

## 더치 Coffee Grounds 추출물의 항산화, 주름개선, 항균 효과

박수인\* · 김아름\* · 김선화\* · 안규민 · 김민기 · 신문삼†

을지대학교 대학원 시니어헬스케어학과 화장품약리학 전공  
(2018년 10월 14일 접수: 2018년 12월 12일 수정: 2018년 12월 17일 채택)

### Antioxidant, Anti-wrinkle and Antimicrobial Effects of Coffee Grounds Extract from Dutch Coffee

Su In Park\* · Ah Reum Kim\* · Seon Hwa Kim\* · Gyu Min An  
Min Gi Kim · Moon Sam Shin†

*Department of Senior Healthcare, majored in Cosmetic Pharmacology,  
Eulji University, Seongnam, Gyeonggi 13135, Korea*

*(Received October 14, 2018; Revised December 12, 2018; Accepted December 17, 2018)*

**요약** : 본 연구는 저온, 상압, 긴 시간에 추출되는 더치 coffee grounds에 대하여 상대적으로 고온, 고압, 짧은 시간에 추출되는 에스프레소 coffee grounds와 비교하여 화장품 소재로서 가능성을 확인하는 것이다. 이를 위해서 본 저자들은 더치 coffee grounds의 에탄올 추출물을 사용하여 항산화, 주름개선, 항균효과에 대한 생물학적 활성 평가를 수행하였다. 총 폴리페놀 화합물 함량은 더치 coffee grounds 추출물의 경우  $90.39 \pm 0.04$  mg/g로  $64.96 \pm 0.38$  mg/g의 에스프레소 coffee grounds 추출물보다 더 높은 결과를 나타냈으며, 참고로 기준물질인 원두 coffee beans 추출물은  $113.63 \pm 0.22$  mg/g을 나타내었다. DPPH 라디칼 소거능 및 SOD 유사 활성능 결과에서 기준물질인 원두 coffee bean 추출물에 대하여, 더치 coffee grounds 추출물이 에스프레소 coffee grounds 추출물 보다 좋은 소거능이 제시되었다. Elastase 활성 저해능을 측정 결과에서 원두 coffee bean 추출물을 기준으로, 더치 coffee grounds 추출물이 에스프레소 coffee grounds 추출물 보다 높은 저해능을 나타냈다. 또한 항균 활성 측정 결과에서는 더치 coffee grounds 추출물은 *Escherichia coli*, *Bacillus*, *Propionibacterium acnes*에서 항균 효과가 나타났으며 기준물질인 원두 coffee bean 추출물과 clear zone 크기의 차이가 거의 없었다. 상기 실험 결과로부터 더치 coffee grounds의 우수한 항산화, 주름개선, 항균효능을 확인하였으며 향후 천연 화장품 원료로 사용될 가능성을 확인하였다.

*주제어* : 더치 Coffee Grounds, 항산화, 주름개선, 항균, 화장품 원료

---

†Corresponding author \*Equally contributed  
(E-mail: msshin@eulji.ac.kr)

**Abstract** : This study confirmed possibility of cosmetic material for Espresso coffee grounds extracted at high temperature, high pressure, short time and Dutch coffee grounds extracted at low temperature, atmospheric pressure, long time. For this purpose, we evaluated the biological activities of antioxidant, anti-wrinkles and antimicrobial effects using ethanol extracts of Espresso and Dutch coffee grounds. The results of total polyphenolic compound contents was  $90.39 \pm 0.04$  mg/g for Dutch coffee grounds extract, which was higher than  $64.96 \pm 0.38$  mg/g for Espresso coffee grounds extract, based on  $113.63 \pm 0.22$  mg/g for coffee beans extract as the reference one. DPPH radical scavenging activity and SOD-like activity of Dutch coffee grounds extract were found to be better than those of Espresso coffee grounds extracts, referenced on coffee bean extract. As a result of inhibition effect of Elastase activity, Dutch coffee grounds extract showed higher inhibition effect than Espresso coffee grounds extract, based on coffee bean extract. In addition, Dutch coffee grounds extract showed good anti-microbial effects at *Escherichia coli*, *Bacillus*, *Propionibacterium acnes* and there was little difference in the clear zone size between Dutch coffee grounds extract and coffee bean extract as a reference one. From the results of the experiments, it was confirmed that Dutch coffee grounds extract had excellent antioxidant, anti-wrinkle and antimicrobial effects and could be used as safe natural cosmetic material in the future.

**Keywords** : Dutch Coffee grounds, Anti-oxidant, Anti-wrinkle, Anti-microbial, Cosmetic material

## 1. 서론

커피는 세계에서 가장 인기 있는 기호식품 중 하나이다. 약 80여 개 국가에서 재배되고 있는 커피는 석유 다음으로 큰 무역 상품으로 전 세계적으로 주요 사업 중 하나이다. 통계청에 따르면 커피는 한국에서도 2016년 기준 1인당 연간 428잔 이상을 소비하고 있으며 매년 그 소비량은 증가하고 있다[1]. 커피에는 카페인, 카테킨과 안토시아닌 등의 플라보노이드, 여러 종류의 폴리페놀 화합물 등 유용한 성분들이 함유되어 있어 항산화, 항균 등의 다양한 생리활성 기능을 갖는 것으로 알려져 있다[2,3]. 이러한 커피는 일반적으로 원두를 로스팅 한 후 추출 과정을 거쳐서 음용하게 된다[4]. 커피를 추출하는 대표적인 방법에는 에스프레소, 더치 커피 등이 있다. 에스프레소는 커피머신의 고온, 고압에 의해 빠르게 추출하는 방식이고, 더치 커피는 상압에서 차가운 물을 한방울 한방울 떨어뜨려 천천히 추출하는 방식이며[5], 더치 커피는 추출온도가 높을수록 이화학적 성분이 증가하고 항산화효과도 높아지는 것으로 보고되고 있다[6].

이러한 추출 과정에서 원두의 0.2%만이 사용되고 나머지 99.8%는 커피 찌꺼기로 버려지게

된다. 그 양은 세계적으로 연간 약 6백만 톤에 해당되며 대부분 매립되거나 소각된 채 버려지고 있다. 커피 찌꺼기를 처리하기 위한 사회적 비용은 연간 7,642억 원에 달할 정도로 큰 비용이 발생하며, 처리 과정에서 발생하는 이산화탄소로 인한 환경적인 문제도 대두되고 있다[1,7]. 한편 최근 천연 부산물의 처리에 대한 문제가 부각되면서 OECD 선진국들은 이를 친환경적으로 이용하거나 자원화하기 위한 방안을 마련하기 위해 학계 및 연구계와 연구 협력을 강화하고 있다. 특히 천연물의 부산물에서 생리활성 물질을 추출하여 얻어진 항산화제, 항균제, 천연 색소, 향료 등의 천연 소재를 식품, 화장품, 의약품 등에 적용하려는 시도 및 성공 사례가 증가하고 있다. 즉 천연 부산물로 부터 고가의 기능성 물질을 추출함으로써 이는 폐자원에서 고부가가치 자원으로 전환된 것이다. 이와 같이 천연 부산물은 더 이상 쓰레기가 아닌 고부가가치 자원으로 전환될 수 있다는 인식이 확산되면서 관련 연구 및 투자가 증가고 있는 추세이다[8].

이러한 천연 부산물의 고부가가치 자원으로의 전환은 커피 찌꺼기에서도 응용이 가능하다. 커피 찌꺼기에는 추출되지 않고 남은 생리활성 성분들이 다량 존재하므로 천연소재로 개발 가능성이

충분할 것으로 사료된다[8]. 또한 커피는 추출하는 방법과 조건에 따라서 이화학적 특성이 변화하므로 coffee grounds(커피 찌꺼기)의 성분도 커피의 추출법에 따라 달라질 것으로 생각된다[9]. 최근 에스프레소 coffee grounds에 대한 성분 및 항산화연구는 보고가 되었지만[8,9,10], 더치 coffee grounds에 대한 연구결과는 아직 존재하지 않는다.

따라서 본 연구에서는 저온, 상압이지만 긴 시간에 추출되는 더치 coffee grounds에 대하여, 상대적으로 고온, 고압 그리고 상대적으로 짧은 시간에 추출되는 에스프레소 coffee grounds와 비교하여 항산화, 주름개선, 항균 효능 차이를 비교 분석하여, 큰 시장 규모와 지속적인 성장세를 보이는 기능성 화장품 산업에서 더치 coffee grounds의 활용 방안을 제시하고자 한다.

## 2. 실험

### 2.1. 재료

본 연구에 사용된 커피 원두는 콜롬비아산 40%, 케냐산 30%, 코스타리카산 20%, 과테말라 10%의 비율로 구성되어있으며, 경기도 성남시 수정구에 위치한 “EDIYA COFFEE” 을지대점에서 구매하여 사용하였다. 더치 coffee grounds는 전자 더치 커피기계(ONE DUTCH, Korea)를 이용하여 4시간 동안 커피를 추출한 후의 부산물을 사용하였다. 자세한 추출공정은 원두량 50g, 더치 커피기계를 이용하여 상압(1 atm), 4 ° C 찬물에 1초에 1방울씩 점적식으로 물을 첨가하여 상대적으로 오랜 시간인 10시간동안 추출하여 약 400ml 용액을 얻는다. 그리고 원두잔사량은 45.2g을 얻었다. 3시간이 지나면 100%물을 흡수한다. 원두량(50g) 대비 총 물사용량(400ml) 비율은 12.5%이며, 원두량(50g) 대비 원두잔사(45.2g)의 비율은 90.4%이다.

에스프레소 coffee grounds는 에스프레소 커피기계(RIMINI 2GR, Quality Espresso, Spain)를 통해 커피를 추출한 후의 부산물이며, 상세한 추출조건은 커피 원두량 18g을 고온(95 ° C), 고압(10 atm) 조건에서 물을 20ml를 추가하여 상대적으로 짧은 추출시간 30초하여 추출액 36ml과 16.2g의 coffee grounds를 얻었다. 이후에 124ml 물을 첨가하여 아메리카노 커피로 제조된다. 원두

량(18g) 대비 총 물사용량(144ml) 비율은 12.5%이며, 원두량 (18g) 대비 원두잔사(16.2g)의 비율은 89.40%이다. 더치 Coffee grounds는 모두 70 ° C의 온도에서 건조하여 수분을 제거한 후 밀봉하여 냉장 보관하면서 본 실험의 재료로 사용하였다.

### 2.2. 시약 및 기기

본 연구에서 항산화 효과 측정에 사용한 시약은 Folin-denis reagent (Sigma aldrich, USA), Gallic acid monohydrate (SAMCHUN, KOREA), DPPH (Sigma aldrich, USA), L(+)-Ascorbic acid 99.5% (SAMCHUN, KOREA), SOD Assay Kit (Sigma aldrich, USA)이며, 주름개선 활성 측정에 사용한 시약은 Elastase assay kit (Lifetechnology, USA)이고, 항균 효과 측정에는 MUELLER\_HINTON Broth (OXOID LTD, England), Difco™ Reinforced Clostridial Medium (Becton Dickinson, USA), Bacto™ Agar (Becton Dickinson, USA)를 사용하였다. 또한 항균력 측정에 사용된 균주는 한국 미생물 보존센터로부터 분양받았다. 실험에 사용한 기기는 동결건조기(FD8508, Ilshin Bio Base, KOREA), Microplate reader (Infinite M200PRO, Tecan, Switzerland), Rotary vacuum evaporator (NE-1001, EYELA, JAPAN)이다.

### 2.3. 시료 제조

더치 coffee grounds, 에스프레소 coffee grounds, 원두의 총 세 가지 재료에 대하여 80% 에탄올 추출을 실시하였다. 80% 에탄올과 추출 대상물을 9 : 1 비율로 혼합하여 상온에서 3일간 침지시켜 추출한 것을 필터(ADVANTEC FILTER PAPER 100 circles)를 통해 여과한 후 Rotary vacuum evaporator (EYELA, NE-100NG)로 50 ° C에서 감압농축 하였다. 이러한 과정을 통해 얻어진 에탄올 추출 농축액을 밀봉하여 냉동보관하면서 일정 농도로 희석하여 항산화, 주름개선, 항균 활성 측정을 위한 시료로 사용하였다.

### 2.4. 총 폴리페놀 화합물 함량

총 폴리페놀 화합물 함량은 Folin-Denis 방법으로 측정하였다. 시료는 에탄올(DUKSAN

HPLC GRADE Ethanol)과 증류수 1 : 1 혼합 용매에 녹인 후 농도별로 희석하여 사용하였다. 각 시료와 Folin-Denis' reagent를 1 : 1 비율로 혼합하여 상온에서 3분 간 반응시킨 후  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  10 % solution을 같은 비율로 첨가하여 혼합한 뒤 Microplate reader를 이용하여 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. Gallic acid를 표준물질로 사용하여 표준곡선을 구하여 각 시료의 총 폴리페놀 화합물 함량을 구하였다[11,12].

### 2.5. DPPH 라디칼 소거능

항산화 효과를 측정하기 위하여 비교적 화학적으로 안정화된 프리라디칼인 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)을 이용하여 각 시료의 프리라디칼 소거 활성능을 측정하였다. 에탄올에 DPPH를 희석하여 0.2mM DPPH solution을 제조하였다. 시료는 에탄올과 증류수 1 : 1 혼합 용매에 녹인 후 일정 농도로 희석하여 사용하였다. 각 시료를 0.2mM DPPH solution과 1 : 1 비율로 혼합하여 암실에서 30분 간 반응시킨 후 Microplate reader를 이용해 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH 라디칼 소거능은 시료 용액의 첨가구와 무 첨가구 사이의 흡광도 차이를 백분율로 나타냈다[13,14].

$$\text{DPPH radical scavenging activity (\%)} = (1-A/B) \times 100$$

A: 시료 첨가구의 흡광도,  
B: 시료 무첨가구의 흡광도[15]

### 2.6. SOD 유사 활성능

항산화 활성의 효소적 측정 방법인 Superoxide dismutase (SOD) 유사 활성능 시험법은 SOD kit를 이용하여 측정하였다. 시료는 에탄올과 증류수 1:1 혼합 용매에 녹인 후 농도별로 희석하여 사용하였다. 각 시료 20  $\mu\text{l}$ 와 WST working solution 200  $\mu\text{l}$  및 Enzyme working solution을 20  $\mu\text{l}$ 를 혼합하여 37 °C 인큐베이터에 20분 간 반응시킨 후 Microplate reader를 사용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. SOD 유사 활성능은 시료 용액의 첨가구와 무 첨가구 사이의 흡광도 차이를 백분율로 나타냈다[16,17].

$$\text{SOD-like activity (\%)} = (1-A/B) \times 100$$

A: 시료 첨가구의 흡광도,  
B: 시료 무첨가구의 흡광도[15]

### 2.7. Elastase 활성 저해능

본 실험에서는 BODIPY FL dye가 라벨링 된 soluble bovine neck ligament elastin이 elastase와 반응하여 형광을 띠게 되는 원리를 이용하여 시료의 elastase 활성 저해능을 측정하였다. 이를 위해 Elastase assay kit를 사용하였다. 시료는 에탄올과 증류수 1 : 1 혼합 용매에 녹인 후 농도별로 희석하여 사용하였다. 양성 대조군으로는 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 N-methoxysuccinyl-Ala-Ala-Pro-Val-chloromethyl ketone이 사용되었다. 시료 및 양성 대조군 50  $\mu\text{l}$ 와 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$  DQ elastin 50  $\mu\text{l}$ 를 혼합하고 0.2 U/ml Elastase 100  $\mu\text{l}$ 를 첨가하여 상온에서 30분 간 반응시킨 후 Microplate reader로 Excitation 485 nm, Emission 535 nm로 형광도를 측정하였다. Elastase 활성 저해율은 시료 용액의 첨가구와 무 첨가구의 형광도의 차이를 백분율로 나타냈다.

$$\text{Elastase activity inhibition (\%)} = (1-A/B) \times 100$$

A: 시료 첨가구의 형광도,  
B: 시료 무첨가구의 형광도[18]

### 2.8. 항균 활성

항균 효과는 *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*), *Escherichia coli* (*E.coli*), *Bacillus*, *Propionibacterium acnes* (*P.acnes*)의 총 네가지 균주에 대하여 측정하였다. 시료의 항균력 측정을 위하여 Paper disc 측정법을 이용하였다. 고체 평판배지에 배양된 각 균주를 1백금이 취하여 액체 배지 4 ml 접종한 것을 17 - 20 h 배양하여 활성화 시킨 후, 액체배지 3 ml에 500  $\mu\text{l}$ 를 접종하여 3 - 4 h 분 배양하였다. 균수가  $1 \times 10^6$  -  $5 \times 10^6/\text{ml}$ 이 되도록 고체 평판배지에 균주를 접종한 후 spreader를 이용해 고르게 도말하였다. 각 시료를 농도별로 제조하여 지름 8 mm의 paper disc (Toyo, Japan)에 100  $\mu\text{l}$  흡수시킨 후 균주가 도말된 고체 평판배지에 올려놓고, 37 °C에서 17 - 20 h 배양하여 disc 주위의 clear zone (mm)의 지름을 측정하였다. clear zone은 3회 반복 측정하여 평균값으로 표기하였다[19,20].

**2.9. 통계 처리**

모든 실험의 결과는 3회 반복하여 시행한 것을 평균 ± 표준편차로 표기하였으며, SPSS 18.0 프로그램을 이용하여 독립표본 t-test와 one-way ANOVA 분석으로 p값이 0.05미만 일 때 통계적으로 유의하다고 판단하였다.

**3. 결과 및 고찰**

**3.1. 총 폴리페놀 화합물 함량**

Gallic acid를 표준물질로 표준곡선을 구하여 각 시료의 500 µg/ml 농도에서의 총 폴리페놀 화합물 함량을 측정하였다. Coffee bean ethanolic extracts (CBE)는 113.63 ± 0.22 mg/g, 에스프레소 coffee grounds ethanolic extracts (ECE)는 64.86 ± 0.38 mg/g, Dutch coffee grounds ethanolic extracts (DCE)는 90.39 ± 0.04 mg/g의 폴리페놀 화합물을 함유하고 있었으며, 이는 통계적으로 유의한 차이를 보였다(Table 1).

Table 1. Total Polyphenol Contents of Ethanolic Extracts from Coffee Beans, Espresso Coffee Grounds and Dutch Coffee Grounds

Extracts	Total polyphenol contents (mg/g)
CBE	113.63 ± 0.22
ECE	64.86 ± 0.38
DCE	90.39 ± 0.04

(CBE: Coffee Beans ethanol extracts, ECE: Espresso coffee grounds Ethanol extracts, DCE: Dutch coffee grounds Ethanol extracts)

Coffee bean 추출물(CBE)의 총 폴리페놀 화합물 함량은 에스프레소 coffee grounds 추출물(ECE)의 1.75배, 더치 coffee grounds 추출물(DCE)의 1.25배 함유하고 있었다. Coffee bean 추출물의 총 폴리페놀 화합물 함량이 가장 높았으며, 에스프레소 coffee grounds 추출물보다 더치 coffee grounds 추출물의 총 폴리페놀 화합물 함량이 더 높았다. Coffee bean 추출물과 비교하였을 때 coffee grounds 추출물에도 유사량의 폴리페놀 화합물이 함유되어 있음을 확인할 수 있

었다. 따라서 coffee grounds의 기능성 화장품 소재로서의 충분한 가능성을 확인하였다.

**3.2. DPPH 라디칼 소거능**

DPPH 라디칼 소거능을 측정하기 위하여 coffee bean, 에스프레소 coffee grounds, 더치 coffee grounds 에탄올 추출 농축액을 각각 500 µg/ml, 250 µg/ml, 125 µg/ml의 농도로 희석하여 실험하였다. coffee bean ethanolic extracts (CBE) 500 µg/ml에서 95.49%, 250 µg/ml에서 94.57%, 125 µg/ml에서 74.87%의 소거능을 보였고, 에스프레소 coffee grounds ethanolic extracts (ECE) 500 µg/ml에서 89.33%, 250µg/ml에서 63.92%, 125 µg/ml에서 40.77%의 소거능을 보였으며, 더치 coffee grounds ethanolic extracts (DCE) 500 µg/ml에서 95.31%, 250 µg/ml에서 82.79%, 125 µg/ml에서 55.51%의 DPPH 라디칼 소거능을 확인하였다. 에스프레소 coffee grounds 추출물(ECE)과 더치 coffee grounds 추출물(DCE)은 농도 의존적으로 DPPH 라디칼 소거능이 증가하였으나, coffee bean 추출물(CBE) 250 µg/ml와 500 µg/ml에서는 유의한 차이를 보이지 않았다(Table 2).

Table 2. DPPH radical Scavenging Activity Rate of Ethanolic Extracts from coffee Beans, Espresso coffee Grounds and Dutch coffee Grounds (단위 : %)

Extracts (µg/ml)	CBE	ECE	DCE
500	95.50 ± 0.05	89.33 ± 0.61	95.32 ± 0.05
250	94.57 ± 0.21	63.93 ± 0.91	82.79 ± 0.45
125	74.87 ± 0.35	40.78 ± 0.30	55.51 ± 0.81

(CBE: coffee Beans Ethanol extracts, ECE: Espresso coffee grounds Ethanol extracts, DCE: Dutch coffee grounds Ethanol extracts)

Coffee bean 추출물의 DPPH radical 소거능이 가장 높았으며, 더치 coffee grounds 추출물이 에스프레소 coffee grounds 추출물보다 우수한 소

거능을 보였다. 특히 500  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도에서 coffee bean 추출물과 더치 coffee grounds 추출물의 DPPH radical 소거능이 거의 유사하였다. 또한 대조군인 Ascorbic acid와 비교해보면 Ascorbic acid는 25  $\mu\text{g}/\text{ml}$  농도에서 97.71%의 DPPH radical 소거능을 나타내었고, 더치 coffee grounds 추출물은 500  $\mu\text{g}/\text{ml}$  농도에서 95.31%의 소거능을 나타냈다. 둘 사이의 농도의 차이는 있지만 유사한 소거능을 보였다. 즉 Ascorbic acid보다 DPPH 라디칼 소거능이 우수하지는 않지만, Ascorbic acid가 매우 강한 항산화 물질임을 고려하였을 때 coffee grounds 추출물 또한 높은 항산화 활성을 갖는 것으로 생각된다. 이를 통해 coffee grounds 속에도 항산화 물질이 다량 함유되어 있는 것을 확인하였고, 기능성 화장품 소재로서의 개발 가능성 또한 확인하였다.

### 3.3. SOD 유사 활성능

SOD 유사 활성능을 측정하기 위하여 coffee bean, 에스프레소 coffee grounds, 더치 coffee grounds 에탄올 추출 농축액을 각각 500  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 250  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 125  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 희석하여 실험하였다. coffee bean ethanolic extracts (CBE) 500  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 97.93%, 250  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 92.40%, 125  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 71.42%의 활성능 나타내었고, 에스프레소 coffee grounds ethanolic extracts (ECE) 500  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 92.77%, 250  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 69.10%, 125  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 44.85%의 활성능을 나타냈으며, 더치 coffee grounds ethanolic extracts (DCE) 500  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 95.47%, 250  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 82.18%, 125  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 53.08%의 SOD 유사 활성능을 보였다. 모든 추출물은 농도 의존적으로 SOD 유사 활성능을 보였다(Table 3).

Coffee bean 추출물(CBE)의 SOD 유사 활성능이 가장 높았으며, 더치 coffee grounds 추출물(DCE)이 에스프레소 coffee grounds 추출물(ECE)보다 높은 활성능을 보였다. 이는 더치 커피 추출 공정보다 에스프레소 추출 공정을 통해 물에 잘 녹지 않는 성분들이 고온, 고압에 의하여 많이 추출된 것으로 추측할 수 있다.

Table 3. SOD-like Activity Rate of Ethanolic Extracts from of coffee Beans, Espresso coffee Grounds and Dutch coffee Grounds

(단위 : %)

Extracts ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	Extracts		
	CBE	ECE	DCE
500	97.93 $\pm 0.08$	92.77 $\pm 0.25$	95.47 $\pm 0.36$
250	92.41 $\pm 1.24$	69.11 $\pm 0.59$	82.18 $\pm 1.48$
125	71.42 $\pm 0.39$	44.86 $\pm 0.49$	53.09 $\pm 2.47$

(CBE: coffee Beans Ethanol extracts, ECE: Espresso coffee grounds Ethanol extracts, DCE: Dutch coffee grounds Ethanol extracts)

### 3.4. Elastase 활성 저해능

Elastase 활성 저해능을 측정하기 위하여 coffee bean, 에스프레소 coffee grounds, 더치 coffee grounds 에탄올 추출 농축액을 각각 250  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 125  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 62.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 희석하여 실험하였다. coffee bean ethanolic extracts (CBE) 250  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 52.70%, 125  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 42.40%, 62.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 33.81%의 저해능을 보였고, 에스프레소 coffee grounds ethanolic extracts (ECE) 250  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 34.14%, 125  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 27.93%, 62.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 15.21%의 저해능을 보였으며, 더치 coffee grounds ethanolic extracts (DCE) 250  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 48.74%, 125  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 36.03%, 62.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 23.55%의 Elastase 활성 저해능을 나타내었다. 에스프레소 coffee grounds 추출물(ECE) 125  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 와 250  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 Elastase 활성 저해율 사이에서는 유의한 차이를 확인할 수 없었으며, 모든 추출물은 농도 의존적으로 Elastase 활성을 저해하였다(Table 4).

Table 4. Elastase Activity Inhibition Rate of Ethanolic Extracts from coffee Bean, Espresso coffee Grounds and Dutch coffee Grounds

Extracts ( $\mu\text{g/ml}$ )	(단위 : %)		
	CBE	ECE	DCE
250	52.70 $\pm 1.49$	34.14 $\pm 1.15$	48.74 $\pm 0.62$
125	42.40 $\pm 0.44$	27.93 $\pm 0.20$	36.03 $\pm 0.56$
62.5	33.81 $\pm 1.32$	15.21 $\pm 3.11$	23.55 $\pm 1.06$

(CBE: coffee Beans Ethanol extracts, ECE: Espresso coffee grounds Ethanol extracts, DCE: Dutch coffee grounds Ethanol extracts)

Elastase 활성 저해능은 모든 농도에서 coffee bean 추출물(CBE), 더치 coffee grounds 추출물(DCE), 에스프레소 coffee grounds 추출물(ECE) 순으로 우수한 것으로 나타났다. 250  $\mu\text{g/ml}$  농도에서 coffee bean 추출물은 52.70%의 Elastase 활성 저해율을 나타내었고, 더치 coffee grounds 추출물은 48.74%, 에스프레소 coffee grounds 추출물은 34.14%의 Elastase 활성 저해율을 보여 coffee bean 추출물보다 0.7배, 0.9배 저해능을 나타내었다.

### 3.5. 항균 활성

항균 활성을 측정하기 위하여 coffee bean, 에스프레소 coffee grounds, 더치 coffee grounds 에탄올 추출 농축액을 각각 5 mg/ml, 2.5 mg/ml의 농도로 제조하여 사용하였다.

*Bacillus*에 대한 clear zone은 coffee bean 추출물(CBE) 2.5 mg/ml, 5.0 mg/ml에서 10.4 mm, 10.46 mm를 나타냈고, 에스프레소 coffee grounds 추출물(ECE) 2.5 mg/ml, 5.0 mg/ml에서 9.8 mm, 10.55 mm를 나타냈으며, 더치 coffee grounds 추출물(DCE) 2.5 mg/ml, 5.0 mg/ml에서 10.32 mm, 10.45 mm의 clear zone을 보였다. coffee bean, 에스프레소 coffee grounds, 더치 coffee grounds

추출물 모두 항균 활성을 가졌고, 추출물간 clear zone의 크기는 유의한 차이를 보이지 않았다. *E. coli*에 대한 clear zone을 측정한 결과 coffee bean 추출물 2.5 mg/ml, 5.0 mg/ml에서 10.03 mm, 10.33mm를 나타냈고, 에스프레소 coffee grounds 추출물 2.5 mg/ml, 5.0 mg/ml에서 9.5 mm, 10.25 mm를 나타냈으며, 더치 coffee grounds 추출물 2.5 mg/ml, 5.0 mg/ml에서 9.65 mm, 10.35 mm의 clear zone이 확인되었다. coffee bean, 에스프레소 coffee grounds, 더치 coffee grounds 추출물 모두 항균 활성을 가졌고, 추출물간 clear zone의 크기는 유의한 차이를 보이지 않았다(Figure 1).

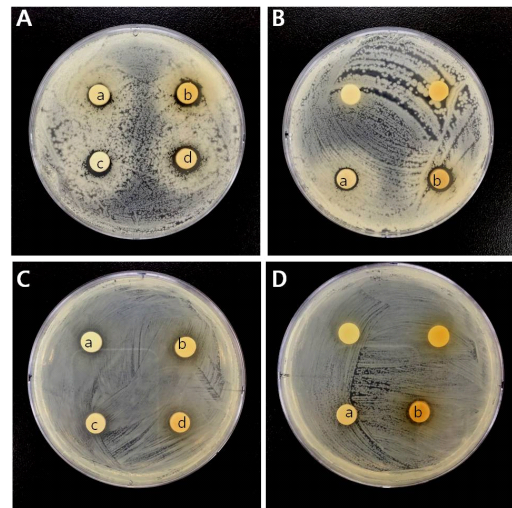


Fig. 1. Inhibitory effect of CBE, ECE, DCE on *Bacillus* and *Escherichia coli* (A,B : *Bacillus*, C,D : *Escherichia coli*, A-a,b : coffee beans Ethanol extract 2.5 mg/ml, 5.0 mg/ml, A-c,d : Espresso coffee grounds Ethanol extract 2.5 mg/ml, 5.0 mg/ml, B-a,b : Dutch coffee grounds Ethanol extract 2.5 mg/ml, 5.0 mg/ml, C-a,b : coffee beans Ethanol extract 2.5 mg/ml, 5.0 mg/ml, C-c,d : Espresso coffee grounds Ethanol extract 2.5 mg/ml, 5.0 mg/ml, D-a,b : Dutch coffee grounds Ethanol extract 2.5 mg/ml, 5.0 mg/ml).

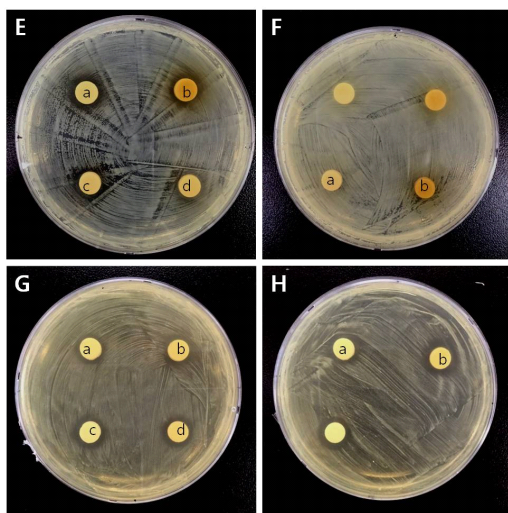


Fig. 2. Inhibitory effect of CBE, ECE, DCE on *Staphylococcus aureus*, *Propionibacterium acnes*, E,F : *Staphylococcus aureus*, G,H : *Propionibacterium acnes*, E-a,b : coffee beans Ethanol extract 2.5 mg/ml, 5.0 mg/ml, E-c,d : Espresso coffee grounds Ethanol extract 2.5 mg/ml, 5.0 mg/ml, F-a,b : Dutch coffee grounds Ethanol extract 2.5 mg/ml, 5.0 mg/ml, G-a,b : coffee beans Ethanol extract 2.5 mg/ml, 5.0 mg/ml, G-c,d : Espresso coffee grounds Ethanol extract 2.5 mg/ml, 5.0 mg/ml, H-a,b : Dutch coffee grounds Ethanol extract 2.5 mg/ml, 5.0 mg/ml).

*S. aureus*에 대한 clear zone은 coffee bean 추출물과 에스프레소 coffee grounds 추출물에서만 확인할 수 있었다. coffee bean 추출물 2.5 mg/ml, 5.0 mg/ml에서 10.2 mm, 10.76 mm을 나타냈고, 에스프레소 coffee grounds 추출물 2.5 mg/ml, 5.0 mg/ml에서 10.13 mm, 10.6 mm의 clear zone을 보였다. 이들의 clear zone의 크기는 유의한 차이를 보이지 않았다. *P. acnes*에 대한 clear zone은 coffee bean 추출물 2.5 mg/ml, 5.0 mg/ml에서 11.3 mm, 12.1 mm를 나타냈고, 에스프레소 coffee grounds 추출물 2.5 mg/ml, 5.0 mg/ml에서 11.29 mm, 12.22 mm를 나타냈으며, 더치 coffee grounds 추출물 2.5 mg/ml, 5.0 mg/ml에서 10.75 mm, 11.3 mm의 clear zone이 확인되었다. coffee

bean, 에스프레소 coffee grounds, 더치 coffee grounds 추출물 모두 항균 활성을 가졌고, 추출물간 clear zone의 크기는 유의한 차이를 보이지 않았다. (Figure 2). 항균력 측정결과, 커피 추출 후 버려지는 coffee grounds에도 항균 활성 성분이 존재하는 것으로 확인되었다. 특히, *P. acnes*에 대한 항균력은 여드름 화장품의 천연 항균제로 다양한 활용이 가능할 것으로 사료된다.

#### 4. 결론

본 연구에서는 고온, 고압, 짧은 시간에 추출되는 에스프레소 coffee grounds와 저온, 상압, 긴 시간에 추출되는 더치 coffee grounds 추출물의 항산화, 주름개선, 항균 효과를 coffee bean 추출물과 비교하여 분석함으로써 천연 부산물인 커피 찌꺼기의 기능성 화장품 소재로의 활용 가능성을 제시하고자 하였다.

1. 총 폴리페놀 화합물 함량은 coffee bean 추출물을 기준으로 더치 coffee grounds 추출물이, 에스프레소 coffee grounds 추출물 보다 좋은 결과가 나타났다. DPPH 라디칼 소거능과 SOD 유사 활성능 측정 결과에서도 coffee bean 추출물을 기준으로 더치 coffee grounds 추출물, 에스프레소 coffee grounds 추출물 순으로 소거능이 높은 것으로 나타났다.
2. Elastase 활성 저해능 또한 항산화 활성과 동일하게 coffee bean 추출물을 기준으로 더치 coffee grounds 추출물이 에스프레소 coffee grounds 추출물 보다 좋은 결과가 나타났다. 또한 coffee grounds를 coffee bean과 비교하였을 때 coffee grounds도 유사한 Elastase 활성 저해능을 가지는 것을 확인하여 주름개선 기능성 화장품 소재로서의 활용 가능성을 보였다.
3. 항균 활성 측정 결과, 더치 coffee grounds 추출물의 *S. aureus*에 대한 활성을 제외한 모든 실험에서 항균 효과가 나타났다. 또한 coffee bean 추출물과 coffee grounds 추출물간 clear zone 크기의 차이가 거의 없어 coffee grounds에는 다량의 항균 성분이 남아있음을 알 수 있었다.



본 연구 결과를 바탕으로 coffee grounds를 기능성 화장품의 소재로 활용한다면 커피 찌꺼기 처리에 의해 발생하는 사회적 비용 및 환경오염을 감소시킬 뿐만 아니라, 폐자원을 고부가가치 자원으로 전환시킨 좋은 사례가 될 것이라 사료된다.

### 감사의 글

본 연구는 2017년도 과기정통부의 재원으로 한국연구재단 바이오·의료기기개발사업의 지원을 받아 수행되었음(No. 2017M3A9D8048416).

### References

1. G. U. Nam, M. S. Kim, J. W. Ahn, "Analyses for current research status for the coffee by-product and for status of coffee wastes in seoul", *Journal of Energy Engineering*, Vol.26, No.4 pp. 14-22, (2017).
2. H. I. Kim, J. Y. Lee, J. Y. Bae, S. I. Yang, H. J. Kim, M. J. In, D. C. Kim, "Total phenolic content and free radical scavenging activity of roasted ground coffee residue extract", *Research on Restaurant Management*, Vol.9, No.1 pp. 1-10, (2013).
3. S. I. Yang, H. J. Kim, Y. S. Yang, B. S. Oh, D. C. Kim, "Comparison of antioxidative ability between coffee bean and coffee residue extracts", *Research on Restaurant Management*, Vol.10, No.1 pp. 73-82, (2014).
4. Y. H. Choi, S. E. Kim, J. Huh, Y. H. Han, M. J. Lee, "Antibacterial and antioxidative activity of roasted coffee and red ginseng mixture extracts", *Korean journal of food science and technology*, Vol.41, No.3 pp. 320-326, (2012).
5. J. B. Eun, M. Yeon, Jo, J. S. Im, "Physicochemical characteristics of coffee extracts using different extraction methods", *Korean journal of food science and technology*, Vol.46, No.6 pp. 723-728, (2014).
6. Y. J. So, M. W. Lee, K. M. Yoo, H. J. Kang, I. K. Hwang, "Physicochemical characteristics and antioxidant activity of dutch coffee depending on different extraction conditions and storage", *Korean journal of food science and technology*, Vol.46, No.6 pp. 671-676, (2014).
7. H. Y. Song, H. M. Kim, W. S. Kim, M. S. Yang, E. H. Byun, B. S. Jang, D. S. Choi, E. B. Byun, "Effect of gamma irradiation on the color values and physiological properties of spent coffee ground extraction", *Korean journal of food science and technology*, Vol.49, No.5 pp. 544-549, (2017).
8. B. A. Kim, "Development and application of material for natural product residue using cosmetic conversions technology - focused on study of emulsion stability using coffee residue oil", *Culture and Convergence*, Vol.39, No.4 pp. 177-202, (2017).
9. 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*, Vol.45, No.5 pp. 76-83 (2016).
10. D. K. Han, H. J. Lee, E. H. Lee, H. D. Paik, D. K. Shin, D. S. Park, H. S. Hwang, W. S. Hong, "Consumers' purchasing behavior of functional cosmetics and Inula based functional cosmetics merchandising research", *Journal of Korea Academy Industrial Cooperation Society*, Vol.17, No.8 pp. 236-250, (2016).
11. Y. M. Kim, H. J. Jeong, H. S. Chung, J. H. Seong, H. S. Kim, D. S. Kim, Y. G. Lee, "Anti-oxidative activity of the extracts from houttuynia cordata thunb. fermented by lactic acid bacteria", *Journal of Life Science*, Vol.26, No.4 pp.

- 468-474, (2016).
12. E. H. Lee, S. H. Hong, Y. J. Cho, "Biological activities of extracts from okkwang (*castanea crenata*) chestnut bur", *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, Vol.46, No.5 pp. 572-580, (2017).
  13. H. O. Boo, S. J. Hwang, C. S. Bae, S. H. Park, W. S. Song, "Antioxidant activity according to each kind of natural plant pigments", *Korean Journal of Plant Resources*, Vol.24, No.1 pp. 105-112, (2011).
  14. J. A. Lee, D. S. Jung, "Screening of the antioxidant and anti-elastase activities for the extracts of jeju endemic plants", *Journal of educational Research Institute*, Vol.13, No.2 pp. 249-269, (2011).
  15. M. J. Kim, E. J. Park, "Feature analysis of different in vitro antioxidant capacity assays and their application to fruit and vegetable samples", *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, Vol.40, No.7 pp. 1053-1062, (2011).
  16. E. K. Cho, K. I. Jung, Y. J. Choi, "Anti-diabetic, alcohol metabolizing enzyme, and hepatoprotective activity of acer tegmentosum maxim. stem extracts", *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, Vol.44, No.12 pp. 1785-1792, (2015).
  17. B. K. Noh, J. K. Lee, Y. D. Won, H. J. Park, S. J. Lee, "The antioxidative effect of black garlic extract on paraquat-induced oxidative stress in ICR mice", *Korean journal of food science and technology*, Vol.43, No.6 pp. 760-765, (2011).
  18. E. Y. Jung, Y. H. Hong, S. H. Kim, H. J. Suh, "Physiological effects of formulations added with black garlic extract on skin care: oxidative stress, tyrosinase and elastase activities", *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, Vol.39, No.5 pp. 662-668, (2010).
  19. M. Y. Park, M. K. Yoon, J. H. Kwak, "Antimicrobial and antioxidant activities in different parts and cultivars of broccoli", *Korean Journal of Horticultural Science & Technology*, Vol.32, No.3 pp. 408-414, (2014).
  20. M. H. Lee, J. w. Lee, C. Park, M. H. Han, S. H. Hong, Y. H. Choi, "Antioxidant, antimicrobial and anticancer properties of seven traditional herb-combined remedies", *Journal of Life Science*, Vol.25, No.4 pp. 406-415, (2015).