

## 커피 폐기물 추출물의 효능에 관한 연구

†이 광 수 · 박 경 숙

장안대학교 건강과학부 식품영양과

### A Study of Effects of Coffee Waste Extracts obtained from Solvents

†Kwang-Soo Lee and Kyung-Sook Park

Dept. of Food & Nutrition, Jangan University, Whasung 445-756, Korea

#### Abstract

In this study, coffee waste was extracted with different solvents such as ethyl acetate, methylene chloride and methanol to investigate the total polyphenol contents, electron donating ability and the inhibitory effect on glutathione *S*-transferase. The total polyphenol contents were 3,060.61±357.12 µg GAE/mL in ethyl acetate, 909.09±35.71 µg GAE/mL in methylene chloride, and 1,602.27±30.36 µg GAE/mL in methanol. The total polyphenol contents showed a significant difference ( $p<0.05$ ) between the solvents. The electron donating ability was 80.20±1.45% for ethyl acetate, 81.94±0.45% for methylene chloride, and 85.14±1.53% for methanol. The electron donating abilities were significantly different ( $p<0.05$ ) between the solvents. The inhibitory effect of the various extracts on glutathione *S*-transferase (% inhibition) was 92.12±0.56%, 88.48±0.24% with methylene chloride extract, and 90.85±0.14% with methanol extract. These too were significant different ( $p<0.05$ ) between the solvents. The two portions of coffee waste extracts obtained from ethyl acetate and methanol showed meaningful results on the total polyphenol contents, and the inhibition effects on glutathione *S*-transferase. Therefore, they can be utilized to develop health care foods and can be applied as antioxidants for cosmeceuticals.

Key words: coffee waste, total polyphenol contents, electron donating ability, inhibition effect, glutathione *S*-transferase, cosmeceuticals

#### 서 론

커피는 전 세계인의 기호식품으로 그 소비량이 꾸준히 증가하고 있는 추세이며, 우리나라에서 커피 소비량은 2011년 식약청에서 원두 수입량을 기준으로 하루 평균 소비량이 300톤에 이른다고 밝혔고, 이는 경제활동을 하는 사람 일인당 하루에 한잔 반의 커피를 소비하는 양으로, 이로 인하여 만들어지는 커피 폐기물은 210톤에 달하는 것으로 추정하였다. 식생활의 서구화와 국민 생활의 향상으로 인하여 커피 소비량도 증가하고 있고, 그에 따른 원두의 수입량도 매년 꾸준히 증가하고 있어서 커피 폐기물의 재활용에 대책이 시급한 실정이다.

커피 폐기물의 재활용은 가정이나 커피 전문점에서 방향제, 화분의 거름 등으로 매우 제한적으로 활용되고 있으나, 궁극에는 폐기물로 버려지고 있어서 커피 폐기물을 활용에 대한 필요성이 꾸준히 제기되고 있는 실정이다. 그리고 매우 제한적이지만 다양한 영역에서 커피 폐기물의 재활용에 대한 연구는 꾸준히 이어져 오지만, 아직 실용화 되는 단계는 아니다.

커피 폐기물에 관한 연구 분야를 살펴보면, 바이오메스의 일종인 커피 폐기물을 이용한 활성탄의 제조(You & Kim 1998; Kim 등 2008)와 커피 찌꺼기를 이용하여 폐수 중의 Pb와 Cr 등과 같은 중금속 제거(Kim 등 1999; Kim 등 2008; Park 2013; Shin & Kim 2014), 커피 찌꺼기를 활용하여 제조한 흡착제의

† Corresponding author: Kwang-Soo Lee, Dept. of Food & Nutrition, Jangan University, Whasung 445-756, Korea. Tel: +82-31-299-3068, Fax: +82-31-299-3609, E-mail: lkss2920@jangan.ac.kr

H<sub>2</sub>S 흡착특성(Kim 등 2015), 그리고 질산성 질소의 제거능(Lee 등 2014) 등 흡착제로의 활용이 대부분이다. 커피 폐기물을 이용한 또 다른 활용 방안은 바이오에너지 생산기술 개발(Lee 등 2012)과 초음파에너지를 이용한 기능성 오일의 추출로, 바이오 디젤이나 화장품 원료로 활용(Lee 등 2010)이나 바이오 에너지 생산(Choi IS 2014), 커피박을 첨가하여 중밀도 섬유관 제조(Yang 등 2013), 커피 폐기물을 활용한 식생토사면의 안정성 개선(Sung SY 2015), 폐수 슬러지의 호기성 퇴비화(Ha SY 2015) 등이 현재 연구되고 있는 실정이다.

에스프레소 농도로 열수 추출한 원두커피에서 폴리페놀과 글루타티온의 활성에 저해를 나타내는 물질이 있음을 밝혔고(Lee KS 2014), 추출 후 남은 커피 폐기물을 극성을 달리하는 용매로 추출한다면 보다 많은 유효성분이 추출되리라 사료된다.

본 연구는 단순히 버려지는 커피 폐기물을 극성을 달리하는 용매(methylene chloride, ethyl acetate, methanol)를 사용하여 추출하였고, 추출물들을 농축하여 용매별 폴리페놀 함량 측정과 항산화성(전자공여성) 및 GST 활성저해능 실험을 통하여 이들에 영향을 주는 물질을 먼저 확인함으로써 향후 커피 폐기물을 재활용할 수 있는 기초 자료로 제공하고, 최종적으로는 이들 성분의 분리와 구조를 규명함으로써 기능성 식품이나 화장품의 원료로 재활용하는데 목적이 있다.

## 실험 재료 및 방법

### 1. 실험재료

본 연구에 사용된 커피 폐기물은 경기도 분당에 소재지를 둔 전국 규모의 S 커피 체인점에서 무료로 제공하는 것을 가져다가 전처리 과정 없이 곧바로 사용하였다.

### 2. 시약 및 실험 기기

글루타티온 전달 효소의 기질로 사용된 1-chloro-2,4-dinitrobenzene(CDNB), 1,2-dichloro-4-nitrobenzene(DCNB), 1,2-epoxy-3-(p-nitrophenoxy)propane(EPNP), ethacrynic acid(ETA), cumene hydroperoxide(CP), 4-nitrophenethyl bromide(4-NPB), glutathione 저해제로 사용된 S-hexyl-GSH, hematin은 Sigma Chemical Co. (St. Louis, USA) 제품을 사용하였다. Potassium phosphate(monobasic), potassium phosphate(dibasic)은 Kanto Chemical Co.(Tokyo, Japan) 제품을, sodium chloride는 Duksan Pure Chemical Co. (Kyönggi, Korea) 제품을, potassium chloride는 Daejung(Incheon, Korea) 제품을 사용하였다. 그 외 buffer를 만들기 위한 시약과 사용한 모든 시약은 일급 및 특급 시약을 사용하였다.

Vortex Mixer는 Thermolyne(Iowa, USA)사의 Type 37600 Mixer를 이용하였다. pH meter기는 Istek(Seoul, Korea)의 p25를 사용하였고, 기질과의 특성조사를 위해서 Hitachi사(Tokyo,

Japan) U-2000 UV/VIS Spectrophotometer를 이용하였다.

## 3. 실험방법

### 1) 커피 폐기물에서의 추출

시중의 S사에서 수거한 커피 폐기물은 전 처리 없이 100 g 정량하여 500 mL 삼각플라스크에 넣고 300 mL methylene chloride를 부은 후에 상온에서 24시간 정치하였다. 여과를 통하여 여과액과 찌꺼기를 분리하였고, 여과 후 남은 찌꺼기는 다시 300 mL methylene chloride를 가하여 동일한 방법으로 추출을 하는 방법으로 총 3회에 걸쳐서 추출을 하였다. 여과한 용액은 합하여 감압하에 로터리 농축기에서 농축하였고, 농축액은 더 이상의 정제과정 없이 실험에 사용하였다. 위와 같은 방법으로 ethyl acetate와 methanol을 사용하여 추출한 다음에 농축하였고, 농축액은 총 폴리페놀 함량 측정, 전자공여능 측정, glutathione S-transferase 활성 저해능 측정 실험에 사용하였다.

### 2) 총 폴리페놀 함량 측정

총 폴리페놀 함량 측정은 Folin-Ciocalteu법(Singleton & Rossi 1965)에 따라 측정하였다. 커피 폐기물에서 ethyl acetate로 추출한 시료는 100배, methylene chloride와 methanol로 추출한 시료는 50배로 각각 추출에 사용한 용매로 희석하여 실험에 사용하였다. 이 희석액 0.4 mL를 취하여 증류수 3.0 mL와 혼합한 후에 Folin-Ciocalteu reagent 0.2 mL를 넣었고, 이 용액에 포화 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 용액 0.4 mL를 넣고 강하게 저어준 다음 1시간 정치시켰다. 총 폴리페놀 함량의 측정하기 위하여 UV spectrophotometer를 이용하여 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 폴리페놀 함량의 산출은 표준물질로 gallic acid를 사용하여 표준 검량선을 구하였고, 검량선으로부터 총 폴리페놀 함량을 gallic acid equivalents(GAE µg/mL extract)로 환산하였다.

### 3) 전자공여능 측정

DPPH(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)의 free radical에 대한 추출 시료의 전자공여능 측정은 Kang 등(2001)의 방법을 이용하여 측정하였다. 95% 에탄올에 용해시킨 0.2 mM DPPH 용액 4 mL에 시료 0.1 mL를 첨가하여 혼합한 후, 37°C의 항온조에서 30 min 동안 반응시켰다. 추출물의 전자공여능은 UV spectrophotometer를 사용하였으며, 517 nm에서 흡광도를 측정하였고, 전자공여능(%)은 다음 식에 의하여 구하였다.

$$\text{Electron donating ability(\%)} = [1 - (A_{\text{experiment}}/A_{\text{blank}})] \times 100$$

A experiment : Absorbance of sample  
A blank : Absorbance of control

#### 4) Glutathione S-transferase의 활성 저해능 측정

포합 반응에 대한 초기 반응속도 측정에는 1,2-dichloro-4-nitrobenzene(DCNB)를 사용하였다. 효소 활성 단위는 1분당 1  $\mu\text{mol}$ 의 생성물을 촉매하는 효소의 양으로 정의하였다. 기질에 대한 활성도 측정 방법은 Table 1에 나타내었다. 효소의 최적 pH와 최적 온도는 각각 9.0과 55 $^{\circ}\text{C}$ 인 것으로 나타났고 (Cho & Kong 2005), glutathione S-transferase 효소 활성 저해와 관련한 실험 조건은 Cho HY(2007)가 밝힌 기질 농도의 영향, pH 영향, 온도의 영향 등을 참조하였다.

**Table 1. Reaction condition on GST activity**

Substrate	Buffer (500 $\mu\text{L}$ )	pH	GSH <sup>a</sup> (mM)	Substrate <sup>a</sup> (mM)	$\epsilon^b$ ( $\text{mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ )
CDNB (340 nm)	200 mM KPB <sup>c</sup>	6.5	50	50	9.6

<sup>a</sup>: GSH and substrate concentration refer to final concentration

<sup>b</sup>:  $\epsilon$ -molecular coefficient

<sup>c</sup>: KPB refers to potassium phosphate buffer

먼저 1 mL vial에 500  $\mu\text{L}$ 의 0.2 M KPB(pH 7.0)와 420  $\mu\text{L}$ 의 증류수를 넣고 잘 혼합시킨 후에 20  $\mu\text{L}$ 의 50 mM glutathione (GSH)과 20  $\mu\text{L}$ 의 GST를 넣고 강하게 혼합시킨다. 잘 혼합된 용액에 20  $\mu\text{L}$ 의 50 mM DCNB를 넣고 강하게 혼합시킨 후에 340 nm에서 UV/VIS spectrophotometer를 이용하여 1분 동안의 흡광도 변화를 측정하였고, 이를 기본 포함반응으로 하였다. 위와 동일한 조건의 혼합물에 커피 찌꺼기에서 추출·농축한 20  $\mu\text{L}$  시료를 혼합하여 강하게 저어준 다음에 동일한 방법으로 1분 동안의 흡광도 변화를 측정하여 기본 포함반응의 흡광도와 비교하여 커피 찌꺼기에서의 추출물이 GST 활성 저해제로서 상관관계를 규명하려고 하였다.

#### 5) 통계처리

모든 실험결과는 Statistical Package for the Social Science Program(SPSS, version 21)을 사용하여 분산분석(one-way ANOVA)을 실시하였고, 실험군 간의 유의성은 Duncan multiple range test로  $p < 0.05$  수준에서 실시하였으며, 실험 분석은 3회 반복해서 실행한 평균 $\pm$ 표준편차로 분석하였다.

## 결과 및 고찰

#### 1. 총 폴리페놀 함량

커피 폐기물에서 추출 용매를 달리하여 얻은 추출물의 총 폴리페놀의 함량은 Table 2에 나타내었다. Table 2에서 보는

**Table 2. The total polyphenol contents obtained from coffee waste extracts using different solvents**

Extraction solvents	Total polyphenols( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) <sup>1)</sup>
Ethyl acetate	3,060.61 $\pm$ 357.12 <sup>2a</sup>
Methylene chloride	909.09 $\pm$ 35.71 <sup>b</sup>
Methanol	1,602.27 $\pm$ 30.36 <sup>c</sup>
<i>F</i> value	1,206,042.805* (0.000)

<sup>1)</sup> Total polyphenol content was expressed as  $\mu\text{g}/\text{mL}$  gallic acid equivalents (GAE)

<sup>2)</sup> Each value is mean $\pm$ S.D. of doublet determination (n=2)

\* Means with different letters (a-c) within a column are significantly different at  $p < 0.05$ .

바와 같이, 총 폴리페놀 함량은 ethyl acetate에서 가장 높은 함량인 3,060.61 $\pm$ 357.12  $\mu\text{g}$  GAE/mL로 나타났고, methylene chloride에서는 가장 낮은 909.09 $\pm$ 35.71  $\mu\text{g}$  GAE/mL, 그리고 극성이 가장 큰 메탄올에서는 1,602.27 $\pm$ 30.36  $\mu\text{g}$  GAE/mL를 나타내었다. 용매에 따른 총 폴리페놀 함량은 통계학적으로 유의적인 관계가 있음을 보였다( $p < 0.05$ ). 총 폴리페놀의 함량이 ethyl acetate에서 가장 높게 나타난 것은 커피 폐기물에 함유된 폴리페놀류들이 유리 상태보다는 ether 혹은 ester와 같은 형태로 존재할 가능성이 높은 것으로 사료된다.

#### 2. 전자공여능 측정

커피 폐기물에서 추출 용매를 달리하여 얻은 추출물의 전자공여능 측정 결과는 Table 3에 나타내었다. Table 3에서 보는 바와 같이, ethyl acetate 추출물의 전자공여능은 80.20 $\pm$ 1.45%, methylene chloride의 추출물은 81.94 $\pm$ 0.45% 그리고 methanol 추출물에서는 85.14 $\pm$ 1.53%를 나타내었다. 각 용매에 따른 전자공여능은 통계학적으로 유의한 차이를 나타내고 있으며 ( $p < 0.05$ ), methanol 추출물의 전자공여능이 총 폴리페놀 함량이 가장 높게 나타난 ethyl acetate 추출물보다 더 높은 전자

**Table 3. Electron donating ability of coffee waste extract obtained from different solvents**

Extraction solvents	Electron donating ability(EDA) <sup>1)</sup>
Ethyl acetate	80.20 $\pm$ 1.45 <sup>2a</sup>
Methylene chloride	81.94 $\pm$ 0.45 <sup>b</sup>
Methanol	85.14 $\pm$ 1.53 <sup>c</sup>
<i>F</i> value	6.28* (0.000)

<sup>1)</sup> Electron donating ability (EDA) content was %

<sup>2)</sup> Each value is mean $\pm$ S.D. of triplicate determination (n=3)

\* Means with different letters(a-c) within a column are significantly different at  $p < 0.05$ .

공여능을 나타낸 것으로 보아서 폴리페놀류와 전자공여능과는 큰 연계성이 없는 것으로 나타났다. 그리고 모든 용매의 추출물에서 80% 이상의 전자공여능이 있는 것으로 나타나, 항산화제와 연계한 단일 물질로의 분리와 구조 규명 등이 필요하다고 사료된다.

### 3. GST 활성 저해능 실험

커피 폐기물에서 추출 용매를 달리하여 얻은 추출물의 glutathione *S*-transferase의 활성 저해능 실험 결과는 Table 4에 나타내었다. Table 4에서 보는 바와 같이, ethyl acetate 추출물의 glutathione *S*-transferase의 활성 저해능 92.12±0.56%, methylene chloride의 추출물은 88.48±0.245% 그리고 methanol 추출물에서는 90.85±0.14%를 나타내었다. 유기 용매별 glutathione *S*-transferase의 활성 저해능은 통계학적으로 유의한 차이가 있음을 보였다( $p<0.05$ ). 총 폴리페놀 함량 측정의 결과와 유사하게 ethyl acetate 추출물에서 glutathione *S*-transferase의 활성 저해능이 가장 높게 나타났고, methylene chloride에서 가장 낮은 저해능을 보였다. 추출물의 총 폴리페놀 함량과 glutathione *S*-transferase의 활성 저해능과의 상관성에 대한 연구가 필요하다고 사료된다. 모든 용매의 추출물에서 80% 이상의 전자공여능이 있음을 보여 glutathione *S*-transferase의 활성 저해능과 연계한 연구가 필요한 것으로 사료된다.

**Table 4. Inhibition effects of coffee waste extract obtained from different solvents on glutathione *S*-transferase**

Extraction solvents	Inhibition effect <sup>1)</sup>
Ethyl acetate	92.12±0.56 <sup>a</sup>
Methylene chloride	88.48±0.25 <sup>b</sup>
Methanol	90.85±0.14 <sup>c</sup>
<i>F</i> value	6.28* (0.000)

<sup>1)</sup> Inhibition effect was %.

<sup>2)</sup> Each value is mean±S.D. of triplicate determination (n=3).

\* Means with different letters (a-c) within a column are significantly different at  $p<0.05$ .

## 요약 및 결론

바이오메스의 일종인 커피 폐기물에서 용매를 달리하여 추출을 하였고, 추출물들의 총 폴리페놀 함량, 전자공여능 측정 그리고 glutathione *S*-transferase의 활성 저해능 실험을 하였다.

1. 총 폴리페놀 함량은 ethyl acetate에서 가장 높은 함량인 3,060.61±357.12 µg GAE/mL로 나타났고, methylene chloride에서는 가장 낮은 909.09±35.71 µg GAE/mL 그리고 극성이

가장 큰 메탄올에서는 1,602.27±30.36 µg GAE/mL를 나타내었다. 용매에 따른 총 폴리페놀 함량은  $p<0.05$ 에서 통계학적으로 유의적인 관계가 있음을 보였다.

2. Ethyl acetate 추출물의 전자공여능은 80.20±1.45%, methylene chloride의 추출물은 81.94±0.45% 그리고 methanol 추출물에서는 85.14±1.53%를 나타내었다. 각 용매에 따른 전자공여능은 통계학적으로 유의한 차이를 나타내고 있으며( $p<0.05$ ), methanol 추출물의 전자공여능이 총 폴리페놀 함량이 가장 높게 나타난 ethyl acetate 추출물보다 더 높은 전자공여능을 나타낸 것으로 보아서 폴리페놀류와 전자공여능과는 큰 연계성이 없는 것으로 사료되었다. 모든 용매의 추출물에서 80% 이상의 전자공여능이 있음을 보여 항산화제와 연계한 연구가 필요한 것으로 사료된다.

3. Ethyl acetate 추출물의 glutathione *S*-transferase의 활성 저해능 92.12±0.56%, methylene chloride의 추출물은 88.48±0.25% 그리고 methanol 추출물에서는 90.85±0.14%를 나타내었다. 유기 용매별 glutathione *S*-transferase의 활성 저해능은 통계학적으로 유의한 차이가 있음을 보였다( $p<0.05$ ). 총 폴리페놀 함량 측정의 결과와 유사하게 ethyl acetate 추출물에서 glutathione *S*-transferase의 활성 저해능이 가장 높게 나타났고, methylene chloride에서 가장 낮은 저해능을 보여, 추출물의 총 폴리페놀 함량과 glutathione *S*-transferase의 활성 저해능과의 상관성에 대한 연구가 필요하다고 사료된다. 모든 용매의 추출물에서 80% 이상의 전자공여능이 있음을 보여 glutathione *S*-transferase의 활성 저해능과 연계한 연구가 필요한 것으로 사료된다.

커피 폐기물에서 여러 용매를 이용한 추출물은 총 폴리페놀과 전자공여능 그리고 glutathione *S*-transferase의 활성 저해능에서 효능이 있는 것으로 사료되어 폐기물을 활용한 항산화제라든가 생리 활성에 관계하는 효소들과의 유의성 검증과 이러한 효능을 주는 물질들의 분리 및 구조 규명이 필요하다고 사료된다.

## 감사의 글

본 연구는 장안대학교 2015년도 자체연구비 지원에 의하여 연구되었으며 이에 감사드립니다.

## References

- Cho HY, Kong KH. 2005. Molecular cloning, expression, and characterization of a phi-type glutathione *S*-transferase from *Oryza sativa*. *Pestic Biochem Phys* 83:29-36
- Cho HY. 2007. Studies on the biochemical characterization and the application of plant-specific rice glutathione *S*-transferase.

- Ph.D. Thesis, Chung Ang Univ. Seoul, Korea
- Choi IS. 2014. Feasible approach of agricultural wastes such as citrus and coffee for bioenergy production. Ph.D. Thesis, Chonnam National Univ. Kwangju, Korea
- Ha SY. 2015. Aerobic compositing of wastewater cludge using beneficial microorganisms. Ph.D. Thesis, Korea Maritime and Ocean Univ. Busan, Korea
- Kang MH, Park CG, Cha MS, Seong ES, Chung HK, Lee JH. 2001. Component characteristics of each extract prepared by different extract methods from by-products of *Glycrrhizia uralensis*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30:138-142
- Kim DY, Choi BH, Park BH, Jeong JH, Jung IC, Choi YI, Jung BG. 2008. The preparation of activated carbon from coffee waste by chemical activated and its removal characteristics of heavy metal. *Korean Society of Water & Wastewater* 0: 624-625
- Kim JH, Kang YS, Woo JM, Park YS. 2015. Adsorption characteristics of H<sub>2</sub>S on adsorbent made by coffee waste. *J. of the Institute of Industrial Technology (Daejeon Univ.)* 19: 33-38
- Kim JY, Oh KC, Baek SH. 1999. Effect of food (fruit and oriental herb's) waste of materials on removability of Cd<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup> ion in water. *Korean J Food & Nutr* 12:602-607
- Lee BH, Lim DI, Ra DG. 2014. Removal capacity of nitrate by activated carbon from exhausted coffee. *J of Korean Society of Environmental Technology* 15:19-24
- Lee JJ, Kim SJ, Oh DS, Shim BS. 2012. Development of bio-energy production technology from coffee waste. *Korea Society of Waste Management* 0:368-370
- Lee KS. 2014. A study of influences of coffee roasting temperature and time on total polyphenols and inhibition effect on glutathione S-transferase. *Jangan Nonchong* 35(2):589-601
- Lee SB, Kim HJ, Lee JD. 2010. Ultrasonic association solvent extraction of functional oil from waste ground coffee. *J of Korea Soc. of Waste Management* 27:304-309
- Park HS. 2013. A study on the adsorption of heavy metals of waste. *J Korea Society of Environmental Administration* 19: 113-119
- Shin HG, Kim CG. 2014. Removal of heavy metal in wastewater with coffee grounds. *J of Korra* 22:44-49
- Singleton VL, Rossi JA. 1965. Colorimetry of total phenols with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic* 16:144-158
- Sung SY. 2015. Improvement of retention and growth of earth slope vegetation using recycled coffee waste. Ph.D. Thesis, Incheon National Univ. Incheon, Korea
- Yang I, Lee KH, Oh SC. 2013. Manufacture and performance evaluation of medium-density fiberboard made with coffee bean residue-wood fiber. *J Korean Wood Sci & Tech* 41: 293-301
- You SH, Kim HH. 1998. The preparation of activated carbon from coffee waste: ZnCl<sub>2</sub>-activation. *J of Korean Ind & Eng Chemistry* 9:509-515

---

Received 6 October, 2015

Revised 12 October, 2015

Accepted 12 October, 2015