



Research Article

Quality characteristics of *in vitro* luwak coffee produced using enzyme and microbial complexes

효소 및 미생물 복합체를 사용한 인비트로 루왁 커피의 품질 특성

Hye-Mi Kang¹, Shin-Yeong Oh¹, Hye-Min Kang¹, Joong-Ho Kwon¹, Yong-Jin Jeong^{1,2*}

강혜미¹ · 오신영¹ · 강혜민¹ · 권중호¹ · 정용진^{1,2*}

¹KMF Co., Ltd., Daegu 41065, Korea

²Department of Food Science and Technology, Keimyung University, Daegu 42601, Korea

¹(주)케이엠에프, ²계명대학교 식품가공학과

Abstract *In vitro* luwak coffee was produced using enzyme-microbial complexes. The coffee quality of non-fermented coffee beans (NFC) and fermented coffee beans (FC) was compared. The total free amino acid content was higher in FC than in NFC. The levels of glutamic acid and γ -amino-n-butyric acid in NFC were higher than those in FC; however, the contents of essential amino acids, such as lysine, leucine, and valine, in FC were higher than in NFC. During fermentation, the sucrose content decreased, whereas the fructose and glucose contents increased ($p < 0.001$). The chromaticity of the coffee extract showed higher lightness (L), redness (a), and yellowness (b) values in FC than those in NFC. The caffeine content was significantly lower in FC ($696.94 \pm 0.04 \mu\text{g/mL}$) compared to that in NFC ($1,130.22 \pm 1.55 \mu\text{g/mL}$) ($p < 0.001$). Conversely, the polyphenol and chlorogenic acid contents were significantly higher in NFC than in FC ($p < 0.001$). Electronic nose analysis indicated considerable differences between the volatile aromatic components in NFC and FC. Sensory scores were significantly higher for FC than those for NFC. Therefore, the fermentation of coffee beans using enzyme-microbial complexes altered the chemical components, which promoted the *Maillard* reaction during the coffee bean roasting process. These results suggest the possibility of producing *in vitro* luwak coffee with better flavor and lower caffeine content.

Keywords enzyme-microbial complex, fermentation, *in vitro* luwak coffee, caffeine, flavor



OPEN ACCESS

Citation: Kang HM, Oh SY, Kang HM, Kwon JH, Jeong YJ. Quality characteristics of *in vitro* luwak coffee produced using enzyme and microbial complexes. Korean J Food Preserv, 30(2), 287-299 (2023)

Received: January 16, 2023

Revised: March 09, 2023

Accepted: March 09, 2023

***Corresponding author**

Yong-Jin Jeong

Tel: *** - **** - ****

E-mail: yjjeong@kmu.ac.kr

Copyright © 2023 The Korean Society of Food Preservation. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

1. 서론

커피는 쓴맛, 떫은맛, 신맛, 구수한 맛 등이 조화되어 만들어지는 대표적인 기호 음료로서, 전 세계 사람들이 즐겨 마시고 있다. Business Wire의 글로벌 마켓 리포트에 따르면 전체 커피와 차 시장의 규모가 2019년에 미화 1,421억 달러에서 2020년에는 1,485억 달러로 연강 약 4% 이상이 성장하였다고 한다(The Business Research Company, 2020). 현대경제연구원의 ‘커피산업의 5가지 트렌드 변화와 전망’ 보고서에 따르면 국내에서 역시 커피 시장의 규

모는 2018년에 한화 6조 8천억 원에서 2023년에는 8.6조 원까지 성장할 것으로 예상하였다(Park 등, 2019). 이처럼 국내뿐만 아니라 전 세계적으로 커피 시장은 크게 성장하였으며, 점차 더 큰 폭으로 성장할 것으로 예상된다. 커피의 종은 약 60여 가지가 보고되었으나, 현재 세계에서는 *Coffea arabica* L.(아라비카)와 *Coffea canephora* L.(로부스타) 및 *Coffea liberica*(리베리카)의 세 가지 품종이 재배되어 상업적으로 널리 활용되고 있다(Lee 등, 2013). 그중 커피의 로부스타 품종은 거칠고 쓴맛과 향미가 강해 보통 인스턴트커피나 블렌드용으로 사용이 되고 있으며, 카페인은 약 1.7-4.0%를 함유하고 있다고 알려져 있다(Mussatto 등, 2011).

커피는 커피나무 열매의 씨앗(green coffee bean)으로 만든 음료이다. 커피 열매는 과육을 섭취하고, 씨앗을 버리는 보통의 열매와는 다르게 과육을 제거하고, 그 씨앗을 가공 및 로스팅의 제조과정을 거쳐 상품으로 제조되며, 다양한 추출방법으로 커피 성분을 추출하여 음용하고 있다(Park, 2017). 일반적인 커피 생두는 9-13%의 수분과 37-60%의 탄수화물, 11-13%의 단백질, 4%의 무기질과 생리활성물질 등으로 구성되어 있으며, 이때의 생리활성물질은 chlorogenic acid, caffeine 등이 있다(Clarke, 1987). 탄수화물의 5-10%를 구성하는 당분의 대부분은 sucrose, glucose, fructose 등이며, 이들은 커피 생두 속의 특정 아미노산들과 로스팅 과정에서 화학 반응을 일으킨다(Knopp 등, 2006).

Maillard 반응은 식품 중의 당류와 아미노 화합물이 전구물질로 작용하여 발생하는 갈색화 반응으로, 커피의 로스팅 과정 중 색의 변화와 향미의 발현에 밀접한 영향을 미쳐 커피 품질을 결정짓는 중요한 과정이다. 식품 중의 아미노 화합물과 당류의 카보닐기는 Maillard 반응의 전구물질로서 이들의 분해에 의해 휘발성 향미 성분이 증진된다(Baik과 Ko, 1996).

커피는 빠르게 변화하는 소비자의 기호도에 따라 점점 다양한 맛과 종류가 생겨나고 있으며, 최근에는 기존의 커피들과는 제조 방법이나 품질에서 차별화된 커피들이 계속하여 출시되고 있다. 다양한 종류의 커피 중 루왁 커피(kopi luwak)는 사향고양이의 내장 소화기관을 통해 배출된 배설물에 있는 커피를 가공하여 제품으로 만든 것으로, 사향고양이의 소화 과정을 거치며 원두의 쓴맛과 떼은맛이 사라지고,

특유의 맛과 향을 낸다고 알려져 있다(Kim, 2012). 사향고양이를 방사하여 생산되는 루왁 커피의 연간 생산량은 약 300-500 kg 수준의 소량으로 그 희소성으로 인해 비싼 가격을 형성하고 있다(Maeil, 2016; Marcone, 2004). 이처럼 루왁 커피가 고가로 유통됨에 따라 사향고양이를 집단 사육하는 농장도 등장했는데, 이는 사향고양이 학대 논란으로 번지고 있는 실정이다.

따라서 본 연구에서는 사향고양이의 소화 기관을 통과함으로써 원두의 향미적 품질이 향상되는 점을 착안하여, *in vitro* 발효 조건에서 Maillard 반응의 전구물질인 유리당과 유리아미노산의 증가와 카페인의 변화를 유도하였다. 이어 원두의 로스팅 과정을 통해 향미의 증가와 카페인 함량의 감소를 확인하고, *in vitro* 루왁 커피의 제조 가능성을 검토하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 재료

본 실험에 사용된 커피 생두(green beans, Robusta)는 2021년 고파테말라 웨웨테낭고(GUATEMALA 'Huehuetenango') 지역에서 생산된 로부스타(*Coffea canephora* L.) 품종이었다. 커피 원두의 품질 특성 분석을 위해서 유리아미노산과 유리당은 발효 및 건조를 완료한 로스팅 이전의 원두를 사용하였고, caffeine, polyphenol, chlorogenic acid, 색도, 전자크 분석 및 관능평가는 발효 및 건조 후 로스팅한 원두를 분쇄하여 추출한 시료를 사용하였다.

2.2. 실험 시약

분석에 사용된 시약 trichloroacetic acid, 2 N Folin & Ciocalteu's phenol reagent, gallic acid 표준품, formic acid 등은 Sigma-Aldrich Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다. Acetic acid는 Duksan Pure Chemicals Co.(Incheon, Korea)으로부터, caffeine 표준품과 chlorogenic acid 표준품은 Tokyo Chemical Industry Co.(Tokyo, Japan)에서, sodium carbonate은 Junsei Chemical Co.(Tokyo, Japan)에서 각각 구입하여 사용하였다. 시료 전처리 및 HPLC 분석에 사용한 ethanol, acetonitrile은 Samchun(Seoul, Korea)으로부터, water

는 Duksan Pure Chemicals Co.(Incheon, Korea)에서, methyl alcohol은 Daejungchem(Siheung, Korea)의 HPLC 등급의 시약을 사용하였으며, 증류수는 Changshin lab의 자동증류수제조장치 CT-101(Seoul, Korea)에서 제조하여 사용하였다.

2.3. 효소 및 미생물 복합제의 제조

커피 생두의 *in vitro* 발효를 위하여 사용된 효소는 글루코아밀라아제(1,300 U/g) 당화 효소(Shin Nihon Chemical Co., Ltd., Japan)와 아밀라아제(340 U/g) 효소제품(Bision Co., Ltd., Seongnam)이었다. 미생물은 *Saccharomyces cerevisiae*의 건조효모(Lappemand Inc., Lithuania), 락토바실러스 플란타룸(*Lactobacillus plantarum*), 락토바실러스 에시도필러스(*Lactobacillus acidophilus*), 락토코커스 락티스(*Lactococcus lactis*), 락토바실러스 루테리(*Lactobacillus reuteri*), 스트렙토코커스 써모필러스(*Streptococcus thermophilus*), 락토바실러스 람노서스(*Lactobacillus rhamnosus*), 락토바실러스 파라카제이(*Lactobacillus paracasei*), 비피도박테리움 롱검(*Bifidobacterium longum*), 락토바실러스 카제이(*Lactobacillus casei*), 락토바실러스 불가리쿠스(*Lactobacillus bulgaricus*), 락토바실러스 페멘텀(*Lactobacillus fermentum*), 비피도박테리움 비피덤(*Bifidobacterium bifidum*), 비피도박테리움 브레브(*Bifidobacterium breve*), 락토바실러스 가세리(*Lactobacillus gasseri*), 락토바실러스 살리바리우스(*Lactobacillus salivarius*), 락토바실러스 헬베티쿠스(*Lactobacillus helveticus*), 비피도박테리움 애니말리스(*Bifidobacterium animalis ssp. lactis*) 등의 17종 혼합유산균(Mediogen Co., Ltd., Jecheon)으로서, 글루코아밀라아제 : 아밀라아제 : 건조효모 및 17종 혼합유산균을 28 : 65 : 7의 비율로 혼합하여 효소 및 미생물 복합제를 제조하여 사용하였다. 이는 Lee(2016)의 *luwak*의 장내 환경과 유사한 조건의 *luwak* AIMS(Animal Intestine Mimic System) 실험을 참고로, 본 실험에 사용될 효소 및 미생물 복합제를 제조하여 아래와 같이 발효를 실시하였다.

2.4. 생두의 *in vitro* 발효 공정

발효는 온도 제어, 교반 기능이 가능한 20 L 용기에 커피

생두, 위에서 제조한 효소 및 미생물 복합제, 정제수를 25 : 0.7 : 74.3의 비율로 투입한 후 37°C에서 3시간 동안 발효시켰다. 이때 발효 원두(fermented coffee bean, FC)와 비발효 원두(non-fermented coffee bean, NFC)의 품질 특성을 비교 분석하고자, 대조구 생두도 동일한 조건에 보관하여 건조 및 배전 시료로 사용하였다.

2.5. 발효 원두의 건조

발효 후 여액을 제거하고 세척한 FC는 NFC와 함께 건조기(forced convection oven 252 L, JSOF-250, JSR, Gongju, Korea)에서 수분 함량이 10%(w/w) 이하가 되도록 55°C에서 건조하였다.

2.6. 배전 및 추출

NFC와 FC를 고온(200°C 이상)으로 예열된 coffee roaster (coffee roaster, MK-400A, Miko, China)에 투입하여 약 11분간 배전한 후 빠르게 냉각하여 맛과 향이 잘 발현될 수 있는 발효 전과 후의 시료를 얻었다. 상기 조건으로 배전된 원두 시료 각 20 g을 일정하게 그라인딩(coffee grinder, 600N, Yang-Chia Machine Works Co., Ltd., Taipei, Taiwan)하여 여과지에 담고 뜨거운 물(90°C) 200 mL를 가하여 약 2분간 추출하고 얻은 여액을 일정량으로 하여 분석 시료로 사용하였다.

2.7. 색도 측정

NFC와 FC 추출물의 색도를 확인하기 위해 분광광도계(UV-1800 240V, Shimadzu Co., Kyoto, Japan)와 Color Measurement(COL-UVPC Color Measurement Software, Shimadzu Co., Kyoto, Japan) software를 이용하여 400-700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 L값(lightness), a값(redness), b값(yellowness) 및 색차(ΔE 값)를 5회 반복 측정하여 나타내었다.

2.8. 유리아미노산 함량 분석

로스팅하지 않은 NFC와 FC 추출물의 유리아미노산 함량은 시료 0.1 g에 0.02 N HCl 1 mL를 첨가하여 24 h 용해시키고, 이 용액 1 mL를 취해 5% 트리클로로아세트산(trichloroacetic acid)을 동량 넣고 교반을 진행하였다. 이

를 다시 10,000 rpm, 10분 동안 원심분리(LaboGene 1248, Gyrozen, Daejeon, Korea)하고 상등액을 취해 0.2 μm membrane filter로 여과한 용액을 유리아미노산 측정 시료로 사용하였다. 아미노산 분석기(L-8900, Hitachi, Tokyo, Japan)의 분석조건에서 컬럼은 4.6 mm \times 60 mm ID ion-exchange column resin #2622SCPF(Hitachi, Tokyo, Japan), 컬럼 온도는 50 $^{\circ}\text{C}$, reactor 온도는 135 $^{\circ}\text{C}$ 로 하였고, 주입 용량은 20 μL 로 하여 분석하였다.

2.9. 유리당 함량 분석

커피 원두의 유리당 분석은 로스팅 전에 NFC와 FC 추출물을 high-performance liquid chromatography(HPLC, Waters 2487, Waters Co., Milford, MA, USA)를 이용하여 시차굴절계(RI) 검출기(detector)를 사용하였다. 각 시료에 증류수 25 mL 혹은 50% 에탄올 용액을 가하여 무게를 확인한 후 85 $^{\circ}\text{C}$ 에서 25분간 가온하여 당류를 추출하여 방냉 후 최초의 추출 용매의 무게가 될 수 있도록 추출 용매를 첨가하였다. 그 후 이를 45 μm membrane filter로 여과하여 측정 시료로 사용하였다. 컬럼은 amino (NH_2) column(3.9 \times 300 mm, 10 μm , Waters Co.)을 사용하여 30 $^{\circ}\text{C}$ 에서 검출하였다. 이동상 용매(80% acetonitrile)는 등용매 용리(isocratic elution)를 하였으며, 이때 용출 속도는 1.0 mL/min, 주입 용량은 10 μL 의 조건으로 분석하였다.

2.10. 카페인 함량 분석

NFC와 FC 추출물의 카페인 함량은 HPLC(Nexera XR, Shimadzu Co.)를 이용하였으며, 각각의 커피 추출물을 0.45 μm membrane filter로 여과하여 분석 시료로 사용하였다. 컬럼은 Agilent Eclipse Plus C18 column (4.6 \times 250 mm, 5 μm , Agilent Co., Santa Clara, CA, USA)을 사용하였으며, 온도는 40 $^{\circ}\text{C}$, 검출 파장은 280 nm였다. 이동상 용매(메탄올 : 초산 : 물 = 20 : 1 : 79)는 등용매 용리(isocratic elution)하였으며, 용출 속도는 1.0 mL/min, 주입 용량은 10 μL 로 하여 분석하였다.

2.11. 폴리페놀 함량 측정

NFC와 FC 추출물에 함유된 폴리페놀 함량을 측정하기

위하여 희석한 검액 0.1 mL와 7% Na_2CO_3 2 mL를 혼합하여 3분간 방치 후 1 N Folin 용액 0.1 mL를 더하여 빛이 차단된 실온에서 30분간 반응시켰다. 반응 후, 분광광도계(UV-1800 240V)를 사용하여 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질은 갈산(gallic acid)을 15.652-1,000 $\mu\text{g/mL}$ 범위에서 희석하여 사용하였으며, 표준곡선 작성 후 시료의 총폴리페놀 함량은 mg 갈산 당량(gallic acid equivalent, GAE)/mL로 표시하였다.

2.12. 클로로겐산 함량 분석

NFC와 FC 추출물의 클로로겐산 함량은 HPLC(Shimadzu Nexera XR, Shimadzu Co.)를 이용하였으며, 각각의 커피 추출물을 0.45 μm membrane filter로 여과하여 측정 시료로 사용하였다. 컬럼은 C18 컬럼(4.6 \times 250 mm, 5 μm , Agilent Co., Santa Clara, CA, USA)을 사용하였으며, 온도는 40 $^{\circ}\text{C}$, photodiode array detector(PDA) Shimadzu SPD-M20A를 이용하여 검출하였다. 이동상은 A: methanol을, B: 1% formic acid in water를 사용하였다. 0-20 min(2-32%, A), 20-30 min (32-40%, A), 30-40 min(40-95%, A), 40-45 min(95%, A)으로 분석 시간에 따라 이동상의 조성을 변경하면서 이동상의 유속 1.0 mL/min, 시료 주입량 20 μL 로 분석하였다.

2.13. 전자코를 이용한 휘발성분 패턴 분석

NFC와 FC 추출물의 향기성분 분석은 전자코를 이용하였다. 휘발성분 분석을 위해 시료 2 mL를 headspace vial (22.5 \times 75 mm, PTFE/silicon septum, aluminum cap)에 넣고 40 $^{\circ}\text{C}$ 에서 500 rpm으로 5분간 교반하면서 headspace를 포집하였다. 자동시료채취기를 사용하여 5,000 μL 의 휘발성분을 취한 후 전자코(Heracles, Alpha MOS, Toulouse, France)로 주입하였고, 두 개의 컬럼(2 m \times 0.18 mm DB5/DBWAX) 및 두 개의 FID(flame ionization detectors)로 분석하였다. 오븐 온도는 80 $^{\circ}\text{C}$ 에서 1초간 유지되었고, 250 $^{\circ}\text{C}$ 까지 초당 3 $^{\circ}\text{C}$ 로 상승시켜 21초간 유지되었으며, 수소가스의 유량(flow rate)은 1 mL/min이었다. Kovats index(KI) library 기반의 AroChembase(Alpha MOS)를 이용하여 분리된 피크의 성분을 추정하였고, 5회 반복 결과를 주성분(principal component analysis, PCA) 분석에 사용하였다.

2.14. 관능평가

NFC와 FC 추출물에 대한 관능평가는 9점 채점법(9-point hedonic scale)을 이용하여 커피를 즐겨 마시는 (주)KMF 연구원 10명(남여 각 5명)을 대상으로 실시하였다. 커피의 고유한 아로마(aroma)는 원두를 갈았을 때의 분쇄 향기와 추출 향기에 대한 평가, 산미(acidity)는 신맛에 대한 강도보다 선호도를 평가, 단맛(sweetness)은 단맛에 대한 선호도를 평가하였다. 바디감(body)은 입안 가득히 느껴지는 촉감과 매끄러움에 대한 평가, 밸런스(balance)는 전체적인 향미, 신맛, 바디감 등이 균형 잡혀 있는가를 평가, 후미(aftertaste)는 커피를 마신 후에 입안에서 지속되는 향미에 대한 평가, 전반적인 기호도(overall)는 커피의 전반적인 향미(flavor)에 대한 주관적인 느낌에 대한 평가를 나타내었다. 위의 7가지 항목에 대한 기호도를 알아보기 위해 9점 척도(1: 대단히 싫다, 2: 매우 싫다, 3: 싫다, 4: 약간 싫다, 5: 좋지도 싫지도 않다, 6: 약간 좋다, 7: 좋다, 8: 매우 좋다, 9: 대단히 좋다)로 평가하고, 각각 항목에 대한 관능평점을 통계 처리하였다. 본 관능검사는 계명대학교 생명윤리위원회의 연구승인(IRB No.: 40525-202210-HR-058-02)을 받고 안전하게 진행되었다.

2.15. 통계처리

실험 결과의 통계 분석은 SPSS(Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) software package 프로그램을 사용하였고, 독립된 두 집단의 평균값 비교는 독립표본 t-test를 실시하여 시료 간의 유의차를 검증하였으며($p < 0.05$), 모든 데이터는 평균 \pm 표준편차로 표기하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 발효에 따른 유리아미노산 함량 변화

In vitro 루왁 커피의 제조를 위한 비발효(NFC)와 발효(FC) 시료를 각각 분쇄하여 38종의 유리 아미노산의 함량을 분석한 결과는 Table 1과 같다. 총유리아미노산 분석 결과, NFC에서는 glutamic acid, phospho ethanol amine, γ -aminobutyric acid, aspartic acid, alanine, serine, proline, phenylalanine, valine, arginine, threonine

순으로 높은 함량을 보였으며, FC에서는 glutamic acid, lysine, leucine, phospho ethanol amine, arginine, alanine, aspartic acid, phenylalanine 순으로 높은 함량을 보였다. 이는 이전에 연구되었던 Park(2012)의 연구 보고에서 생두에서는 γ -aminobutyric acid, alanine, aspartic acid, glutamic acid, ammonia, serine, phenylalanine, glycine, valine, threonine 순으로 높은 함량을 보였다는 보고와 유사한 경향을 보였다. 커피 생두의 효소 및 미생물 복합체를 사용하여 발효를 실시한 결과, 검출된 30종의 유리아미노산 중 12종은 감소하였고, 18종의 아미노산은 증가한 것으로 확인되었다. 본 실험에서는 트립토판을 제외한 8종의 필수 아미노산에 대해 비교한 결과, 8종의 필수아미노산 모두 NFC에 비해 FC에서 증가한 것을 확인하였다. 발린과 트레오닌, 아이소류신은 1.5배 이상, 페닐알라닌 및 히스티딘은 2배 이상, 류신은 3배 이상, 리신과 메티오닌은 각각 4배 이상 증가하여, 발효를 통해 필수아미노산의 증가 효과가 현저하다는 것을 확인하였다. 이러한 과정에서 Maillard 반응의 전구물질인 아미노산이 증가한 것으로 미루어 보아 로스팅 진행 시 유리아미노산이 Maillard 반응의 전구물질로 작용하여 커피의 향미와 맛의 증가에 역할을 할 것이라 판단된다(Go, 2017). 이때 Maillard 반응이란 식품 중의 당류와 아미노 화합물이 전구물질로 작용하여 진행되는 이들의 갈색화 반응으로(Kim, 2001), 원두의 로스팅 과정 중 색도의 변화와 향미의 발현에 밀접한 영향을 미쳐 커피의 품질을 결정짓는 중요한 과정이다. Lee(2016)의 연구에 따르면 실제 루왁커피 추출물과 루왁의 장내 환경과 유사한 조건으로 발효를 진행한 커피 추출물의 유리아미노산 함량의 분석 결과, 루왁의 장내 환경과 유사한 조건으로 발효를 진행한 커피 추출물에서 valine, leucine, aspartic acid, glutamic acid, lysine 등이 실제 루왁 추출물보다 높은 수치를 확인했다고 하였다. 이 같은 결과는 본 연구에서 발효 시료인 FC에서 valine, leucine, lysine 등의 필수아미노산과 aspartic acid, glutamic acid 등이 비발효 NFC보다 높게 나타난 결과와 매우 유사하였다.

3.2. 발효에 따른 유리당 함량 변화

커피의 구성 성분 중에서 가장 많은 함량을 차지하는 탄수

Table 1. Free amino acid contents of non-fermented coffee beans (NFC) and fermented coffee beans (FC)

Free amino acid	Contents (mg/mL)	
	NFC	FC
Phosphoserine	ND ¹⁾	ND
Taurine	0.64±0.03 ²⁾	0.39±0.01
Phosphoethanol amine	35.71±0.04	19.38±0.25
Urea	ND	ND
Aspartic acid	24.71±0.41	13.89±0.07
Threonine	3.34±0.06	5.24±0.05
Serine	15.47±0.29	11.20±0.09
Glutamic acid	54.70±1.10	41.83±0.11
Sarcosine	0.99±0.10	ND
α-Amino adipic acid	0.86±0.01	1.10±0.02
Glycine	4.06±0.07	5.18±0.06
Alanine	20.71±0.33	16.04±0.12
Citrulline	ND	ND
α-Amino-n-butyric acid	ND	1.62±0.09
Valine	6.37±0.12	9.97±0.55
Cystine	2.78±0.00	2.49±1.94
Methionine	1.09±0.00	4.69±1.81
Cystathionine	1.13±0.03	1.04±1.26
Isoleucine	4.12±0.07	7.04±1.59
Leucine	5.67±0.07	19.95±1.48
Tyrosine	5.15±0.05	9.59±2.22
Phenylalanine	6.55±0.10	13.59±1.98
β-Alanine	1.63±0.02	3.13±0.48
β-Amino isobutyric acid	ND	6.83±1.50
γ-Amino-n-butyric acid	29.10±0.51	8.23±0.81
Ethanol amine	2.92±0.46	3.75±0.45
Ammonia	2.64±0.27	4.26±0.17
Hydroxylysine	ND	ND
Ornithine	0.34±0.02	2.48±0.05
Lysine	5.15±0.50	24.64±0.12
1-Methylhistidine	ND	ND
Histidine	1.46±0.11	3.53±0.02
3-Methylhistidine	1.16±0.03	ND
Anserine	ND	ND
Carnosine	ND	ND

(continued)

Free amino acid	Contents (mg/mL)	
	NFC	FC
Arginine	5.90±0.10	16.14±0.07
Hydroxy proline	ND	ND
Proline	9.68±0.35	6.94±0.07
Total free amino acids	254.01±4.89	264.15±16.80

¹⁾Not detected.²⁾Data are expressed as the mean±SD (n=2).

화물에는 단맛을 나타내는 여러 종류의 유리당이 함유되어 있으며, 그 종류와 함량은 커피가 갖는 단맛의 정도와 단향의 종류를 나타낸다(Gil 등, 2011; Illy와 Viani 2005; Yu, 2012). NFC와 FC 시료를 각각 분쇄하여 원두의 유리당 함량을 분석한 결과는 Table 2와 같다. NFC에서 미량 검출되었던 fructose와 glucose는 발효를 통해 FC 시료에서는 각각 0.34 g/100 g, 0.99 g/100 g으로 증가하였다. 이는 발효를 통해 NFC 시료에 함유되어 있던 sucrose가 glucose와 fructose로 분해된 것으로 추측되며, 이는 Maillard 반응의 전구물질로 사용되어 커피의 향미와 맛의 증가에 기여한 것으로 판단된다. Kim(2020)의 연구에 따르면 경기도 용인지역에서 재배한 아라비카 원두의 sucrose, glucose, fructose의 함량은 각각 0.30±0.01 mg/g, 9.16±0.01 mg/g, 4.11±0.01 mg/g이었으며, 베트남의 로부스타 원두의 sucrose의 함량은 0.77±0.01 mg/g, glucose와 fructose는 검출되지 않았다는 연구 결과를 통해 로부스타 커피 원두는 아라비카 커피 원두에 비해 이당류인 sucrose 함량은 높고 glucose 및 fructose와 같은 단당류의 함량은 낮은 것으로 판단된다. 로부스타 커피 원두에는 아라비노갈락탄, 갈락토만난, 셀룰로오스와 같은 다당류가 약 34-44

g/100 g 정도 함유되고 있다고 알려져 있으며, 이는 로스팅 과정에서 이당류와 단당류로 분해된다(Nishizawa와 Guillain, 2011).

3.3. 발효에 따른 색도 변화

NFC와 FC 커피 추출물의 색도를 측정하여 Table 3에 나타내었다. NFC 커피 추출액의 L값은 18.28±1.43이고, FC 커피 추출액의 L값은 29.70±0.22로 나타났다. Hunter의 색체계에서 L값은 명도(lightness)로 0(black)과 100(white)의 값을 나타내는데, 본 결과로 보아 발효원두의 명도가 훨씬 밝은 것으로 확인되었다. 두 원두 추출액의 a값은 NFC 21.64±2.44, FC 32.51±0.15로 차이를 나타내었고, b값은 NFC 8.06±1.70, FC 20.12±0.37로 FC가 NFC 추출액에 비해 적색도와 황색도가 매우 높음을 알 수 있었다. 이는 발효과정(FC)에서 Maillard 반응 전구물질이 다량 생성됨으로써 볶음처리에 따라 갈변물질이 크게 증가한 것을 알 수 있었다. 한편, 전반적인 색차(overall color difference)를 나타내는 ΔE값은 NFC는 29.58, FC(발효원두)는 48.41의 값으로 측정되어 시료 간에 전반적으로 큰 색차를 나타내었다. 일반적으로 색차지수값이 0.5 미만이면

Table 2. Free sugar contents of non-fermented coffee beans (NFC) and fermented coffee beans (FC)

Free sugar	Contents (g/100 g)		
	NFC	FC	t(p)
Fructose	0.00±0.03 ¹⁾	0.34±0.02	-18.520(0.000)***
Glucose	0.00±0.01	0.99±0.01	-55.183(0.000)***
Sucrose	3.29±0.06	0.82±0.04	59.327(0.000)***

¹⁾Data are expressed as the mean±SD (n=3).

***p<0.001.

Table 3. Color values of non-fermented roasted coffee beans (NFC) and fermented roasted coffee beans (FC)

Sample	Color parameters			
	L value	a value	b value	ΔE
NFC extract	18.28±1.43 ¹⁾	21.64±2.44	8.06±1.70	29.58±1.27
FC extract	29.70±0.22	32.51±0.15	20.12±0.37	48.41±0.33
t(p)	-19.311(0.000) ^{***}	-10.903(0.000) ^{***}	-16.943(0.000) ^{***}	-35.211(0.000) ^{***}

¹⁾Data are expressed as the mean±SD (n=5).

^{***}p<0.001.

거의 색 차이가 없는 것이고, 0.5-1.5이면 근소한 색 차이를 나타내며, 1.5 이상이 되면 감지할 수 있는 색 차이를 나타내는 것이라고 한다(Brainard, 2003).

3.4. 발효에 따른 카페인, 총폴리페놀 및 클로로겐산 함량 변화

커피에 함유되어 있는 카페인과 클로로겐산, 폴리페놀 화합물과 같은 생리활성물질들은 신체 내에서 다양한 생리작용을 나타낸다(Lee 등, 2017). NFC와 FC의 커피 추출액의 카페인, 총폴리페놀 및 클로로겐산의 함량을 측정한 결과는 Table 4와 같다. NFC와 FC의 카페인 함량은 각각 1,130.22±1.55 µg/mL, 696.94±0.04 µg/mL로 확인되었으며, 이는 *in vitro* 발효 공정을 통해 약 38%의 caffeine이 감소한 것으로 확인되었다. Kang(2023)의 연구에 따르면 *Bacillus subtilis*와 *Lactobacillus plantarum*을 사용하여 발효시킨 과테말라 원두를 로스팅하여 커피 분말 25 g에 증류수 500 mL를 가하여 제조한 시료의 caffeine을 분석한 결과에서 690 µg/mL로 확인되었다. 이는 본 연구 결과와 매우 유사한 경향을 보였으며, 실험에 사용한 시료(커피 분말 20 g + 증류수 200 mL)를 감안한다면 본 실험에서 카페인의 함량이 더 많이 감소됨을 확인하였다.

NFC와 FC의 폴리페놀 함량은 각각 2.31 mg GAE/mL, 2.03 mg GAE/mL로 측정되었다. 또한, NFC와 FC의 클로로겐산 함량은 각각 531.81 µg/mL, 264.46 µg/mL로 폴리페놀과 클로로겐산의 함량은 FC보다 NFC에서의 함량이 더 높은 것으로 확인되었다. 이는 발효 과정에서 폴리페놀과 클로로겐산 성분이 일부 감소한 것으로 판단된다. 커피 산지별 추출액의 총페놀 함량을 측정한 결과, 케냐산과 인도네시아산이 각각 2.28 mg CAE/mL와 2.22 mg CAE/mL로, 본 연구 결과와 유사한 결과를 보였고, 에티오피아산 및 과테말라산은 각각 2.02 mg CAE/mL, 1.59 mg CAE/mL로 본 연구 결과보다 낮은 총페놀 함량을 보고하였다(Cho 등, 2015). 커피에 함유된 폴리페놀 함량은 커피콩의 종류뿐만 아니라, 배전 과정 중에 일어난 여러 화학반응 중, 특히 amino-carbonyl 반응의 정도가 폴리페놀 화합물의 조성 및 함량에 크게 영향을 미친다고 보고된 바 있다(Vignoli 등, 2011). 클로로겐산은 폴리페놀 화합물의 일종으로 커피에 약 500-800 µg/mL 정도 포함되어 있으며, 대장암과 피부 노화 억제 효능이 있는 것으로 알려져 있다. 이는 발암 단백질의 활성화를 줄여 대장암세포의 증식과 전이 과정을 억제한다는 사실이 입증되기도 하였다(Kang 등, 2011). 또

Table 4. Caffeine, polyphenol and chlorogenic acid contents of non-fermented roasted coffee beans (NFC) and fermented roasted coffee beans (FC)

Sample	Contents		
	Caffeine (µg/mL)	Polyphenol (mg GAE ²⁾ /mL)	Chlorogenic acid (µg/mL)
NFC extract	1,130.22±1.55 ¹⁾	2.31±0.01	531.81±27.32
FC extract	696.94±0.04	2.03±0.07	264.46±2.47
t(p)	471.787(0.000) ^{***}	19.736(0.000) ^{***}	16.874(0.000) ^{***}

¹⁾Data are expressed as the mean±SD (n=3).

²⁾GAE, gallic acid equivalent.

^{***}p<0.001.

한 클로로겐산은 로스팅 공정 중 화학적으로 쉽게 분해되어 여러 종류의 phenol 화합물 등을 생성하며, 이러한 phenol 화합물은 커피의 맛과 향에 영향을 주기 때문에 커피 품질을 평가하는 데 있어서 중요한 성분으로 알려져 있다(Kim과 Park, 2006). 일반적으로 건조된 로부스타 원두의 클로로겐산 함량은 4.42-6.47%, 건조된 원두의 클로로겐산 함량은 3.44-5.61%로, 로부스타 원두가 아라비카 원두보다 클로로겐산의 함량이 높은 것으로 보고되었다(Feldman 등, 1969; Hughes와 Thorpe, 1987; Trugo와 Macrae, 1984). 선행 연구에 따르면 커피의 폴리페놀 화합물 중 가장 많이 함유하는 성분은 클로로겐산으로 확인되었으며, 클로로겐산은 커피의 떫은맛과 쓴맛에 영향을 주는 대표적인 원인 물질로 보고되었다(Andueza 등, 2007). 또한, Song(2018)의 연구에 따르면 RTD 콜드브루 커피의 묘사 분석에서 떫은맛이 강한 시료에서 폴리페놀과 클로로겐산의 함량이 가장 높게 나타났다고 보고되었다.

3.5. 전자코를 이용한 발효 전과 후의 휘발성분 패턴

전자코를 이용하여 커피 추출물의 휘발성 향기성분을 MXT-5 및 MXT-1701의 non-polarity와 mid-polarity

의 특성으로 분석한 결과, 각각 약 60여 개의 휘발성 향기성분이 검출되었다. 그중 non-polarity에 의해 18.58초, 24.98초 및 25.83초에서 휘발성 향기성분이 유의적으로 높게 검출이 되었으며, mid-polarity에서는 20.55초 및 27.27초에서 높은 강도의 휘발성 향기성분이 검출되어 커피 추출물의 전처리에 따른 유의적인 차이가 확인되었다.

KI library를 이용하여 전자코의 각 컬럼에서 특이적으로 높은 휘발성 향기성분을 분석한 결과, 2-methylbutanal, 2-chloro-2-methyl-butane, methylethyl formate 및 2-methyl-1,3-cyclopentadiene 의 휘발성 화합물이 커피 추출물의 처리 여부에 따른 주요한 성분임을 확인하였다 (Fig. 1).

NFC와 FC에 따른 로스팅 커피의 주요 향 성분들이 영향을 받는 것으로 확인되어, 주성분 분석(principal components analysis, PCA)을 통해 발효 여부에 따른 커피 추출물의 향 성분 패턴을 비교하였다. 또한, 위 4가지 휘발성분은 discrimination power가 0.999로 주성분 분석을 통해 변별력이 큰 휘발성 향기성분임을 확인하였으며, discrimination index값이 96으로 주성분분석 결과에서 시료 간의 차이를 뒷받침하였다. PC1(제1주성분)과 PC2(제2주성분)의 점유

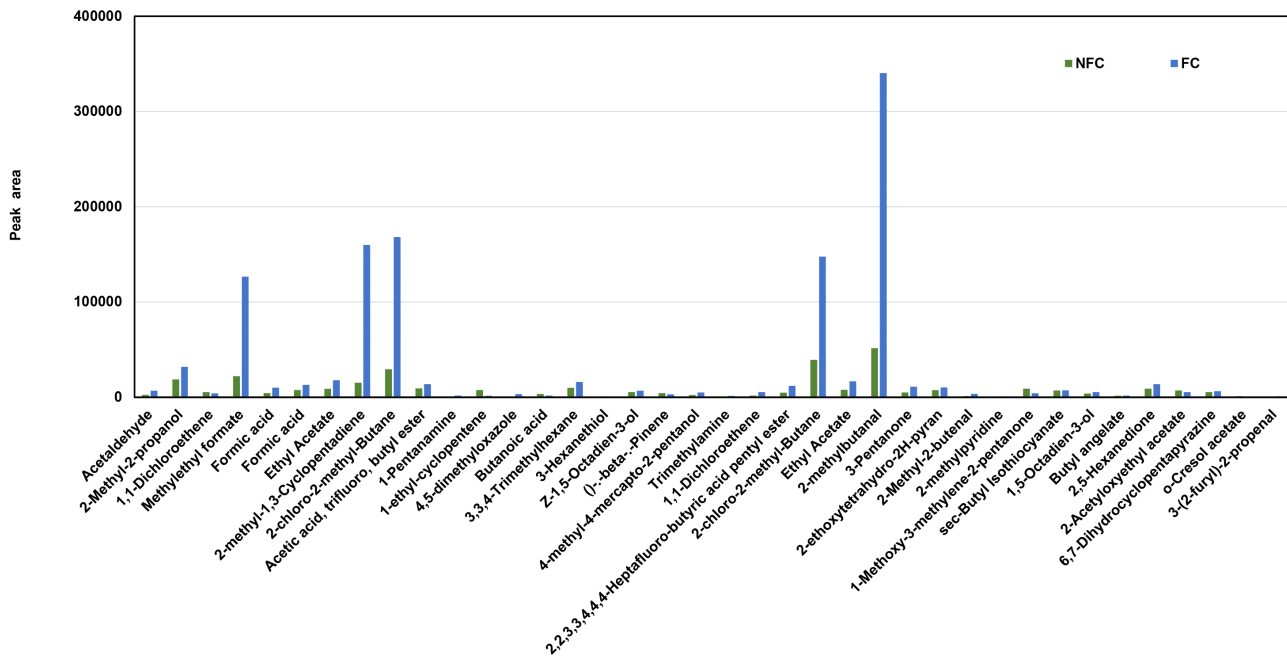


Fig. 1. Analysis of the electronic nose data for the volatile fragrance components of non-fermented roasted coffee beans (NFC) and fermented roasted coffee beans (FC).

율은 각각 99.485%와 0.425%로 총 99.91%의 높은 점유율을 나타내었다. 전자코를 이용한 주성분분석 결과, 시료 간의 패턴은 서로 근접할수록 전반적인 휘발성 향기성분이 유사하다고 판단되고, 거리가 멀어질수록 시료 간의 차별성이 높다고 해석한다. 이를 바탕으로 주성분분석의 패턴에서 높은 점유율의 PC1을 기준으로 FC는 우측, NFC는 3사분면 좌측에 분포되었다. 이같이 PC1의 높은 점유율의 결과, 단순 회귀분석과 비슷한 선형적 패턴을 보이며, 대조구(control)인 NFC를 기점으로 왼쪽에서부터 오른쪽으로 FC의 패턴이 확인되었으며, FC는 NFC와 향 패턴이 뚜렷이 달라짐을 확인하였다(Fig. 2).

일반적으로 식품의 전자코 분석에 사용되는 칼럼은 MXT-5와 MXT-1701 등 2가지 단 칼럼이다. 이는 단시간에 분석하므로 주요 휘발성 향기성분으로 단정하기는 어렵지만, headspace에 포집된 커피의 향기성분을 GC로 분석한 결과는 2-methylbutanal을 포함한 acetaldehyde, propanal, methylpropanal, 3-methylbutanal, 2,3-butanedione, 2,3-pentanedione의 7개의 화합물들이 배전 정도가 강해질수록 조금씩 증가하는 경향을 보였다(Mayer 등, 1999). 또한, Hwang 등(2014)에 의하면 2-methylbutanal의 성분비는 저장 기간과 추출 시간이 증가

할수록 감소하는 경향으로, 커피의 휘발성 향기성분 및 전반적인 관능적 특성에 영향을 미치는 것으로 보고하였다.

3.6. 발효에 따른 관능적 품질 변화

NFC와 FC의 추출물을 이용하여 식·음료 관련 연구원을 대상으로 관능 평가를 진행하였다(Table 5). 관능평가의 모든 항목에서 FC의 기호도가 NFC의 기호도보다 높은 것을 확인하였으며, acidity 항목에서는 두 원두의 기호도가 비슷한 것으로 나타났다. 이 중 aroma는 원두를 그라인딩했을 때의 fragrance와 추출했을 때의 향기에 대한 패널의 기호도를 나타내도록 했는데, NFC가 5.60 ± 0.97 , FC가 7.10 ± 0.88 로 FC의 기호도가 더 높은 것을 확인할 수 있었다. Fragrance는 생두를 로스팅하면서 방출되는 탄산가스가 실온에서 기체 상태로 바뀌는 유기 물질을 끌어내서 생성된다(Yu, 2012). Aroma, acidity 및 body에 대한 균형감을 의미하는 balance의 기호도는 두 원두의 유의적인 차이를 보이지는 않았으나, FC는 NFC보다 높은 기호도를 보였다. Aftertaste는 커피를 마시고 난 다음 입에 남아 있는 잔류 성분이 증기로 바뀌면서 느껴지는 향으로 지방과 유기산이 많은 영향을 준다고 보고되는데(Lee 등, 2013; Yu, 2012), 이 역시 FC가 NFC보다 높은 기호도를 나타내었다.

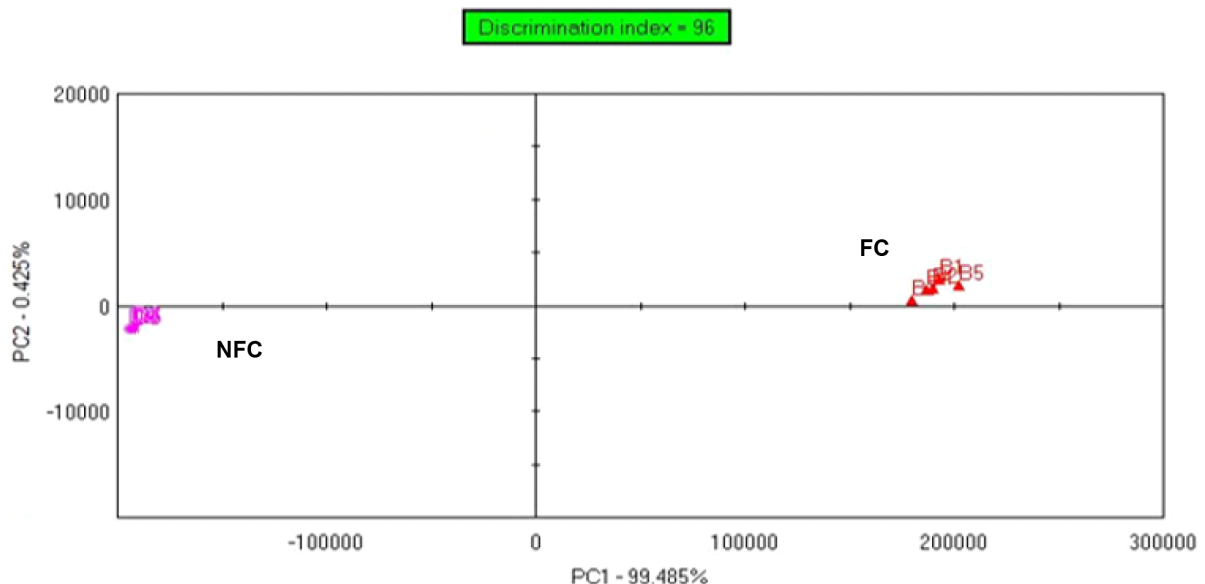


Fig. 2. Principal component analysis of the electronic nose data for the flavor patterns of non-fermented roasted coffee beans (NFC) and fermented roasted coffee beans (FC).

Table 5. Comparison of sensory scores between non-fermented roasted coffee beans (NFC) and fermented roasted coffee beans (FC)

Sample	Sensory parameters						
	Aroma	Acidity	Sweetness	Body	Balance	Aftertaste	Overall
NFC extract	5.60±0.97 ¹⁾	6.00±1.63	4.70±0.48	5.70±0.48	6.30±1.25	5.00±1.63	5.30±0.95
FC extract	7.10±0.88	6.10±0.88	7.00±0.82	7.40±0.97	6.60±1.26	7.30±0.95	7.30±0.48
t(p)	-3.638(0.002)**	-0.171(0.866)	-7.667(0.000)***	-4.977(0.000)***	-0.533(0.600)	-3.851(0.001)**	-5.941(0.000)***

¹⁾Data are expressed as the mean±SD (n=3).

p<0.01, *p<0.001.

마지막으로 전반적인 기호도(overall)에서는 FC 시료가 NFC 시료보다 높은 기호도를 보였다. 따라서 발효를 통해 제조된 원두(FC)는 발효 공정을 거치지 않은 원두(NFC)보다 로스팅 후 커피 추출물에서 높은 기호도를 지니는 것으로 확인되었다.

이상의 결과에서 루왁의 소화 기관에서 커피 열매에 함유된 탄수화물, 단백질, 카페인 등의 화합물들이 저분자로 변화할 것이란 가정을 바탕으로, 본 연구에서는 루왁의 소화 환경을 고려한 효소 및 미생물 복합제를 사용하여 발효 전과 후의 원두 품질을 비교함으로써 *in vitro* 조건에서 루왁 커피와 유사한 커피의 제조 가능성을 확인하였다. 이어서 연구팀은 시판 루왁 커피와 본 실험에서 제조한 *in vitro* 루왁 커피의 품질 특성을 구체적으로 비교 분석하게 함으로써 효소-미생물 복합제 사용의 실용 가능성을 확인할 예정이다.

4. 요약

효소 및 미생물 복합제를 사용하여 인비트로 발효 루왁 커피를 제조하여 non-fermented coffee beans(NFC)과 fermented coffee beans(FC)의 커피 품질을 비교하였다. 총유리아미노산 함량은 NFC가 254.01±4.89 mg/mL, FC가 264.15±16.80 mg/mL로 FC의 함량이 다소 높은 것으로 확인되었다. 이때 NFC는 glutamic acid, γ -amino-n-butyric acid 등이 높았으나, FC는 lysine, leucine, valine 등 필수아미노산의 함량이 높았다. 커피 생두의 발효 과정은 sucrose의 감소와 fructose 및 glucose의 유의적인 증가를 가져왔다. 커피 추출물의 색도는 NFC에 비해 FC 시료에서 높은 명도(L)와 적색도(a) 및 황색도(b)를 보였다. 카페인 함량은 NFC 1,130.22±1.55 μ g/mL, FC 696.94±0.04 μ g/mL로써 발효 후 약 38%의 카페인이 감소되었다.

폴리페놀 및 클로로젠산 함량은 NFC에서 각각 2.31±0.01 mg GAE/mL와 531.81±27.32 μ g/mL, FC에서 각각 2.03±0.07 mg GAE/mL와 264.46±2.47 μ g/mL로 발효에 따라 떫은맛 관련 성분의 함량이 유의적으로 감소됨을 알 수 있었다. 전자코 분석에서 NFC와 FC의 휘발성 향성분의 차이가 뚜렷함이 확인되었고, methylethyl formate, 2-methyl-1, 3-cyclopentadiene, 2-chloro-2-methylbutane, 2-methylbutanal 등의 휘발성 화합물이 발효 후 높은 강도로 감지되었다. 관능 평가에서는 NFC 추출물보다 FC 추출물의 aroma, body, aftertaste, overall에서 높은 관능 평점을 보여주었다(p<0.001). 이상의 결과에서 효소 및 미생물 복합제를 사용한 커피 생두의 발효는 유효 성분들의 변화를 일으켜 커피 원두의 로스팅 과정 중 Maillard 반응을 촉진함으로써, 향미가 증가되고 카페인 함량이 감소된 인비트로 루왁 커피의 제조 가능성을 시사하였다.

Conflict of interests

The authors declare no potential conflicts of interest.

Author contributions

Conceptualization: Kang Hye-Mi, Oh SY. Methodology: Kang Hye-Mi, Kwon JH. Formal analysis: Kang Hye-Mi, Kang Hye-Min. Validation: Kang Hye-Mi, Kwon JH, Jeong YJ. Writing - original draft: Kang Hye-Mi, Jeong YJ. Writing - review & editing: Kang Hye-Mi, Kwon JH, Jeong YJ.

Ethics approval

This research was approved by IRB from the Keimyung University (No. 40525-202210-HR-058-02).

ORCID

Hye-Mi Kang (First author)

<https://orcid.org/0000-0001-7978-9224>

Shin-Yeong Oh

<https://orcid.org/0009-0008-4988-6320>

Hye-Min Kang

<https://orcid.org/0009-0004-7928-8859>

Joong-Ho Kwon

<https://orcid.org/0000-0002-3875-1438>

Yong-Jin Jeong (Corresponding author)

<https://orcid.org/0000-0002-5712-2856>

References

- Andueza S, Vila MA, Paz de Pena M, Cid C. Influence of coffee/water ratio on the final quality of espresso coffee. *J Sci Food Agric*, 87, 586-592 (2007)
- Baik HJ, Ko YS. Studies on the aroma components of roasted and ground coffee. *Korean J Food Sci*, 28, 15-18 (1996)
- Brainard DH. *The Science of Color*. Elsevier Science, Amsterdam, Nederland, p 192-213 (2003)
- Cho IS, Hong MS, Lee ES, Kim SJ, Lee YC, Kim SD, Jo HB, Kim JH, Jung K. Study of the characteristics of roasted coffee bean in Seoul. *J Food Hyg Saf*, 30, 236-241 (2015)
- Clarke RJ. Packaging of roast and instant coffee. *Coffee*, 2, 201-219 (1987)
- Feldman RS, Ryder WS, Kung JT. Importance of non-volatile compounds to the flavor of coffee. *J Agric Food Chem*, 17, 733-739 (1969)
- Gil JM, Kim SS, Kim JG, Song H, Lee HS, Choi YM. *Coffee Disciplines that Barista Wants to Know*. (co) Gyomoonsa, Paju, Korea, p 24-40, p 69, p 74-77, p 210-231 (2011)
- Go JG. A study on the quality characteristics of Colombia coffee from various processing method and roasting of green bean. MS Thesis, Kyunghee University, Korea, p 20-21 (2017)
- Hughes WJ, Thorpe TM. Determination of organic acids and sucrose in roasted coffee by capillary gas chromatography. *J Food Sci*, 52, 1078-1083 (1987)
- Illy A, Viani R. *Espresso Coffee: The Science of Quality*, 2nd ed. Elsevier Academic Press, San Diego, p 30-34, p 91-94, p 148-157, p 192-194 (2005)
- Kang DH. A study on the chemical properties and antioxidant activity of coffee using *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus plantarum* as starters. MS Thesis, Kangwon University, Korea, p 31 (2023)
- Kang NJ, Lee KW, Kim BH, Bode AM, Lee HJ, Heo YS, Boardman L, Limburg P, Lee HJ, Dong Z. Coffee phenolic phytochemicals suppress colon cancer metastasis by targeting MEK and TOPK. *Carcinogenesis*, 32, 921-928 (2011)
- Kim EJ. The comparative study of components in *luwak* coffee and Indonesian coffee. MS Thesis, Seoul Venture University, Korea, p 2-3 (2012)
- Kim GJ. Studies on the changes in chemical constituents and sensory characteristics of green coffee beans during roasting. Ph D Thesis, Kyunghee University, Korea, p 34-36 (2001)
- Kim IH. Study on the characteristics of green and roasted coffee beans cultivated in Korea and foreign countries. Ph D Thesis, Sejong University, Seoul, Korea, p 66-67 (2020)
- Kim KJ, Park SK. Change in major chemical constituents of green coffee beans during the roasting. *Korean J Food Sci*, 38, 153-158 (2006)
- Knopp S, Bytof G, Selmar D. Influence of processing on the content of sugars in green Arabica coffee beans. *Eur Food Res*, 223, 195-201 (2006)
- Lee HS. Studies on functional cosmetic ingredients by rapid bioconversions using *luwak* AIMS (animal intestine mimic system). MS Thesis, Ajou University, Korea, p 11, p 25 (2016)
- Lee KS, Kim JM, Yoon KY. Physicochemical properties, bioactive composition, and antioxidant activity of different coffee beans dependent on the

- cultivation region. Korean J Food Sci Technol, 49, 474-479 (2017)
- 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)
- Maeil Baristabrules. Special coffees of exceptional birth—from Yemen to *luwak* coffee. Available from: <http://baristarules.maeil.com/blog/1271/> Accessed Aug. 17, 2016.
- Marcone MF. Composition and properties of Indonesian palm civet coffee (*Kopi luwak*) and Ethiopian civet coffee. Int Food Res J, 37, 901-912 (2004)
- Mayer F, Czerny M, Grosch W. Influence of provenance and roast degree on the composition of potent odorants in Arabica coffees. Eur Food Res Technol, 209, 242-250 (1999)
- Mussatto SI, Machado EMS, Martins S, Teixeira JA. Production, composition, and application of coffee and its industrial residues. Food Bioproc Tech, 4, 661-672 (2011)
- Nishizawa C, Guillain Van C. Coffee Science & Function. Kwangmoonkag Publishing Co., Paju, Korea, p 27-45 (2011)
- Park JY. A study of chemical constituents between (*Coffea arabica* L.) defect beans and green beans. MS Thesis, Seoul Venture University, Korea, p 13-21 (2012)
- Park KD. Draw comparison of chlorogenic acid content of the dutch extraction method. Food Serv Ind, 13, 297-305 (2017)
- Park YJ, Lee JW, Han JJ. Five trends and prospects in the coffee industry—the domestic coffee industry has grown to about 7 trillion won! Hyundai Research Institute, 848, 19-25, 1-6 (2019)
- Song YJ. Descriptive analysis and consumer preference testing of commercial ready-to-drink cold brew coffee. MS Thesis, Sejong University, Korea, p 60-62 (2018)
- The Business Research Company. Coffee and Tea Global Market Report 2020-30: COVID-19 Impact and Recovery (2020)
- Trugo LC, Macrae R. A study of the effect of roasting on the chlorogenic acid composition of coffee using HPLC. Food Chem, 15, 219-227 (1984)
- Vignoli JA, Bassoli DG, Benassi MT. Antioxidant activity, polyphenols, caffeine and melanoidins in soluble coffee: The influence of processing conditions and raw material. Food Chem, 124, 863-868 (2011)
- Yu DJ. Coffee Inside. LION, Korea, p 19, p 26-50, p 153-155, p 181-183, p 328-353 (2012)