

감마선 조사가 커피박 추출물의 색도 및 생리활성에 미치는 영향

송하연^{1,2} · 김혜민¹ · 김우식¹ · 양미소³ · 변의홍² · 장범수¹ · 최대성¹ · 변의백^{1,*}

¹한국원자력연구원 생명공학연구부, ²공주대학교 식품공학과, ³충남대학교 의과대학

Effect of gamma irradiation on the color values and physiological properties of spent coffee ground extraction

Ha-Yeon Song^{1,2}, Hye-Min Kim¹, Woo Sik Kim¹, Mi-So Yang³, Eui-Hong Byun²,
Beom-Su Jang¹, Dae Seong Choi¹, and Eui-Baek Byun^{1,*}

¹Advanced Radiation Technology Institute, Korea Atomic Energy Research Institute

²Department of Food Science and Technology, Kongju National University

³Department of Microbiology, Cancer Research Institute, School of Medicine, Chungnam National University

Abstract The spent coffee grounds (SCG) are considered valuable by-products because they contain various bioactive compounds. The SCG extraction (SCGE) was irradiated at doses ranging between 30 and 50 kGy. The deep dark-brown color of SCGE was changed to a bright yellow color by gamma irradiation. The content of the bioactive compounds of gamma-irradiated SCGE was analyzed by high-performance liquid chromatography. Interestingly, the content of quinic acid was increased by gamma irradiation, whereas other compounds were decreased. Although the contents of bioactive compounds were changed by gamma irradiation, the biological activities (radical scavenging activity and whitening effects) of SCGE were unaffected. Our findings suggest that gamma irradiation can effectively improve the color values of SCGE without the loss of biological activities. Consequently, gamma irradiation can be a useful tool for improving the utilization of SCGE in the cosmetic industry.

Keywords: gamma irradiation, spent coffee grounds, color values, physiological properties, high-performance liquid chromatography

서 론

커피는 세계에서 가장 널리 음용되는 음료로, 전 세계적으로 다양한 커피원두가 재배되고 있으며, 커피원두는 무역 농산품으로도 중요한 위치를 차지하고 있다(1). 하지만, 커피를 추출하고 남은 폐기물인 커피박(spent coffee ground, SCG)이 세계적으로 연간 6백만톤 이상으로 다량 발생한다고 보고되어 커피박의 폐기가 경제적인 비용 측면에서 문제가 되고 있다(2,3). 커피박에는 다당류, 페놀화합물, 단백질 등의 다양한 유기화합물이 함유되어 있다고 보고되어 커피박을 직접 폐기하는 것은 환경적인 측면에서도 문제가 되고 있다(4). 따라서 최근 커피박을 재활용하기 위해 연구가 다양한 산업분야에서 활발하게 진행되고 있다(5,6). 미생물을 이용하여 발효시킨 커피박 추출물은 항염증효과가 뛰어나다고 보고되었으며(7), 커피박 추출물의 에탄올 추출물은 산화방지효과 우수하며(8), 커피박의 초임계 추출물은 미백활성 효과

를 나타낸다고 보고되었다(9). 특히, 커피박에 잔존하는 페놀 화합물이 커피원두와 비교했을 때 상당량 함유되어 있다고 보고되면서(10), 커피박은 기능성 소재로써 높은 부가가치를 지니며, 이를 활용하면 커피박 폐기로 인한 여러가지 문제점을 개선하는 데 기여할 수 있을 것으로 판단된다. 하지만, 어두운 갈색을 띠는 커피박 추출물의 특성 때문에, 밝은 색을 선호하는 화장품 산업 등의 산업현장에서 커피박 추출물이 실질적으로 이용되기에 여러 제한이 따르며(11), 커피박의 산업적 활용도를 증가시키기 위해서는 여러 가지 가공기술들이 접목되어야 할 것으로 판단된다.

방사선 조사는 식품의 영양 및 관능적인 품질저하 없이 병원성, 부패성 미생물을 없애는 가장 효율적인 기술로 알려져 있으며, 안전성, 보존성 향상의 효과가 있어 식품을 비롯한 제약 및 화장품 같은 공중보건산물 생산과정에 널리 활용되고 있다(12). 또한 방사선 조사기술은 식품 소재에 잔류하지 않으면서 가공적성을 개선시키고(13), 소재의 생리활성 증진에 기여한다는 연구결과도 보고되었다(14,15). 특히 최근에는 방사선 조사기술을 천연 추출물에 적용하여 색도를 밝고 투명하게 개선하였으며, 본래의 생리활성에는 거의 영향을 미치지 않았다는 연구결과가 보고되면서(16-18), 화장품 산업 등에서 방사선 조사기술의 이용범위가 더욱더 널리 확대될 것으로 판단된다.

따라서 본 연구에서는 커피박 추출물에 방사선 조사기술을 적용하여 색도변화 및 생리활성 변화를 평가하였으며, 새로운 기능성 화장품 소재로의 이용가능성을 검토하였다.

*Corresponding author: Eui-Baek Byun, Advanced Radiation Technology Institute, Korea Atomic Energy Research Institute, Jeongeup, Jeonbuk 56212, Korea
Tel: +82-63-570-3245
Fax: +82-63-570-3771
E-mail: ebyun80@kaer.re.kr
Received May 29, 2017; revised July 11, 2017;
accepted July 11, 2017

재료 및 방법

커피박 추출 및 방사선 조사

본 실험에 사용된 커피박은 전라북도 정읍시에 위치한 커피전 문점에서 제공받아 사용하였다. 커피박을 완전히 건조한 후 50 g 을 1 L의 헥산에 24시간 침지시켜 탈지하였다. 탈지한 커피박을 건조하여 20 g을 정량한 후 400 mL의 70% 에탄올로 24시간 실온에서 교반하여 추출하였고, 이를 2회 반복한 후 거름종이(Filter paper No. 2, Whatman, Kent, UK)를 사용하여 감압 여과하였다. 여과된 추출물을 감마선 조사하였다. 감마선 조사는 한국원자력 연구소 내 선원 10만 Ci의 Cobalt-60 감마선 조사 시설(point source AECL, IR-79, MDS Nordion International Co. Ltd., Ottawa, ON, Canada)을 이용하여 실온에서 시간당 10 kGy의 선량률로 각각 0, 5, 10, 20, 30, 50 kGy의 총 흡수선량을 얻도록 하였다. 흡수선량 확인은 알라닌 방사선량계(alanine dosimeter, Bruker Instruments, Rheinstetten, Germany)를 사용하였다. 각 추출물은 감압농축한 후에 동결건조하여 보관하였다.

색도 측정

감마선 조사에 따른 커피박 추출물의 색도 변화를 조사하기 위하여 10 mg/mL의 감마선 조사된 커피박 추출물 5 mL을 quartz cell (CM A-98, 10 mm)에 옮기고 색차계(color difference meter CM-3500-d, Minolta Co., Ltd., Osaka, Japan)을 이용하여 Illuminant D65 10광원을 사용하였다. 시료 측정 전 기계를 표준흑판과 표준백판으로 표준화한 후 사용하였으며, Hunter color L* (명도, lightness), a* (적색도, redness), b* (황색도, yellowness)을 측정하였다. 측정된 값은 Spectra Magic Software (Minolta Cyber Chrom Inc., Osaka, Japan)를 이용하여 기록하였다.

DPPH 라디칼(radical) 소거능 측정

감마선 조사에 따른 커피박 추출물의 생리활성 변화를 측정하기 위하여 α, α -diphenyl-picrylhydrazyl (DPPH, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) 라디칼(radical) 소거능은 Blois(19)의 방법을 일부 수정하여 분석하였다. 메탄올에 용해된 0.2 mM의 DPPH 용액 100 μ L에 0, 5, 10, 20, 30, 50 kGy의 커피박 추출물을 첨가한 후 암실에서 30분간 반응시킨 후 분광광도계 SpectraMax M3 multidetect microplate reader (Molecular device, Orleans drive sunnyvale, CA, USA)를 이용하여 측정하였다.

$$\text{Scavenging activity (\%)} = \left[1 - \frac{(A_{\text{sample}} - A_{\text{blank1}})}{(A_{\text{blind}} - A_{\text{blank2}})} \right] \times 100$$

여기서 A_{sample} 은 Sample과 DPPH 반응 용액의 흡광도를 의미하며, A_{blank1} 은 Sample의 단독 흡광도를 나타내고, A_{blind} 은 DPPH 용액의 단독흡광도를 나타내며, A_{blank2} 은 공시료를 나타낸다.

ABTS 라디칼 소거능 측정

감마선 조사된 커피박 추출물의 2,2'-Azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS, Sigma-Aldrich) radical 소거능은 Re 등(20)의 방법을 이용해서 측정하였다. 7.4 mM의 ABTS와 2.6 mM의 과황산포타슘(potassium persulfate, Sigma-Aldrich)을 반응시켜 24시간 동안 암소 방치하여 ABTS 라디칼을 형성시킨 후, 760 nm에서 이 용액의 흡광도가 0.7이 되도록 증류수로 희석하였다. 희석된 ABTS 용액을 1 mL에 시료 50 μ L를 처리한 후, SpectraMax M3 multidetect microplate reader를 이용하여 측정하였다.

$$\text{Scavenging activity (\%)} = \left[1 - \frac{A_{\text{sample}}}{A_{\text{blind}}} \right] \times 100$$

여기서 A_{sample} 은 Sample과 ABTS 반응 용액의 흡광도를 의미하며, A_{blind} 은 ABTS 용액의 단독흡광도를 나타낸다.

타이로시네이스 억제 분석(tyrosinase inhibition assay)

감마선 조사된 커피박 추출물의 타이로시네이스 억제활성은 타이로시네이스와 그 기질인 L-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA)가 반응하여 생성되는 도파크롬(dopachrome)을 비색법으로 정량하는 방법으로 측정하였다(21). Mushroom tyrosinase (100 unit/mL, Sigma-Aldrich) 0.2 mL과 기질 L-DOPA (Sigma-Aldrich) 0.4 mL, 0.1 M 인산포타슘 완충용액(potassium phosphate buffer, pH 6.8) 0.2 mL의 혼합액에 조사선량별 커피박 추출물을 0.2 mL 첨가하여 37°C에서 30분간 반응시킨 후, 흡광도 475 nm에서 측정하였다. 타이로시네이스 억제능은 다음의 환산식에 의하여 계산되었다.

$$\text{타이로시네이스 억제능(\%)} = \left(1 - \frac{A - B}{C - D} \right) \times 100$$

A: 시료와 효소 흡광도, B: 시료와 완충액 흡광도

C: 공시료와 효소 흡광도, D: 공시료와 완충액 흡광도

B16F10 흑색종(melanoma) 세포배양

B16F10 흑색종 세포는 10% 소태아혈청(fetal bovine serum)과 100 IU/mL의 페니실린(penicillin) 및 100 μ g/mL의 streptomycin이 함유된 Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) 용액을 이용하여 37°C, 5% CO₂ 조건의 배양기에서 배양하였다.

B16F10 흑색종 세포독성 평가

감마선 조사된 커피박 추출물이 마우스 유래의 B16F10 흑색종 세포 독성에 미치는 영향을 알아보았다. B16F10 흑색종 세포는 American Type Culture Collection (ATCC, Manassas, VA, USA)에서 구입하여 사용하였다. B16F10 흑색종 세포를 1 \times 10⁴ cells/well씩 96 well plate (SPL, Pocheon, Korea)에 180 μ L씩 분주하고 0 kGy 및 감마선 조사된 커피박 추출물(30, 50 kGy)을 농도별로(7.81, 15.6, 31.25 μ L) 처리하여 37°C, 5% CO₂ 조건의 배양기에서 72시간 배양한 후, 0.5 mg/mL 농도의 3-(4,5-dimethylthiazol-2yl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide (MTT, Sigma-Aldrich) 시약으로 세포를 염색시켰다. 그 후 생성된 포마잔 결정(formazan crystal)을 다이메틸 설펡사이드(dimethyl sulfoxide, SAMCHUN, Pyeongtaek, Korea)에 녹여 흡광도 540 nm에서 측정하였다.

멜라닌 생성 억제능 평가

B16F10 흑색종 세포를 6 well plate (SPL)에 5 \times 10⁴ cells/mL로 분주하고, 4시간 후에 0 kGy 및 감마선 조사된 커피박 추출물(30, 50 kGy)을 처리하고, 1시간 후에 50 μ M의 3-isobutyl-1-methylxanthine (IBMX)를 처리하여 멜라닌 생성을 촉진시켰다. 72시간 배양 후 세포를 수확하여 인산완충염수(phosphate buffer saline, pH 6.8)로 세척하여 원심분리한 후, 10% DMSO를 포함한 1N NaOH를 200 μ L씩 가한 후 80°C에서 1시간 반응하여 완전히 녹여 흡광도 405 nm에서 측정하였다.

감마선 조사된 커피박 추출물의 성분 변화 분석

감마선 조사된 커피박 추출물의 성분분석은 Agilent High per-

formance liquid chromatography (HPLC) 1260 system (Agilent Technologies, Inc., Santa Clara, CA, USA)를 이용하여 분석하였다. 감마선 조사된 커피박 추출물을 0.2 μm 실린지 필터(Advantec, Dublin, CA, USA)로 여과한 후 HPLC 분석에 사용하였다. 컬럼은 Kinetex C18 4.6 \times 250 mm (Phenomenex, Torrance, CA, USA)를 이용하였고 컬럼온도는 25 $^{\circ}\text{C}$ 를 유지하였다. 이동상으로 사용한 용매는 25 mM 인산포타슘 완충용액, pH 2.4 (A)와 acetonitrile (B)를 사용하였다. 용매는 gradient elution system으로 3분(0%-B), 10분(20%-B), 15분(30%-B), 20분(40%-B), 25분(90%-B), 30분(90%-B), 31-40분(0%-B)로 조절하였다. 유속은 0.7 mL/min, 시료 주입량은 10 μL , 검출기는 diode array detector (DAD)를 사용하여 퀴닌산(quinic acid)은 210 nm caffeine과 rutin은 265 nm, 그리고 카페산(caffeic acid) 및 클로로겐산(chlorogenic acid)은 320 nm에서 측정하였다.

통계처리

이상의 실험에서 얻어진 결과는 GraphPad Prism version 5 (GraphPad Prism Software, San Diego, CA, USA)를 이용하여 일원 분산분석(one way ANOVA test)으로 분석하였으며, 시료간의 유의성은 Dunnett's 다중비교(multiple comparison test)로 * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$ 수준에서 비교하였다.

결과 및 고찰

감마선 조사된 커피박 추출물의 색도개선 효과

커피박 추출물에 감마선 조사 후 색도 변화를 측정된 결과는 Fig. 1과 Table 1에 나타내었다. Table 1의 명도를 나타내는 L*값

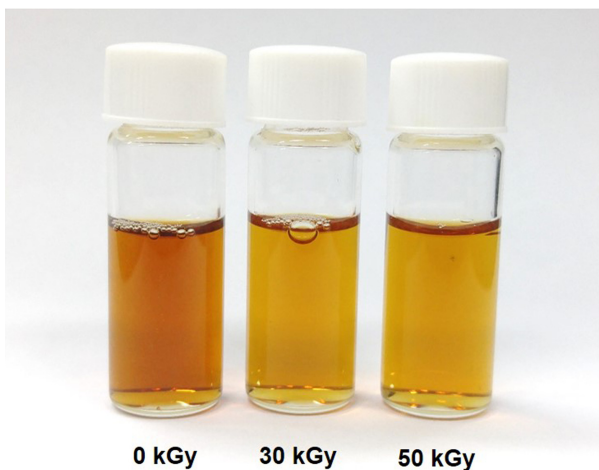


Fig. 1. Decolorizing effects of gamma irradiation on spent coffee ground extraction (SCGE). SCGE was irradiated at doses ranging from 30 to 50 kGy.

Table 1. Hunter color values of gamma-irradiated SCGE¹

Irradiation dose (kGy)	L* (lightness)	a* (redness)	b* (yellowness)	ΔE
0	85.19 \pm 0.064 ^b	2.19 \pm 0.005 ^a	36.92 \pm 0.005 ^a	0.00 \pm 0.000 ^c
30	91.08 \pm 0.020 ^a	-0.63 \pm 0.005 ^b	20.92 \pm 0.020 ^b	17.27 \pm 0.006 ^b
50	91.19 \pm 0.049 ^a	-0.57 \pm 0.011 ^b	19.84 \pm 0.011 ^b	18.31 \pm 0.011 ^a

¹Values represent means of triplicates \pm standard deviation. Value with different letters (a-c) within the same column differ significantly ($p < 0.05$). ΔE was calculated by equation; $\Delta E = \sqrt{\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2}$

의 경우 감마선 조사선량이 증가함에 따라 증가하였고, 적색도(a*)값과 황색도(b*)값은 감마선 조사선량이 증가함에 따라 유의적으로 감소하였다. 또한, ΔE 값을 계산하여 색차를 확인한 결과 0 kGy에 비해 30 kGy와 50 kGy로 조사한 커피박 추출물의 ΔE 값이 유의적으로 증가하였고, 색차를 확인할 수 있었다. Lee 등에 의하면 centipede grass 추출물에 감마선 조사를 적용하여 주요 색소 성분을 제거해 색도를 개선하였다고 보고되었다(16). 따라서, 커피박 추출물의 색도가 감마선 조사를 통해 개선된 결과, 감마선 조사에 의해 커피의 갈색 색소 형성에 영향을 미치는 탄닌(tannin) 계열의 성분들이 파괴되었을 것으로 판단되며, 감마선 조사에 의해 탄닌 뿐만 아니라 다른 성분들의 함량에도 변화가 있는지 알아보기 위하여 HPLC 분석을 실시하였다.

감마선 조사된 커피박 추출물의 성분분석

감마선 조사된 커피박 추출물을 HPLC로 분석한 결과, 클로로겐산과 카페산은 감마선 조사선량이 증가함에 따라 감소하였으며, 카페인(caffeine)과 루틴(rutin)은 30 kGy와 50 kGy의 조사선량에서 완전히 분해된 것을 확인하였다. 반면, 퀴닌산은 30 kGy와 50 kGy의 조사선량에서 증가한 것을 확인하였다(Table 2). 클로로겐산은 커피의 대표적인 탄닌 성분으로, 이러한 탄닌 성분은 커피의 생두를 볶는 과정에서 커피를 갈변시키는 주요 원인이 된다(22,23). 따라서, 감마선 조사선량이 증가함에 따라 클로로겐산 함량의 감소가 커피박 추출물의 색도개선 효과와 연관이 있다고 판단된다. 또한, 커피 중의 카페인 섭취가 심혈관 질환, 피부암 유발 등의 부작용을 일으킬 수 있다는 연구결과가 보고되면서(24,25), 커피나 녹차 등의 음료에서 카페인을 제거한 상품이 많이 판매되고 있다(26). 이러한 감마선 조사를 통한 카페인 성분 제거효과도 색도개선 효과와 더불어 커피박 추출물의 가공적성을 개선시키는 측면에서 긍정적인 결과라고 판단된다. 감마선 조사에 의해 증가한 성분인 퀴닌산의 경우 미백, 항염증 효과가 뛰어난 물질로 알려져 있으며(27,28), 감마선 조사 후 분해된 루틴과 카페산도 항산화능이 뛰어난 페놀화합물로 알려져 있다(29,30). 따라서, 감마선 조사로 인한 커피박 추출물 속 성분변화가 커피박 추출물의 생리활성변화에 영향을 미치는지 평가하였다.

감마선 조사된 커피박 라디칼 소거능 및 타이로시네이스 억제 활성

DPPH 라디칼 소거활성과 ABTS 라디칼 소거활성은 식품소재의 항산화 능력을 측정함에 있어 가장 널리 사용되는 방법이다(31). 감마선 조사로 인한 커피박 추출물의 성분변화가 항산화능에 영향을 미치는지 살펴본 결과, 30, 50 kGy로 조사된 커피박 추출물에서 0 kGy 커피박 추출물과 비교했을 때 DPPH 라디칼 소거능의 변화가 없었으며(Fig. 2A), 이와 비슷하게 ABTS 라디칼 소거능 또한 감마선 조사 후 변화가 나타나지 않았다(Fig. 2B). 타이로시네이스는 멜라닌 생합성에서 가장 중요한 역할을 하는 효소로 생체 내에서 타이로신을 L-DOPA로 산화시킨 후 이를 다

Table 2. Polyphenols and caffeine contents of gamma-irradiated SCGE¹

Sample	Contents (µg/mL)				
Irradiation dose (kGy)	Chlorogenic acid	Caffeine	Quinic acid	Rutin	Caffeic acid
0	161.37±0.020 ^a	358.86±0.039 ^a	281.66±0.953 ^b	7.351±0.719 ^a	0.829±0.002 ^a
30	70.57±0.000 ^b	-	323.24±0.000 ^a	-	0.165±0.000 ^b
50	31.06±0.007 ^c	-	323.97±0.703 ^a	-	0.050±0.008 ^c

¹Values represent means of triplicates±standard deviation. Value with different letters (a-c) within the same column differ significantly (*p*<0.05).

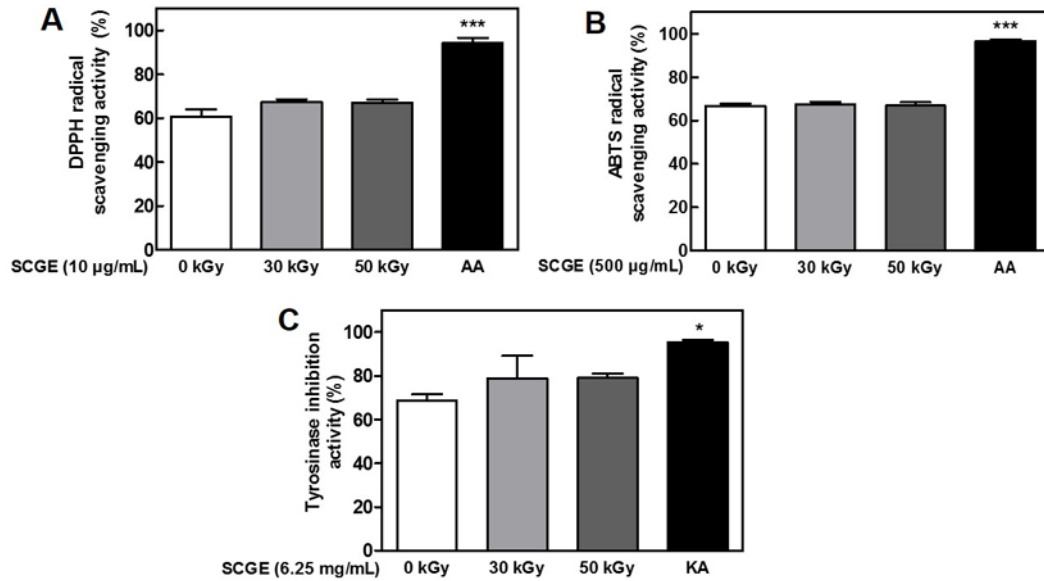


Fig. 2. Anti-oxidant and whitening effect of gamma-irradiated SCGE. DPPH (A) and ABTS (B) radical scavenging activities of gamma-irradiated SCGE, and tyrosinase inhibition activity (C) of gamma-irradiated SCGE. AA is an ascorbic acid (10 µg/mL). KA is a kojic acid (40 µg/mL). Statistical analysis was performed by Dunnett's multiple comparison test within **p*<0.05 and ****p*<0.001 compared to 0 kGy SCGE-treated group. All data represent the mean±SEM (*n*=3).

시 DOPA 퀴논(quinone)으로 산화시켜 멜라닌을 합성시킨다(32). 타이로시네이스의 활성은 라디칼 소거능과 같은 항산화 능력과 밀접하게 연관이 있으며(33), 본 연구에서는 감마선 조사로 인한 커피박 추출물의 라디칼 소거능변화가 타이로시네이스 억제능 활성에 영향을 미치는지 조사하였다. 30, 50 kGy로 감마선 조사된 커피박 추출물의 타이로시네이스 억제활성을 측정한 결과 0 kGy 커피박 추출물과 비교했을 때 유의적인 차이가 없었다(Fig. 2C). 감마선 조사 후 항산화능 및 타이로시네이스 억제활성이 비조사군과 비슷한 수준으로 유지될 수 있었던 이유는 클로로겐산, 루틴 및 카페산의 함량이 감소되었음에도 불구하고, 퀴산의 함량이 상당량 증가하였기 때문인 것으로 판단된다.

감마선 조사된 커피박 추출물의 세포 생존률 및 멜라닌 합성 억제능

감마선 조사된 커피박 추출물의 항산화 활성 및 미백활성이 B16F10 흑색종 세포 내에서도 효과가 있는지 확인하기 이전에, B16F10 흑색종 세포 생존률에 미치는 영향에 관하여 평가하였다. MTT 시약을 이용한 세포 생존률 측정은 세포의 대사 과정에서 미토콘드리아의 탈수소 효소와 MTT tetrazolium이 반응해 MTT formazan을 형성하고, 이를 DMSO를 이용해 보라색으로 재수화시키는 원리를 이용한다(34). 본 연구에서 B16F10 흑색종 세포에 0 kGy 및 감마선 조사된 커피박 추출물(30, 50 kGy)을 농도별로

(7.8, 15.6, 31.3 µg/mL)로 처리하였을 때 나타나는 세포 생존률의 변화에 관하여 알아본 결과, 31.3 µg/mL의 농도에서 모든 조사선량의 커피박 추출물에서 세포독성을 나타내었다. 따라서, B16F10 흑색종 세포에서 감마선 조사된 커피박 추출물의 농도를 15.6 µg/mL 이하로 처리하여 실험하였다. 3-isobutyl-1-methylxanthine (IBMX)은 세포 내에서 cyclic AMP (cAMP)를 자극하여 멜라닌 합성을 촉진하는 물질로 알려져 있다(35). IBMX에 의해 활성화된 cAMP가 타이로시네이스를 활성화시키고, microphthalmia-associated transcription factor (MITF) 단백질의 발현을 증가시켜 타이로시네이스 유전자의 전사를 촉진하는 것으로 알려져 있다(36). 본 연구에서는 B16F10 흑색종 세포에 IBMX를 처리하여 멜라닌합성을 촉진시킨 후, 0 kGy 및 감마선 조사된(30, 50 kGy) 커피박 추출물을 처리하여 멜라닌 생성과정에 미치는 영향을 관찰하였다. 아무 처리 하지 않은 대조군에 비해 IBMX 처리군에서 멜라닌 형성이 유의적으로(*p*<0.01) 증가된 것을 보아 멜라노제네시스 가 유도된 것을 확인하였고, 양성대조군으로 사용한 퀴산 처리 그룹에서 멜라닌 함량이 유의적으로(*p*<0.01) 감소한 것을 관찰하였다. 또한 모든 조사선량에서 독성을 나타내지 않았던 7.8, 15.6 µg/mL의 감마선 조사된 커피박 추출물을 처리한 결과, 15.6 µg/mL의 농도의 0 kGy 및 감마선 조사한(30, 50 kGy) 커피박 추출물의 처리가 유의적으로 멜라닌 함량을 감소시킨 것을 확인하였다(*p*<0.05). 따라서 감마선 조사에 의해 커피박 추출물의 성분변화

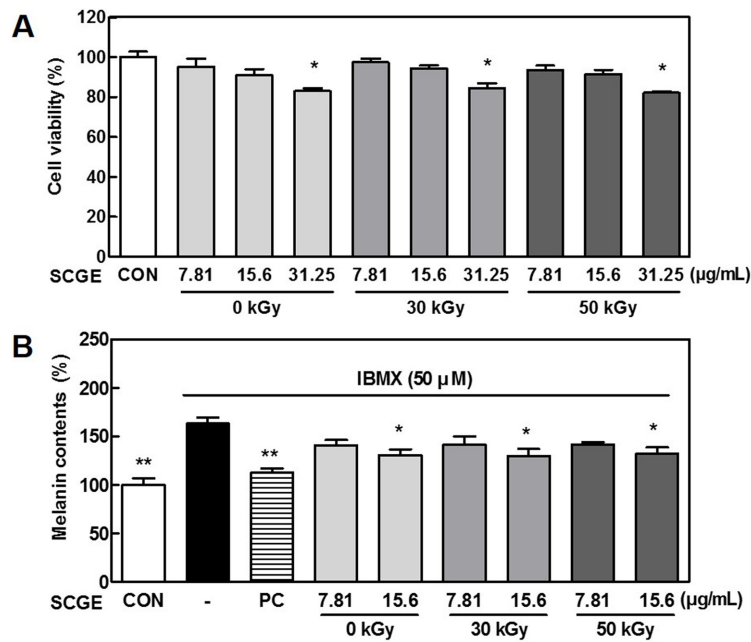


Fig. 3. Effect of gamma-irradiated SCGE on cell viability and melanin synthesis in B16F10 melanoma cells. The cell viability was measured by MTT assay (A). The data represent the mean±SEM ($n=3$). Statistical analysis was performed by Dunnett's multiple comparison test within $*p<0.05$ compared to control group. All the irradiated SCGE inhibited melanin synthesis in IBMX-stimulated B16F10 cells (B). PC is a quinic acid (10 µg/mL). The data represent the mean±SEM ($n=3$). Statistical analysis was performed by Dunnett's multiple comparison test within $*p<0.05$ and $**p<0.01$ compared to only IBMX-treated group.

가 일어났음에도 불구하고 미백활성에는 영향이 없는 것으로 판단되며, 이는 감마선 조사가 불필요한 색소성분을 제거하면서 시료의 생리활성변화에는 비교적 영향을 미치지 않았다는 이전의 연구와 일치하는 경향을 나타낸다(16).

요 약

본 연구는 폐자원인 커피박의 산업적 이용도를 증진시키기 위하여 감마선 조사를 이용하여 커피박 추출물의 색도 개선에 관하여 평가하기 위해 수행되었다. 커피박 추출물로부터 유용성 성분을 얻기 위하여 70% 에탄올로 추출한 후 감마선 조사를 한 결과 30, 50 kGy의 조사선량에서 커피박 추출물의 색도가 개선된 것을 확인하였다. 30, 50 kGy로 감마선 조사된 커피박 추출물에서 성분변화가 일어났지만, 항산화능력과 미백활성능에는 0 kGy 커피박 추출물 처리군과 비교했을 때 유의적인 변화가 없는 것을 확인하였다. 이는 다른 성분들이 감마선 조사에 의해 감소하였지만, 퀴산이 상당량 증가함으로써 성분변화로 인한 커피박 추출물의 생리활성능 감소를 보완한 것으로 보이며, 이상의 결과로 감마선 조사가 커피박 추출물의 진한 갈색도를 개선함으로써 커피박 추출물이 화장품 소재로 활용될 수 있는 부가가치를 부여할 수 있으며, 이러한 폐기물의 재활용을 통해 커피박 폐기로 인한 환경문제 및 경제적 문제점을 개선하는데 기여할 수 있을 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 미래창조과학부의 재원으로 한국연구재단 원자력선진기술연구센터(2012M2B2B1055245)의 지원을 받아 수행되었습니다.

References

- Mussatto SI, Machado EM, Martins S, Teixeira JA. Production, composition, and application of coffee and its industrial residues. *Food Bioprocess Tech.* 4: 661 (2011)
- Cruz R, Cardoso MM, Fernandes L, Oliveira M, Mendes E, Baptista P, Casal S. Espresso coffee residues: A valuable source of unextracted compounds. *J. Agr. Food Chem.* 60: 7777-7784 (2012)
- Lee MK, Shin DI, Park HS. Acceleration of the mycelial growth of *trametes veriscolor* by spent coffee ground. *Kor. J. Mycol.* 40: 292-295 (2012)
- Panusa A, Zuurro A, Lavecchia R, Marrosu G, Petrucci R. Recovery of natural antioxidants from spent coffee grounds. *J. Agr. Food Chem.* 61: 4162-4168 (2013)
- Al-Hamamre Z, Foerster S, Hartmann F, Krger M, Kaltschmitt M. Oil extracted from spent coffee grounds as a renewable source for fatty acid methyl ester manufacturing. *Fuel.* 96: 70-76 (2012)
- Pushpa SM, Manonmani HK. Bioconversion of coffee industry wastes with white rot fungus *Pleurotus florida*. *Res. J. Environ. Sci.* 2: 145-150 (2008)
- López-Barrera DM, Vázquez-Sánchez K, Loarca-Piña MGF, Campos-Vega R. Spent coffee grounds, an innovative source of colonic fermentable compounds, inhibit inflammatory mediators *in vitro*. *Food Chem.* 212: 282-290 (2016)
- Bravo J, Juaniz I, Monente C, Caemmerer B, Kroh LW, Pea MP, Cid C. Evaluation of spent coffee obtained from the most common coffeemakers as a source of hydrophilic bioactive compounds. *J. Agr. Food Chem.* 60: 12565-12573 (2012)
- Huang HC, Wei CM, Siao JH, Tsai TC, Ko WP, Chang KJ, Chang TM. Supercritical fluid extract of spent coffee grounds attenuates melanogenesis through downregulation of the PKA, PI3K/Akt, and MAPK signaling pathways. *Evid.-Based Compl. Alt.* 2016: 5860296 (2016)
- Yang SI, Kim HJ, Yang YS, Oh BS, Kim DC. Comparison of antioxidative ability between coffee bean and coffee residue

- extract. *Foodserv. Manag. Soc.* 10: 73-82 (2014)
11. Jo C, Son JH, Shin MG, Byun MW. Irradiation effects on color and functional properties of persimmon (*Diospyros kaki* L. folium) leaf extract and licorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fischer) root extract during storage. *Radiat. Phys. Chem.* 67: 143-148 (2003)
 12. Byun MW. Application of irradiation techniques to food industry. *Radioisot. News* 9: 32-37 (1994)
 13. Lee SL, Lee MS, Song KB. Effect of gamma-irradiation on the physicochemical properties of gluten films. *Food Chem.* 92: 621-625 (2005)
 14. Kim JK, Srinivasan P, Kim JH, Choi JI, Park HJ, Byun MW, Lee JW. Structural and antioxidant properties of gamma irradiated hyaluronic acid. *Food Chem.* 109: 763-770 (2008)
 15. Byun EB, Sung NY, Yang MS, Lee BS, Song DS, Park JN, Yu YB. Anti-inflammatory effect of gamma-irradiated genistein through inhibition of NF- κ B and MAPK signaling pathway in lipopolysaccharide-induced macrophages. *Food Chem. Toxicol.* 74: 255-264 (2014)
 16. Lee EM, Lee SS, Bai HW, Cho JY, Kim TH, Chung BY. Effect of gamma irradiation on the pigments and the biological activities of methanolic extracts from leaves of centipedegrass (*Eremochloa ophiuroides* Munro). *Radiat. Phys. Chem.* 91: 108-113 (2013)
 17. Jeong IY, Lee HJ, Park YD, Jin CH, Choi DS, Byun MW. Effects of gamma irradiation on total polyphenols, radical scavenging activities and decolorization of *Nelumbo nucifera* extracts. *Radiat. Phys. Chem.* 78: 575-577 (2009)
 18. Lee EM, Bai HW, Lee SS, Hong SH, Cho JY, Chung BY. Gamma irradiation improves the antioxidant activity of *Aloe vera* (*Aloe barbadensis* miller) extracts. *Radiat. Phys. Chem.* 81: 1029-1032 (2012)
 19. Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200 (1958)
 20. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free. Radic. Biol. Med.* 26: 1231-1237 (1999).
 21. Flurkey WH. Identification of tyrosinase in mushrooms by iso-electric focusing. *J. Food Sci.* 56: 93 - 95 (1991)
 22. Murata M, Sugiura M, Sonokawa Y, Shhimamura T, Homma S. Properties of chlorogenic acid quinone: Relationship between browning and the formation of hydrogen peroxide from a quinone solution. *Biosci., Biotechnol., Biochem.* 66: 2525-2530 (2002)
 23. Lee MJ, Kim SE, Kim JH, Lee SW, Yeum DM. A study of coffee bean characteristics and coffee flavors in relation to roasting. *J. Korean Soc. Food. Sci. Nutr.* 42: 255-261 (2013)
 24. Zulli A, Smith RM, Kubatka P, Novak J, Uehara Y, Loftus H, Klimas J. Caffeine and cardiovascular diseases: Critical review of current research. *Eur. J. Nutr.* 55: 1331-1343 (2016)
 25. Caini S, Cattaruzza S, Bendinelli B, Tosti G, Masala G, Gnagnarella P, Gandini S. Coffee, tea and caffeine intake and the risk of non-melanoma skin cancer: A review of the literature and meta-analysis. *Eur. J. Nutr.* 56: 1-12 (2016)
 26. Tang WQ, Li DC, Lv YX, Jiang JG. Extraction and removal of caffeine from green tea by ultrasonic-enhanced supercritical fluid. *J. Food Sci.* 75: C363-C368 (2010)
 27. Chen YH, Huang L, Wen ZH, Zhang C, Liang CH, Lai ST, Wang GH. Skin whitening capability of shikimic acid pathway compound. *Riv. Eur. Sci. Med. Farmacol.* 20: 1214-1220 (2016)
 28. Zeng K, Thompson KE, Yates CR, Miller DD. Synthesis and biological evaluation of quinic acid derivatives as anti-inflammatory agents. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 19: 5458-5460 (2009)
 29. La Casa C, Villegas I, De La Lastra CA, Motilva V, Calero MM. Evidence for protective and antioxidant properties of rutin, a natural flavone, against ethanol induced gastric lesions. *J. Ethnopharmacol.* 71: 45-53 (2000)
 30. Sato Y, Itagaki S, Kurokawa T, Ogura J, Kobayashi M, Hirano T, Iseki K. *In vitro* and *in vivo* antioxidant properties of chlorogenic acid and caffeic acid. *Int. J. Pharm.* 403: 136-138 (2011)
 31. Yoo KM, Kim DO, Lee CY. Evaluation of different methods of antioxidant measurement. *Food Sci. Biotechnol.* 16: 177-182 (2007)
 32. Kameyama K, Takemura T, Hamada Y, Sakai C, Kondoh S, Nishiyama S, Hearing VJ. Pigment production in murine melanoma cells is regulated by tyrosinase, tyrosinase-related protein 1 (TRP1), DOPAchrome tautomerase (TRP2), and a melanogenic inhibitor. *J. Invest. Dermatol.* 100: 126-131 (1993)
 33. Huang HC, Ho YC, Lim JM, Chang TY, Ho CL, Chang TM. Investigation of the anti-melanogenic and antioxidant characteristics of *Eucalyptus camaldulensis* flower essential oil and determination of its chemical composition. *Int. J. Mol. Sci.* 16: 10470-10490 (2015)
 34. Park JG, Kramer BS, Steinberg SM, Carmichael J, Collins JM, Minna JD, Gazdar AF. Chemosensitivity testing of human colorectal carcinoma cell lines using a tetrazolium based colorimetric assay. *Cancer Res.* 47: 5875-5879 (1987)
 35. Busc R, Ballotti R. Cyclic AMP a key messenger in the regulation of skin pigmentation. *Pigm. Cell. Res.* 13: 60-69 (2000)
 36. Hunt G, Todd C, Cresswell JE, Thody AJ. Alpha melanocyte stimulating hormone and its analogue Nle4DPhe7 alpha-MSH affect morphology, tyrosinase activity and melanogenesis in cultured human melanocytes. *J. Cell. Sci.* 107: 205-211 (1994)