

유통 판매중인 콜드브루커피의 미생물 오염도 및 카페인함량 모니터링

권성희¹ · 김경선¹ · 이보민¹ · 한영선¹ · 허명제¹ · 권문주¹ · 엄애선^{2*}

¹인천광역시보건환경연구원 식약연구부 식품분석과

²한양대학교 생활과학대학 식품영양학과

Monitoring of Microbial Contamination and Caffeine Content of Cold Brew Coffee

Sung Hee Kwon¹, Kyung-Seon Kim¹, Bo Min Lee¹, Young Sun Han¹, Myong-Je Heo¹, Mun-Ju Kwon¹, Ae-Son Om^{2*}

¹Division of Food Analysis, Incheon Metropolitan City Institute of Public Health and Environment 471,
Seohae-daero, Jung-gu, Incheon, Korea

²Department of Food and Nutrition, College of Human Ecology, Hanyang University, Seoul, Korea

(Received August 11, 2021/Revised August 26, 2021/Accepted August 26, 2021)

ABSTRACT - Cold brew coffee extracted from cold water for a long time has drawn public concern over hygiene. This study was carried out to investigate the microbiological contamination levels and caffeine contents in cold brew coffee. A total of 75 cold brew coffees were purchased from offline and online sources. As a result, the average number of bacteria in samples purchased online was 1.14 log CFU/mL (0-6.57 log CFU/mL), while bacteria were not detected in samples purchased offline. Therefore, stricter surveys are required to avoid the food contamination. However, *Escherichia coli* and nine types of foodborne pathogens were not detected in all samples. The average caffeine content of the samples was 1.6 mg/mL (384 mg/240 mL), so the caffeine almost reached to acceptable daily intake levels (400 mg for adults). However, ten products did not provide any precautions for consumer safety, so improvement of the system is needed. This monitoring data can contribute to the protection of consumer rights and improvement in the safety of cold brew coffee.

Key words : Cold brew coffee, Monitoring, Microbial contamination, Caffeine content

최근 원액상태로 보관이 용이하고 특유의 향을 유지할 수 있는 콜드브루커피가 남녀노소에게 크게 인기를 얻음에 따라 커피판매업체의 규모가 증가하고 있다¹⁾. 특히 커피는 하루에 2-3잔 마시는 경우가 대다수이므로 이에 대한 고카페인 주의(카페인 일일섭취권고량: 성인 400 mg 이하, 임산부 300 mg 이하, 어린이(만 19세 이하)는 체중 1 kg당 2.5 mg 이하)와 위생상태에 대한 안전점검이 요구된다²⁾. 콜드브루커피는 고온에서 짧은 시간(3-4분)내에 추출되는 일반 매장커피와 달리 저온의 물(찬물 등)을 이용해 장시간(최소 3시간-최대 24시간) 원액을 추출하여 맛의

변화가 거의 없으며, 신맛이 적고 특유의 향을 유지할 수 있어 소비자들에게 고급커피로 인식되고 있다³⁾. 콜드브루커피의 유래는 과거 네덜란드령 인도네시아에서 재배된 커피를 유럽으로 운반하던 선원들이 배에서 장시간 보관하면서 커피를 마시기 위해 고안되었다고 알려지고 있다⁴⁾. 추출방법은 일반적으로 저온의 물을 분쇄된 커피원두가 담긴 용기에 떨어뜨려 추출하는 점출식, 저온의 물과 분쇄된 커피원두를 용기에 넣고 장시간 상온에서 숙성시킨 뒤 찌꺼기를 걸러내 원액을 추출하는 침출식으로 분류할 수 있다^{5,6)}. 시중에서 판매하고 있는 콜드브루커피는 제조·판매점의 영업형태에 따라서 식품의 기준 및 규격 중 ‘커피’ 또는 ‘조리식품’ 유형으로 분류된다. 이는 규격화된 제조 시설에서 제조·가공하여 판매하는 경우 ‘커피’유형에 해당하며, 매장(휴게음식점 등)에서 즉석 제조하여 방문한 손님에게 용기에 담아 제공하는 경우 식품접객업소(집단급식소포함)의 ‘조리식품’에 해당된다⁷⁾.

그러나 최근 비위생적인 시설에서 콜드브루커피를 생산

*Correspondence to: Ae-Son Om, Department of Food and Nutrition, College of Human Ecology, Hanyang University, Seoul 04763, Korea, Tel: +82-2-2220-1203, Fax: 02-2220-1856
E-mail: aesonom@hanyang.ac.kr

Copyright © The Korean Society of Food Hygiene and Safety. All rights reserved. The Journal of Food Hygiene and Safety is an Open-Access journal distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

하고, 이를 백화점 또는 인터넷 쇼핑몰 등에 납품해온 업체들이 적발되는 등 안전성 문제가 지속적으로 제기되고 있다⁸⁾. 특히 콜드브루커피는 장시간 동안 저온에서 추출이 이뤄지는 반면, 사용 기구(유리관, 그라인더 등)는 세척하기 힘든 구조를 가지고 있어 비위생적 환경(미생물 증식 등)에 노출될 가능성이 높다⁹⁾. 또한 콜드브루커피는 찬물로 1-2초에 한 방울씩 떨어져 순간 카페인 함유량은 적으나 오랜 시간 동안 추출을 하기 때문에 오히려 다른 추출 도구의 방식으로 내린 커피보다 카페인이 많은 것으로 보고되었다³⁾. 따라서 본 연구에서는 커피전문점, 온라인 쇼핑몰 등에서 판매하는 총 75건의 콜드브루커피를 대상으로 식품공전 액상커피의 규격기준(세균수, 대장균군)과 식중독균 9종 및 카페인 함량 분석을 진행함으로써 콜드브루커피의 안전성 정보를 제공하고자 한다.

Materials and Methods

시료채취

본 연구는 콜드브루커피를 대상으로 유해 미생물 오염도 및 카페인함량을 조사하기 위하여 2019년 6월부터 8월까지 오프라인 및 온라인 구매 등 총 75건의 콜드브루커피를 수집하여 진행되었다. 시료는 냉장상태로 판매되는 제품을 수집 후 아이스박스에 넣어 인천광역시 보건환경연구원 실험실에 옮겨 1시간 내에 분석을 실시하였고, 모든 시료의 채취 및 전처리과정은 clean room에서 무균적으로 처리하였다. 이들 시료를 사용하여 위생지표세균(세균수, 대장균군, 대장균)과 식중독균 9종 및 카페인 함량을 검사하였다.

위생지표균 분석

위생지표균 분석 시료 용액은 시료 25 mL에 멸균생리식염수 225 mL를 멸균 stomacher bag에 넣어 stomacher로 1분간 균질화시켜 시료로 사용하였다. 일반세균, 대장균군, 대장균은 식품공전 제8.일반시험법 4.미생물시험법에 따라 분석하였다. 일반세균수(Total aerobic bacteria)는 시험용액 1 mL를 멸균 희석액(3M™ Diluent 9 mL, 3M, Korea)을 이용하여 각각 10배 단계 희석액을 제조하여 희석액 1 mL를 세균수 건조필름배지(3M Petrifilm™ AC, 3M, USA)에 희석 단계당 2장 이상 접종한 후 35°C에서 24-48시간 배양하여 생성된 집락수를 계산하고 평균집락수에 희석배수를 곱하여 일반세균수를 산출하였다. 대장균군(coliform)의 시험은 전처리 시료 1 mL 취하여 10⁻¹-10⁻⁷ 까지 단계별로 희석한 후 시료 1 mL씩을 대장균 건조필름 배지(3M Petrifilm™ CC, 3M, USA)에 2장 이상 접종한 후, 35°C에서 24±2시간 배양하여 형성된 붉은 집락 중 주위에 기포를 형성한 집락수를 계수하였다. 대장균(*E.coli*)은 단계별로 희석한 시료 1 mL씩을 대장균 건조필름 배지(3M Petrifilm™ EC, 3M, USA)에 2장 이상 접종한 후, 35°C에

서 24±2시간 배양하여 형성된 푸른 집락 중 주위에 기포를 형성한 집락수를 계수하였다.

식중독 원인균 분석

시료 75건의 전처리는 식중독 원인조사 시험법에 수록된 식중독 스크리닝 검사법에 따라 시료 25 mL를 채취하여 Tryptic soy broth (TSB, Oxoid, England) 배지 225 mL에 넣어 Stomacher (Seward, England)로 30초간 균질화시켜 36°C에서 24시간 증균 배양하였다¹⁰⁾. 배양액 1 mL를 13,000 rpm으로 3분간 원심분리한 후 상층액을 버리고 멸균 증류수 100 µL를 넣어 100°C에서 10분간 끓인 후 다시 13,000 rpm으로 3분간 원심분리한 후 얻은 상층액을 template DNA로 사용하여 PCR 분석하였다. 식중독 원인균 9종의 특이 유전자를 확인하기 위하여 Power Check™ Diarrheal *E. coli* 8-plex Detection Kit (Kogene biotech, Korea), Power Check™ Gram Positive Multiplex Detection Kit (Kogene biotech, Korea) 및 Power Check™ Gram Negative Multiplex Detection Kit (Kogene biotech, Korea)를 사용하였으며 제조사에서 제시한 각각의 방법으로 PCR 분석을 실시한 후 결과를 확인하였다. 각 kit의 균주 및 특이유전자 조건은 Table 1과 같다. PCR 분석으로 특이유전자가 확인된 식중독원인균은 균의 확인 및 분리를 위해 식품공전에 수록된 미생물 시험법에 따라 실험하였다. 각각의 선택배지에서 확인된 의심집락은 균의 특성에 따라 Tryptic soy agar (TSA, Oxoid, England)에 접종하여 30-37°C에서 24-48시간 배양한 후 VITEK 2 compact (Biomérieux, Marcy-l'Étoile, France)를 이용하여 최종적으로 균을 확인 동정하였다. 또한 *Bacillus cereus* 정량 검사는 검액 1 mL를 MYP 한천배지(Mannitol Egg Yolk Polymyxin Agar, Oxoid, England) 5매에 200 µL씩 도말한 뒤 30°C에서 24시간 배양한 후 혼탁한 환을 가지며 lecithinase를 분해한 분홍색 집락을 선별 계수하였다. 계수한 평판에서 5개 이상의 전형적인 집락을 선별하여 보통한천배지(Nutrient Agar, Difco, USA)에 접종하고 30°C에서 24시간 배양 후 그람염색을 실시하여 포자를 갖는 그람양성, 간균으로 확인된 균은 생화학적 시험(VITEK, Biomérieux)으로 확인 후 동정된 균수에 희석배수를 곱하여 균수를 계산하였다. *Staphylococcus aureus* 정량검사는 검액 1 mL를 Baired-Parker 한천배지(Difco, USA) 3매에 330 µL씩 도말한 뒤 35-37°C에서 18-24시간 배양하였고, 배양 결과 Baired -Parker한천배지에서 투명한 띠로 둘러싸인 광택이 있는 검정색 집락으로 확인된 균은 생화학적 시험(VITEK)으로 확인 후 동정된 균수에 희석배수를 곱하여 균수를 계산하였다.

카페인 함량 분석

카페인 함량 분석은 식품공전 제8.일반시험법 10.식품표시관련시험법 10.4 카페인시험법에 따라 실시하였다. 콜드브루커피 추출액 1 mL를 20 mL 플라스크에 취하여 이동

Table 1. Specific genes of foodborne pathogens for multiplex PCR kit

Multiplex PCR kit	Pathogens	Target gene
Power Check™ Diarrheal <i>E. coli</i> 8-plex Detection Kit	<i>Enterohaemorrhagic E. coli</i>	<i>stx1, stx2</i>
	<i>Enterotoxigenic E. coli</i>	<i>ST, LT</i>
	<i>Enteroinvasive E. coli</i>	<i>ipaH</i>
	<i>Enterotoxigenic E. coli</i>	<i>aggR</i>
	<i>Enteropathogenic E. coli</i>	<i>eaeA, bfpA</i>
Power Check™ Gram Positive Multiplex Detection Kit	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>prfA</i>
	<i>Clostridium perfringens</i>	<i>cpa, cpe</i>
	<i>Bacillus cereus</i>	<i>groEL</i>
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>femA</i>
Power Check™ Gram Negative Multiplex Detection Kit	<i>Salmonella</i> spp.	<i>invA</i>
	<i>Yersinia enterocolitica</i>	<i>inv</i>
	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	<i>toxR</i>
	<i>Vibrio cholerae</i>	<i>ctx</i>
	<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>hipO</i>
	<i>Campylobacter coli</i>	<i>lysC</i>
	<i>Shigella</i> spp.	<i>ipaH</i>

Table 2. HPLC condition for determination of caffeine

Instrument	HPLC (Ultimate 3000)
Column	μ -Bondapak C ₁₈ (3.9 mm I.d.×300 mm)
Mobile phase	MeOH:Acetic acid:water = 20:1:79 (v/v)
Wave length	280 nm
Flow rate	1.0 mL/min

상으로 희석한 후 0.45 μ m Nylon syringe filter로 여과하여 사용하였다. 표준용액의 조제는 카페인 표준품(Wako, Otsuka, Japan)을 물에 용해하여 최종농도가 1,000 μ g/mL가 되도록 조제 후 이를 희석하여 검량선을 작성해 카페인의 함량을 정량하였다. 카페인의 정량분석을 하기 위해 High-performance liquid chromatography (HPLC) (Ultimate 3000, Thermo fisher, Waltham, MA, USA)와 컬럼은 μ -Bondapak C₁₈ (Waters Co., Milford, MA, USA)을 사용하였으며 분석조건은 Table 2와 같다.

통계처리

본 연구에서 미생물 균수는 log CFU/mL로 나타내었으며, SPSS 12.0K for windows (SPSS Inc, IL, USA)를 이용하여 독립표본 T 검정 및 일원배치분산분석(one-way ANOVA)을 통한 사후 검정으로 Duncan의 평균간 다중비교를 실시하여 시료간의 유의차($P < 0.05$)를 검증하였다.

Results and Discussion

콜드브루커피의 위생 세균 오염도

일반세균수는 식품의 미생물오염의 정도를 나타내는 가

장 대표적인 지표로 식품의 안전성, 보존성, 위생적인 취급의 적부 등을 종합적으로 평가할 때 유력한 지표가 된다¹¹⁾. 일반세균수의 실험 결과는 Table 3과 같으며 평균 검출량(범위)은 오프라인 시료에서는 검출되지 않았고, 온라인 시료에서는 1.14 log CFU/mL (0-6.57 log CFU/mL)로 구입 장소에 따라 유의적인 차이를 보였다. 커피전문점과 유통 제품으로 시판되는 콜드브루커피의 위생상태와 보관온도에 따른 오염실태 변화를 관찰한 연구¹²⁾에 의하면 커피전문점에서 구입한 콜드브루커피의 당일 일반세균수는 평균 35.2±15.8 CFU/mL였으나 이를 밀봉하여 5일 동안 실온과 냉장온도에서 보관한 후의 일반세균수는 78.4±29.7 CFU/mL(실온보관)과 51.2±32 CFU/mL(냉장보관)이었다. 특히 실온 보관 시 식품위생법의 일반세균수 기준인 100 CFU 이하/mL에 육박하는 수치를 보였다. 이와 같은 결과에서 콜드브루커피는 위생적인 환경에서 추출하여 반드시 냉장보관을 하여야 함을 알 수 있다. 또한 한국소비자원에서 조사한 더치커피의 안전실태⁸⁾에 의하면 시중 유통 중인 더치커피 40개 제품(대형마트 3개, 커피전문점 7개, 온라인 유통 제품 30개) 중 3개 제품이 일반세균수가 평균 5.29 log CFU/mL (3.17-5.99 log CFU/mL)로 기준치를 초과하여 위생기준을 위반한 것으로 조사되었으며 본 연구의 최대 검출량과 유사한 수준으로 나타났다. 따라서 온라인에서 판매되고 있는 콜드브루커피의 일반세균수의 검출과 오염수준을 볼 때 대체적으로 오프라인에 비해 위생상태가 좋지 못한 것으로 판단된다.

대장균군은 병원성은 없으나, 검출되면 같은 장내세균과에 속하는 병원성이 있는 *Salmonella*, *Shigella* 등과 같은 균의 존재 가능성을 예상할 수 있다¹³⁾. 대장균군의 평균 검출량(범위)는 Table 3와 같으며 한국소비자원이 조사한 자료에서 1개 제품 중 대장균군이 검출되었다는 결과와는

Table 3. Contamination of sanitary indicator bacteria for cold brew coffee products

Samples	Contamination rate of sanitary indicator bacteria in samples								
	Total aerobic bacteria					Coliform			<i>E.coli</i>
	<4	4-6	>6	Max (log CFU/g) ¹⁾	Mean±SD	<4	4-6	>6	
Online (n=42)	33	6	3	6.57	1.14±1.30 ^a	0	0	0	0
Offline (n=33)	33	0	0	0	0	0	0	0	0

¹⁾ Colony Forming Unit.

^{a)} Means with different superscripts in the same column differ significantly.

($P < 0.05$; one-way ANOVA and DUNCAN's multiple range test)

달리 본 연구에서는 대장균군이 검출되지 않았다.

대장균 분포 현황

대장균은 식품위생상 분변오염의 지표로 사용되고 있으며, 식품 위생의 중요한 지표로 활용되고 있다. 콜드브루커피의 대장균 모니터링 조사 결과, 모든 시료에서 대장균이 검출되지 않았으므로 이를 통해 콜드브루커피의 제조공정은 분변유래 감염 미생물은 잘 통제하고 있는 것으로 보인다.

식중독균 분포 현황

오프라인과 온라인에서 유통판매 중인 콜드브루커피의 황색포도상구균, 클로스트리디움 퍼프린젠스, 바실러스 세레우스, 장염비브리오 등 9종의 식중독균을 조사한 결과, 모든 시료에서 식중독균이 검출되지 않았다. 따라서 현재 유통 중인 제품의 경우 식품공전의 식품일반의 규격 및 기준상의 식중독균 규격의 범위 안에서 관리가 잘 이루어지고 있음을 알 수 있었다.

카페인 함유량

콜드브루커피 75개 제품의 카페인 함유량을 측정한 결과 조사대상 제품에는 최소 0.9 mg/mL에서 최대 2.0 mg/mL의 카페인이 함유되어 있었으며, 평균함량은 1.6 mg/mL인 것으로 나타났다. 이와 같은 함량은 커피전문점에서 판매되는 아메리카노 평균함량인 0.4 mg/mL의 4배 수준으로 고카페인에 해당한다. 적당한 양의 카페인 섭취는 각성효과¹⁴⁾, 기억력 향상¹⁵⁾, 성인병 예방¹⁶⁾ 등 긍정적인 측면이 있으나, 과잉 섭취 시에는 불면증¹⁷⁾, 신경과민¹⁸⁾, 칼슘 섭취 방해¹⁹⁾ 등의 부작용을 일으킬 수 있다. 특히 임신부 등 취약계층에는 부작용 정도가 심하게 나타날 수 있어 카페인의 총섭취량에 주의를 기울여야 한다. 우리나라의 카페인 일일섭취권고량은 WHO(세계보건기구)에 기준과 같이 성인 400 mg 이하, 임신부 300 mg 이하, 어린이(만 19세 이하)는 체중 1 kg당 2.5 mg 이하이다. 따라서 고카

페인 섭취를 피하기 위해서는 개인의 기호도(원액과 물의 희석 비율, 섭취횟수 등)에 따라 같은 제품이라도 카페인 일일섭취권고량을 초과할 가능성이 있어 소비자에게 반드시 안전주의 표시를 제공할 필요가 있다. 본 연구에서는 카페인 함량이 표시된 60개 제품 모두 카페인 허용오차 기준(표시량의 120% 미만)에 적합하여 표시기준을 잘 지키고 있음을 알 수 있었다. 표시기준에 있어서 고카페인 함유일 경우 카페인관련 소비자 안전을 위한 주의사항을 반드시 표기해야 하는데 조사대상 제품의 카페인함량은 고카페인 함유 표시대상 기준인 0.15 mg/mL을 초과하여 소비자안전을 위한 주의사항(주표시면에 고카페인 함유 및 총카페인 함량) 의무표시대상이었으나 10개 제품(13.3%)이 미 표시 되어 있어 이에 대한 개선이 필요한 것으로 나타났다.

국문요약

최근 원액상태로 장시간 보관이 용이하고 특유의 향을 유지할 수 있는 콜드브루커피가 남녀노소에게 크게 인기를 얻음에 따라 커피판매업체의 규모와 수가 증가하고 있으며, 명절 선물용으로도 각광을 받고 있다. 콜드브루커피는 차가운 물로 장시간 추출한 커피이므로 세균에 노출될 가능성이 크다. 따라서 본 연구는 시중판매되고 있는 콜드브루커피의 안전성을 조사하여 소비자에게 올바른 정보와 건강한 먹거리를 제공하고자 하였다. 총 75건의 콜드브루커피를 대상으로 식품공전 액상커피의 규격 기준(세균수, 대장균군)과 식중독균 9종 및 카페인 함량 검사를 실시하였다. 조사한 결과 온라인에서 구매한 9개 제품의 세균수가 규격기준을 크게 초과하여 검출되었으며, 대장균군 및 식중독균 9종은 검출되지 않았다. 또한 조사한 콜드브루 제품의 평균 카페인 함량은 1.6 mg/mL (240 mL 제품의 경우 카페인 384 mg 함유)이며, 카페인 과다 섭취 시 불면증, 신경과민 등 부정적인 작용들이 존재하므로 성인 기준으로 카페인 최대 일일섭취권고량

400 mg/day을 초과하지 않도록 주의가 필요한 것으로 나타났다.

Conflict of interests

The authors declare no potential conflict of interest.

ORCID

Sung Hee Kwon <https://orcid.org/0000-0001-8394-4098>
 Kyung-Seon Kim <https://orcid.org/0000-0001-5160-9420>
 Bo Min Lee <https://orcid.org/0000-0003-2512-2744>
 Young Sun Han <https://orcid.org/0000-0002-3014-7746>
 Myong-Je Heo <https://orcid.org/0000-0003-3801-2798>
 Mun-Ju Kwon <https://orcid.org/0000-0001-9556-9950>
 Ae-Son Om <https://orcid.org/0000-0002-9452-9647>

References

- Lee, K.H., Kim, B.H., Taste change and preference analysis of dutch coffee by grinding coffee bean. *J. Korea Acad. Ind. Coop. Soc.*, **11**, 793-795 (2014).
- Temple, J.L., Bernard, C., Lipshultz S.E., Czachor, J.D., Westphal, J.A., Mestre, M.A., The safety of ingested caffeine: a comprehensive review. *Front. Psychiatry*, **8**, 80 (2017).
- Fuller, M., Rao, N.Z., The effect of time, roasting temperature, and grind size on caffeine and chlorogenic acid concentrations in cold brew coffee. *Sci. Rep.*, **7**, 17979 (2017).
- Hwang, S.H., Kim, K.S., Kang, H.J., Kim, M.J., Phenolic compound contents and antioxidative effects on cold brew coffee by extraction time. *Kor. Pub. Health Res.*, **39**, 21-29 (2013).
- Cordoba, N., Pataquiva, L., Osorio, C., Moreno Moreno, F.L., Ruiz, R.Y., Effect of grinding, extraction time and type of coffee on the physicochemical and flavour characteristics of cold brew coffee. *Sci. Rep.*, **9**, 8440 (2019).
- Kim, Y.T., Hong, G.W., Choi, J.H., Kang, D.H., 2010. Principles of coffee. first ed. Kwangmoonkag, Paju, Gyeong-gi, Korea, pp. 150-157.
- Ministry of Food and Drug Safety, (2021, July 30). Korean Food code. Retrieved from https://www.foodsafetykorea.go.kr/foodcode/01_01.jsp
- Korea Consumer Agency, 2015. Dutch coffee safety survey. Korea Consumer Agency, Eumseong-gun, Korea.
- Brody, A.L., Lord, J.B., 2007. Developing New Food Products for a Changing Marketplace. second ed. CRC Press, Boca Raton, FL, USA, pp. 153-202.
- Ministry of Food and Drug Safety, 2019. 2019 Detection method for foodborne pathogens investigation. Ministry of Food and Drug Safety, Cheongju, Korea, pp. 85
- Choi, J.H., Park, J.Y., Lim, E.G., Choi, M.K., Kim, J.S., Choi, G.B., Jeong, S.G., Hahm, Y.S., An investigation of microbial contamination of side dishes sold at traditional market and super market in Ulsan. *J. Food Hyg. Saf.*, **27**, 87-95 (2012).
- Hwang, S.H., Microorganism contaminants of dutch coffee and change according to the storage period. *Korean J. Food Nutr.*, **28**, 422-427 (2015).
- Kim, H.J., Hwang, Y.I., Lee, S.C., Inhibitory effect of hydrogen peroxide on the growth of *Escherichia coli*. *J. Basic Sci.*, **19**, 113-117 (2004).
- Zhang, W.Y., A benefit-risk assessment of caffeine as an analgesic adjuvant. *Drug Saf.*, **24**, 1127-1142 (2001).
- Erikson, G.C., Hager, L.B., Houseworth, C., Duggan, J., Petros, T., Beckwith, B.E., The effects of caffeine on memory for word lists. *Physiol. Behav.*, **35**, 47-51 (1985).
- van Dam, R.M., Hu, F.B., Willett, W.C., Coffee, caffeine, and health. *N. Engl. J. Med.*, **383**, 369-378 (2020).
- Smith, A., Effects of caffeine on human behavior. *Food Chem. Toxicol.*, **40**, 1243-1255 (2002).
- Lieberman, H.R., 1992. Caffeine. In: Smith, A.P., Jones, D.M. (Eds.), Handbook of Human Performance, vol. 2. Academic Press, London, England, pp. 49-72.
- Heaney, R.P., Effects of caffeine on bone and the calcium economy. *Food Chem. Toxicol.*, **40**, 1263-1270 (2002).