


## 최종 보고서

이 보고서를 (주)보비씨엔이가 의뢰한  
『항산화 활성 (ABTS radical 소거능) 및 tyrosinase (DOPA  
oxidase) 활성 억제능』 시험분석의 최종 보고서로  
제출합니다.

제출일 : 2018년 7월 25일

연구기관 : 한림대학교  
식약처의 효능평가 및 기능성소재개발센터

연구책임자 : 김 은지 (인) 

담당연구원 : 최 미란 (인)  강 범구 (인) 



## I. 시험분석 목적

본 시험은 보비씨엔이(주)가 의뢰한 수소흡장칼슘파우더의 항산화 활성 (ABTS radical 소거능) 및 tyrosinase (DOPA oxidase) 활성 억제능을 분석하기 위해 실시하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 시험물질

보비씨엔이(주)가 제공한 수소흡장칼슘파우더를 시험물질로 사용하였다.

### 2. ABTS radical 소거능 분석

본 시험분석은 Re 등의 방법 (Re R et al., Free Radical Biology & Medicine 26: 1231-237, 1999)을 기초로 하였으며, 방법을 일부 변형하여 ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt) 용액에 의한 전자공여능 (electron donating ability)을 측정하였다.

ABTS radical 소거능을 측정하기 위해 시험물질은 증류수로 250 mg/mL 농도가 되도록 제조하여 5분간 sonication 한 후 0.45 µm syringe filter 로 여과하고 증류수로 희석하여 다양한 농도 (1, 5, 10, 20, 50, 100 mg/mL)로 제조하였다. 양성대조 물질인 ascorbic acid는 증류수로 용해하여 다양한 농도 (0.01, 0.05, 0.1, 0.5 mg/mL)로 제조하였다.

2 mM ABTS와 3.5 mM K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>6</sub>을 혼합한 후 증류수로 30배 희석한 후 실온인 암소에서 24시간 반응하여 ABTS radical 용액을 제조하였다. 반응물질인 ABTS radical 용액 290 µL에 다양한 농도의 시험물질 또는 양성대조물질을 10 µL를 넣어 혼합하여 실온인 암소에서 10분간 반응시킨 후 750 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. ABTS radical 소거능은 아래의 식으로 계산하였다.

$$\text{ABTS radical 소거능 (\%)} = (1 - A/B) \times 100$$

(A: 시험물질 첨가군의 흡광도 B: 시험물질 무첨가군 (대조군)의 흡광도)

### 3. Tyrosinase (DOPA Oxidase) 활성 억제능 분석

본 시험분석은 식품의약품안전처의 '기능성화장품 유효성 평가를 위한 가이드라인 (I)'을 기초로 하였으며, 방법을 일부 변형하여 tyrosinase의 DOPA oxidase 활성 억제능을 측정하였다.

DOPA oxidase 활성 억제능을 측정하기 위해 시험물질은 증류수로 500 µg/mL 농도가 되도록 제조하여 5분간 sonication 한 후 0.45 µm syringe filter 로 여과하고 증류수로 희석하여 다양한 농도 (31.3, 62.5, 125, 250, 500 µg/mL)로 제조하였다. 양성대조물질인 ascorbic acid는 증류수로 용해하여 다양한 농도 (31.3, 62.5, 125, 250 µg/mL)로 제조하였다.

0.1 M phosphate buffer (pH 7.0) 187 µL에 다양한 농도의 시험물질 또는 양성대조물질 10 µL, 2,000 unit/mL mushroom tyrosinase 10 µL, 10 mM L-DOPA 10 µL를 순차적으로 넣은 다음 37°C에서 10분 동안 반응시켰다. 반응 시킨 후 475 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. DOPA oxidase 활성 억제능은 아래의 식으로 계산하였다.

$$\text{DOPA oxidase 활성 억제능 (\%)} = (A-B/A) \times 100$$

(A: 시험물질 첨가군의 흡광도 B: 시험물질 무첨가군 (대조군)의 흡광도)

### 4. 통계 처리

모든 분석 수치는 mean ± SEM으로 나타내었다.

## III. 연구 결과

### 1. ABTS radical 소거능

시험물질인 수소흡장칼슘파우더를 다양한 농도 (1, 5, 10, 20, 50, 100 mg/mL)로 증류수에 용해 후 ABTS radical 소거능을 측정하였다. 또한 양성대조물질인 ascorbic acid는 0.01, 0.05, 0.1 및 0.5 mg/mL 농도로 증류수로 용해 한 후 ABTS radical 소거능을 측정하였고 그 결과를 표 1에 나타내었다.

**표 1. ABTS radical 소거능**

		ABTS radical 소거능 (%)
수소흡장칼슘 파우더 (시험물질)	1 mg/mL	10.8 ± 0.2
	5 mg/mL	29.7 ± 0.3
	10 mg/mL	59.2 ± 0.5
	20 mg/mL	75.5 ± 0.1
	50 mg/mL	92.1 ± 0.3
	100 mg/mL	98.0 ± 0.2
Ascorbic acid (양성대조물질)	0.01 mg/mL	8.0 ± 0.9
	0.05 mg/mL	38.3 ± 0.4
	0.1 mg/mL	97.5 ± 0.4
	0.5 mg/mL	99.9 ± 0.1

Values are expressed as mean ± SEM.

양성대조물질로 사용한 ascorbic acid의 ABTS radical 소거능은 0.01, 0.05, 0.1 및 0.5 mg/mL 농도에서 각각  $8.0 \pm 0.9\%$ ,  $38.3 \pm 0.4\%$ ,  $97.5 \pm 0.4\%$  및  $99.9 \pm 0.1\%$  이었다. 시험물질의 ABTS radical 소거능은 1, 5, 10, 20, 50 및 100 mg/mL 농도에서 각각  $10.8 \pm 0.2\%$ ,  $29.7 \pm 0.3\%$ ,  $59.2 \pm 0.5\%$ ,  $75.5 \pm 0.1\%$  및  $92.1 \pm 0.3\%$ 이었으며, 양성대조물질인 ascorbic acid에 비해 ABTS radical 소거능은 낮게 나타났으나 비교적 높은 ABTS radical 소거능을 나타내는 것으로 판단된다 (표 1).

## 2. Tyrosinase의 DOPA oxidase 활성 억제능

시험물질인 수소흡장칼슘파우더를 다양한 농도 (31.3, 62.5, 125, 250, 500  $\mu\text{g/mL}$ )로 증류수에 용해 후 L-DOPA를 기질로 하여 tyrosinase의 DOPA oxidase 활성 억제능을 측정하였다. 또한 양성대조물질인 ascorbic acid는 31.3, 62.5, 125 및 250  $\mu\text{g/mL}$  농도로 증류수로 용해 한 후 DOPA oxidase 활성 억제능을 측정하였고 그 결과를 표 2에 나타내었다.

양성대조물질로 사용한 ascorbic acid의 DOPA oxidase 활성 억제능은 31.3, 62.5, 125 및 250  $\mu\text{g/mL}$  농도에서 각각  $39.0 \pm 1.9\%$ ,  $43.4 \pm 2.6\%$ ,  $44.4 \pm 0.2\%$



및  $48.8 \pm 2.2\%$  이었다. 시험물질의 DOPA oxidase 활성 억제능은 31.3, 62.5, 125, 250 및 500  $\mu\text{g/mL}$  농도에서 각각  $34.5 \pm 3.4\%$ ,  $35.1 \pm 2.6\%$ ,  $37.6 \pm 4.7\%$ ,  $40.6 \pm 1.0\%$  및  $44.1 \pm 4.0\%$ 이었다. DOPA oxidase 활성 억제능은 시험물질의 처리 농도 증가에 따라 소폭 증가하는 경향을 나타내었으나 처리 농도에 따른 DOPA oxidase 활성 억제능의 차이는 크지 않았다. 시험물질의 DOPA oxidase 활성 억제능은 양성 대조물질인 ascorbic acid와 비교 시 대등한 DOPA oxidase 활성 억제능을 나타내었고 (표 2), 이는 시험물질인 수소흡장칼슘파우더의 DOPA oxidase 활성 억제능이 탁월함을 나타낸다.

**표 2.** DOPA oxidase 활성 억제능

		DOPA oxidase 활성 억제능 (%)
수소흡장칼슘 파우더 (시험물질)	31.3 $\mu\text{g/mL}$	$34.5 \pm 3.4$
	62.5 $\mu\text{g/mL}$	$35.1 \pm 2.6$
	125 $\mu\text{g/mL}$	$37.6 \pm 4.7$
	250 $\mu\text{g/mL}$	$40.6 \pm 1.0$
	500 $\mu\text{g/mL}$	$44.1 \pm 4.0$
Ascorbic acid (양성대조물질)	31.3 $\mu\text{g/mL}$	$39.0 \pm 1.9$
	62.5 $\mu\text{g/mL}$	$43.4 \pm 2.6$
	125 $\mu\text{g/mL}$	$44.4 \pm 0.2$
	250 $\mu\text{g/mL}$	$48.8 \pm 2.2$

Values are expressed as mean  $\pm$  SEM.

#### IV. 요약 및 결론

보비씨엔이㈜에서 의뢰한 수소흡장칼슘파우더의 항산화 활성 및 미백 활성을 평가하기 위해 ABTS radical 소거능과 tyrosinase의 DOPA oxidase 활성 억제능을 측정하였다.

100  $\text{mg/mL}$  수소흡장칼슘파우더의 ABTS radical 소거능은  $98.0 \pm 0.2\%$ 로 매우

높은 항산화 활성을 나타내었으며, 또한 500  $\mu\text{g/mL}$  수소흡장칼슘파우더의 DOPA oxidase 활성 억제능은  $44.1 \pm 4.0\%$ 로 높은 미백 효과가 있는 것으로 판단된다.



## 시 험 분 석 성 적 서

시료명		수소흡장칼슘파우더	의뢰일	2018. 06. 25
의 뢰 인	업체명	보비씨엔이(주)		
	주소	서울특별시 서초구 남부순환로 2497 호서대학교 창업보육센터 803호		
	성명	정영혁		
용도		품질확인용 (    )	연구개발용 ( 0    )	기타 (    )
시험책임자		김은지 <i>Kim Eun Ji</i>	시험담당자	최미란 <i>Choi Mi Ran</i> / 강범구 <i>Kang Beom Gu</i>

귀사가 우리 센터에 의뢰한 시험분석 결과는 다음과 같습니다.

### [ABTS radical 소거능]

		ABTS radical 소거능 (%)
수소흡장칼슘 파우더 (시험물질)	1 mg/mL	10.8 ± 0.2
	5 mg/mL	29.7 ± 0.3
	10 mg/mL	59.2 ± 0.5
	20 mg/mL	75.5 ± 0.1
	50 mg/mL	92.1 ± 0.3
	100 mg/mL	98.0 ± 0.2
Ascorbic acid (양성대조물질)	0.01 mg/mL	8.0 ± 0.9
	0.05 mg/mL	38.3 ± 0.4
	0.1 mg/mL	97.5 ± 0.4
	0.5 mg/mL	99.9 ± 0.1

Values are expressed as mean ± SEM.

[DOPA oxidase 활성 억제능]

		DOPA oxidase 활성 억제능 (%)
수소흡장칼슘 파우더 (시험물질)	31.3 µg/mL	34.5 ± 3.4
	62.5 µg/mL	35.1 ± 2.6
	125 µg/mL	37.6 ± 4.7
	250 µg/mL	40.6 ± 1.0
	500 µg/mL	44.1 ± 4.0
Ascorbic acid (양성대조물질)	31.3 µg/mL	39.0 ± 1.9
	62.5 µg/mL	43.4 ± 2.6
	125 µg/mL	44.4 ± 0.2
	250 µg/mL	48.8 ± 2.2

Values are expressed as mean ± SEM.

붙임 1. 시험분석보고서 1부

2018년 7 월 25 일

한림대학교 산학협력단 지역혁신센터  
(식의약품의 효능평가 및 기능성소재개발센터)

