

## 발효 유무에 따른 콜롬비아 커피와 루왁커피의 항산화 활성 비교연구

김송숙<sup>†</sup>

구미대학교 식품영양전공

### A Comparison of Antioxidant Effects among Non-fermented and Fermented Columbian Coffee, and Luwak Coffee Beans

Song-Suk Kim<sup>†</sup>

Major in Food & Nutritional Sciences, Gumi University

#### Abstract

The purpose of this study was to investigate the antioxidant effects of non-fermented (CAC) and *Monascus pilosus*-fermented Columbia arabica coffee (FCAC), as well as Luwak coffee (LC) beans. The results indicated that total polyphenols content (mg/g of dry basis) was highest in CAC (70.69), followed by LC (62.07), and FCAC (41.38). However, the ratio of total flavonoids/polyphenols in FCAC was the highest. In terms of electron donating ability (%), coffee mg/mL), CAC was significantly higher than LC and FCAC. Regardless of fermentation, ferric reducing antioxidant powers were similar in CAC and FCAC and lowest in LC. LC also had the highest inhibitory activity against xanthine oxidase (XO). However FAAC had the highest inhibitory activity against aldehyde oxidase (AO), with nearly three times the levels found in CAC and LC. According to the above results, FCAC had a higher ratio of flavonoids/polyphenols and iron chelating activity than CAC. FCAC also had the highest AO inhibitory activity among the three experimental coffee beans. The results suggest that further studies are required to evaluate the bioactive components of various coffee beans so as to determine the potential benefits that coffee may have on preventing oxidative stress-related conditions.

**Key words:** coffee, antioxidative activity, fermentation, Luwak

## I. 서론

최근 식생활의 서구화 및 운동 부족, 대사 불균형과 환경오염 등으로 다양한 생활습관병이 크게 증가하는 추세이며, 이 같은 상태에서는 체내 유해한 활성산소종(ROS: reactive oxygen species)의 생성이 증가할 수 있다(Halliwell B 2006). 암을 비롯한 심혈관계질환, 당뇨병, 신경계질환 및 염증 등의 만성적 질환과 노화 과정은 대부분 ROS에 의한 산화적 스트레스와 관련이 있는 것으로 보고되고 있다(Dorea J와 Costa T 2005). 그러나 유해 라디칼 생성 및 이로 인한 산화적 세포 손상은 체내 방어 시스템에 의해 지연 또는 예방될 수 있는데, 항산화 효소와 비효소계 항산화 성분들이 이에 속한다(Jeon SM 등 2001).

특히 비효소계 항산화 성분은 일상적인 식이와 건강식품, 약효식품을 통해 쉽게 섭취할 수 있으므로 생리활성

소재를 이용한 기능식품에 대한 관심도 최근 증가하는 추세이다. 또한 건강 개념이 내포된 식문화의 고급화 추세와 병행하여 기호음료에 대한 인식도 급격히 변화하고 있다. 특히 음료 중 원두커피 기호도가 매우 높아져 최근 우리나라 성인 1인당 연간 커피 소비량이 338잔이며, 한 달 28잔의 커피를 소비하고 있다(Korea Customs Service 2012). 이와 같은 기호음료의 선호 변화에 따라 커피의 건강성, 커피 성분의 생리활성 및 효능에 대한 관심도 증폭되는 추세이다.

각종 폴리페놀 함유 음료 중 커피 음료는 항산화 활성이 상대적으로 탁월하며(Pellegrini N 등 2003), 커피의 주된 항산화 성분에 해당되는 chlorogenic acid 등을 포함한 폴리페놀 성분은 산화적 스트레스로 인한 병리현상에 대한 예방효능이 있는 것으로 나타났다(Nabavi SM 등 2014). 그 외 커피의 멜라노이딘과 신생 물질들은 산화적 손상과 관련된 퇴행성질환 예방효과 및 활성산소로 인한 DNA 손상에 대한 억제효능이 있는 것으로 보고되었다(Bravo J 등 2013). 커피의 약리효능 측면에서는 니코틴산, 카페산 및 카페인 성분이 간 손상과 당뇨병에 대한 보호작용이 있는 것으로 알려져 있다(Oka K 2007). 커피를 볶는 과

<sup>†</sup>Corresponding author: Song-Suk Kim, Major in Food & Nutritional Sciences, Gumi University  
Tel: +82-54-440-1341  
Fax: +82-54-440-1345  
E-mail:songsk@gumi.ac.kr

정에서 증가된 chlorogenic acid 유도체 성분은 산화적 스트레스로부터의 신경세포 보호효과가 있으며, 이 때 생성된 melanoidin은 커피의 항산화 활성에 기여하는 것으로 나타났다(Chu YF 등 2009).

상기의 일반 커피와 달리, 루왁커피(Kopi Luwak)는 인도네시아 정글에 서식하는 사향고양이가 먹은 커피열매가 소화기관의 효소와 장내 미생물에 의한 발효과정을 거친 후 배설된 커피이며, 입 안에 풍부하게 느껴지는 특유 점성과 무게감(full body taste) 및 조화로운 향과 맛이 특징적이어서 고가로 거래되고 있다(Marcone MF 2004). 이와 관련하여 일반 커피에 발효 과정을 도입하여 커피의 품질속성을 변화시키고자 하는 연구들이 이루어져 왔다(Woelore MW 1993, Avallone S 등 2002). 최근 실험(Jumhawan U 등 2013)에서는 루왁커피의 citric acid, malic acid 등 특정 성분들로부터 일반 커피와 차별화 되는 표적물질을 추적하고자 하는 연구도 수행되었다. 그러나 루왁커피에 대한 특징적 성분의 분리·동정, 이들의 건강성 및 일반 커피와 비교·검토 등의 연구는 현재까지 많이 부족한 실정이다.

일반 커피의 발효는 루왁커피의 경우와 많은 차이가 있을 것으로 추정되나, 발효과정은 기존 화학성분 및 특히 항산화능을 가진 생리활성물질의 조성 변화에 영향을 미칠 수 있을 것으로 본다. 발효식품과 관련하여 특히 *Monascus*속 곰팡이는 전통적으로 홍국 제조와 식품 보존(Lin YL 등 2008)에 이용될 뿐만 아니라 고콜레스테롤혈증과 지질이상혈증(Yang CW와 Mousa SA 2012), 골다공증(Choi MJ 와 Yu T 2004) 등의 퇴행성질환 관리에 도움이 된다고 알려져 있다. 또한 이들의 색소 성분은 항돌연변이, 항암, 항진균 활성 및 면역력 강화효능 등의 생리적 기능을 보유한다(Zheng Y 등 2010, Patakova P 2013).

상기와 같이 생리활성을 보유한 *Monascus*속 미생물 중 특히 *M. pilosus*은 발효과정을 통해 유해 라디칼 제거와 철 포집력 등의 항산화 활성 및 항동맥경화, 혈중 중성지방과 콜레스테롤 저하 효능을 나타낸다고 보고되었다(Kuo CF 등 2009). 최근 본 실험실에서 수행된 *M. pilosus*을 이용한 발효식품들의 기능성 품질연구에서도 비발효 대조군에 비해 발효과정을 거친 녹차(Kim MJ 등 2012)와 검정콩(Lee SI 등 2013)은 전자공여력, 철 포집력 및 산화효소 저해효능 등의 항산화 지표에 대해 활성 증가를 보였으며, 녹차 음료는 색, 맛과 향의 관능요소가 개선되었다.

이와 같은 실험 결과에 기초하여, 현대인의 생활음료로 각광받는 커피에 대해 *M. pilosus*로 발효시킨 후 항산화 지표들의 변화 추이를 조사한다면 커피의 품질 향상 측면에서 의미가 있을 것으로 사료된다. 최근 루왁커피가 사향고양이 위장관을 거쳐 생산된 것이라는 희귀성 때문에

고가에 판매되고 있으나 가공상 위생이 문제점으로 지적되고 있다. 이에 *M. pilosus*와 같이 생리적 기능성이 검증된 미생물을 이용한 인위적 커피 발효방법이 모색된다면 고부가성의 신제품 개발에 필요한 기초자료로 활용될 수 있을 것이다. 본 연구에서는 항산화 지표들에 대한 활성 정도를 기준으로, 일반커피와 루왁커피 및 *M. pilosus*로 발효시킨 커피에 대해 기능 변화현상을 비교하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 재료 및 균주

실험에 사용한 커피는 1년 이내 수확된 콜롬비아산 아라비카 생두(로작, 경북, 한국)와 루왁 생두(정글아트루왁, 상주, 한국)를 구입하여 사용하였으며, 발효용 균주는 한국종균협회에서 분양받은 *Monascus pilosus* (*M. pilosus*) IFO 4480을 사용하였다.

### 2. 커피의 발효

콜롬비아 생두의 전처리 및 배양 등의 발효과정은 *M. pilosus* 활용 식품발효방법(Kim MJ 등 2012, Lee SI 등 2013) 등의 선행연구에 근거하여 실시하였다. 먼저 생두는 전처리 작업의 일환으로 가정용 분쇄기를 이용하여 대략 1/10 등분하여 분쇄한 후, 분쇄한 생두 100 g에 대해 10 mL 물의 비율로, 1시간 간격으로 5회 분무하는 수침과정을 거침으로써 수분함량을 33%로 조정하여 발효용 재료로 사용하였다. 불린 생두의 발효는 생두 100 g에 대해 *M. pilosus* 배양액 10%를 함유하는 살균수 70 mL를 가하여 30°C에서 7일간 배양하였으며, 볶음작업(roasting)을 위해 35°C~40°C에서 건조시켰다. 실험중균은 보존 중인 *M. pilosus* 균주를 Tryptic Soybroth (DF211824, Becton Dickinson and Company, Sparks, MD, USA)에 이식하여 30°C에서 10일간 배양하여 균 수가  $10^8$  cells/mL 이상이 되게 한 것을 사용하였다.

### 3. 커피 볶음 및 추출

발효생두의 볶음 방법은 Ludwig IA 등(2013)에 따라 자동로스터기(Roaster THCR-01, Tachwan, Seoul, Korea)에서 중간 볶음도(에그트론 65)를 유지하며, 250°C에서 11분간 볶기를 하여 원두를 생산하였다. 원두 분쇄는 커피분쇄기(Anfim Sas, Anfim Co., Milano, Italy)를 사용하였으며, 분쇄입도는 0.5 mm로 조정하였다. 분쇄커피 추출방법은 커피 1 kg에 대해 4°C의 냉수 5.67 L를 가하여 12시간동안 워터드립식으로 여과추출하여 15% 커피추출액으로 조제하였다. 커피추출액은 30 mL씩 포장하여 4°C에서 보관하였으며, 5% 커피추출액을 분석실험용 원액으로 사용하였다.

#### 4. 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량

시료의 총 폴리페놀 함량(total polyphenol; TP)은 Minussi RC 등(2003)의 방법에 따라 시액 100  $\mu$ L에 2% sodium carbonate 2 mL와 50% Folin-Ciocalteu reagent 100  $\mu$ L를 가하여 720 nm에서 흡광도를 측정하였으며, gallic acid (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)의 표준검량선에 의하여 함량을 산출하였다. 플라보노이드 함량(total flavonoid; TF)은 Meda A 등(2005)의 방법에 따라, 시료 희석액 1 mL에 2% aluminum chloride 1 mL와 50% 에탄올 1 mL를 혼합하여 실온에서 10분간 반응시킨 후, 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질 quercetin (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)의 표준검량선에 의하여 함량을 산출하였다.

#### 5. 전자공여능

전자공여능(electron donating ability: EDA)은 Blois MS (1958)의 방법에 따라 시액 200  $\mu$ L에 0.4 mM DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 용액 800  $\mu$ L를 가하여 10분간 방치한 다음 525 nm에서 흡광도를 측정하였으며 계산식인 전자공여능 (%) =  $[1 - (\text{시료흡광도}/\text{대조군 흡광도})] \times 100$ 에 의하여 활성을 산출하였다.

#### 6. 철 환원력

철 환원력(ferric reducing antioxidant power: FRAP)은 Benzie IF와 Strain JJ (1996)의 방법에 따라 커피추출 희석액 50  $\mu$ L에 증류수 50  $\mu$ L를 가하여 혼합한 후 0.3 M sodium acetate buffer (pH 3.60)와 10 mM 2,4,6-tris (2-pyridyl)-S-triazine을 함유하는 40 mM HCl 용액 및 20 mM FeCl<sub>3</sub> 용액(10:1:1, v/v)의 혼합용액 1.90 mL를 가하여 37°C에서 30분간 반응시킨 후 593 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군은 추출액 대신에 증류수를 사용하였으며 활성은 건조시료 g당 Fe<sup>3+</sup>이 Fe<sup>2+</sup>로 환원된 양을  $\mu$ mole로 나타내었다.

#### 7. Superoxide dismutase (SOD) 유사활성

Marklund S와 Marklund G (1974)의 방법에 따라 시액 200  $\mu$ L에 pH 8.5로 조정된 tris-HCl buffer 용액 3 mL와 7.2 mM pyrogallol 200  $\mu$ L를 가하여 25°C에서 10분간 반응시킨 후, 1 N HCl 1 mL를 가하여 반응을 정지시키고 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 계산식에 해당되는 SOD-like activity(%) =  $100 - [(OD \text{ of sample}/OD \text{ of control}) \times 100]$ 에 의하여 활성을 산출하였다.

#### 8. Ferrous iron chelating activity (FICA)

FICA는 Dinis TCP 등(1994)의 방법에 따라 시액 1.0 mL에 3.7 mL의 증류수를 가한 후 2 mM의 ferrous chloride

100  $\mu$ L와 5 mM의 ferrozine 200  $\mu$ L를 가하여, 실온에서 10분간 반응시켜 562 nm의 흡광도를 측정하였다. 활성도(%)는  $[1 - (\text{시료 흡광도}/\text{대조군 흡광도}) \times 100]$ 으로 계산하였다.

#### 9. Xanthine oxidase (XO) 및 Aldehyde oxidase (AO)의 저해활성에 미치는 영향

효소원은 Rajagopalan KV 등(1962) 및 Maia L과 Mira L (2002) 방법에 따라 milk로부터 XO를, 토끼 간 조직으로부터는 AO를 각각 추출한 후 ammonium sulfate 분획, 투석 및 원심분리를 행하여 부분 정제한 후 -70°C에서 보관하였다. XO 활성도는 Stirpe F와 Della Corte E (1972)의 방법에 따라 기질 xanthine을 uric acid로 전환하는 정도를 %로 나타내었다. AO 활성도는 Rajagopalan KV 등(1962)의 방법에 따라 기질 NMN (N<sup>1</sup>-methyl nicotinamide)으로부터 산화된 pyridone을 300 nm에서 측정하는 다음 시료 대신에 증류수를 첨가한 대조군에 대한 %로 나타내었다.

#### 10. 통계처리

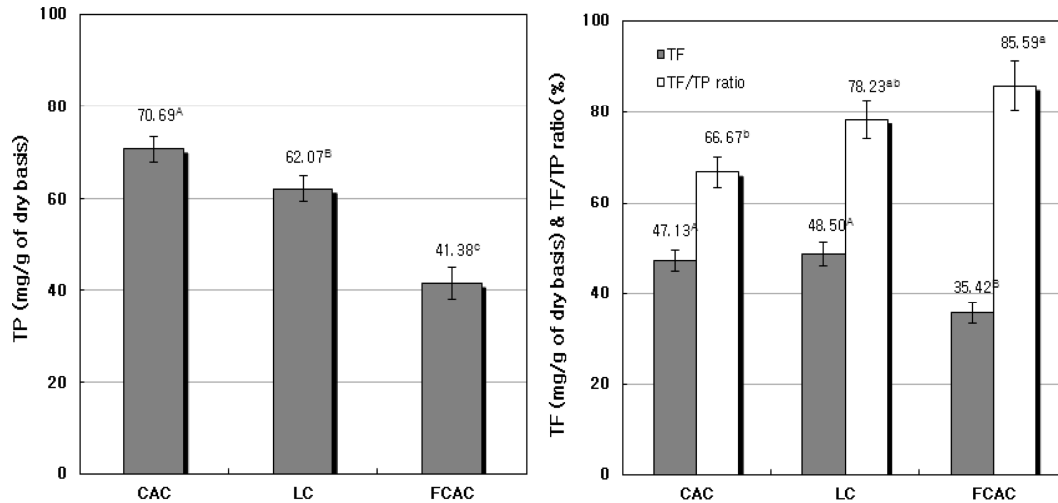
상기 연구에 대한 분석은 3회 반복 실험한 평균값과 표준편차로 나타내었으며, 샘플들간 유의성 여부는 SPSS 12.0 통계 프로그램을 이용하여 Duncan's multiple range test로 검증하였다( $p < 0.05$ ).

### III. 결과 및 고찰

#### 1. 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량

콜롬비아산 아라비카 커피(Columbia arabica coffee; CAC), 루왁커피(Luwak coffee; LC) 및 *M. pilosus*로 발효시킨 콜롬비아산 아라비카 커피(Fermented Columbia arabica coffee; FCAC)에 대해 총 폴리페놀(Total polyphenol; TP)과 플라보노이드(Total flavonoid; TF)의 함량(mg/g of dry basis)을 측정하여 Fig. 1에 제시하였다. 실험 결과에 의하면 TP 함량은 CAC는 70.69 mg, LC는 62.07 mg, FCAC는 41.38 mg으로, 이들 간에 유의적 차이가 있었다. TF함량에 대해서는, FCAC는 CAC와 LC에 비하여 유의적으로 낮았으며 CAC와 LC 간의 차이는 없었다. 또한 TF/TP 비율(%)은 LC와 FCAC가 CAC보다 높았으며, LC와 FCAC 간에 유의적 차이는 없었다. 그러나 FCAC의 TF/TP 비율(%)은 CAC보다 유의적으로 높은 수치를 나타내었다( $p < 0.05$ ).

세계적으로 유통되는 커피에는 콜롬비아·브라질·케냐 및 과테말라 아라비카종과 베트남 로부스타종이 주류를 이루며, 품종·산지·수확 시기 및 가공법에 따라 일반 성분과 기능성 성분의 함량과 효능 차이가 있는 것으로 보고되고 있다(Ludwig IA 등 2013). 이와 같은 일반 커피와



**Fig. 1.** Contents of total polyphenol (TP) and flavonoid (TF), and the ratio of TF/TP for non-fermented and fermented coffee by *M. pilosus*

CAC: Columbia arabica coffee. LC: Luwak coffee. FCAC: Fermented Columbia arabica coffee. Values represent the mean±SD of triplicate determinations. Different superscripts on the bars indicate significant differences ( $p < 0.05$ ) by Duncan's multiple range test.

달리 루왁커피는 사향고양이가 먹은 후 소화기관을 거쳐 배설된 커피로서 관능적으로 부드러운 맛과 독특한 향을 가진 것으로 알려져 있으나, 기능성분 연구는 거의 없는 실정이다. 이에 일반 커피, 위장관내 소화를 거친 루왁커피 및 *M. pilosus*에 의한 인위적 발효커피의 항산화 지표 조사는 생리기능 측면에서 기초자료 제공뿐만 아니라 발효커피 개발의 시발점이 될 수 있을 것이다.

본 실험에서 *M. pilosus*에 의한 FCAC은 CAC에 비해 TP 함량의 감소현상을 보였으나, TF/TP 비율은 증가하였으며 LC와 비교하여 유의성 있는 차이는 없었다. 이와 같은 결과는 발효과정이 커피 세포벽에 강하게 결합된 화학성분들의 추출수율 증대 및 폴리페놀 분해로 인한 플라보노이드함량 증가를 초래한 것이라 할 수 있다(Shi M 등 2012). 한편 발효에 의한 폴리페놀 함량은 발효방법에 따라 차이를 보이는데, 발효 시 비수용성 폴리페놀 성분이 수용성 플라보노이드로 전환함으로써 총 폴리페놀 감소현상이 일반적으로 발생하며, 특히 catechin 등의 일부 폴리페놀이 플라보노이드로 전환한다고 보고되었다(Lee YK 등 2012). 또한 발효 횟수 증가에 따라 폴리페놀과 플라보노이드 함량이 함께 증가한다는 연구 결과(Kim MH 등 2014)도 있는데, 이와 같이 상반된 결과는 시료 종류, 발효 정도와 시간 경과 및 방법 등이 변수요인으로 작용한 것이라 사료된다.

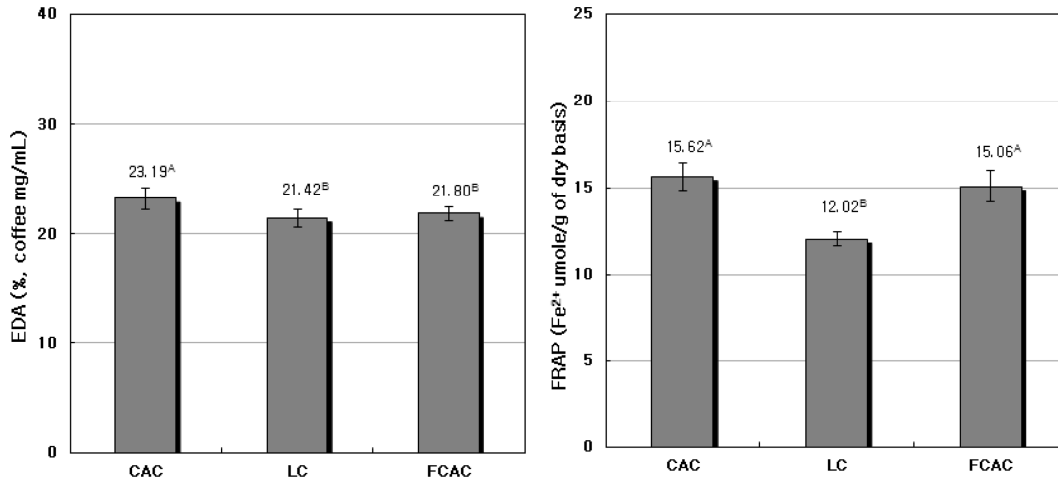
일반적으로 플라보노이드를 포함하는 폴리페놀 화합물은 주로 B환에 부착된 수산기 중 수소의 환원작용에 의하여 항산화 활성을 나타내며, 항콜레스테롤, 항염증 및 항암 등의 다양한 생리기능을 보유한다(Dixon RA 등 1983). 또한 그 구조와 용해도에 따라서 생리적 활성 정도에 차이가 있는 것으로 보고되고 있다(Kelly EH 등 2002). 커피

피에는 폴리페놀 중 특히 deposite형의 chlorogenic acid가 많이 함유되어 있으며, 커피의 항산화 효능뿐만 아니라 산미와 떫은맛, 쓴맛을 띠게 하는 주성분으로도 알려져 있다(Moreira DP 등 2005). 본 실험의 *M. pilosus*을 이용한 발효커피에서 나타난 총 폴리페놀함량 감소는 관능적으로 커피의 떫은맛과 쓴맛을 완화시키는 반면에 발효에 따른 풍부한 맛을 증가시킴으로써 커피의 기호도를 향상시킬 수 있으리라 본다. 또한 발효과정에서 생성되는 플라보노이드는 독특한 맛과 향의 요인으로 알려져 있으므로(Belitz HD와 Grosch W 1986), CAC에 비해 FCAC에서 유의적 증가를 보인 TF/TP 함량 비율로부터 일반 커피와 차별화 되는 발효커피의 특유 관능성에 대한 발현을 추정할 수 있다. 루왁커피의 특징적인 관능 일부도 플라보노이드 성분에 기인하리라 보며, 본 실험에서 나타난 높은 TF/TP 비율이 이 같은 추정을 뒷받침한다.

따라서 *M. pilosus*로 발효시킨 커피와 루왁커피는 비발효의 일반 커피에 비해 총 폴리페놀 함량은 낮지만 총 플라보노이드의 함유 비율은 높으므로, 플라보노이드의 생리활성을 보유하면서 관능적 측면에서는 떫은맛과 쓴맛은 감소하는 반면에 기호성을 향상시킬 수 있을 것으로 사료된다.

## 2. 전자공여능 및 철 환원력

본 실험에서 CAC, LC 및 *M. pilosus*로 발효시킨 FCAC의 전자공여능 및 철 환원력에 대한 측정 결과는 Fig 2에 제시하였다. 전자공여능(%)은 CAC 수치가 23.19%로 가장 높았으며, LC와 FCAC의 수치는 각각 21.42%와 21.80%이었으며 이들 간의 유의성은 없었다. 철 환원력( $\text{Fe}^{2+}$   $\mu\text{mole/g coffee}$ )은 CAC에서 15.62  $\mu\text{mole}$ , FCAC는



**Fig. 2.** Electron donating ability (EDA) & ferric reducing antioxidant power (FRAP) for non-fermented and fermented coffee by *M. pilosus*

CAC: Columbia arabica coffee. LC: Luwak coffee. FCAC: Fermented Columbia arabica coffee. Values represent the mean±SD of triplicate determinations. Different superscripts on the bars indicate significant differences ( $p < 0.05$ ) by Duncan's multiple range test.

15.06 μmole이며 이들의 뚜렷한 차이는 보이지 않았으며, LC의 수치는 12.02 μmole로서 이들에 비해 낮았다.

전자공여능은 ROS에 의한 산화적 스트레스를 예방하는 항산화 활성의 지표로 활용되고 있으며(Choi CH 등 2003), 페놀산과 플라보노이드 등의 페놀성 물질에 대한 항산화 작용의 척도로도 활용된다(Torel J 등 1986). 그러므로 식품에 함유된 polyphenol성 물질들의 증가는 강한 항산화력을 반영하게 되는데, 이와 같은 생리활성은 주로 환원력에 기인하는 것으로 알려져 있다(Osawa T 1994). 본 실험의 TF/TP 함량비율에 따르면, 루왁커피에 비해 유의적 차이는 없으나 높은 비율을 보인 *M. pilosus* 발효커피는 루왁커피와 대등한 전자공여능을 보였으며, 환원력에서는 루왁커피보다 오히려 높은 활성을 나타내었다. 그러나 현 실험조건에서 발효커피는 일반 커피에 비해 낮은 전자공여능을 보였는데, 이것은 발효에 의한 폴리페놀 성분의 감소에 의한 것으로 추정되며 미생물을 이용한 발효차 제조(Lee SI 등 2012)에서도 이와 동일한 결과가 보고되었다.

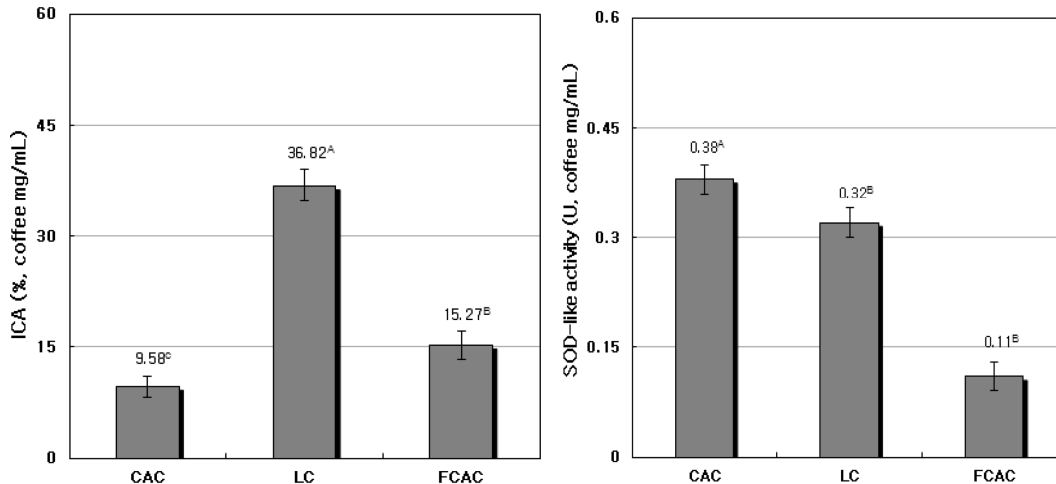
### 3. Ferrous iron chelating activity (FICA) · Superoxide dismutase (SOD) 유사활성

일반커피(CAC), 루왁커피(LC) 및 *M. pilosus*를 이용한 발효커피(FCAC)에 대해 FICA와 SOD 유사활성을 조사하여 Fig. 3에 제시하였다. FICA (%)는 CAC가 9.58%, LC는 36.82%, FCAC는 15.27%이며, 이들의 활성도는 LC > FCAC > CAC 순으로 LC에서 가장 높은 활성을 나타내었다. 반면에 SOD 유사활성은 CAC > LC > FCAC 순이며, *M. pilosus*로 발효시킨 FCAC에서 가장 낮았다.

환원 철(Fe<sup>2+</sup>)과 산화 철(Fe<sup>3+</sup>) 등의 전이금속은 hydroperoxide와 같은 지질과산화물 분해를 촉진함으로써 유해

라디칼(alkoxyl radicals, peroxy radicals)을 생성하여 지질과산화물을 증폭시키는데(Fukuzawa K 등 1993), 철 포집력(FICA)은 이러한 일련의 산화반응을 지연시키는 능력이다. 본 실험에서 FCAC는 CAC에 비해 높은 FICA를 보였는데, 이와 같은 결과는 발효로 인해 총 폴리페놀은 감소하였으나, 커피 세포벽에 결합한 화학성분의 추출 증대(Shi M 등 2012) 및 일부 폴리페놀의 분해와 플라보노이드로의 전환(Lee YK 등 2012) 등의 기전을 통해 철 포집활성을 소유한 특정 활성물질들의 생성에 의한 것이라고 추정할 수 있다. Atoui AK 등(2005)에 의하면 식물체의 플라보노이드·타닌·페놀산 등은 수소 공여체로 작용하여 ROS 반응 차단 및 동시에 철 포집력을 보유하며, 특히 플라보노이드군(flavones, isoflavones, flavanones, flavanols, anthocyanidins)은 이들의 catechol 그룹이 철과 결합함으로써 플라보노이드의 철 포집활성과 유해 라디칼 억제작용으로 인해 항산화 활성을 가진다고 보고되었다(Kell DB 2009). 페놀산 중에는 chlorogenic acid 외, caffeic acid와 ferric acid가 유해 라디칼 차단을 통하여 강한 항산화능을 가지며, 특히 caffeic acid는 강한 철 포집활성을 가진 catechol 그룹이 산화력이 강한 hydroxy radical 생성을 저해함으로써 항산화 활성을 보유한 것으로 보고되고 있다(Ikeda H 등 2011, Elekofehinti OO 등 2013).

철 포집력은 ROS 생성을 억제하여 연쇄적 지질과산화물을 방지함으로써 나타나는 항산화 효능에 대한 지표라고 할 수 있는데, 본 실험에서 루왁커피의 높은 철 포집력은 사향고양이 위장관의 기계적 소화 및 생화학적 작용을 거친 커피성분의 분해와 신생 합성으로 인한 생리활성물질의 증가 및 이들 중 강한 항산화성 물질들의 작용에 의한 것으로 판단된다. 커피의 화학성분 중 대표 폴리페놀로서 성분 함량이 높은 chlorogenic acid는 대개 에



**Fig. 3.** Iron chelating activity (ICA) and superoxide dismutase (SOD)-like activity for non-fermented and fermented coffee by *M. pilosus*

CAC: Columbia arabica coffee. LC: Luwak coffee. FCAC: Fermented Columbia arabica coffee. Values represent the mean±SD of triplicate determinations. Different superscripts on the bars indicate significant differences ( $p < 0.05$ ) by Duncan's multiple range test.

스테르 형태로서 위장관내 가수분해 시 caffeic acid를 포함한 각종 대사산물들을 생성하는데, 이들의 높은 항산화 활성은 철 포집력에 기인하는 것으로 알려져 있다(Germano MP 등 2006, Sato Y 등 2011).

상기 연구결과를 토대로 할 때, *M. pilosus*에 의한 발효커피와 달리 루왁커피는 사향고양이 위장관의 대사과정을 거치면서 화학구조적 변화 및 각종 기능성 물질의 증감이 초래되며, 이로 인해 항산화능의 발현에까지 영향을 줄 수 있을 것으로 추정된다. Yosida Y 등(2008)의 연구보고에 의하면 커피의 총체적 항산화능은 활성이 강한 chlorogenic acid 또는 폴리페놀과 플라보노이드 대사에 의해 생성된 기능성 물질들의 독자적 활성이 아니라, 이들의 상호작용에 의한 복합적 상승효과라고 하였는데, 루왁커피의 높은 철 포집력도 사향고양이 체내 대사과정 중 이루어진 항산화물질들의 상호작용에 의한 것이라 할 수 있다. 페놀성 물질 외 kahweol와 cafestol 등의 diterpene (Lee KJ와 Jeong HG 2007), 카페인(Devasagayam TP 등 1996) 및 로스팅에 의해 생성되는 nicotinic acid, trigonelline, pyrogalllic acid와 melanoidine (Minamisawa M 등 2004)에서도 ROS 저해에 의한 산화적 스트레스 예방효능이 있다고 알려져 있다. 이와 같은 비페놀성 기능물질들도 체내 상호작용을 통해 시너지 효과를 나타냄으로써 루왁커피의 강한 철 포집력을 유발할 수 있을 것으로 사료된다.

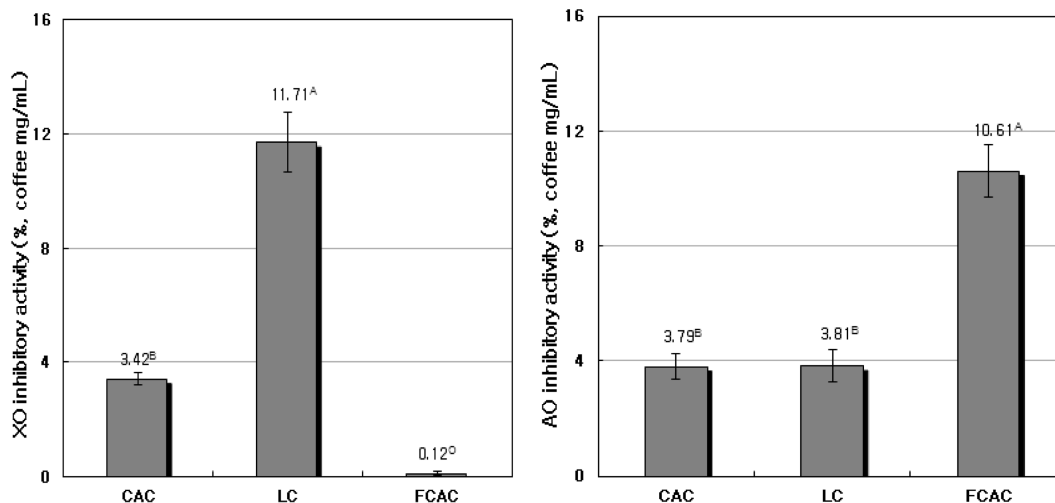
커피의 SOD 유사활성도 조사에 따르면 일반 커피에서 나타난 활성이 루왁커피와 발효커피에서 유의적으로 낮아짐을 알 수 있다. 이와 같은 결과는 SOD 유사 활성을 가진 일부 기능성 물질들이 체내 생화학적 작용 또는 미생물 발효에 의해 감소되며, 이에 따라 SOD 유사 활성효과도 약화되는 것으로 추정된다. 일부 식용식물에서 SOD

유사활성이 낮은 것으로 보고된 바 있는데 한약재로 사용되는 산겨릅나무 추출물은 아스코브산의 50% 정도로 매우 낮으며(Kwon HN 등 2008), 극소수 약용식물에서만 라디칼 소거력과 SOD 유사활성이 존재하는 것으로 알려져 있다(Jeong SJ 등 2004). 본 실험에서 정도의 차이는 있으나, 세 종류의 커피에서 SOD 유사 활성물질이 추적되므로 적정량의 커피 음용은 유해 산소류로 인한 산화적 스트레스를 부분적으로나마 예방할 수 있으리라 추정된다. 그러나 이와 관련된 후속실험을 통해 상기 가설은 검증되어야 할 것으로 사료된다.

#### 4. Xanthine Oxidase (XO) 및 Aldehyde Oxidase (AO) 저해활성

일반 커피와(CAC), 루왁커피(LC) 및 *M. pilosus*에 의한 발효커피(FCAC)에 대해 토끼의 간 조직으로부터 부분 정제한 XO와 AO에 대한 저해활성(%)을 조사하여 Fig. 4에 제시하였다. XO에 대한 저해활성을 보면 CAC는 3.42%, LC는 11.71%, FCAC는 0.12%이며, FCAC 활성이 제일 낮았다. 이에 반하여 LC는 CAC보다 3.42배 높은 활성을 나타내었다. AO에 대한 저해활성은 CAC와 LC가 각각 3.79%와 3.81%이며, 유의적 차이는 없었다. 한편 FCAC는 10.61%로, CAC와 LC에 비하여 높은 저해활성을 보였다.

세포 산화적 손상 및 관련 병리현상과 노화에 영향을 미치는 활성산소종 중 특히 hydrogen peroxide와 superoxide anion 등은 XO에 의해 생성되는데, 일부 단백질에 대해 강한 반응력을 가진 폴리페놀류는 XO와 cyclooxygenase 등의 라디칼 생성효소의 활성을 저해시켜 항산화 효능을 소유한다(Parr AJ와 Bolwell IP 2002). 폴리페놀 중 플라보



**Fig. 4.** Xanthine oxidase and aldehyde oxidase inhibitory activities for non-fermented and fermented coffee by *M. pilosus*. CAC: Columbia arabica coffee. LC: Luwak coffee. FCAC: Fermented Columbia arabica coffee. Values represent the mean±SD of triplicate determinations. Different superscripts on the bars indicate significant differences ( $p < 0.05$ ) by Duncan's multiple range test.

노이드는 항산화능 보유뿐만 아니라 강력한 XO 저해제이며, 이들의 화학구조에 따라 활성이 달라지는 것으로 보고되었다(Labat-Robert J와 Robert L 2014). 특히 7-hydroxyl group을 가진 quercetin과 kaempferol 등의 flavone과 flavonol은 높은 저해활성을 보이는 반면에, flavan-3-ol과 naringin은 낮은 활성을 보유하는 것으로 밝혀졌다(Ozyurek M 등 2009). 본 실험에 의하면 LC와 FCAC간에 TF/TP 함량비율의 유의적 차이가 없음에도 불구하고 XO 저해활성에는 큰 차이가 나타났다. 이와 같은 결과로부터 LC는 사향고양이 위장관에서의 생화학적 변화를 통하여 XO 저해활성이 높은 플라보노이드군 생성이 증가하였으며, FCAC는 미생물 발효에 의한 플라보노이드군의 조성 변화와 이에 따른 XO 저해효능 약화 또는 발효대사산물들이 XO 저해력 감소에 영향을 미친 것으로 볼 수 있다.

LC에서 높은 XO 저해력을 나타내는 현상과 관련하여 폴리페놀 외 생리활성을 가진 기능성 물질들의 생성 및 이들의 영향도 배제할 수 없다. Croft KD (1998)에 의하면 생리활성을 가진 성분들이 페놀성 물질과 동반작용시 항산화 효능이 상승하는 것으로 보고하였는데, 커피에 함유된 trigonelline, nicotinic acid 및 caffeine 등의 비페놀성 생리활성물질들도 LC의 항산화능 극대화에 기여할 수 있을 것으로 사료된다. 이와 같은 기전에 의해 LC의 강력한 항산화능은 XO에 의해 생성되는 hydrogen peroxide 등의 유해 라디칼 생성을 효율적으로 예방할 수 있으며, 이것은 또한 LC의 높은 XO 저해활성의 결과이기도 하다.

본 연구에서 AO 저해활성은 CAC와 LC에 비해 FCAC에서 유의적으로 높게 나타났는데( $p < 0.05$ ), 이와 같은 결과는 *M. pilosus*에 의한 발효로 커피 세포벽에 강하게 결합된 페놀성분과 trigonelline, nicotinic acid, diterpene 및

caffeine 등의 비페놀성 생리활성물질의 분해 및 로스팅으로 생성된 항산화성 melanoidine의 수율 증가 때문이라 할 수 있다(Bekedam EK 등 2008, Huynh NT 등 2014). 상기 요인들이 AO와 같은 특정효소활성을 저해한 것으로 판단된다. 또한 커피의 비페놀성물질로서 heterocycle 구조를 가진 furan, pyrrole 및 maltol 등의 항산화 성분들(Yanagimoto K 등 2004)도 발효에 의해 용이하게 용출되어 AO의 hydrogen peroxide와 superoxide anion 생성을 억제할 수 있을 것으로 사료된다(Yesbergenova Z 등 2005).

특히 커피에 풍부한 플라보노이드계 성분들의 AO 저해활성 및 산화적 스트레스 경감효능(Hamzeh-Mivehroud M 등 2014)은 CAC와 LC보다 높은 TF/TP 비율을 보인 FCAC에서도 AO에 대한 강한 저해활성으로 나타났다. 플라보노이드 중 특히 aglycone 형태는 ROS 생성효소계에 대해 높은 저해기능을 나타내는 것으로 알려져 있는데(Rashi MR과 Nazemiyeh H 2010), FCAC의 발효는 AO 표적의 플라보노이드 aglycone 생성을 촉진하여 AO 저해활성을 유도할 수 있을 것으로 본다. Brown JP (1988)에 의하면, isoflavone aglycone에 대한 생물학적 유용성과 기능성 보고가 있으므로 *Monascus*속 발효를 거친 FCAC에서 이와 유사한 aglycone 및 건강 기능성 2차 대사물의 생성(Lee SS 등 2013)은 높은 AO 저해활성을 초래할 수 있을 것이다. 본 실험 결과로부터 커피에는 AO에 대한 저해기능성분이 있으며, 특히 *M. pilosus*에 의한 발효는 이들의 증가를 초래하여 AO 저해활성을 강화시키는 것으로 나타났다. 또한 일반 커피와 루왁커피에 비해 *M. pilosus* 발효커피에서 2.78~2.80배 정도의 높은 AO 저해활성이 보이므로 이를 토대로 한 후속 연구가 이루어진다면 기능성 발효커피 제조의 가능성을 제시할 수 있을 것이다.

#### IV. 요약 및 결론

본 연구에서는 콜럼비아산 아라비카 생두를 이용하여 일반 커피, *M. pilosus*로 발효시킨 커피와 루왁커피에 대해 항산화능 및 토끼의 간 조직으로부터 부분 정제한 xanthine oxidase (XO)와 aldehyde oxidase (AO) 저해활성을 비교 분석하였다. 총 폴리페놀 함량(mg/g of dry basis)은 일반 커피에서 70.69 mg, 루왁커피는 62.07 mg, 발효커피는 41.38 mg로 나타났다. 반면에 총 플라보노이드 함량은 루왁커피가 일반 커피에 비하여 30.03% 정도 많았으며, 발효커피는 다소 낮았다. 총 플라보노이드/폴리페놀 비율(%)은 루왁커피와 발효커피에서 높았다. 전자공여능(%)은 일반 커피에서 23.19%이며, 루왁커피(21.42%)와 발효커피(21.80%)보다 유의적으로 높았다. 철 환원력( $\text{Fe}^{2+}$   $\mu\text{mole}/\text{coffee g}$  of dry basis)은 일반 커피(15.62  $\mu\text{mole}$ )와 발효커피(15.08  $\mu\text{mole}$ )가 유사하며, 루왁커피(12.02  $\mu\text{mole}$ )는 다소 낮았다. 철 포집능력(%)은 루왁커피(36.82%)에서 가장 높은 활성을 보였다. 반면에 SOD 유사활성은 발효커피에 비해 일반 커피에서 가장 높게 나타났다. XO와 AO에 대한 저해활성은 각각 루왁커피와 *M. pilosus*에 의한 발효커피에서 가장 높게 나타났다. 이상의 결과에서 발효커피는 일반 커피와 루왁커피에 비하여 총 폴리페놀 함량과 SOD 유사활성은 낮으나 철 포집력과 총 플라보노이드/폴리페놀 비율이 높은 경향을 보였으며, XO 저해활성은 낮은 반면에 AO 저해활성은 매우 높은 것으로 나타났다. 이와 같은 상기 결과에 기초하여 커피의 항산화성 활성성분에 대한 추적 및 건강효능 등의 후속 연구가 이루어진다면 건강 기능성이 부여된 커피음료 개발의 계기가 될 수 있을 것이다.

#### References

- Atoui AK, Mansouri A, Boskou G, Kefalas P. 2005. Tea and herbal infusions: their antioxidant activity and phenolic profile. *Food Chem* 89(1):27-36
- Avallone S, Brillouet JM, Guyot G, Olguin E, Guiraud JP. 2002. Involvement of pectolytic micro-organisms in coffee fermentation. *Inter J Food Sci Technol* 37(2):191-198
- Belitz HD, Grosch W. 1986. *Food Chemistry*. pp 688-696. Springer-Verlag Berlin. Heiderberg
- Bekedam EK, Schols HA, Cammerer B, Kroh LW, van Boekel MA, Smit G. 2008. Electron spin resonance (ESR) studies on the formation of roasting-induced antioxidative structures in coffee brews at different degree of roast. *J Agric Food Chem* 56(12):4597-4604
- Benzie IF, Strain JJ. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay. *Anal Biochem* 239(1):70-76
- Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 181:1199-1200
- Bravo J, Arbillaga L, de Pena MP, Cid C. 2013. Antioxidant and genoprotective effects of spent coffee extracts in human cells. *Food Chem Toxicol* 60:397-403
- Brown JP. 1988. Role of the gut flora intoxicity and cancer. ed. Rowland IR. Academic Press. San Diego, CA. USA pp 109-144
- Choi CH, Song ES, Kim SJ, Kang MH. 2003. Antioxidative activities of *Castanea crenata* Flos. methanol extracts. *Korean J Food Sci Technol* 35(6):1216-1220
- Choi MJ, Yu T. 2004. Effects of red-yeast-rice supplementation on bone mineral density and bone mineral content in ovariectomized rats. *J Nutr Health* 37(6):2288-3886
- Chu YF, Brown PH, Lyle BJ, Chen Y, Black RM, Williams CE, Lin YC, Hsu CW, Cheng IH. 2009. Roasted coffees high in lipophilic antioxidants and chlorogenic acid lactones are more neuroprotective than green coffees. *J Agric Food Chem* 57(20):9801-9808
- Croft KD. 1998. The chemistry and biological effects of flavonoids and phenolic acids. *Ann NY Acad Sci* 854(1):435-442
- Devasagayam TP, Kamat JP, Mohan H, Kesavan PC. 1996. Caffein as an antioxidant: inhibition of lipid peroxidation induced by reactive oxygen species. *Biochim Biophys Acta* 1282(1):63-70
- Dinis TCP, Madeira VMC, Almeida LM. 1994. Action of phenolic derivatives (acetaminophen, salicylate, and 5-amino salicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxy radical scavengers. *Arch Biochem Biophys* 315(1):161-169
- Dixon RA, Dey PM, Lamb CJ. 1983. Phytoalexins: enzymology and molecular biology. *Advances in enzymology and related areas of molecular biology*. John Wiley & Sons, Inc.. USA pp 1-20
- Dorea J, Costa T. 2005. Is coffee a functional food? *British J Nutr* 93(6):773-782
- Elekofehinti OO, Kamdem JP, Bolingon AA, Athayde ML, Lopes SR, Wazuk EP, Kade IJ, Adanlawo IG, Rocha JBT. 2013. African eggplant (*Solanum anguivi* Lam.) fruit with bioactive polyphenolic compounds exert in vitro antioxidant properties and inhibits  $\text{Ca}^{2+}$ -induced mitochondrial swelling. *Asian Pac J Trop Biomed* 3(10):757-766
- Fukuzawa K, Seko T, Minami K, Terao J. 1993. Dynamics of iron-ascorbate-induced lipid peroxidation in charged and uncharged phospholipid vesicles. *Lipids* 28(6):497-503
- Germano MP, D'Angelo V, Biasini T, Sanogo R, De Pasquale R, Catania S. 2006. Evaluation of the antioxidant properties and bioavailability of free and bound phenolic acids from *Trichilia emetica* Vahl.. *J Ethnopharmacol* 105(3):368-373
- Halliwell B. 2006. Reactive oxygen species and the central nervous system. *J Neurochem* 59:1609-1623
- Hamzeh-Mivehroud M, Rahmani S, Feizi MA, Dastmalchi S, Rashidi MR. 2014. *In vitro* and *in silico* studies to explore



- structural features of flavonoids for aldehyde oxidase inhibition. *Arch Pharm* 347(10):738-747
- Huynh NT, Van Camp J, Smaghe G, Raes K. 2014. Improved release and metabolism of flavonoids by steered fermentation processes: A review. *Int J Mol Sci* 15(11):19369-19388
- Ikeda H, Kimura Y, Masaki M, Iwahashi H. 2011. Caffeic acid inhibits the formation of 1-hydroxyethyl radical in the reaction mixture of rat liver microsomes with ethanol partly through its metal chelating activity. *J Clin Biochem Nutr* 48(3):187-193
- Jeon SM, Bok SH, Jang MK, Lee MK, Nam KT, Park YB, Rhee SJ, Choi MS. 2001. Antioxidative activity of naringin and lovastatin in high cholesterol-fed rabbits. *Life Sci* 69(24):855-2866
- Jeong SJ, Lee JH, Song HN. 2004. Screening for antioxidant activity of plant medicinal extracts. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 47(1):135-140
- Jumhawan U, Putri SP, Marwani E, Bamba T, Fukusaki E. 2013. Selection of discriminant markers for authentication of Asian palm civet coffee(Kopi Luwak): a metabolomics approach. *J Agric Food Chem* 61(33):7994-8001
- Kell DB. 2009. Iron behaving badly: inappropriate iron chelation as a major contributor to the aetiology of vascular and other progressive inflammatory and degenerative diseases. *Med Genomic* 2(2):1755-8794
- Kelly EH, Anthony RT, Dennis JB. 2002. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationship. *J Nutr Biochem* 13(10):572-584
- Kim MH, Kim JG, Choi JH. 2014. Antioxidant activity and changes in major functional components of fermented *Gastrodia elata* Blume. *Korean J Food Nutr* 27(4):684-691
- Kim MJ, Kim SS, Lee SI. 2012. Quality characteristics and content of polysaccharides in green green tea fermented by *Monascus pilosus*. *Prev Nutr Food Sci* 17(4):293-298
- Korea Customs Service(KCS). 2012. The recent coffee market trend. Available from: <http://www.customs.go.kr>. Accessed from: July 20, 2012
- Kwon HN, Park JR, Jeon JR. 2008. Antioxidative and hepatoprotective effects of *Acer tegmentosum* M. extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37(11):1389-1394
- Kuo CF, Chyau CC, Wang TS, Li CR, Hu TJ. 2009. Enhanced antioxidant and anti-inflammatory activities of monascus pilosus fermented products by addition of turmeric to the medium. *Food Chem* 116(4):915-922
- Labat-Robert J, Robert L. 2014. Longevity and aging. Role of free radicals and Xanthine oxidase. *Pathol Biol* 62(2):61-66
- Lee KJ, Jeong HG. 2007. Protective effects of kahweol and cafestol against hydrogen peroxide-induced oxidative stress and DNA damage. *Toxicol Lett* 173(2):80-87
- Lee SI, Kim SD, Lee YK, Kim MJ, Lee IA, Choi JK, Suh JW. 2013. Dietary effects of black bean fermented by *Monascus pilosus* on body weight, serum lipid profiles and activities of hepatic antioxidative enzymes in mice fed high fat diets. *J Nutr Health* 46(1):5-14
- Lee SI, Lee YK, Kimm SD, Kang YH, Suh JW. 2012. Antioxidative activity of *Smilax china* L. leaf teas fermented by different strains. *Korean J Food Nutr* 25(4):807-819
- Lee SS, Lee JH, Lee IH. 2013. Strain improvement by overexpression of the *laeA* gene in *Monascus pilosus* for the production of *Monascus*-fermented rice. *J Microbiol Biotechnol* 23(7):959-965
- Lee YK, Lee SI, Kim JS, Yang SH, Lee IA, Kim SD, Suh JW. 2012. Antioxidant activity of green tea fermented with *Monascus pilosus*. *J Appl Biol Chem* 55(1):19-25
- Lin YL, Wang TH, Lee MH, Su NW. 2008. Biologically active components and nutraceuticals in the *Monascus*-fermented rice: a review. *Appl Microbiol Biotechnol* 77(5):965-973
- Ludwig IA, Bravo J, De Peña MP, Cid C. 2013. Effect of sugar addition (torrefacto) during roasting process on antioxidant capacity and phenolics of coffee. *Food Sci Technol* 51(2):553-559
- Maia L, Mira L. 2002. Xanthine oxidase and aldehyde oxidase: A simple procedure for the simultaneous purification from rat liver. *Arch Biochem Biophys* 400(1):48-53
- Marcone MF. 2004. Composition and properties of Indonesian palm civet coffee. (Kopi Luwak) and Ethiopian civet coffee. *Food Res Int* 37(9):901-912
- Marklund S, Marklund G. 1974. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* 47(3):468-474
- Meda A, Lamien CE, Romito M, Millogo J, Nacoulma OG. 2005. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in burkina fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chem* 91(3):571-577
- Minamisawa M, Yoshida S, Takai N. 2004. Determination of biologically active substances in roasted coffees using diode-array HPLC system. *Jpn Soc Anal Chem* 20:325-328
- Minussi RC, Rossi M, Bologna L, Cordi L, Rotilio D, Pastore GM, Duran N. 2003. Phenolic compounds and total antioxidant potential of commercial wines. *Food Chem* 82(3):409-416
- Moreira DP, Monteiro MC, Ribeiro-Alves M, Donangelo CM, Trugo IC. 2005. Contribution of chlorogenic acids to the iron-reducing activity of coffee beverages. *J Agri Food Chem* 53(5):1399-1402
- Nabavi SM, Daglia M, Sureda A. 2014. Editorial: Dietary polyphenols: We beyond the antioxidant capacity. *Curr Pharm Biotechnol* 15:297
- Oka K. 2007. Pharmacological bases of coffee nutrients for diabetes prevention. *Yakugaku Zasshi* 127(11):1825-1836
- Osawa T. 1994. Novel natural antioxidant for utilization in food and biological system. pp 241-251. In: *Postharvest Bio-*

- chemistry of Plant Food Material in the Tropics. Uritani I, Garcia VV, Mendoza EM (eds). Japan Scientific Societies Press. Tokyo, Japan
- Ozyurek M, Bektasoglu B, Guclu K, Apak R. 2009. Measurement of xanthine oxidase inhibition activity of phenolics and flavonoids with a modified cupric reducing antioxidant capacity method. *Anal Chim Acta* 636(1):42-50
- Parr AJ, Bolwell IP. 2002. Phenols in the plant and in man. The potential for possible nutritional enhancement of the diet by modifying the phenols contents or profile. *J Sci Food Agric* 80(7):985-1012
- Patakova P. 2013. Monascus secondary metabolites: production and biological activity. *J Ind Microbiol Biotechnol* 40(2): 169-181
- Pellegrini N, Serafini M, Colombi B, Del Rio D, Salvatore S, Bianchi M, Brighenti F. 2003. Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. *J Nutr* 133(9):2812-2819
- Rajagopalan KV, Fridovich I, Handler P. 1962. Hepatic aldehyde oxidase. I. Purification and properties. *J Biol Chem* 237: 922-928
- Rashidi MR, Nazemiyeh H. 2010. Inhibitory effects of flavonoids on molybdenum hydroxylases activity. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 6(2):133-152
- Sato Y, Itagaki S, Kurokawa T, Ogura J, Kobayashi M, Hirano T, Sugawara M, Iseki K. 2011. In vitro and in vivo antioxidant properties of chlorogenic acid and caffeic acid. *Int J Pharm* 403(1-2):136-138
- Shi M, Yang Y, Wang Q, Zhang Y, Wang Y, Zhang Z. 2012. Production of total polyphenol from fermented soybean curd residue by *Lentinus edodes*. *Int J Food Sci Technol* 47(6):1215-1221
- Stirpe F, Della Corte E. 1972. The regulation of rat liver xanthine oxidase. Conversion in vitro of the enzyme activity from dehydrogenase (type D) into oxidase (type O) and purification of the enzyme. *Biochem J* 126(3):739-745
- Torel J, Gillard J, Gillard P. 1986. Antioxidant activity of flavonoids and reactivity with peroxy radical. *Phytochem* 25(2):383-385
- Woelore WM. 1993. Optimum fermentation protocols for Arabica coffee under Ethiopian conditions. In: Association Scientifique Internationale Du Cafe. The 15th International Scientific Colloquium on Coffee, Montpellier, Paris Association Scientifique Internationale. pp 727-733
- Yanagimoto K, Ochi H, Lee KG, Shibamoto T. 2004. Antioxidative activities of fractions obtained from brewed coffee. *J Agric Food Chem* 52(3):592-596
- Yang CW, Mousa SA. 2012. The effect of red yeast rice (*Monascus purpureus*) in dyslipidemia and other disorders. *Complement Ther Med* 20(6):466-474
- Yesbergenova Z, Yang G, Oron E, Soffer D, Fluhr R, Sagi M. 2005. The plant Mo-hydroxylases aldehyde oxidase and xanthine dehydrogenase have distinct reactive oxygen species signatures and are induced by drought and abscisic acid. *Plant J* 42(6):862-876
- Yoshida Y, Hayakawa M, Niki E. 2008. Evaluation of the antioxidant effects of coffee and its components using the biomarkers hydroxyoctadecadienoic acid and isoprostane. *J Oleo Sci* 57(12):691-697
- Zheng Y, Xin Y, Shi X, Guo Y. 2010. Anti-cancer effect of rubropunctatin against human gastric carcinoma cells BGC-823. *Appl Microbiol Biotechnol* 88(5):1169-1177

Received on Nov.9, 2014/ Revised on Dec.5, 2014/ Accepted on Dec.8, 2014