseng Research Institute. p 81-85.
23. Li G, Wang Z, Sun Y, Liu K, Wang Z. 2006. Ginsenoside 20(S)-protopanaxadiol inhibits the proliferation and invasion of human fibrosarcoma HT1080 cell. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 98: 588-592.
24. Shin JY, Song JY, Yun YS, Yang HO, Rhee DK, Pyo S. 2002. Immunostimulating effects of acidic polysaccharide extract of *Panax ginseng* on macrophage function. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 24: 469-482.
25. Kim JY, Han YS. 2009. Influence of roasting time on antibacterial and antioxidative effects of coffee extract. *Korean J Food Cookery Sci* 25: 496-505.
26. Choi JS, Oh JI, Hwang IT, Kim SE, Cheon JC, Lee BH, Kim JS, Kim TJ, Cho KY. 2003. Application and high throughput screening of DPPH free radical scavenging activity by using 96-well plate. *Korean J Pesticide Sci* 7: 92-99.
27. Buchanan RL, Fletcher AM. 1978. Methylxanthine inhibition of aflatoxin production. *J Food Sci* 43: 654-655.
28. Nartowicz VB, Buchanan RL, Segall S. 1979. Aflatoxin production in regular and decaffeinated coffee beans. *J Food Sci* 44: 446-448.
29. 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: 654-650.
30. Baranowski JD, Nagel CW. 1982. Inhibition of *Pseudomonas fluorescens* by hydroxycinnamic acids and their alkyl esters. *J Food Sci* 47: 1587-1589.
31. Herald PJ, Davidson PM. 1983. Antibacterial activity of selected hydroxycinnamic acids. *J Food Sci* 48: 1378-1379.
32. 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: 191-200.
33. Choi GH, Kim KC, Lee KH. 2010. Quality and antioxidant characteristics of soft tofu supplemented with red ginseng extract during storage. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39: 414-420.
34. Kim SI, Ko SH, Lee YJ, Choi HY, Han YS. 2008. Antioxidant activity of yogurt supplemented with red ginseng extract. *Korean J Food Cookery Sci* 24: 358-366.
35. Holasova M, Fiedlerova V, Smrcinova H, Orsak M, Lachman J, Vavreinova S. 2002. Buckwheat the source of antioxidant activity in functional foods. *Food Res Int* 35: 207-211.

(2011년 12월 12일 접수; 2012년 2월 22일 채택)