

## 고지방 식이를 섭취한 마우스에서 홍국균 균사체-고체발효 원두커피의 비만억제 및 지질저하 효과

성지혜<sup>1</sup> · 신지영<sup>2</sup> · 김 훈<sup>2</sup> · 백길훈<sup>1</sup> · 유광원<sup>3</sup> · 연제영<sup>1</sup> · 이준수<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>충북대학교 식품생명공학과

<sup>2</sup>(주)코시스바이오 기업부설연구소

<sup>3</sup>한국교통대학교 식품영양학과

### Anti-obesity and Anti-hyperlipidemic Activities of Fermented Coffee with *Monascus ruber* Mycelium by Solid-State Culture of Green Coffee Beans

Jeehey Sung<sup>1</sup>, Ji-Young Shin<sup>2</sup>, Hoon Kim<sup>2</sup>, Gil-Hun Baek<sup>1</sup>, Kwang-Won Yu<sup>3</sup>,  
Jeyeong Yeon<sup>1</sup>, and Junsoo Lee<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Food Science and Biotechnology, Chungbuk National University, Chungbuk 361-763, Korea

<sup>2</sup>R&D Center, CosisBio Co., Ltd., Chungbuk 365-863, Korea

<sup>3</sup>Dept. of Food and Nutrition, Korea National University of Transportation, Chungbuk 368-701, Korea

**ABSTRACT** We investigated the anti-obesity and anti-hyperlipidemic effects of extracts of two roasted coffee beans (Vietnam robusta and Ethiopia mocha sidamo G2) and fermented coffee beans with *Monascus ruber* mycelium (MR) by solid-state culture. C57B/L6 mice were divided into seven groups: normal diet (ND) group, high fat diet (HFD) group, and HFD groups with hot water extracts from Vietnam robusta coffee beans (HFD-VR), MR-fermented Vietnam robusta coffee beans (HFD-VR-MR), MR-fermented Vietnam robusta coffee beans with 10% brown rice (HFD-VR-MR-BR10), Ethiopia mocha sidamo G2 coffee beans (HFD-ES), and MR-fermented Ethiopia mocha sidamo G2 coffee beans (HFD-ES-MR). After 6 weeks, body weight gain and food efficiency ratio were higher in the HFD group, but significantly reduced in the coffee extracts-fed groups. The HFD-ES-MR group showed greater body weight reduction than the HFD-ES group. The serum triglyceride, total cholesterol, and LDL-cholesterol levels as well as the atherogenic index and cardiac risk factor all tended to decrease in groups fed Vietnam robusta coffee extracts compared to the HFD group. These results suggest that Vietnam robusta and Ethiopia mocha sidamo G2 may be used to make functional coffee beverages with anti-obesity and anti-hyperlipidemic activities.

**Key words:** *Monascus ruber*, fermentation, coffee, anti-obesity, anti-hyperlipidemia

## 서 론

최근 경제성장과 더불어 국내의 식생활이 서구화 되면서 지질의 섭취량이 늘어나고 그에 따라 비만인구도 증가하는 추세이다. 특히 비만은 혈중 콜레스테롤이나 중성지방의 수준을 상승시키며 당뇨, 고혈압, 뇌졸중, 동맥경화증과 같은 만성질환의 원인으로 알려지면서 전 세계적으로 심각성이 대두되고 있다(1,2). 이와 같은 질병을 예방하기 위한 일환으로 혈청 콜레스테롤 농도를 저하시키는 기능성 식품에 대한 관심이 고조되고 있으며 최근에는 항비만 효능을 나타내는 기능성 식품 소재로 가르시니아 캄보지아, 마테차, 오미자 추출물 등의 식물성 식품 소재가 활용되고 있다(3-5).

전 세계적으로 하루에도 수백만 잔 이상의 커피음료가 매

일 소비되고 있으며 국내에서도 커피전문점의 확산과 자가 소비 증가 등 커피시장이 지속적으로 성장하고 있다. 2011년을 기준으로 한국의 연간 커피 소비량은 한국 성인 1명당 커피 338잔을 소비한 것으로 알려져 있다(6). 커피는 인류가 가장 많이 마시는 기호음료로 다른 식품에 비해 폴리페놀 및 플라보노이드와 같은 항산화 성분 함량이 높아 세포손상을 유도하는 자유라디칼 소거능이 높다고 알려져 있다(7-9). 특히 커피는 생체 내에서 항산화 작용을 나타내는 melanoidin과 항암성 물질로 작용하여 기능성 소재의 성분으로 보고되어 있는 chlorogenic acid를 다량 함유하고 있다(10). 하지만 커피의 과다 섭취는 정서불안, 신경과민, 수면장애 및 위장장애 등의 카페인 중독증(caffeinism)을 유발할 수 있다고 알려져 있으며, 카페인을 섭취하는 사람이 카페인을 섭취하지 않게 되면 두통, 우울증, 불안, 피로와 같은 금단증상을 나타내기도 한다(11,12). 따라서 커피의 유용성분 극대화과 함께 유해성분을 감소시키기 위한 다양한 공정개발

Received 1 November 2013; Accepted 20 November 2013

\*Corresponding author.

E-mail: junsoo@chungbuk.ac.kr, Phone: +82-43-261-2566

과 이에 따른 기능성 커피의 개발은 일상적으로 섭취하는 기호식품을 통하여 여러 만성질환 예방에 크게 기여할 수 있을 것으로 생각된다.

홍국(red yeast rice, red koji)은 붉은 색의 사상균인 *Monascus* 속의 균을 곡류에 접종하여 제조한 것으로, *Monascus* 속의 홍국균이 생산하는 홍국색소는 식품착색제 및 소화촉진과 혈류개선을 위한 식품첨가물로 이용되고 있다(13). 특히 홍국이 생산하는 monacolin K 및 그 유도체와  $\gamma$ -aminobutyric acid 등은 콜레스테롤의 생합성 억제 작용, 혈압강하 작용, 항암 작용, 항산화 활성 등 다양한 기능을 나타낸다고 알려져 있어 각종 만성질환 예방을 위한 식품 신소재로서 각광받고 있다(14-16). 최근 홍국의 우수한 생리활성 효과 및 홍국균을 이용한 발효기술의 진보로 천연물의 생리활성 효능이 증가된 발효산물을 얻거나 또는 상호간의 상승효과에 의한 증진된 생리활성 효능을 입증하여 새로운 건강기능식품 개발에 활용하려는 연구가 활발하게 이루어지고 있다(17).

본 연구에서는 원두커피와 홍국의 지질저하 및 항비만 활성의 상승효과를 기대하기 위하여 원두커피를 홍국으로 발효시켜 만든 홍국균 고체발효 원두커피 열수추출물을 고지방식이 쥐에 급여하여 지질대사 개선 및 항비만에 미치는 영향을 규명함으로써 홍국균 고체발효 원두커피를 기능성 식품 소재로 활용할 수 있는 기초 자료를 제공하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 홍국균 균사체의 종균배양

고체발효에 사용된 홍국균 균사체(*Monascus ruber*)는 농촌진흥청 국립농업과학원 농업유전자원센터(Gyeonggi-do, Korea)로부터 분양받았으며, 균사체는 potato dextrose agar(Difco Laboratories, Detroit, MI, USA) 평판배지에서 25°C로 약 7~10일간 배양한 후 potato dextrose broth(Difco)가 담긴 Erlenmeyer flask에 접종하여 shaking incubator(Jeio tech, Daejeon, Korea)에서 배양하였다. 커피생두 고체 발효용 홍국균 균사체는 PDB배지에서 3회 정도 계대 배양한 종균으로 실험에 사용하였다.

### 홍국균 균사체-고체발효 커피생두의 제조

본 실험에 사용된 커피는 베트남 로부스타(Vietnam robusta: VR, AMC Co., Ltd., Gyeonggi, Koera)와 에티오피아 모카 시다모 G2(Ethiopia mocha sidamo: ES, GSC international Co., Ltd., Seoul, Korea) 두 품종으로 커피생두(green coffee bean) 상태로 구입하여 시료로 사용하였다. 커피생두는 각각 100 g(수분함량 13~14%)을 칭량하여 2배수의 물로 2시간 동안 30°C에서 침지하여 조직을 연화시킨 후 물기를 제거한 다음 121°C에서 120분간 고압멸균하였다. 멸균된 커피생두에 확보한 홍국균 균사체 종균 10 mL를 접종하고 25°C에서 모두 10일 동안 고체배양 하였으

며, 발효가 종료된 커피생두는 50°C에서 48시간 건조하여 홍국균 균사체-고체발효 커피생두로 조제하였다.

### 고체발효 원두커피 및 열수추출물의 제조

커피생두 및 홍국균 균사체-고체발효 커피생두는 coffee roaster(Genecafe, Gyeonggi-do, Korea)에서 중배전(235~240°C, 12~13분간 로스팅) 하여 각각의 고체발효 원두커피(roasted coffee)로 조제한 후 coffee grinder(Bazzatra, Gyeonggi-do, Korea)를 이용하여 동일 크기로 분쇄하였다. 원두커피의 열수추출물은 이후 20배의 물을 가한 후 2시간 90°C에서 24시간 추출하였으며, 여과지를 이용하여 잔사를 제거하였다. 추출여과액은 원심분리 하여 침전물을 제거하고 상등액은 농축 및 동결건조 하여 시료로 사용하였다.

### 실험동물, 식이조성 및 사육

동물실험은 충북대학교 동물실험윤리의원회의 심의(승인번호 CBNUA-576-13-01)를 거친 후 진행하였으며 실험동물은 6주령의 C57BL/6J mice를 중앙실험동물(Central Lab. Animal Inc., Seoul, Korea)로부터 구입한 후 1주일간 정상 식이로 적응기간을 가진 후 실험에 사용하였다. 고지방 식이와 정상 식이군의 사료는 Table 1과 같은 조성으로 Research Diet Inc.(New brunswick, NJ, USA)에서 구입한 것을 사용하였다. 실험군(Table 2)은 정상 식이를 공급한 정상 식이군(ND groups), 고지방 식이 실험군(HFD groups), 고지방 식이와 베트남 로부스타 열수추출물(HFD-VR), 고지방 식이와 홍국균으로 발효한 베트남 로부스타 열수추출물(HFD-VR-MR), 고지방 식이와 홍국균으로 발효한 베트남 로부스타에 10% 발아현미를 첨가한 열수추출물(HFD-VR-MR-BR10), 고지방 식이와 에티오피아 모카 시다모

**Table 1.** Compositions of the experimental diets<sup>1)</sup> (g/kg diet)

Ingredient	Experimental groups <sup>2)</sup>	
	ND	HFD
Casein	200	200
L-Cystine	3	3
Corn starch	402.2	214.7
Maltodextrin 10	70	100
Sucrose	172.8	172.8
Cellulose	50	50
Soybean oil	25	25
Lard	20	177.5
Mineral mix S10026	10	10
Dicalcium phosphate	13	13
Calcium carbonate	5.5	5.5
Potassium citrate	16.5	16.5
Vitamin mix V10001	10	10
Choline bitartrate	2	2

<sup>1)</sup>The diet was prepared to be isocaloric, 473 kcal/100 g, in experimental groups except normal diet (385 kcal/100 g) (Formulated by EA Ulman, Ph.D., Research Diets, Inc.).

<sup>2)</sup>ND, normal diet; HFD, high fat diet.

**Table 2.** Description for experimental groups

Groups	Description
ND	Normal diet
HF	High fat diet
HFD-VR	High fat diet+oral administration of hot water extracts from Vietnam robusta coffee beans
HFD-VR-MR	High fat diet+oral administration of hot water extracts from <i>Monascus rubber</i> -fermented Vietnam robusta coffee beans
HFD-VR-MR-BR10	High fat diet+oral administration of hot water extracts from <i>Monascus rubber</i> -fermented Vietnam robusta coffee beans with 10% brown rice
HFD-ES	High fat diet+oral administration of hot water extracts from Ethiopia Mocha sidamo G2 coffee beans
HFD-ES-MR	High fat diet+oral administration of hot water extracts from <i>Monascus rubber</i> -fermented Ethiopia mocha sidamo G2 coffee beans

G2 열수추출물(HFD-ES), 고지방 식이와 홍국균으로 발효한 에티오피아 모카 시다모 G2 열수추출물을 경구투여한 군(HFD-ES-MR)의 7군으로 나누고 각 군당 10마리씩 6주간 사육하였다. 사육 중 식이는 하루에 한 번씩 평균적인 섭취량에 맞추어 제한적으로 공급하였으며, 고지방 식이를 기반으로 주 7회 커피 열수추출물을 100 mg/kg body weight로 경구투여 하였다. 식수는 자유롭게 섭취하도록 하였고 모든 실험식은 사육기간 동안 냉동 보관하였다. 사육실의 온도는  $23\pm 1^{\circ}\text{C}$ , 습도는 50~60%로 유지하였으며 조명은 12시간 주기로 하였다.

#### 체중 변화 및 사료섭취량 조사

사육기간 중 실험동물의 체중은 주 2회 측정하였으며, 매일 전날 섭취한 사료를 측정하여 사료섭취량을 기록하였다. 사료효율(food efficiency ratio, FER)은 총 사료 섭취량에 대한 체중 증가량의 비를 백분율로 환산하여 계산하였다.

#### 혈액 및 장기 채취

시험물질 투여 6주 종료 후 16시간 절식시킨 후 diethyl ether로 마취한 다음 복대동맥에서 채혈하였고, 혈액을 약 30분간 실온에 방치시킨 후 원심분리 하여 얻은 혈청을 생화학적 분석에 사용하였다. 채혈 후 간과 부고환 지방조직을 적출하여 냉장 보관된 0.9% 생리 식염수로 세척하고 이물질을 제거시킨 다음 여과지로 물기를 제거한 후 무게를 측정하였다.

#### 혈액의 생화학적 분석

분리한 혈청을 이용하여 지질농도로써 중성지방(triglyceride, TG), TC(total cholesterol), HDL(high density lipoprotein) 콜레스테롤, LDL(low density lipoprotein) 콜레스테롤을 혈청자동분석기(Hitachi 7170, Instrument Hitachi Ltd., Tokyo, Japan)로 분석하였다. 심혈관계 질환의 위험도 판정에 이용되는 동맥경화지수(atherogenic index, AI)는 {총 콜레스테롤 - (HDL 콜레스테롤 - 중성지방/5)}에 의하여 계산하였고, 심혈관위험지수(cardiac risk factor, CRF)는 (총 콜레스테롤/HDL 콜레스테롤)에 의하여 구하였다(18).

#### 내장지방조직의 분석

각 실험군의 체내에 축적된 지방조직의 무게를 조사하기 위해 부고환주위 지방(epididymal fat)을 적출하여 phosphate buffered saline으로 세척하고 조직에 남아있는 물기를 제거한 다음 중량을 측정하였다. 각 장기의 중량을 측정하여 절대장기무게 및 상대장기무게를 산출하여 비교하였고, 무게 측정 후 광학현미경 하에서 image analysis system(IPKR-1003, Saramsoft Co., Ltd., Anyang, Korea)을 이용하여 그룹별 평균 지방세포의 크기를 산출하였다.

#### 병리조직학적 검사

적출한 부고환 지방조직 및 간은 육안적인 소견을 관찰한 후 10% 중성 포르말린액에 고정한 후 일반적인 조직 처리과정에 따라 4  $\mu\text{m}$  두께의 조직절편을 제작한 다음 hematoxylin&eosin(H&E)으로 염색하여 광학현미경으로 관찰하였다.

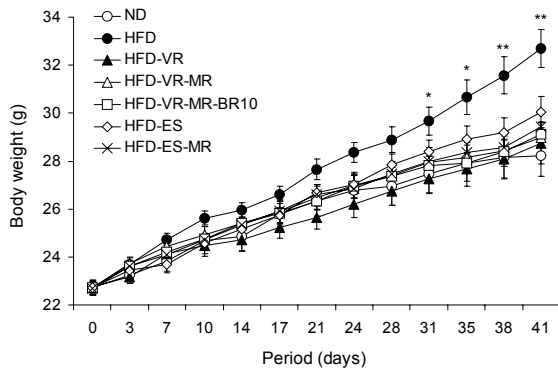
#### 통계처리

실험으로부터 얻어진 결과는 평균 $\pm$ 표준오차(SE)로 나타내었다. 모든 결과들에 대해 분산의 동질성을 비교하기 위한 Levene's test를 실시하였고, 분산이 동질성을 갖는 경우 one-way analysis of variance(ANOVA)를 실시하여 유의성이 관찰되면 대조군과의 유의차가 있는 시험군을 구별하기 위하여 Dunnett's t-test와 실험군들과의 유의차를 알아보기 위하여 Tukey's 검정을 실시하였다.

## 결과 및 고찰

#### 체중 증가와 식이섭취량

정상 식이 및 고지방 식이와 원두커피 및 홍국균 고체발효 원두커피 열수추출물을 100 mg/kg/day로 6주간 경구투여 후 쥐의 체중증가량에 대한 결과는 Fig. 1과 같다. 체중 변화에 있어서 고지방 식이군(HDF)에서 지속적인 체중 증가가 관찰되었고 정상 식이군(ND)과 비교하여 HDF에서 유의적으로 체중이 증가하는 것으로 보아 고지방 식이로 인하여 비만이 유도된 것을 관찰할 수 있었다. 이와는 대조적으로 고지방 식이를 급여한 쥐에게 두 품종의 원두커피 및 이를



**Fig. 1.** Change in body weight gain of mice fed experimental diets for 6 weeks. \* $P < 0.05$  or \*\* $P < 0.01$  compared with the ND group by Dunnett's t-test. The experimental groups are the same as in Table 2.

홍국균으로 고체발효한 원두커피 열수추출물을 경구투여한 군에서는 뚜렷한 체중 저하효과를 볼 수 있었다.

정상 식이 및 고지방 식이를 급여한 쥐에게 원두커피 및 홍국균 고체발효 원두커피 열수추출물을 6주 동안 급여한 후 식이섭취량, 체중증가량 및 식이효율을 비교한 결과는 Table 3과 같다. 6주 동안의 체중증가량은 고지방 식이군(HFD)이  $9.97 \pm 0.82$  g으로 가장 큰 체중 증가를 보였으며, 시료를 투여한 군에서는 HFD-VR군 < HFD-VR-MR군 < HFD-VR-MR-RB10군 < HFD-ES-MR군 < HFD-ES군의 순서로 체중이 증가하였다. 에티오피아 모카 시다모 G2종과 비교하여 베트남 로부스타종을 고지방 식이 쥐에 투여하였을 때 체중증가량이 더 낮았다. 일반적으로 다른 커피품종들과 비교하여 베트남 로부스타종에서 항산화 성분과 항산화 활성이 월등히 높다고 이미 알려져 있으며(19), 본 연구 결과에서도 베트남 로부스타종을 투여한 고지방 식이 쥐에서 체중증가량이 현저히 감소하는 것으로 보아 베트남 로부스타종이 다량 함유하고 있는 생리활성 물질에서 기인했을 것으로 생각된다. 또한 베트남 로부스타종의 경우 홍국균으로

**Table 3.** Effect of hot-water extracts from various coffee beans on food intake and food efficiency ratio in mice fed experimental diets for 6 weeks

Groups <sup>1)</sup>	Food intake (g/week)	Body weight gain (g)	FER <sup>2)</sup> (%)
ND	$27.41 \pm 1.67^{***}$	$5.52 \pm 0.66^{**}$	$6.40 \pm 1.38^{***}$
HFD	$20.10 \pm 0.37$	$9.97 \pm 0.82$	$14.73 \pm 1.54$
HFD-VR	$17.53 \pm 0.59^{**}$	$6.00 \pm 0.62^{**}$	$9.83 \pm 0.64^*$
HFD-VR-MR	$17.59 \pm 0.80^*$	$6.25 \pm 0.50^{**}$	$10.69 \pm 0.63^*$
HFD-VR-MR-BR10	$20.76 \pm 1.63$	$6.41 \pm 0.51^{**}$	$9.16 \pm 0.90^{**}$
HFD-ES	$17.99 \pm 0.38^*$	$7.34 \pm 0.63^*$	$12.11 \pm 1.09$
HFD-ES-MR	$18.97 \pm 0.56$	$6.74 \pm 0.43^{**}$	$10.69 \pm 0.61^*$

<sup>1)</sup>See the legend of Table 2.

<sup>2)</sup>FER (food efficiency ratio): {body weight change (g)/ food intake (g)}  $\times 100$ .

<sup>3)</sup>The results are means  $\pm$  SE for 10 mice in each group.

\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$  compared with the HFD by Dunnett's t-test.

발효하지 않은 원두커피의 열수추출물을 투여한 HFD-VR군, 홍국균으로 고체발효한 베트남 로부스타의 열수추출물 투여한 HFD-VR-MR군 및 10% 발아현미를 첨가하여 홍국균으로 고체발효한 베트남 로부스타의 열수추출물을 투여한 HFD-VR-MR-RB10군에서는 유의적인 차이를 보이지 않았으나, 에티오피아 모카 시다모 G2 품종의 경우 고지방 식이를 한 쥐에 홍국균으로 발효하지 않은 원두커피 열수추출물을 처리하였을 때보다 홍국균으로 고체발효한 원두커피의 열수추출물을 투여하였을 때 체중증가량이 유의적으로 감소하였다. Shin 등(20)은 커피생두에 홍국균 균사체를 고체발효 하여 발효 원두커피를 제조하였을 때 고체발효한 원두커피에서 항산화 및 면역 활성이 일반 원두커피에 비해 유의적으로 증가하였으며, 카페인 함량에 영향을 주지 않으면서 chlorogenic acid를 유의적으로 증가시킨다는 연구 결과를 보고하여 홍국균에 의한 커피의 생물학적 전환(bio-transformation) 가능성을 제시하였다. Cha 등(14)은 홍국균으로 발효한 홍삼분말이 일반 홍삼분말보다 고지방 식이를 한 흰쥐에서 더 높은 혈청 콜레스테롤 저하효과, 간 조직의 지질억제 활성 및 항산화 물질의 증가를 나타냄으로써 홍국균으로 인한 지질저하 및 항산화 효과의 상승효과에 대해 보고하였다. 본 연구 결과 에티오피아 모카 시다모 G2종의 경우 홍국균으로 발효 후에 제조한 원두커피 추출물이 고지방 식이 쥐에서 체중증가량을 현저히 저하시키는 것으로 나타나 이 품종의 경우 홍국균 발효가 항산화 및 면역 활성뿐만 아니라 항비만 활성을 증가시킬 가능성이 있는 것으로 판단된다.

식이섭취량(Table 3)은 고지방 식이군이 정상 식이군에 비하여 감소하였고, 고지방 식이에 원두커피 열수추출물을 투여한 군들 중 HFD-VR군, HFD-VR-MR군, HFD-ES군의 식이섭취량은 고지방 식이 대조군에 비하여 유의적으로 낮아졌는데, 이는 고지방 식이로 인하여 에너지밀도가 높아짐에 따라 에너지균형을 맞추기 위한 적응현상으로 사료된다. 식이효율은 에너지밀도가 높은 고지방 식이군이  $14.73 \pm 1.54\%$ 로, 에너지밀도가 낮은 정상 식이군의 식이효율인  $6.40 \pm 1.38\%$ 에 비하여 유의적으로 증가하였고, 고지방 식이에 원두커피 열수추출물을 투여한 군들 중 HFD-ES군을 제외한 나머지 군(HFD-VR, HFD-VR-MR, HFD-VR-MR-BR10, HFD-ES-MR)의 식이효율이 고지방 식이군에 비하여 유의적으로 감소하였다. 앞선 체중증가량 결과와 마찬가지로 에티오피아 모카 시다모 G2종의 경우 홍국균으로 고체발효 한 후 고지방 식이를 한 쥐에 커피추출물을 투여하였을 때 쥐의 식이효율이 현저히 감소하는 것을 확인할 수 있었다. 베트남 로부스타종의 경우 고지방 식이를 한 쥐에 홍국균 발효 전후 커피추출물의 투여가 쥐의 식이효율에 유의적인 차이를 보이지 않았으나, 발아현미(10%)를 첨가하여 커피생두를 발효한 후 추출물을 투여하였을 때의 쥐의 식이효율이 유의적으로 감소하였다.

**Table 4.** Effect of hot-water extracts from various coffee beans on liver and adipose tissue weight in mice fed experimental diets for 6 weeks

Groups <sup>1)</sup>	Liver (g)	Epididymal adipose tissue (g)
ND	4.64±0.07 <sup>2)***</sup>	1.52±0.10 <sup>***</sup>
HFD	3.61±0.07	4.18±0.23
HFD-VR	3.90±0.07 <sup>**</sup>	2.36±0.32 <sup>***</sup>
HFD-VR-MR	3.83±0.05 <sup>*</sup>	2.80±0.29 <sup>**</sup>
HFD-VR-MR-BR10	3.69±0.10	2.90±0.16 <sup>***</sup>
HFD-ES	3.50±0.05	3.02±0.23 <sup>**</sup>
HFD-ES-MR	3.41±0.06 <sup>*</sup>	2.77±0.27 <sup>**</sup>

<sup>1)</sup>See the legend of Table 2.

<sup>2)</sup>The results are means±SE for 10 mice in each group.

<sup>\*</sup> $P < 0.05$ , <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ , <sup>\*\*\*</sup> $P < 0.001$  compared with the HFD by Dunnett's t-test.

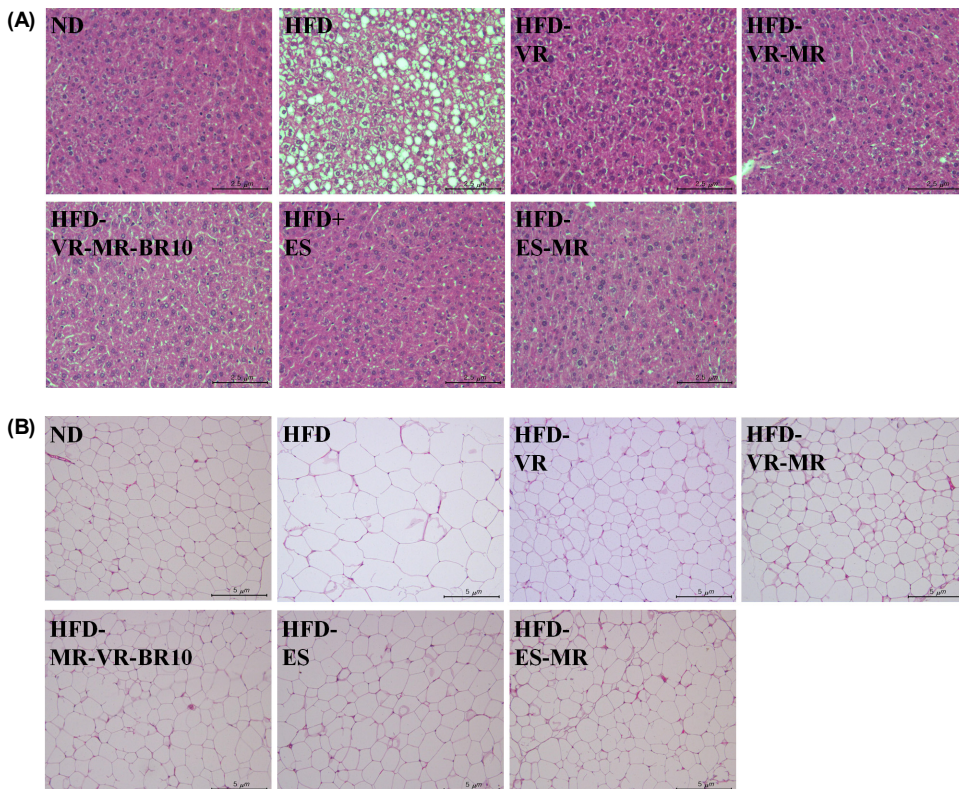
**간조직의 무게 및 지질 침착도**

각 식이섭취군의 간조직 무게를 비교한 결과는 Table 4와 같다. 체중 당 간조직의 무게는 고지방 대조군이 정상 식이군에 비해 유의적으로 감소하였고, 고지방 식이군에 비하여 커피추출물을 투여한 HFD-VR군과 HFD-VR-MR군은 체중 당 간조직 중량이 다소 증가하였으나, HFD-ES-MR는 유의적으로 감소하였다. 본 실험에서는 모든 실험군에서 절대적인 간 조직의 중량 변화가 관찰되지 않았으나, 고지방 식이군 쥐에서는 체중증가량이 급격히 증가하여 상대적인 체중 당 간조직의 무게가 감소하는 경향을 보이는 것으로 사료된다.

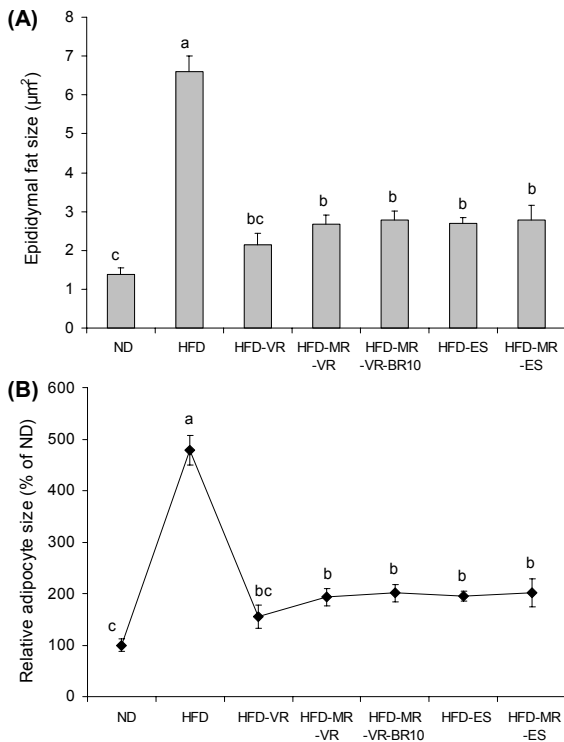
일반적으로 고지방 식이의 섭취는 각 장기와 피하에 지방을 축적하고 지질대사에도 이상을 초래하여 각종 대사 장애와 고혈압, 고지혈증 등을 일으킬 수 있다(1). 본 실험에서는 고지방 식이를 섭취한 쥐의 지방질 축적을 확인하기 위하여 마우스의 간을 적출하여 간 조직에 H&E staining을 실시한 결과(Fig. 2(A)), 정상 식이군의 간세포에는 지방침착 현상을 볼 수 없었으나 고지방 식이의 경우 간세포 내 지방 축적 현상이 뚜렷이 관찰되었다. 반면 원두커피 열수추출물을 투여한 모든 군에서 정상 식이를 섭취한 군과 같이 간세포 내 지방이 관찰되지 않았으며 커피추출물의 지방간 억제효과를 확인할 수 있었다.

**지방조직의 형태학적 관찰**

내장지방의 축적 정도를 가늠하는 척도로 이용되고 있는 부고환주위 지방(epididymal fat)조직의 축적 정도를 살펴본 결과, 6주간 고지방 식이를 섭취한 HFD군의 부고환 지방 무게가 4.18 g으로 정상 식이를 섭취한 쥐의 부고환 지방의 무게 1.52 g보다 현저히 증가하였다. 반면 두 품종의 원두커피 및 홍국균-고체발효 원두커피 열수추출물을 투여한 각 군에서는 HFD-VR < HFD-ES-MR < HFD-VR-MR < HFD-VR-MR-BR10 < HFD-ES 순으로 쥐의 지방조직 무게가 유의적으로 감소하였으며 커피추출물에 의한 지방축적 억제효과를 확인할 수 있었다(Table 4). 또한 고지방 식이에서는 부고환 지방의 지방조직 크기가 6.60  $\mu\text{m}^2$ 로 정상 식이군의 1.38  $\mu\text{m}^2$ 에 비해 약 5배 정도 증가하였으나, 커피추출물을



**Fig. 2.** Histological change of (A) liver tissue and (B) fat tissue around testicle in mice fed experimental diets for 6 weeks. The experimental groups are the same as in Table 2.



**Fig. 3.** Change of epididymal fat size (A) and relative adipocyte size (B) in mice fed experimental diets for 6 weeks. The same superscript letter are not significantly different at  $P < 0.05$  by Tukey's test. The experimental groups are the same as in Table 2.

투여하였을 경우 부고환 지방의 크기가 현저히 줄어드는 효과가 관찰되었다(Fig. 3). 정상 식이군에 비해 고지방 식이 급여 시 Fig. 2(B)에서처럼 부고환 지방세포의 hypertrophy가 관찰되었으며 고지방 식이 급여 후 커피추출물의 투여는 부고환 지방세포의 크기를 유의적으로 감소시키는 경향을 나타냈다.

**혈중 지질농도와 동맥경화지수 및 심혈관위험지수**

일반적으로 비만은 흔히 고지혈증과 고콜레스테롤증이 동반되며 식이에 의한 혈중 중성지방과 콜레스테롤이 증가하는 현상이 나타난다고 보고되어 있다(21). 본 실험에서

혈중의 총 지방과 중성지방 및 콜레스테롤 함량을 조사한 결과는 Table 5와 같다. 혈청 내 중성지방은 고지방 식이에 의해 가장 큰 영향을 받는데 고지방 식이만을 섭취한 HFD군(80.23 mg/dL)에 비해 커피추출물을 투여한 다섯 가지 실험군[HFD-VR(58.27 mg/dL), HFD-VR-MR(51.48 mg/dL), HFD-VR-MR-BR10(58.98 mg/dL), HFD-ES(59.11 mg/dL), HFD-ES-MR(59.54 mg/dL)] 모두 중성지방 수치가 유의적으로 감소하였다. 혈청의 총 콜레스테롤 함량 또한 비슷한 경향을 나타냈으며 커피추출물을 투여한 모든 실험군의 콜레스테롤 수준이 고지방 식이를 급여한 군에 비해 다소 감소하여 커피추출물에 대한 혈청의 콜레스테롤 침착 저해능을 확인할 수 있었다. LDL 콜레스테롤은 주로 동맥혈관벽에 붙어 동맥경화를 일으키거나 심장질환의 원인이 되는 인자로 혈중 농도가 높아질수록 그 위험성이 커지는 반면, HDL 콜레스테롤은 혈액 중의 동맥경화를 일으키는 저분자 콜레스테롤을 제거하여 간으로 이동시키는 역할을 하는 좋은 콜레스테롤로 알려져 있다(1). 본 실험에서는 혈장 중 LDL 콜레스테롤의 농도는 정상 식이를 급여한 ND(3.67 mg/dL)군에 비해 HFD(10.62 mg/dL)군이 유의적으로 높은 값을 나타냈으며, 이와는 대조적으로 HDL 콜레스테롤의 농도는 정상 식이를 급여한 군에서는 111.11 mg/dL, 고지방 식이를 급여한 군에서는 87.11 mg/dL로 유의적으로 낮은 값을 나타냈다. HFD-ES군에서는 HFD에 비해서 LDL 콜레스테롤 저하효과 및 HDL 콜레스테롤 상승효과를 볼 수 없었으나, 베트남 로부스타종을 투여한 세 가지 실험군 모두 LDL 콜레스테롤 수치가 낮아지며 HDL 콜레스테롤 수치가 유의적으로 증가하는 현상을 관찰할 수 있었다. 일반적으로 베트남 로부스타종은 다른 품종의 커피보다 항산화 및 항비만 성분으로 알려진 chlorogenic acid가 높게 함유되어 있다고 알려져 있으며, 이 chlorogenic acid는 실험동물 및 임상실험에서 콜레스테롤을 효과적으로 저해한다는 연구 결과가 많이 보고되었다(22-24). 따라서 본 실험 결과는 로부스타 품종이 다른 품종에 비해 높게 함유하고 있는 항비만 성분인 chlorogenic acid에 기인한다고 판단되어지며 더 나아가 홍국균의 발효과정을 통해 강력한 콜레스테롤 합성 억제력을 가지는 모나콜린류 등 2차 대사산물(secondary

**Table 5.** Effect of hot-water extracts from various coffee beans on lipid levels of plasma in mice fed experimental diets for 6 weeks

Groups <sup>1)</sup>	Triglyceride	Total cholesterol	LDL cholesterol	HDL cholesterol
ND	45.32±2.50 <sup>2)***</sup>	117.76±2.15 <sup>***</sup>	3.67±0.11 <sup>***</sup>	111.11±1.15 <sup>***</sup>
HFD	80.23±4.83	197.73±5.73	10.62±0.54	87.11±1.59
HFD-VR	58.27±2.53 <sup>**</sup>	179.08±5.42 <sup>*</sup>	7.44±0.85 <sup>**</sup>	96.85±2.54 <sup>**</sup>
HFD-VR-MR	51.48±3.05 <sup>***</sup>	182.50±3.93 <sup>*</sup>	7.45±0.48 <sup>***</sup>	96.60±1.45 <sup>***</sup>
HFD-VR-MR-BR10	58.98±2.01 <sup>**</sup>	179.84±5.44 <sup>*</sup>	7.93±0.66 <sup>**</sup>	95.50±1.89 <sup>**</sup>
HFD-ES	59.11±2.60 <sup>**</sup>	178.85±5.21 <sup>*</sup>	9.99±1.05	90.61±2.47
HFD-ES-MR	59.54±3.83 <sup>**</sup>	175.44±8.57 <sup>*</sup>	10.23±0.75	88.72±1.93

<sup>1)</sup>See the legend of Table 2

<sup>2)</sup>The results are means±SE for 10 mice in each group

\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$  compared with the HFD by Dunnett's t-test



**Table 6.** Effect of hot-water extracts from various coffee beans on atherogenic index (AI) and cardiac risk factor (CRF) of plasma in mice fed experimental diets for 6 weeks

Groups <sup>1)</sup>	AI <sup>2)</sup>	CRF <sup>3)</sup>
ND	0.06±0.02 <sup>c4)</sup>	1.06±0.02 <sup>c</sup>
HFD	1.29±0.93 <sup>a</sup>	2.29±0.10 <sup>a</sup>
HFD-VR	0.86±0.08 <sup>b</sup>	1.86±0.08 <sup>b</sup>
HFD-VR-MR	0.89±0.04 <sup>b</sup>	1.89±0.04 <sup>b</sup>
HFD-VR-MR-BR10	0.90±0.09 <sup>b</sup>	1.90±0.09 <sup>b</sup>
HFD-ES	0.98±0.07 <sup>ab</sup>	1.98±0.07 <sup>ab</sup>
HFD-ES-MR	0.99±0.11 <sup>ab</sup>	1.99±0.11 <sup>ab</sup>

<sup>1)</sup>See the legend of Table 2.

<sup>2)</sup>AI (atherogenic index)=(total cholesterol - HDL cholesterol)/HDL cholesterol.

<sup>3)</sup>CRF (cardiac risk factor)=total cholesterol/ HDL cholesterol.

<sup>4)</sup>The results are means±SE for 10 mice in each group.

<sup>a-c</sup>Values with different superscripts in the same column are significantly different ( $P<0.05$ ) between groups by Tukey's test.

metabolism)의 생산에서 기인할 수도 있을 것이라고 사료된다(25,26).

동맥경화지수와 심혈관위험지수는 고지방 식이군이 정상 식이군에 비하여 유의적으로 높아 고지방 식이로 인하여 동맥경화 및 심혈관 위험성이 크게 상승한 것으로 나타났다(Table 6). 에티오피아 모카 시다모 G2종을 투여한 실험군에서는 HFD와 비교하여 낮은 수치를 나타냈지만 유의적인 차이는 볼 수 없었으며, 베트남 로부스타종을 투여한 실험군에서는 동맥경화지수와 심혈관위험지수가 HFD군보다 유의적으로 낮았으며 ND군과 비슷한 수치를 나타냈다. 따라서 본 실험 결과 커피추출물의 급여로 인하여 고지방 식이로 감소된 혈중 HDL 콜레스테롤 함량은 증가시키고, 증가되었던 LDL 콜레스테롤 함량과 동맥경화지수 및 심혈관위험지수가 감소되어진 것으로 보아 커피 추출물이 동맥경화, 고지혈증 등 심혈관계 질환의 예방 및 개선에 효과가 있을 것으로 추정된다.

## 요 약

본 연구에서는 두 품종의 원두커피와 이를 *Monascus ruber* 홍국균으로 발효시킨 원두커피 열수추출물의 체내 지질 대사 개선 효과와 항비만 효과를 살펴보기 위하여 고지방 식이를 급여한 쥐에 커피추출물을 6주간 투여한 후 체중, 간 및 부고환 지방조직 무게, 혈액의 지질 농도 함량 등을 분석하였다. 실험 결과 HFD군에서는 고지방 식이로 인하여 체중이 유의하게 증가하였으나 커피추출물을 투여한 모든 실험군에서는 유의적으로 체중이 감소하였고 두 품종 중 에티오피아 모카 시다모 G2종을 홍국균으로 발효하였을 때 더 높은 체중 감소량을 보였다. 혈청 중성지방의 농도는 고지방 식이군이 정상 식이군에 비해 약 2배 정도 증가하였으나 커피추출물을 투여하였을 때 유의적으로 감소하였으며 부고환 지방 콜레스테롤 농도도 유의적으로 감소함을 보였다. LDL 콜레스테롤 저하효과 및 HDL 콜레스테롤 상승효

과는 베트남 로부스타종에서만 관찰할 수 있었다. 본 실험 결과 커피추출물이 고지방 식이를 급여한 쥐의 체중, 간 및 지방조직의 무게 감소와 더불어 혈장 및 간의 지질대사 개선에 긍정적으로 작용하는 유용한 체내 지질대사 개선 및 항비만 소재가 될 수 있을 것으로 사료된다. 또한 *M. ruber* 홍국균의 고체배양을 이용한 베트남산 로부스타 및 에티오피아 모카 시다모 G2 발효원두커피는 기능성 커피음료의 좋은 소재가 될 것으로 사료된다.

## 감사의 글

본 논문은 2012년도 중소기업청 기술혁신과제(농공상융합형 기술개발사업, 과제번호 SA114110)의 지원에 의하여 수행된 것으로 이에 감사드립니다.

## REFERENCES

- Park SJ, Jeon YJ, Kim HJ, Han JS. 2013. Anti-obesity effects of *Ishige okamurae* extract in C57BL/6J mice fed high-fat diet. *Korea J Food Sci Technol* 45: 199-205.
- Kim AR, Lee JJ, Lee YM, Jung HO, Lee MY. 2010. Cholesterol-lowering and anti-obesity effects of *Polymnia sonchifolia* Poep. & Endl. powder in rats fed a high fat-high cholesterol diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39: 210-218.
- Song YO, Lee SJ, Park HJ, Jang SH, Chung BY, Song YM, Kim GS, Cho JH. 2013. Hepatoprotective effect of *Schisandra chinensis* on high-fat diet-induced fatty liver in rats. *Korean J Vet Serv* 36: 45-52.
- Kim ST, Hwang CH, Kim YK. 2012. The effect of natural mate tea extract on the body weight and biochemical biomarker in high fat diet-obese (ob/ob) mice. *Yakhak Hoeji* 56: 1-8.
- Kang ES, Hang JS, Lee CK, Seo HG. 2013. Effects of *Garcinia cambogia* extract on the adipogenic differentiation and lipotoxicity. *Korean J Food Sci Ani* 33: 411-416.
- Kim MJ, Park JE, Lee JH, Choi NR, Hong MH, Pyo YH. 2013. 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.
- Vignoli JA, Bassoli DG, Benassi MT. 2011. Antioxidant activity, polyphenols, caffeine and melanoidins in soluble coffee: the influence of processing conditions and raw material. *Food Chem* 124: 863-868.
- Goya L, Delgado-Andrade C, Rufián-Henares JA, Bravo L, Morales FJ. 2007. Effect of coffee melanoidin on human hepatoma HepG2 cells. Protection against oxidative stress induced by *tert*-butylhydroperoxide. *Mol Nutr Food Res* 51: 536-545.
- Hidgon JV, Frei B. 2006. Coffee and health: a review of recent human research. *Crit Rev Food Sci Nutr* 46: 101-123.
- Moreira DP, Monterio MC, Ribeiro-Alves M, Donangelo CM, Trugo LC. 2005. Contribution of chlorogenic acids to the iron-reducing activity of coffee beverages. *J Agric Food Chem* 53: 1399-1402.
- Mackay DC, Rollins JW. 1989. Caffeine and caffeinism. *J R Nav Med Serv* 75: 65-67.
- An JH, Mahat B, Lee BY, Park WK, Kwon KI. 2012. Evaluation of the caffeine contents in tea and coffee by HPLC and effect of caffeine on behavior in rats. *Kor J Clin*

- Pharm* 22: 167-175.
13. Pyo YH. 2008. Effect of *Monascus*-fermentation on the content of GABA and free amino acids in soybean. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 1208-1213.
  14. Cha JY, Park JC, Ahn HY, Eom KE, Park BK, Jun BS, Lee CH, Cho YS. 2009. Effect of *Monascus purpureus*-fermented Korean red ginseng powder on the serum lipid levels and antioxidative activity in rats. *Korean J Soc Food Sci Nutr* 38: 1153-1160.
  15. Lee SK, Chun GT, Jeong YS. 2008. Production medium optimization for *Monascus* biomass containing high content of monacolin-K by using soybean flour substrates. *Korean J Biotechnol Bioeng* 23: 463-469.
  16. Park IB, Park BS, Jung ST. 2003. Brewing and functional characteristics of hongkuk ju prepared with various hongkuks. *Korean J Food Sci Technol* 35: 943-950.
  17. Kim EY, Rhyu MR. 2000. The chemical properties of doenjang prepared by *Monascus koji*. *Korean J Food Sci Technol* 32: 1114-1121.
  18. Rosenfeld L. 1989. Lipoprotein analysis: Early methods in the diagnosis of atherosclerosis. *Arch Pathol Lab Med* 113: 1101-1110.
  19. Hečimović I, Belščak-Cvitanović A, Horžić D, Komes D. 2011. Comparative study of polyphenols and caffeine in different coffee varieties affected by the degree of roasting. *Food Chem* 129: 991-1000.
  20. Shin JY, Kim H, Kim DG, Baek GH, Jeong HS, Yu KW. 2013. Pharmacological activities of coffee roasted from fermented green coffee beans with fungal mycelia in solid-state culture. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42: 487-496.
  21. Miller NE, Thelle DS, Førde OH, Mjøs OD. 1977. The Tromsø heart-study: High-density lipoprotein and coronary heart-disease: a prospective case-control study. *Lancet* 8019: 965-968.
  22. Wan CW, Wong CN, Pin WK, Wong MH, Kwok CY, Chan RY, Yu PH, Chan SW. 2013. Chlorogenic acid exhibits cholesterol lowering and fatty liver attenuating properties by up-regulating the gene expression of PPAR- $\alpha$  in hypercholesterolemic rats induced with a high-cholesterol diet. *Phytother Res* 27: 545-551.
  23. Natella F, Nardini M, Belevi F, Scaccini C. 2007. Coffee drinking induces incorporation of phenolic acids into LDL and increases the resistance of LDL to ex vivo oxidation in humans. *Am J Clin Nutr* 86: 604-609.
  24. Olthof MR, Hollman PC, Buijsman MN, van Amelsvoort JM, Katan MB. 2003. Chlorogenic acid, quercetin-3-rutinoside and black tea phenols are extensively metabolized in humans. *J Nutr* 133: 1806-1814.
  25. Endo A. 1980. Monacolin K, a new hypocholesterolemic agent that specifically inhibits 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase. *J Antibiot (Tokyo)* 33: 334-336.
  26. Endo A, Hasumi K, Negishi S. 1985. Monacolin J and L, new inhibitors of cholesterol biosynthesis produced by *Monascus rubber*. *J Antibiot (Tokyo)* 38: 420-422.