

커피 부산물의 항산화와 항균력에 관한 연구

이병은 · 양재찬 · 김보애[†]

목원대학교 테크노과학대학 생의약화장품학부
(2016년 8월 17일 접수; 2016년 9월 27일 수정; 2016년 9월 30일 채택)

A Study of Antioxidative and Antimicrobial Effects of Coffee Residue Extracts

Byeong-Eun Lee · Jae-Chan Yang · Bo-Ae Kim[†]

Mokwon University, College of Sciences & Technology, Division of Biomedical & Cosmetics,
Doanbuk-ro 88, Seo-gu, Daejeon 302-729, Korea

(Received August 17, 2016; Revised September 27, 2016; Accepted September 30, 2016)

요약 : 본 연구는 커피부산물의 화장품 소재로서의 활용가능성을 평가하기 위해 커피부산물을 유기 용매인 n-hexane을 이용하여 60(±10)°C에서 24시간동안 교반하며 추출하여 실험을 수행하였다. B16F10 melanoma cell line과 RAW264.7 macrophage cell line에서의 커피박 추출물의 세포독성을 water solubletetrazolium salt-1 assay로 평가하였다. 또한 free radical 소거능을 측정하기 위해 DPPH 법을 사용하여 항산화를 평가하였으며, 항균력 검색을 위해 *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*를 이용하였다. 실험결과 B16F10 murine melanoma cells에서 커피부산물 추출물을 처리한 군은 0.125 ~ 2 $\mu\text{l/ml}$ 농도에서, RAW 264.7 macrophage cells에서는 0.125부터 0.5 $\mu\text{l/ml}$ 농도에서 세포독성을 나타내지 않았다. 항산화 실험 결과 커피박 추출물은 농도 의존적인 DPPH radical 소거능을 보였다. 또한 커피박 추출물의 항균 효능을 측정하기 위해 Paper disc법을 이용하였으며 그 결과 *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*에서 각각 11.3±0.4, 12.±0.7, 12.0±0.0, 0.0±0.0 mm의 clear zone을 나타내었다. 이러한 결과는 커피박 추출물의 화장품 소재로서의 가치를 제안할 수 있다.

주제어 : 커피 부산물, 화장품 소재, 세포독성, 항균, 항산화

Abstract : The purpose of this study is to analyze the possibility of a residual product of coffee (RC). RC oil extracted with n-hexane at 60(±10) °C for 24 hours. In this study, the cytotoxicity of RC oil was observed against B16F10 melanoma cells and RAW 264.7 macrophage cells by water solubletetrazolium salt-1 assay, and The RC oil measured by methods of DPPH radical scavenging and antimicrobial activities in *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*. As a result, the RC oil treatment-related cytotoxic effects

[†]Corresponding author
(E-mail: kba@mokwon.ac.kr)

appeared on B16F10 melanoma cells from 0.125 to 2 $\mu\text{l}/\text{ml}$ and RAW 264.7 macrophage cells from 0.125 to 0.5 $\mu\text{l}/\text{ml}$ concentrations in this study. RC oil is radical scavenging activity concentrations on dependent. The antimicrobial activity of RC oil (150 $\mu\text{l}/\text{ml}$) was determined by clear zone method. *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* showed clear zone by each 11.3 \pm 0.4, 12.0 \pm 0.7, 12.0 \pm 0.0, 0.0 \pm 0.0 mm. It is suggested that RC oil have effects on the cytotoxicity, antioxidant and antimicrobial that could be applicable to cosmetics as a new material.

Keywords : Coffee residue oils, cosmetics material, cytotoxicity, antioxidant, antimicrobial

1. 서론

커피의 식물학상 속명은 coffea로 커피 원두 (Green Coffee Beans)는 빨간 열매 중에 있는 종자에서 외피를 벗겨 내면 과육이 있으며 그 속에 내 과피와 은피에 싸여진 2개의 종자가 마주 보고 있고 이 종자를 세척한 후 건조과정을 거쳐 정제한 것을 말한다[1]. 이 종자에서 핵과 외피를 약 2 mm 두께의 젤리 같은 펄프 층이 감싸고 있고 이 속에 씨가 파치먼트(parchment)라고 하는 단단한 껍질에 둘러싸여 있다. 파치먼트 내부에 씨를 감싸고 있는 얇은 은색의 종피가 있는데, 이것을 실버 스킨(silver skin)이라고 한다. 18세기 식물학자 린네(Carl VonLinne)는 커피를 꼭두서니과(Rubiaceae)에 속하는 코페아류의 커피과목으로 분류했다[2]. 오늘날 커피의 분류는 커피의 품종을 기준으로 하는 식물학적인 구분과 국제 커피무역 거래 시 시장에서 사용되는 상업적인 상품에 명명하는 개념으로 구분되고 있다[3]. 식물학적인 분류에 따르면 커피콩의 종은 수백종이었지만 현재 상업적으로 재배하는 주요 품종은 아라비카(arabica, 학명: Coffea arabica L.)와 로부스타(robusta, 학명: Coffeacanephora P.), 리베리카(iberica, 학명Coffea liberica)의 세 종류로 나뉜다. 아라비카는 세계에서 재배되는 커피나무의 75~80%를 차지한다. 주요 품종은 타이피카(Typica), 버번(Bourbon), 카투라(Catura)로 자연변이나 교배에 의해 생긴 다양각색의 품종이 있다[4]. 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[5]. 커피의 성분은 일반적으로 당분(18-26%), 섬유

소(37%), 지방(13%), 단백질(13%)의 함량이 가장 높은 것으로 되어 있다. 또한 수분, 카페인, 산화무기질, 에테르 추출물, 유기산 등이 미량 함유되어 있다고 한다. 커피의 활성물질로 가장 주목을 받고 있는 성분인 카페인의 함량은 품종에 따라 차이가 커서 아라비카종은 0.8-2.5%인 반면에 로부스타종은 4% 전후의 것도 있다[6]. 커피에는 다양한 생리활성물질을 포함하고 있는데 flavonoids, caffeic acid, ferulic acid 등을 주로 포함하고 있으며, nicotinic acid, trigonelline, quinolinic acid, tannic acid, pyrogallol acid 및 caffeine 등이 밝혀져 있다[7]. 커피는 카페인에 의한 각성작용 이외에도 항산화 및 항균 활성과 같은 생리기능이 알려져 있는데 특히 최근에 각광받는 커피의 항산화 활성은 주로 폴리페놀과 커피의 로스팅 과정에서 생성되는 갈변반응 생성물에 의한 것으로 보고된 바 있다. 최근 대중적으로 음용되고 있는 음료에 대한 기능성 연구에 따르면 다양한 음료에서 페놀화합물의 함량을 측정한 결과 레드와인보다 커피의 페놀함량이 높은 것으로 나타났다[8].

커피는 전 세계의 다양한 국가에서 음료로 음용되어지고 있으며 전 세계의 하루 커피소비량은 22억 잔이 넘고, 우리나라의 연간 커피소비량은 2013년을 기준으로 1인당 약 298잔을 기록하고 있다. 또한 관세청이 최근 발표한 커피 시장 자료 발표에 따르면 2007년 231백만 달러보다 210.7% 증가 하였다고한다. 커피는 음용 시 커피콩의 0.2%만 사용하고 대부분인 98.8%의 커피 부산물은 일반폐기물, 음식쓰레기로 매립 또는 소각 되고 있으며 매립된 찌꺼기는 이산화탄소보다 20배 높은 메탄가스배출로 지구온난화를 일으킬 위험이 있다고 보고되어지고 있다. 우리나라에서 버려지고 있는 커피 부산물은 연간 70톤으로 점점 늘어나고 있는 추세이다. 일부 커피숍이나 가

정에서 소규모로 커피 부산물을 방향제나 비누 첨가물, 재떨이 용, 식기 기름때 제거 등으로 활용하고 있지만 버려지는 양에 비해 그 양이 매우 미미한 실정이며, 이에 커피 부산물의 처리 방안 에 대한 연구가 큰 관심을 끌고 있다. 최근 들어 사료 내 항산화원으로서 커피부산물 첨가가 닭의 사양성적 혈액생화학성상 및 항산화 작용에 미치는 영향[9], 커피부산물 추출물의 총 페놀화합물 함량 및 유리라디칼 소거능에 관한 연구[10], 커피 부산물을 활용한 균사체 배양에 관한 연구[11], 커피 부산물인 커피부산물의 분말을 첨가한 머핀의 품질 특성과 항산화 활성에 관한 연구[12], 커피 부산물의 생리활성 효과에 관한 커피부산물 열수 추출물이 간고등어의 저장성을 향상시키는 천연 항산화제로서의 가능성을 제시한 연구[13], 원두커피(Coffee beans)의 화장품약리활성 검증과 특수제형인 MLV(Multilamellar Vesicles) 리포솜에 첨가시 화장품 안정화에 관한 연구[14] 등 다양한 분야에 있어 연구가 진행되고 있는 추세이다. 그러나 식품 또는 사료 분야에 있어서 비교적 활발한 양의 연구가 진행되고 있는 반면에 화장품 소재로서의 연구 실정은 미미한 상태이다. 따라서 본 연구에서는 커피를 추출하고 남은 부산물인 커피부산물을 추출 및 직접 이용하여 다양한 제형의 화장품에 적용하였으며, 특히 열수추출물, 에탄올 추출물 등에 비해 많이 연구되어지지 않은 커피부산물(residual product of coffee, RC)의 오일을 추출하여 실험에 이용하였다. 또한 B16F10 melanoma cells과 RAW264.7 macrophage cells의 세포 생존률 관찰을 통해 커피부산물 추출물(RC oil)이 세포에 미치는 영향을 확인하고 커피부산물 추출물의 항산화 효과를 확인하기 위해 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl assay를 이용하였으며, 일반적으로 항산화 효과가 있다고 널리 알려져 있는 식물성 오일 중 macadamia oil, argan oil을 커피부산물 추출물과 같은 농도 및 조건에서 실험하여 항산화 효과를 비교하였다[15]. 또한 일반적으로 피부 상재균 중 피부에 염증을 유발할 수 있는 세균 알려져 있는 *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*의 5가지 균주로 paper disc법을 사용하여 커피 부산물 추출물의 항균 효과를 검색하였다.

2. 실험

2.1. 실험 재료

2.1.1. 시료, 시약 및 기기

본 실험에 사용된 커피부산물은 스타벅스로부터 2015년 7월에 일괄적으로 제공받았다. 추출에 이용한 용매 n-hexane은 Duksan(Duksan, Korea)에서 구입하여 사용하였으며 세포 배양 배지에 사용된 시약 Dulbecco's Modified Eagle's Medium(DMEM), Phosphate buffered saline (PBS), Fetal bovine serum(FBS), Trypsin-EDTA, Penicillin은 모두 Gibco BRL(Rockville, MD, USA)에서 구입하였으며 세포 독성을 확인하기 위해 사용한 시약 water soluble tetrazolium salt-1(WST-1)는 sigma aldrich (USA)에서 구입하여 사용하였다.

항산화 능력을 알아보기 위해 사용한 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl(DPPH), methanol, dimethyl sulfoxide는 Duksan(Duksan, Korea)에서 구입하여 사용하였다. 항균 실험에 사용된 배지 Tryptic soybean broth(TSB)와 Tryptic soybean agar(TSA), Potato dextrose broth(PDB), Potato dextrose agar(PDA)는 BD Difco(USA)에서 구입하여 사용하였다. 기기는 Microplate reader(Molecular Devices, USA), Rotary vacuum evaporator(Eyela Co., JAPAN), 항온조(S&T Co.,Ltd, Korea) 등을 이용하였다.

2.1.2. 실험 세포

시료의 세포 독성을 평가하기 위해 사용한 B16F10 melanoma cells과 RAW264.7 macrophage cells는 한국세포주은행에서 구매하여 계대배양한 뒤 실험을 진행하였다.

2.1.3. 실험 균주

시료의 항균 효능을 평가하기 위해 *Staphylococcus aureus*(*S. aureus*), *Staphylococcus epidermidis*(*S. epidermidis*), *Escherichia coli*(*E. coli*)와 병원성 진균인 *Candida albicans*(*Candida. A*)를 한국생명공학연구원 생물자원센터(KCTC, Korea)에서 구입 하여 계대배양하며 사용하였다.

2.1.4. 시료 추출

스타벅스로부터 제공받은 커피부산물물을 5일간 건조하여 n-hexane를 용매로 60°C의 온도에서 24시간 동안 교반하며 추출하였고, 추출물을 2회 감압 여과한 후 여과지를 이용하여 다시 여과하였다. 그 후 회전증발농축기로 60°C에서 감압 농축한 뒤 80°C로 온도를 증가시켜 시료에 잔류하고 있는 n-hexane을 증발시킨 후 4°C에 보관하며 실험에 사용하였다[15].

2.2. 실험 방법

2.2.1. 세포 배양

B16F10 melanoma cells과 RAW264.7 macrophage cells을 DMEM 배지에 10% FBS, 1% penicillin-streptomycin(100 U/ml)을 첨가하여 37°C, 5% CO₂ 조건의 incubator에서 100 mm Petri dish에 배양하였고 세포배양 배지는 2 일마다 새로운 배지로 갈아주었다.

2.2.2. 세포 독성 시험

생존율을 측정하기 위한 실험은 WST-1 assay를 이용하였다. B16F10 melanoma cells는 96-well plate에 5×10^3 cells/well, RAW264.7 macrophage cells는 5×10^4 cells/well의 농도로 200 μ l 씩 분주하여 약 24 시간 배양 후 Density가 90~100% 되었을 때 배지를 제거하고 PBS로 1회 세척한 뒤, well에 커피 시료를 각각 2.00, 1.00, 0.50, 0.25 μ l/ml의 농도로 처리하여 24 시간 동안 배양하였다. 세포 배양 후 배양액을 모두 제거한 후 PBS로 1회 세척한 뒤 WST-1 solution을 well 당 20 μ l 씩 첨가하여 37°C incubator에서 1시간동안 배양하였고, Microplate reader를 이용하여 450 nm 에서 흡광도를 측정하였다.

2.2.3. 균주 배양

커피부산물물 추출물의 항균 효능을 평가하기 위해 피부 상재균인 *S. aureus*, *S. epidermidis*, 대장균인 *E. coli* 는 전 배양 시에는 TSB, 본 배양 시에는 TSA를 사용하였으며, 병원균인 *Candida*, *A*는 PDB와 PDA를 사용하였다. 모든 균주는 Incubator에서 37°C로 배양하였다. 단일 균의 집락 1개를 루프에 취하여 액체배지에 접종하여 37°C에서 24시간 동안 배양하고, Microplate reader를 이용하여 595 nm에서 흡광도를 통해

균액의 세포수를 측정하였다. 고체배지를 멸균하여 50°C로 냉각한 다음, 액체배지에 세균은 1×10^6 CFU/ml, 진균은 1×10^5 CFU/ml 이 포함 되도록 균액을 접종하여 현탁하였다.

2.2.4. 미생물 생육저해환(Clear zone) 측정

커피부산물물 추출물의 항균성 검색은 paper disc diffusion 법에 의하여 다음과 같이 하였다. 즉, 평판 배지에 배양된 각 균주를 1 루프 취해서 액체 배지 10 ml에서 18~24시간 배양한 뒤 다시 액체 배지 10 ml에 균액을 1 루프 접종하여 세균 1×10^6 CFU/ml, 진균 1×10^5 CFU/ml 이 포함되도록 현탁시킨 액체배지를 멸균한 면봉으로 고체배지 표면에 균일하게 도말하였다. 고체배지 위에 멸균 된 paper disc(8mm, Advqutec, Tokyo, Japan)를 밀착시킨 후 커피부산물물 추출물을 mineral oil에 희석하여 최종농도 30, 50, 70, 100, 150 μ l/ml가 되도록 설정하여 시험균으로 사용하였으며 대조균으로는 희석 용매인 mineral oil과 정제수를 사용하여 농도별로 40 μ l로 흡수시켰다. 그 후 incubator에서 37°C로 24시간동안 배양하여 disc 주위의 clear zone (mm)을 관찰하였다.

2.2.5. DPPH free radical 소거능 측정

라디칼 소거 활성 실험은 Blois의 방법을 응용하여 실험을 수행하였다[16]. DMSO 용액에 커피부산물물 추출물을 용해하여 DMSO의 최종농도가 전체의 5% 이하가 되도록 설정한 Stock을 제조하여 메탄올을 용매로 각 농도 별로 시료를 제조하였다. 그 후 96-well plate에 시료를 농도별로 50 μ l 씩 분주하고 DPPH를 0.2 mM로 methanol에 용해하여 시료에 100 μ l 씩 처리하였다. 교반 후 25°C에서 30분간 반응시킨 후 Microplate reader를 이용하여 492 nm에서 흡광도를 측정하여 DPPH의 free radical 소거능을 측정하였다. 소거능은 시료 용액 첨가구와 시료용액 무 첨가구의 흡광도 감소율로 나타내었으며 Butylated hydroxy toluene(BHT)와 Ascorbic acid를 대조균으로 사용하였으며, 화장품 원료로 많이 사용되며 항 산화 효과가 있는 식물성 오일로 널리 알려진 macadamia oil과 argan oil 또한 대조균으로 사용하였다.

$$\text{Inhibition(\%)} = (1 - S/C) \times 100$$

S : 검체에 의한 흡광도

C : 대조균에 의한 흡광도

3. 결과 및 고찰

3.1. 세포독성 결과

커피부산물 추출물을 처리하였을 때 B16F10 melanoma cells과 RAW264.7 macrophage cells에서의 생존율을 알아보기 위해 커피부산물 추출물을 DMSO에 용해하여 stock을 제조한 뒤 각각 2.00, 1.00, 0.50, 0.25 $\mu\text{l/ml}$ 농도로 배지에 serial dilution 하여 DMSO의 최종농도가 1%이하가 되도록 처리한 뒤 24시간 동안 배양하여 WST-1 assay로 측정하였다. B16F10 melanoma cells에서 커피부산물 추출물을 처리한 군은 전체적으로 대조군보다 높은 생존율을 보였다. 커피부산물 추출물을 2.00, 1.00, 0.50, 0.25 $\mu\text{l/ml}$ 의 농도로 처리한 군에서 각각 129.81, 200.51, 213.83, 181.16%로 2.00 $\mu\text{l/ml}$ 를 제외한 모든 농도에서 생존율이 증가하는 것을 확인할 수 있었다. RAW 264.7 macrophage cells에서는 커피부산물 추출물을 처리한 군은 0.5, 0.25 $\mu\text{l/ml}$ 의 농도에서 농도 유의적으로 매우 높은 생존율을 보였으며, 1.0, 2.0 $\mu\text{l/ml}$ 의 농도에서는 생존율이 떨어지는 것을 확인할 수 있었다.

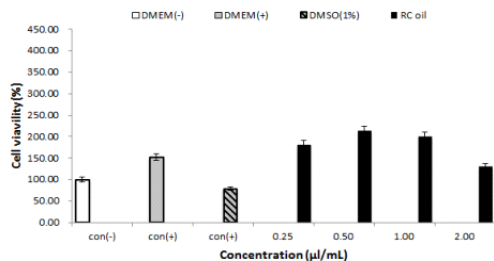


Fig. 1. Cell viability of RC oil from the coffee grounds with n-hexane on B16F10 melanoma cell line.

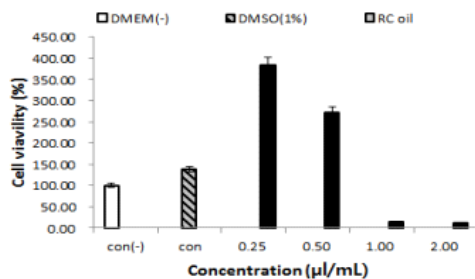


Fig. 2. Cell viability of RC oil from the coffee grounds with n-hexane on RAW 264.7 macrophage cell line.

3.2 항균활성 결과

S. aureus, *S. epidermidis*, *E. coli*, *Candida*. A는 포유류의 피부와 점막에 상재하면서 동물의 광범위한 질병에 원인이 되며 피부염의 원인이 될 수도 있다[17]. 또한 *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli*, *Candida*. A는 화농성질환의 원인균으로서 식중독 및 패혈증 등을 일으키고 이들 세균은 화농성 염증뿐만 아니라 건강한 사람이나 동물들의 비강 및 체표 등에 널리 분포하고 있다[18]. 피부가 염증에 노출될 경우 미생물 침입을 방어하는 방어기작 또한 약해지고 2차적인 피부장벽의 약화를 발생시키고 또 다른 미생물 감염의 원인이 되어 악순환이 반복된다[19]. 본 연구에서는 커피부산물 추출물의 항균 효능을 확인하기 위해 *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli*, *Candida*. A를 이용하였으며, 균의 생육저해환인 clear zone (mm)을 측정하여 Table 1. 과 같이 나타내었다. 커피부산물 추출물을 mineral oil에 희석하여 최종농도 30, 50, 70, 100, 150 $\mu\text{l/ml}$ 가 되도록 희석하여 실험한 결과 *Candida*. A를 제외한 세 가지 균주에서 30 $\mu\text{l/ml}$ 의 농도 이후로 모두 항균력을 보였다. 그 중 *S. aureus*에서 항균력이 가장 높게 나타났으며 *S. epidermidis*와 *E. coli*에서도 유사한 정도의 항균력을 보였다.

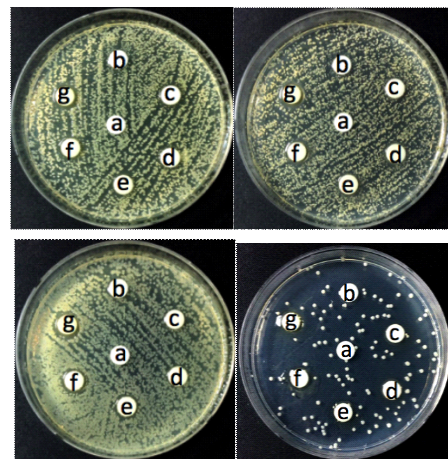


Fig. 3. Antimicrobial activity of RC oil with n-hexane on *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*.

(a : Control(D.I Water), b : Control (mineral oil) c : 30 $\mu\text{l/ml}$, d : 50 $\mu\text{l/ml}$, e : 70 $\mu\text{l/ml}$, f : 100 $\mu\text{l/ml}$, g : 150 $\mu\text{l/ml}$)

Table 1. Antimicrobial activity of RC oil on several microorganisms

	concentration of RC oil ($\mu\text{l}/\text{ml}$)						
	cona	conb	30	50	70	100	150
<i>Candida. A</i>	-c	-	-	-	-	-	-
<i>S.aureus</i>	-	-	11.7(\pm 0.4)	12.0(\pm 0.0)	13(\pm 0.7)	14.3(\pm 0.4)	14.0(\pm 1.3)
<i>S.epidimidis</i>	-	-	10.7(\pm 0.4)	11.7(\pm 0.4)	12.0(\pm 0.0)	12.3(\pm 0.4)	13.7(\pm 0.9)
<i>E.coli</i>	-	-	-	6.0(\pm 4.0)	10.0(\pm 0.7)	11.7(\pm 0.4)	12.7(\pm 0.9)

a : Control(D.I Water), b : Control(mineral oil), c : No inhibition

3.3. 항산화 활성 결과

DPPH assay는 항산화 검색방법 중 하나로서 alcohol 용액 내에서는 DPPH의 질소 원자와 alcohol간에 수소결합이 형성되기 때문에 다른 유리 라디칼보다 비교적 안정하고 특히 페놀이나 방향족의 항산화 활성의 측정에 이용된다. DPPH는 항산화 활성을 갖는 물질과 반응하면 공여체로부터 전자나 hydrogen radical을 생성하게 되는데, 진보라색을 띠고 있는 DPPH의 색이 점점 황색에 가까운 색을 띠며 흡광도가 감소하게 되므로 흡광도의 감소를 측정함으로써 radical 소거 활성을 쉽게 측정할 수 있다. 본 연구에서는 커피부산물 추출물의 항산화효능을 검색하기 위해 Blois의 방법[16]을 일부 변형하여 DPPH radical 소거활성을 농도별로 측정하였다. 먼저 커피부산물 추출물을 DMSO에 용해하여 stock을 제조한 뒤 methanol을 용매로 DMSO의 최종 농도가 5% 이하가 되도록 설정하여 실험하였다. 커피부산물 추출물을 24.00 $\mu\text{l}/\text{ml}$ 에서부터 Serial dilution하여 실험한 결과 3.00, 6.00, 12.00, 24.00 $\mu\text{l}/\text{ml}$ 에서 각각 3.275, 8.946, 16.853, 37.300%로 농도 의존적으로 높아지는 활성을 나타내었다. 또한 BHT와 Ascorbic acid를 대조군으로 한 DPPH radical 소거활성 측정 시 대조군으로 사용된 시료 중 지용성 물질인 BHT와 유사한 활성을 나타내었다. 커피부산물 추출물과 유사한 조건의 오일 시료와 항산화 활성도를 비교하기 위하여 일반적으로 항산화 능력이 있다고 알려져 있으며 화장품 원료로 널리 사용되어지고 있는 macadamia oil과 argan oil을 대조군으로 사용한 결과 3.00, 6.00, 12.00, 24.00 $\mu\text{l}/\text{ml}$ 에서 macadamia oil은 각각 8.706, 9.505, 11.821, 21.885%, argan oil은 1.038, 1.198, 2.875, 8.067%로 같은 농도에서의 커피부산물 추출물의 항산화 활성과 비교하여 낮은 활성을 보였으며,

농도가 높아질수록 활성도 높아지는 농도의존적인 결과를 나타내었다.

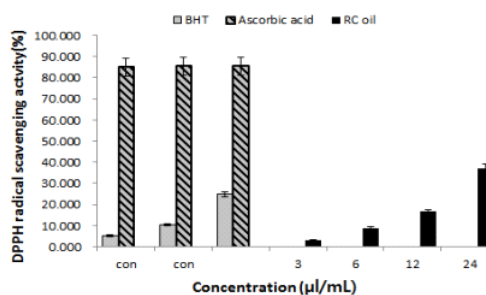


Fig. 4. DPPH radical scavenging activity of chemical reagents and RC oil.

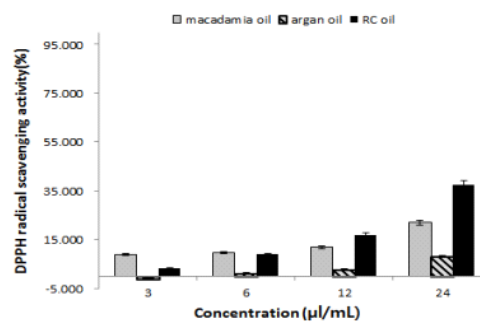


Fig. 5. DPPH radical scavenging activity of vegetable oil and RC oil.

4. 결론

본 연구는 커피부산물을 n-hexane을 용매로 추출하여 실험을 진행하였다. 먼저 세포 독성을 확인하기 위해 B16F10 melanoma cells와 RAW264.7 macrophage cells를 이용하여 실험하

였고 *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli*, *Candida*. A의 4가지 균주를 이용하여 항균력을 검색하였다. 또한 항산화 실험을 위해 DPPH assay를 이용하여 실험을 진행하였다. 그 결과 B16F10 melanoma cells에서 커피부산물 추출물을 처리한 군은 전체적으로 대조군 보다 높은 생존율을 보였으며 RAW264.7 macrophage cells에서는 커피부산물 추출물을 처리한 군은 1.0, 2.0 $\mu\text{l}/\text{ml}$ 의 농도에서는 생존율이 떨어졌지만 0.5, 0.25 $\mu\text{l}/\text{ml}$ 의 농도에서 농도 유의적으로 매우 높은 생존율을 확인할 수 있었다. 항균 활성 검색 결과 *Candida*. A를 제외한 세 가지 균주에서 30 $\mu\text{l}/\text{ml}$ 의 농도 이후로 모두 항균력을 보였으며, 그 중 *S. aureus*에서 항균력이 가장 높게 나타났고 *S. epidermidis*와 *E. coli*에서도 유사한 정도의 항균력을 보였다. DPPH radical 소거활성을 통해 커피부산물 추출물의 항산화 효능을 측정된 결과 Ascorbic acid보다는 떨어지지만 BHT와 유사한 항산화능을 보였으며, 항산화 효능이 있다고 널리 알려진 macadamia oil과 argan oil 보다 전체적으로 높은 DPPH radical 소거활성을 나타내었다. 결론적으로 오일 성상을 띠고 있는 커피부산물 hexan 추출물은 화장품의 새로운 소재로서 사용될 수 있는 가능성이 충분히 있다고 판단된다.

감사의 글

본 연구는 중소기업청 2015년 첫걸음 기술개발사업의 지원으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

References

1. K. G. Kim, S. K. Park, Changes in Major Chemical Constituents of Green Coffee Beans during the Roasting, *Korean Journal Food Science and Nutrition*, **38**(2), (2006)
2. D. W. Yeo G. H. Hyeon, "Coffee", p. 39, Personally printed book (2009).
3. P. L. Norberto, "Aroma de cafe", p. 34, Grafica Editora Modelo Ltda (2003).
4. M. Sievetz. In Search of Coffee Aroma, *Tea and Coffee Trade Journal*, 1-7 (1985).
5. Y. H. Choi, S. E. Kim, H. Jin, Y. H. Han, M. J. Lee, Antibacterial and Antioxidative Activity of Roasted Coffee and Red Ginseng Mixture Extracts, *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, **41**(3), 320-326 (2012).
6. J. U. Mun, "Coffee and tea", p. 96, Hyeonamsa (2004).
7. M. Minamisawa, S. Yoshida, and Takai, Determination of biologically active substances in roasted coffees using a diode-array HPLC system, *Analytical sciences[electronic resource] : the international journal of the Japan Society for Analytical Chemistry*, **20**(2), 325-328 (2004).
8. S. Karakaya, SN. El, AA. Tas, Antioxidant activity of some foods containing phenolic compounds, *International Journal Food Science and Nutrition*, **52**(6), 501-508 (2001).
9. S. Y. Yang, H. J. Kim, Y. S. Yang, B. S. Oh, D. C. Kim, Comparison of Antioxidative Ability Between Coffee Bean and Coffee Residue Extracts, *Korean Academy of Food service Industry and Managemant*, **10**(1), 73-82 (2014).
10. Y. H. Ko, S. Y. Kang, I. S. Jan, Effects of Dietary Supplementation of Coffee Meal on Growth Performance, Blood Biochemical Profiles and Antioxidant Defense System in Broiler Chickens, *Korean Journal Of Poultry Science*, **39**(3), 223-232 (2012).
11. B. G. Kim, N. Y. Park, S. H. Lee, Quality Characteristics and Antioxidative Activity of Muffins Added with Coffee Ground Residue Water Extract and Powder, *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, **45**(1), 76-83 (2016).
12. E. J. Song, J. Y. Kim, S. Y. Lee, K. B. W. R. Kim, S. J. Kim, S. Y. Yoon, S. J. Lee, C. J. Lee, D. H. Ahn, Effect of Roasted Ground Coffee Residue Extract on Shelf-life and Quality of Salted Mackerel,

- Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, **38**(6), 780-786 (2009).
13. G. S. Bak, The Study of Cosmeceutical Activities from Coffee Beans and Application of MLV Liposomes on Advanced formulation, DAEGU HAANY UNIVERSITY (2010).
 14. J. C. Yang, The Evaluation on the Effectiveness as a Cosmetic Material of Oil Extracted from Schizandra Chinensis Seed, *Journal of The Korean Oil Chemists' Society*, **29**(2), 231-237 (2012).
 15. M. S. Blois, Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* **181**, 1199-1200 (1958).
 16. J. P. Euzeby, List of bacterial names with standing in nomenclature : folder available on the internet, *International Journal of Systematic Bacteriology*, **47**(2), 590-592 (1997).
 17. W. E. Kloos, Systematics and the natural history of staphylococci, *Society for Applied Bacteriology symposium series Ind*, 25-37 (1990).
 18. G. M. Halliday, Inflammation, gene mutation and photoimmunosuppression in response to UVR induced oxidative damage contributes to photocarcinogenesis, *Mutation Research*, **571**(1-2), 107-120 (2005).