Journal of the Korea Organic Resources Recycling Association, 24(4), pp.85-94 (2016)
ISSN 1225-6498 eISSN 2508-3015 https://doi.org/10.17137/korrae.2016.24.4.85

Original paper

커피박 퇴비 추출물의 식물병원균에 대한 항균력 검정

김민정, 심창기†, 김용기, 박종호, 한은정, 김석철
농촌진흥청 국립농업과학원 유기농업과

The Antifungal Activity of Coffee Ground Compost Extract against Plant Pathogens

Min-Jeong Kim, Chang-Ki Shim†, Yong-Ki Kim, Jong-Ho Park, Eun-Jung Han, Seok-Cheol Kim,
Organic Agricultural Division, National Institute of Agricultural Science, Rural Development Administration, Wanju 55365, Republic of Korea

(Received: Dec. 5, 2016 / Revised: Dec. 10, 2016 / Accepted: Dec. 12, 2016)

ABSTRACT: The purpose of this study was to characterize the coffee ground and its possibility to develop the antifungal activity. pH, EC, and Zn contents of the coffee ground from coffee shops were higher than those of commercial coffee ground, but there was no significant difference in K_2O, CaO, MgO, Na_2O, Mn contents. The antimicrobial activity of the water soluble extracts from the coffee shop and the commercial coffee ground were tested for six major plant pathogens, *Rhizoctonia solani, Sclerotinia sclerotiorum, Fusarium oxysporum, Phytophthora capsici, Alternaria alternata*, and *Botrytis cinerea*. The result showed that there was reliable antifungal activity against all of tested plant pathogenic fungi. The inhibition effects of coffee ground compost extract on the spore germination and zoospore formation were investigated. Water soluble extracts of the coffee ground compost mixture added with 10% sesame oil cake were significantly inhibited the growth of conidia germination of *A. altanata* and zoospore formation of *P. capsici in vitro*. For investigating the functional materials of coffee ground compost, it was measured the total polyphenolic compounds contents with 30 days interval during decomposing coffee ground for 90 days. The total polyphenolic content increased with decomposing periods, and it observed that the highest total polyphenolic content was 0.35±0.03 mg GAE/g on the 90th day in the coffee ground compost added with 10% sesame oil cake.

Keywords: Antifungal activity, Coffee ground, Compost, Polyphenolic compound

초 록: 본 연구의 목적은 기능성 커피박 퇴비를 개발하고자 커피박과 커피박 퇴비의 특성을 분석하였다. 커피전문점의 커피박 pH, EC, Zn 함량이 상업용 커피박보다 높게 나타났으나 K_2O, CaO, MgO, Na_2O, Mn 함량은 유의적인 차이가 없었다. 주요 식물병원균 6종(*Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium oxysporum*, *Phytophthora capsici*, *Alternaria alternata*, and *Botrytis cinerea*)에 대한 커피전문점과 상업용 커피박 퇴비의 수용성 추출물의 항균활성을 검정한 결과, 공시한 6종의 식물병원균에 대한 항균력이 있음을 확인하였다. 커피박 추출물의 *A. altanata* 포자발아 억제 및 *P. capsici* 유주자낭 형성 억제효과를 조사 한 결과, 10% 깻묵+커

† Corresponding Author (e-mail: ckshim@korea.kr)

피박 퇴비 수용성 추출물이 *A. altanata*의 분생포자 발아관의 신장과 *P. capsici*의 유주자낭 형성을 유의적으로 억제하였다. 커피박 퇴비의 기능성을 조사하고자 커피박을 90일간 부숙시키면서 30일 간격으로 총 폴리페놀 함량을 조사한 결과, 총 폴리페놀 함량은 부숙시간의 경과에 따라 증가하였으며, 10% 깻묵+커피박 퇴비에서 90일째에 가장 높은 총 페놀 함량인 평균 0.35±0.03 mg GAE/g로 나타냈다.

주제어: 항균력, 커피박, 유기물 퇴비, 식물병원균

1. 서 론

유기성 폐기물인 커피박의 생성은 세계적으로 연간 6백만 톤 이상으로 추산되고 있다[1]. 우리나라 커피원두를 전량 수입하고 있으며 그 수입량은 2015년 약 13만 톤으로 2011년 약 11만 톤에 비해 약 18.1%가 증가하였다[2),3)]. 커피박은 커피원두로부터 커피를 추출한 후 폐기되는 유기성 폐기물로서 버려지는 커피찌꺼기로 매년 증가하고 있는 추세이다[3)].

커피액을 추출하고 남은 부산물인 커피박에는 조단백질(10%), 조섬유(23%), 조지방(6%)이 함유되어 있으며[4)], 특히 다양한 생리활성물질을 포함하는데 polyphenol[4)], tannin acid[5)], flavonoids(catechins, anthocyanins 등), caffeic acid 및 ferulic acid 등을 주로하여 nicotinic acid, trigonelline, quinolinic acid, pyrogallic acid 및 caffeine 등이 밝혀져 있다[6)].

커피박에 관한 연구 분야를 살펴보면, 바이오메스의 일종인 커피 폐기물을 이용한 활성탄의 제조[7),8)], 폐수 슬러지의 호기성 퇴비화[9)], 커피 찌꺼기를 이용하여 폐수 중의 Pb와 Cr 등과 같은 중금속 제거[10),11)], 질산성 질소의 제거능[12)] 등 흡착제로의 활용이 대부분이다. 커피박을 이용한 또 다른 활용 방안으로 바이오에너지 생산기술 개발[13)], 바이오 디젤이나 화장품 원료로 활용[14–16)]이나 가축분뇨와 커피박의 혼합물을 고형폐기물연료(SRF)로서 활용[17)], 커피박을 첨가하여 중밀도 섬유관 제조[18)] 등이 현재 연구되고 있다.

농업분야에서의 커피박의 이용연구는 사료 또는 비료 첨가물[19),20)], 버섯재배용 배양토 혼합물[21)]로서의 이용, 커피부산물을 이용한 친환경적 퇴비화 연구[22)], 커피 폐기물을 활용한 식생토사 면의 안정성 개선[23)], 고구마뿌리혹선충 방제를 위한 토양개량제[24)]로서 활용 등의 연구가 진행된 것으로 보고되었다.

커피박의 재활용은 가정이나 커피 전문점에서 방향제나 화분의 거름 등으로 매우 제한적으로 활용되고 있어 막대한 양의 커피찌꺼기 폐기로 인해 환경적, 경제적 문제 등을 야기하는 것으로 보고되고 있어 커피박의 재활용에 대한 필요성이 제기되고 있다.

따라서, 본 연구에서는 커피박의 재활용을 높이기 위해 기능성 커피박 퇴비를 개발하고자 커피박 퇴비로부터 추출한 수용성 추출물의 총페놀함량 및 주요 식물병원균의 균사생육, 포자 발아관 생장, 그리고 유주자낭 형성에 미치는 영향을 비교분석 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 커피박 및 커피박 퇴비 준비

2016년 커피박은 커피전문점 6곳으로부터 커피액을 추출한 후 버려지는 커피박을 수거하여 시험에 사용하였다. 수거한 커피박은 풍건하여 수분을 제거한 후 사용하였으며, 상업용 커피박은 3곳의 인스턴트 커피 전문 생산 업체로부터 폐기하는 커피박을 구입하여 사용하였다.

커피박을 이용한 커피박 퇴비는 국립농업과학원 유기농업과 온실에서 자가제조하여 사용하였다. 커피박 제조에 질소원으로 사용한 깻묵은 충북 영동군 재래시장에서 유기적으로 재배한 참깨로부터 참기름을 추출한 것을 확보하였다. 커피박과 깻묵은 7:3의 비율로 혼합한 후, 수분함량을 60%로 조절하여 50 L의 플라스틱 원통에 넣고 교반과 공기를 주입하고자 2주 간격으로 1회 정도 뒤집기를 하여 커피박 퇴비의 부숙온도를 50℃ 이상 2개월간 유지하면서 부숙시켜 제조하였다. 커피박 퇴비의 완성도는

커피박 퇴비의 온도가 더 이상 올라가지 않은 시점에서 다시 최소 30일 간의 후숙과정을 거쳐 커피박 퇴비를 제조하여 시험에 사용할 수 있도록 하였다.

2.2 커피박 퇴비 추출물 준비

실험에 사용한 커피박 및 커피박 퇴비의 수용성 추출물은 수집한 커피박 및 자가 제조한 커피박 퇴비를 전 처리 없이 100 g을 정량하여 500 mL 삼각 플라스크에 넣고 300 mL 멸균증류수를 부은 후에 상온에서 250 rpm에서 24시간 동안 교반하였다. 여과를 통하여 여과액과 찌꺼기를 분리하였고, 여과 후 남은 찌꺼기는 다시 300 mL 멸균증류수를 첨가하여 동일한 방법으로 총 3회에 걸쳐서 추출을 하였다. 여과 한 용액은 합하여 감압하에 로터리 농축기에서 최종 10 mL까지 농축하였고, 농축액은 더 이상의 정제과정 없이 -4℃에서 냉동보관하면서 항균력 검정 및 총 페놀함량 검정실험에 사용하였다.

2.3 총 폴리페놀 함량 측정

커피박 단독, 10% 깻묵+커피박 퇴비, 깻묵 단독 재료를 동일한 조건에서 90일간 부숙시키면서 30일 간격으로 총 폴리페놀 함량을 Folin-Ciocalteu법[25]에 따라 측정하였다. 커피박 및 커피박 퇴비에서 물로 추출한 시료를 10배로 희석하여 실험에 사용하였다. 이 희석액 0.4 mL를 취하여 증류수 3.0 mL와 혼합한 후에 Folin-Ciocalteu phenol reagent (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) 0.2 mL를 넣었고, 이 용액에 포화 Na_2CO_3 용액 0.4 mL를 넣고 강하게 저어준 다음 1시간 정치시켰다. 총 폴리페놀 함량을 측정하기 위하여 UV spectrophotometer를 이용하여 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 폴리페놀 함량의 산출은 표준물질로 gallic acid를 사용하여 표준 검량선을 구하였고, 검량선으로부터 총 폴리페놀 함량을 gallic acid equivalents(GAE mg/g)로 환산하였다.

2.4 식물병원균 배양

실험에 사용한 주요 식물병원균은 오이 잘록병을 일으키는 *Rhizoctonia solani* AG-1B(KACC 40111), 상추 균핵병을 일으키는 *Sclerotinia sclerotiorum* (KACC 40457), 상추 시들음병을 일으키는 *Fusarium oxysporum*(KACC40032), 오이 역병을 일으키는 *Phytophthora capsici*(KACC 40181), 참깨 검은무늬병을 일으키는 *Alternaria alternata*(KACC40019), 토마토 잿빛곰팡이병을 일으키는 *Botrytis cinerea* (KACC 40574) 등 6종으로 국립농업미생물자원센터(KACC)로부터 분양 받아 사용하였다. 6종의 식물병원균은 PDA(20g Potato, 18g dextrose, 18g Agar, 1000ml 멸균수) 배지에서 기본적으로 배양하였고 배양조건은 병원균의 최적생육조건을 고려하여 20~25℃에서 7일간 배양하여 사용하였다.

2.5 항균력 검정

주요 식물병원균 6종에 대한 커피박 퇴비 수용성 추출물의 항균활성은 다음과 같은 방법으로 검정하였다. 6종의 식물병원균을 시험 전 PDA배지에 접종하여 5일간 배양한 후, 균사가 자란 PDA 배지 가장자리 부분을 8 mm 지름의 멸균된 corker borer로 병원균의 균사를 포함하고 있는 agar disk를 뚫은 후, 깨끗한 PDA 배지의 한가운데 접종한 다음 3 cm 정도 떨어진 곳에 8 mm paper disc(Whatman, USA)를 치상하고 각각의 커피박 추출물 원액을 20 μL씩 점적 처리하였다. 치상한 후 25℃ 배양기에서 7일간 배양한 다음 균사 생육 저지원(Inhibition zone)을 측정함으로써 병원균의 균사 생장억제 효과를 처리당 5반복씩 조사하였다[26].

2.6 포자발아 억제

커피박 추출물의 참깨 검은무늬병원균(*A. alternata*)의 포자발아 억제정도는 PDA배지에서 7일간 배양하여 생성된 검은무늬병원균 분생포자를 멸균증류수 15 mL 수거하여 균사를 걸러내고 분생포자 현탁액(10^3 spores/mL)을 만들었다. 여과한 커피박 추출액 100 μL와 검은무늬병원균 분생포자 현탁액 100 μL를 혼합하여 오염되지 않은 PDA 배지위에 분주하여 도말하였고, 25℃ BOD incubator (VS-3250, Vision Scientific Co. Ltd., Daejeon, Korea)에서 배양하면서 포자발아 정도를 처리 당 5반복씩 광학현미경(Alphat, Nikon, Tokyo, Japan)으로 조사하였다.

2.7 유자낭 형성 억제

커피박 추출물의 고추 역병균(*P. capsici*)의 유주자낭 형성정도에 미치는 영향을 조사하고자 PDA배지에서 배양한 고추역병균 균총을 V-8 juice agar(4 g $CaCO_3$, 200 mL V-8 juice, 20 g agar, 1000 mL 멸균수)에서 7일간 배양한 후, 역병균의 균총을 메스를 이용하여 2 cm^2의 정사각형으로 절단하여 빈 petri-dish에 3조각 씩 치상하였다. 그 다음, 물로 추출하여 여과한 커피박 추출액 20 mL를 3 조각씩 치상된 petri-dish에 분주하고, 24시간 형광등 아래에서 배양하여 1 mm^2당 형성된 유주자낭의 수를 광학현미경(Alphat, Nikon, Tokyo, Japan)으로 처리당 5반복씩 조사하였다.

2.8 통계 분석

시험별 통계분석은 커피전문점과 상업용 커피박의 화학성분 및 polyphenol 함량 비교 및 커피박 추출물 처리에 따른 6종의 식물병원균에 대한 항균력과 곰팡이 포자 발아관 생육 및 유주자낭 형성 억제효과를 분석하기 위해 SAS ver. 8.2(SAS Institute, Inc. 2003, Cary, NC) program[27]을 이용하여 ANOVA분석을 하였으며, 처리평균 간 비교를 위하여 Turkey's test(P = 0.05)를 실시하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 커피박 출처에 따른 화학적 조성

커피전문점의 커피박 6종류와 상업용 커피박은 3종류에 대해 유기물 퇴비 재료로서 이화학성을 분석하고자 pH, EC, 칼륨, 칼슘, 마그네슘, 나트륨, 붕소, 망간, 아연 함량을 각각 분석하였더니, pH, EC, Zn의 함량은 상업용 커피박보다 커피전문점의 커피박에서 높게 나타난 반면 K_2O, CaO, MgO, Na_2O, Mn 함량은 두 종류의 커피박 처리별로 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났다[Table 1]. 커피전문점 커피박 6종류의 평균 pH와 EC는 5.4 와 2.7 dS/m로 상업용 커피박의 평균 pH와 EC가 5.1과 1.9 dS/m에 비해 각각 약 0.3과 0.8 정도 유의적으로 높은 것으로 나타났다. Zn의 함량은 상업용 커피박이 1.7 mg/kg인데 비해 커피전문점의 커피박은 1.3 mg/kg으로 약 0.4 mg/kg 낮게 조사되었다. 붕소(B)는 두 종류의 커피박 모두에서 검출한계 이하로 조사되었다[Table 1].

커피추출물의 성분 및 함량은 커피의 품종에 따라 차이가 있고 추출하는 방법이나 조건에 따라 차이가 많은 것으로 보고되어 있다[28]. 커피부산물을 이용한 친환경적 퇴비화 연구에서 재료인 커피박을 분석한 결과 K_2O는 평균 14.7%, CaO는 평균 4.4%, MgO는 평균 4.8%, Na_2O는 0.4%인 것으로 보고한 바 있다[22]. 본 실험결과에서 조사된 Na_2O 값을 제외하고 K_2O, CaO, MgO, Na_2O 등의 성분함량이 높게 보고되었다. 커피박을 이용한 폐수중의 중금속 제거를 위해 커피전문점으로부터 수집한 커피박의 성분조성을 조사한 결과, K_2O는 0.35~0.45 g/kg, CaO는 0.05~0.065 g/kg, MgO는 0.15~0.25 g/kg, Na_2O는 0.40~0.60 g/kg으로 보고되었다[29]. 본 실험결과에서 조사된 K_2O, CaO, MgO, Na_2O 등의 성분함량보다 매우 낮은 수치를 나타낸 반면, Zn은 9~12 mg/kg으로 본 실험에서 조사한 함량보다 매우 높게 조사되어 커피박의 출처에 따라 기본적인 화학성분의 함량 차이가 있음을 확인할 수 있었다.

Table 1. Chemical characteristics from hand made (HM) and commercial (CO) coffee ground used in this study

Source	pH	EC (ds/m)	K_2O	CaO	MgO	Na_2O	B (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Zn (mg/kg)
			———— wt % ————						
HM	5.4±0.2 a[1)]	2.7±0.2 a	6.6±2.2 a	1.4±0.2 a	1.6±0.1 a	0.5±0.1 a	–[2)]	0.03±0.0 a	1.7±0.8 a
CO	5.1±0.1 b	1.9±0.1 b	6.6±0.8 a	1.4±0.1 a	1.6±0.2 a	0.2±0.1 b	–	0.02±0.1 a	1.3±0.5 b

1) Data are expressed as mean±SD of triplicate experiments. Means in the same column with different letters are represented significantly different (p<0.05).

2) Its cannot be detected as lower content than detection limit.

Table 2. Suppression effects of mycelial growth of six plant pathogens by water extracts from hand made (HM) and commercial (CO) coffee ground compost

Source	Inhibition of mycelial growth[1] (mm)					
	Rhizoctonia solani	*Slerotinia sclerotiorum*	*Fusarium oxysporum*	*Phytophthota capsici*	*Botrytis cinerea*	*Alternaria altanata*
HM1	13.9±0.1 a[2]	10.5±0.2 b	8.6±0.1 a	13.8±0.2 b	13.5±0.1 b	14.6±0.1 a
HM2	14.1±0.2 a	11.2±0.1 a	8.4±0.1 a	14.7±0.2 a	13.5±0.1 b	13.5±0.2 b
HM3	14.3±0.1 a	10.8±0.2 b	8.3±0.2 a	13.0±0.1 b	15.3±0.2 a	14.9±0.1 a
HM4	10.3±0.2 c	10.2±0.2 b	8.5±0.1 a	12.5±0.1 c	13.4±0.1 b	13.3±0.2 b
HM5	12.5±0.1 b	11.1±0.1 a	8.3±0.1 a	11.6±0.2 c	13.5±0.1 b	14.5±0.1 a
CO1	9.4±0.1 d	9.0±0.2 c	6.4±0.2 b	9.0±0.1 d	10.3±0.1 c	10.4±0.1 c
CO2	9.2±0.2 d	9.3±0.1 c	6.6±0.1 b	8.4±0.1 d	10.1±0.2 c	10.7±0.2 c
CO3	9.3±0.1 d	9.1±0.1 c	6.4±0.2 b	8.7±0.1 d	9.6±0.2 c	9.8±0.2 c

1) Inhibition of mycelial growth of each treatment was measured mycelial growth inhibition zone formed through dual culture of the pathogen and the water extracts of coffee ground compost on potato dextrose agar at 25℃ BOD incubator.
2) Data are expressed as mean±SD of triplicate experiments. Means in the same column with different letters are represented significantly different ($p<0.05$).

3.2 커피박 퇴비 추출물의 항균력 검정

주요 식물병원균 6종에 대한 커피전문점과 상업용 커피박 퇴비 수용성 추출물의 항균활성을 검정한 결과, 6종의 식물병원균에 대한 항균력이 있음을 확인하였다. 특히, 커피전문점에서 수거한 6종의 커피박의 항균력은 *F. oxysporum*(8.3~8.6 mm)을 제외하고 5종의 식물병원균의 균사생육 저지원이 10 mm 이상으로 활성이 높게 조사되었다. 3종의 상업용 커피박 퇴비 수용성 추출물의 항균력이 일반 매장용 커피박 추출물에 비해 낮은 것으로 조사되었지만, *F. oxysporum*(6.4~6.6 mm)을 제외하고 균사 생육 저지원이 8.4 mm 이상의 항균활성을 나타내었다. 커피전문점과 상업용 커피박 퇴비 수용성 추출물 모두 6종류의 식물병원균 중 *B. cinerea*에 *A. altanata*균에 대한 항균력이 유의적으로 가장 우수하였다[Table 2].

식물의 polyphenol 화합물의 항균 및 항진균 작용은 널리 알려져 있으며 커피의 chlorogenic acid에 의한 항진균 효과가 보고된 바 있다[30]. 커피박 속에 함유된 caffeine, polyphenol 등과 같은 식물성 항산화 성분은 가장 안전한 기능성 소재인 것으로 보고되었다[31),32)].

커피박의 출처에 따른 항균력의 차이를 보이는 것은 커피원두의 종류나 추출방법에서 나타나는 차이는 있지만 커피전문점이나 상업용 커피박 모두에서 6종의 식물병원균에 대한 항진균능력을 확인할 수 있어 향후 커피박 퇴비를 이용한 토양병 방제에 활용이 가능성이 높을 것으로 사료된다.

Table 3. Inhibition effect of coffee ground compost extracts on germ tube growth of *Alternaria altanata* on potato dextrose agar and zoosporangium formation of *Phytophthora capsici* on V-8 juice agar at 25℃

Compost extracts	*Alternaria altanata*	*Phytophthora capsici*
	Length of germ tube (μm)	Number of zoosporangium
Coffee ground	175±20.5 b[1]	16.5±2.0 b
Coffee ground+10% Sesam oil cake	100±30.4 a	7.5±1.5 a
Untreated control	420±15.4 c	43.5±5.0 c

1) Data are expressed as mean±SD of triplicate experiments. Means in the same column with different letters are significantly different ($p<0.05$).

3.3 커피박 추출물의 포자발아 및 유주자낭 형성 억제효과

커피박 퇴비 수용성 추출물의 참깨 검은무늬병원균(*A. alternata*)의 분생포자 발아 억제정도를 발아관 길이로 측정한 결과, 커피박 단독으로 제조한 커피박 퇴비의 수용성 추출물을 처리하였더니 참깨 검은무늬병원균의 분생포자 발아관의 길이가 평균 175 μm인데 비해 10% 깻묵을 첨가하여 제조한 10% 깻묵+커피박 퇴비의 수용성 추출물은 참깨 검은무늬병원균의 분생포자 발아관의 길이가 평균 100 μm로 커피박 단독으로 제조한 커피박 퇴비의 수용성 추출물에 비해 75% 이상 분생포자 발아관의 신장을 유의적으로 억제하는 것으로 조사되었다[Table 3, Fig. 1-A, B]. 무처리의 경우 참깨 검은무늬병원균의 분생포자가 발아관의 길이가 420 μm이상으로 매우 정상적으로 신장하여 길다란 균사 형태로 발달하였다[Table 3, Fig. 1-C].

커피박 퇴비 수용성 추출물의 고추 역병균(*P. capsici*)의 유주자낭 형성 억제정도를 처리별 유주자낭의 갯수로 조사한 결과, 커피박 단독으로 제조한 커피박 퇴비의 수용성 추출물의 경우 역병균의 유주자낭의 개수가 평균 16.5개 인데 비해 10% 깻묵을 첨가하여 제조한 10% 깻묵+커피박 퇴비의 수용성 추출물은 역병균의 유주자낭의 갯수가 평균 7.5개로 커피박 단독으로 제조한 커피박 퇴비의 수용성 추출물에 비해 평균 9개 적고 무처리에 비해 평균 36개 이상 적게 형성되어 유의적으로 역병균의 유자낭 형성을 억제하는 것으로 조사되었다[Table 3, Fig. 1-D, E]. 무처리의 경우 고추 역병원균의 유주자낭이 평균 43.5개 이상을 형성하였다[Table 3, Fig. 1-F].

In vitro 시험 결과에 따르면, 커피박 속에 함유된 caffeine, polyphenol은 우수한 항균 효과가 있는 것으로 보고되었다[33]. 커피박의 화학성 성분 중 가장 많은 비중을 차지하고 있는 phenol 화합물이 항산화능이 있는 것으로 잘 알려져 있으나 각 phenol화합물이나 이들 그룹들의 구성에 따라 상승 또는 길항작용이 존재하는 것으로 알려져 있다[34]. 커피의 polyphenol 화합물들 중 chlorogenic acids, caffeic acid, ferulic acid, p-coumaric acid, 그리고 proanthocyanidins 등이 항산화능에 주요 역할을 보인다[35].

앞의 시험결과에서 식물병원균에 대한 항균력 조사 결과 상업용 커피박을 재료로 한 것 보다 커피전문점 커피박을 재료로 사용한 추출물의 항균력이 유의적으로 높은 것으로 나타났으며 총 페놀함량의

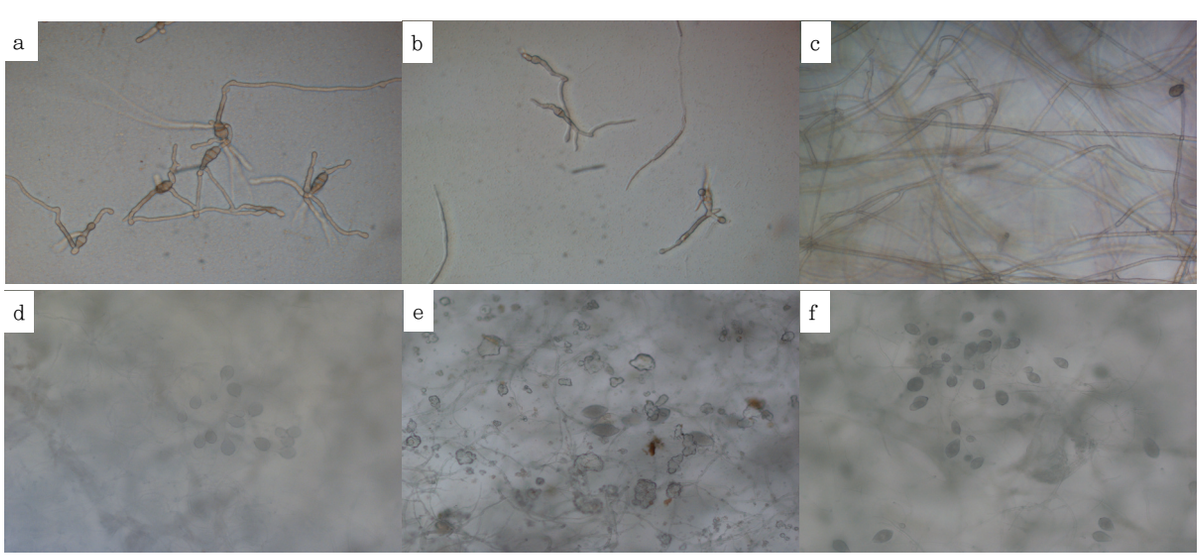

Fig. 1. Microscopic observation of inhibition from coffee ground compost extracts on germ tube growth of *Alternaria altanata* (a-c) on potato dextrose agar and zoosporangium formation of *Phytophthora capsici* (d-f) on V-8 juice agar at 25℃. Coffee ground compost extracts (a, d), coffee ground+10% sesam oil cake compost extract (b, e), untreated control (c, f).

조사결과에서도 상업용 커피박 추출물보다 커피전문점 커피박 추출물의 총 폴리페놀함량이 높은 것으로 보아 커피박 퇴비의 폴리페놀 성분이 식물병원균에 대해 항균력을 작용한 것으로 생각된다.

3.4 커피박 추출물의 총 페놀 함량 비교

커피박 추출물이 6종의 식물병원균에 대해 어떻게 항균력을 가지는 것인지 기작을 설명하고자 커피박 단독, 10% 깻묵+커피박 퇴비, 깻묵 단독 재료를 동일한 조건에서 90일간 부숙시키면서 30일 간격으로 총 폴리페놀 함량을 조사하였다[Table 4]. 총 폴리페놀 함량은 부숙시간의 경과에 따라 커피전문점의 커피박을 재료로 커피박 단독으로 부숙시킬 때보다 10% 깻묵을 첨가한 10% 깻묵+커피박퇴비에서 90일째에 가장 높은 총 페놀 함량인 평균 0.35±0.03 mg GAE/g로 나타냈다. 부숙 90일 후, 상업용 커피박 단독의 경우에는 평균 0.19±0.02 mg GAE/g이었고 커피전문점의 커피박 단독은 0.22±0.04 mg GAE/g이었으며 깻묵 단독은 0.14±0.03 mg GAE/g로 가장 낮게 조사되었다[Table 4].

부숙시간 및 10% 깻묵 첨가에 따른 총 폴리페놀 함량이 통계학적으로 유의적인 관계가 있음을 보였다($p<0.05$). 총 폴리페놀의 함량이 10% 깻묵+커피박 퇴비에서 가장 높게 나타난 것은 깻묵 첨가에 따른 커피박의 부숙 정도와 속도가 더욱 빨라져 커피박에 함유되어 있던 polyphenol류 들이 유리 상태로 존재할 가능성이 높아 추출효율이 높았던 것으로 생각된다.

커피추출물의 성분 및 함량은 커피의 품종에 따라 차이가 있지만 추출하는 방법이나 조건에 따라 차이가 많은 것으로 보고되어 있다[36),37)]. 커피의 주요 성분 중 caffeine, chlorogenic acid, nicotinic acid의 기능성 성분을 HPLC로 분석한 결과, 분석방법에 따라 차이는 있지만, caffeine은 2.64~3.37 mg/g, chlorogenic acid는 1.02~1.38 mg/g, nicotinic acid는 0.74~0.83 mg/g으로 보고한 바 있다[38)]. 커피박 퇴비의 항균력에 대한 기작을 구명하고자 총 폴리페놀함량을 조사하였으나 chlorogenic acid와 nicotinic acid를 추가적으로 분석할 필요가 있을 것으로 생각된다.

4. 결 론

유기농업에서 토양내 유기물 함량을 높이기 위한 유기자원의 개발에 대한 현장에서의 요구가 지속적으로 제기되고 있다. 커피박은 단백질, 탄수화물뿐만 아니라 polyphenol과 같은 기능성 물질을 다량 함유하고 있다. 커피전문점과 상업용 커피박의 이화학성 분석결과 pH나 EC등의 조건도 안정적이고 K_2O, CaO, MgO도 일정 함량 보유하고 있는 것으로 나타나 유기물 재료로 사용하기에 적합하였다. 또한 커피박 퇴비의 수용성 추출물은 주요 식물병원균 6종에 대하여 항균력을 가지는 것으로 확인되었다. 특히 커피박 퇴비 추출물이 *A. altanata* 포자 발아 억제 및 *P. capsici* 유주자낭 형성을 억제하는 효과가 있었다. 커피박 퇴비의 총 폴리페놀 함량은 부숙시간의 경과에 따라 증가하였으며, 10% 깻묵+

Table 4. Comparisons with total-polyphenol compounds from hand made (HM) and commercial (CO) coffee ground compost

Source	Combination	Total phenolics (mg GAE/g, 700 nm)			
		0 day	30 days	60 days	90 days
HM	only	0.16±0.03 a[1)]	0.16±0.02 b	0.17±0.02 b	0.22±0.04 b
	10% sesame oil cake	0.16±0.02 a	0.18±0.01 a	0.24±0.04 a	0.35±0.03 a
CO	only	0.14±0.01 b	0.15±0.02 b	0.16±0.02 c	0.19±0.02 c
	10% sesame oil cake	0.14±0.02 b	0.16±0.03 b	0.18±0.01 b	0.22±0.03 b
sesame oil cake	only	0.12±0.01 c	0.12±0.02 c	0.13±0.01 d	0.14±0.03 d

1) Data are expressed as mean±SD of triplicate experiments. Means in the same column with different letters are significantly different ($p<0.05$).

커피박 퇴비에서 90일째에 가장 높은 총 페놀 함량인 평균 0.35±0.03 mg GAE/g로 분석되어 유기농 토양 개량 및 토양병 방제를 위한 기능성 커피박 퇴비의 개발이 가능할 것으로 생각된다.

사 사

본 연구는 농촌진흥청 국립농업과학원 농업과학기술 연구개발사업(과제번호: PJ01082702)의 연구비 지원으로 수행되었음.

References

1. Tokimoto, T., Kawasaki, N., Nakamura, T., Akutagawa, J. and Tanada, S., "Removal of lead ions in drinking water by coffee grounds as vegetable biomass.", J. of Colloid Interf. Sci., 281, pp.56-61. (2005).
2. Korean Customs Service, "Import and export performance by item", http://www.customs.go.kr/kcsweb/user/tdf?a=user.newTradestatistis.NewTradestatisticsApp&c=1003&mc=STATS_INQU_TRADE_020. (2015).
3. Yu, S.H., "A study on preparation of activated carbons from coffee waste", Master's thesis, Sunmoon University, Korea (1998).
4. Borrelli, R.C., Visconti, A., Mennella, C., Anese, M., Fogliano, V., "Chemical characterization and antioxidant properties of coffee melanoidins", J. of Agric Food Chem,. 50, pp. 6527-6533. (2002).
5. Wiseman, J.A., "A note on the nutritive value of dried instant coffee residue for broiler chickens and turkey poults", Anim. Feed. Sci. Technol, 10, pp. 285-289. (1984).
6. Minamisawa, M., Yoshida, S., Takai, N., "Determination of biologically active substances in roasted coffees using a diode-array HPLC system", Anal. Sci., 20, pp. 325-328. (2004).
7. You, S.H., Kim, H.H., "The preparation of activated carbon from coffee waste: ZnCl2-activation", J. of Korean Ind. & Eng. Chemistry, 9, pp. 509-515. (1998).
8. Park, B.H., Kim, D.Y., Jeong, J.H., Jung, I.C., Jung, B.G., Choi, Y.I., Choi, B.H., "The preparation of activated carbon from coffee waste by chemical activted and its removal characteristics of heavy metal", in Proceeding of Korean Society of Water & Wastewater Autumn Conference, pp. 624-625. (2008).
9. Ha, S.Y., Aerobic compositing of wastewater cludge using beneficial microorganisms. Ph.D. Thesis, Korea Maritime and Ocean University. (2015).
10. Kim, J.Y., Oh, K.C., Baek, S.H., "Effect of food (fruit and oriental herb's) waste of materials on removability of Cd2+, Pb2+ ion in water", Korean J. of Food & Nutr., 12, pp. 602-607. (1999).
11. Park, H.S., "A study on the adsorption of heavy metals of waste", J. Korea Society of Environmental Administration, 19, pp. 113-119. (2013).
12. Lee, B.H., Lim, D.I., Ra, D.G., "Removal capacity of nitrate by activated carbon from exhausted coffee", J. of Korean Society of Environmental Technology, 15, pp. 19-22. (2014).
13. Lee, J.J., Kim, S.J., Oh, D.S., Shim, B.S., "Development of bioenergy production technology from coffee waste", in Proceeding of Korea Society of Waste Management Autumn Conference, pp. 368-37. (2012).
14. Franca, A.S., Oliveira, L.S., Oliveira, R.C.S., Mancha Agresti, P.C. and Augusti, R. "A preliminary evaluation of the effect of processing temperature on coffee roasting degree assessment", J. of Food Engineering, 92, pp. 345-352. (2009).
15. Lee, S.B., Kim, H.J., Lee, J.D., "Ultrasonic association solvent extraction of functional oil from waste ground coffee", J. of Korea Soc. of Waste Management, 27, pp. 304-309. (2010).
16. Choi, I.S., " Feasible approach of agricultural wastes such as citrus and coffee for bioenergy production.

Ph.D. Thesis, Chonnam National University, Korea (2014).
17. Lee, H.S., Hwang, D.H. and Kim, Y.J. "Availability of mixture of cattle manure and used coffee grounds as solid refuse fuel", J. of Korean Soc. Urban Enviro. 16, pp. 201-205. (2016).
18. Yang. I., Lee, K.H., Oh, S.C., "Manufacture and performance evaluation of medium-density fiberboard made with coffee bean residue-wood fiber", J. of Korean Wood Sci & Tech, 41, pp. 293-301. (2013).
19. Silva, M.A., Nebra, S.A., Machado, M.J. and Sanchez, C.G., "The use of biomass residues in the Brazilian soluble coffee industry.", Biomass Bioenerg., 14, pp. 457-467. (1998).
20. Saenger, M., E. Hartge, J. Werther, T. Ogada and Siagi, Z. "Combustion of coffee husks.", Renew. Energ., 23, pp. 103-121. (2001).
21. Machado, E.M.S., Rodriguez-Jasso, R.M., Teixeira J.A. and Mussatto, S.I., "Growth of fungal strains on coffee industry residues with removal of polyphenolic compounds.", Biochem. Eng. J., 60, pp. 87-90. (2012).
22. Kim H.S., "Using environmentally friendly composting coffee byproducts", Master's thesis, Kwangwoon University, Korea, (2012).
23. Sung, S.Y., "Improviment of retention and growth of earth slope vegetation using recycled coffee waste", Ph.D. Thesis, Incheon National Univ. Incheon, Korea, (2015)
24. Kim, M.J., Shim, C.K., Kim, Y.K., Hong, S.J., Park, J.H., Han, E.J., Hur, C.S., Ryu, Y.H., Jee, H.J., Kim, S.C., "Control Effect of coffee ground compost and Velvet bean against root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* in pumpkin", Korean J. of Pesticide Sci., 20, pp. 47-55. (2016).
25. Lee, M.K., Shin, D.I., Park, H.S., "Acceleration of the mycelial growth of *Trametes veriscolor* by spent coffee ground", Korean J. of Mycology, 40, pp. 292-295. (2014).
26. Hwang, J.Y., Shim, C.K., Ryu, K.Y., Choi, S.H., Jee, H.J., "Selection of *Brevibacillus brevis* B23 and *Bacillus stearothermophilus* B42 as biological control agents against sclerotinia rot of Lettuce", Res. Plant Dis., 12, pp. 254-259. (2006).
27. SAS Institute Inc., SAS/STAT User's Guide: Version 8.2, Cary NC: SAS Institute Inc. (2003).
28. Campa, C., Doulbeau, S., Dussert, S., Hamon, S., Noirot, M., "Qualitative relationship between caffeine and chlorogenic acid contents among wild Coffea species", Food Chemistry, 93, pp. 135-139. (2005).
29. Shin, H.G., Kim, C.G., "Removal of heavy metal in wastewater with coffee grounds", J. of Organic Reso. Recycl. Asso., 22, pp. 44-49. (2014).
30. Sung, W.S., Lee, D.G., "Antifungal action of chlorogenic acid against pathogenic fungi, mediated by membrane disruption", Pure Appl. Chem., 82, pp. 219-226. (2010).
31. Daglia, M., Papetti, A., Gregotti, C., Berte, F., Gazzani, G., "In vitro antioxidant and ex vivo protective activities of green and roasted coffee", J. of Agric Food Chem, 48, pp. 1449-1554. (2000).
32. Formanek, Z., Kerry, J.P., Higgins, F.M., Buckley, D.J., Morrissey, P.A., Farkas, J., "Addition of synthetic and natural antioxidants to α-tocopheryl acetate supplemented beef patties: effects of antioxidants and packaging on lipid oxidation", Meat Sci, 58, pp. 337-341. (2001).
33. Daglia, M., Papetti, A., Grisoli, P., Aceti, C., Spini, V., Dacarro, C., Gazzani, G., "Isolation, identification, and quantification of roasted coffee antibacterial compounds", J. of Agri Food Chem, 55, pp. 10208-10213. (2007).
34. Becker, E.M., Nissen, L.R., Skibsted, L.H., "Antioxidant evaluation protocols: Food quality or health effects", Eur. Food Res. Technol., 219, pp. 561-571. (2004).
35. Niseteo, T., Komes, D., Belsak-Cvitanovic, A., Horzic, D., Budec, M., "Bioactive composition and antioxidant potential of different commonly consumed coffee brews affected by their preparation

technique and milk addition", Food Chem., 134, pp. 1870-1877. (2012).
36. Ky, C.L., Louarn, J., Dussert, S., Guyot, B., Hamon, S., Noriot, M., "Caffeine, trigonelline, chlorogenic acids and sucrose diversity in wild *Coffea arabica* L. and *C. canephora* P. accessions", Food Chemistry, 75, pp. 223-230. (2001).
37. Fujioka, K., Shibamoto., T., "Chlorogenic acid and caffeine contents in various commercial brewed coffees", Food Chemistry, 106, pp. 217-221. (2008).
38. Kim, M.J., Park, J.E., Lee, J.H., Choi, N.R., Hong, M.H., Pyo, Y.H., "Antioxidant capacity and bioactive composition of a single serving size of regular coffee varieties commercially available in Korea", Korean J. of Food Sci. and Tech., 45, pp. 299-304. (2013).
39. Almeida, A.A.P., Farah, A., Silva, D.A.M., Nunan, E.A., Gl ria, M.B.A., "Antibacterial activity of coffee extracts and selected coffee chemical compounds against enterobacteria", J. of Agric. Food Chem., 54, pp. 8738-8743. (2006).