



**(재)춘천바이오산업진흥원**  
Chuncheon Bioindustry Foundation

수신자    수신처 참조  
(참조)

제 목    웰니스상품의 제품인증을 위한 사전 성분분석 및 효능검사, 기술지도 컨설팅 결과 보고

1. 귀 기업의 무궁한 발전을 기원합니다.

2. (재)춘천바이오산업진흥원에서 MICARE산업(목적형 웰니스관광) 생태계 육성지원 사업의 일환으로 실시한 ‘웰니스상품의 제품인증을 위한 사전 성분분석 및 효능검사, 기술지도 컨설팅’ 프로그램에 대한 수행 결과를 보고합니다.

붙 임 : 웰니스상품의 제품인증을 위한 사전 성분분석 및 효능검사, 기술지도 컨설팅 결과 보고서 1부. 끝.

**(재)춘천바이오산업진흥원장**



수신처 : (주)세바바이오텍, 보비씨엔이(주), (주)다림앤바이오, 농업회사법인(주)제주우다, (주)바른 대표이사

전경 03/22  
담당자    이 은 모    친환경인증지원센터장    이 수 응

협 조

시행    (재)춘천바이오5000-792    (2017. 03. 22.)    접수    (    )

우 24232    강원도 춘천시 소양강로 32 춘천바이오타운 BIO-2동 202호    / [www.cbf.or.kr](http://www.cbf.or.kr)

전화 033-258-6965    전송 033-258-6172 / [mo1014@nate.com](mailto:mo1014@nate.com)    / 공개

# 웰니스상품의 제품인증을 위한 사전 성분분석 및 효능검사, 기술지도 컨설팅 결과 보고

## [보비씨엔이(주)]

- 공인인증기관 의뢰 전 예비성분 분석 및 사전 효능분석을 통해 기초 data를 제공하고 기업의 비용과 노동력을 절감
- 법적 기준에 부합하는 성분의 허용범위 및 기술적 보완요구사항과 관련한 컨설팅 자료 제공

### □ 의뢰 개요

가. 의뢰기업 : 보비씨엔이(주) (대표 최태호)

나. 소재지 : 강원도 영월군 영월읍 팔괴1농공단지길 21-28,  
(재)영월청정소재산업진흥원 207호

다. 담당자 : 최태호

라. 담당자연락처 : 010-2592-5160, cth0725@naver.com

마. 시료명 :

- 수다캘럭시(제품)

- 수다캘럭시(제품) 추출물

※ 시료제조방법 : 수다캘럭시 제품을 3차 증류수에 100mg/ml 농도로 첨가하여 3시간 용해 후 여과한 용액 사용

바. 의뢰시험내용 :

① 할랄인증 관련 제품 내 알코올 함량 사전 예비분석 (Headspace GC)

- 수다캘럭시(제품)

② 항산화 효능 평가 (ABTS assay)

- 수다캘럭시 추출물

③ 항염 효능 평가 (NO assay)

- 수다캘럭시 추출물

사. 실험자 : 이은모 연구원 (010-2943-1463, mo1014@nate.com)

## □ 의뢰 결과 요약

| 실험명       | 실험방법         | 시료 농도                       | 실험결과                                  |
|-----------|--------------|-----------------------------|---------------------------------------|
| 알코올 함량 분석 | Headspace GC | 수다캘럭시(제품) 원물                | 약 0.006%<br>(할랄인증 보편적 허용수치 : 0.5% 미만) |
| 항산화 효능 평가 | ABTS assay   | 수다캘럭시(제품) 추출물<br>1~4배 희석액   | 시료 농도에 비례하여 효능 있음                     |
| 항염 효능 평가  | NO assay     | 수다캘럭시(제품) 추출물<br>10~40배 희석액 | 시료 농도에 비례하여 효능 있음                     |

## □ 실험용 장비 유지보수

가. 목 적 : 성분분석 및 효능평가에 필요한 장비의 유지 및 보수를 통해 원활한 사업 수행이 이루어질 수 있도록 하는 데에 그 목적이 있음

나. 내 용 :

- CO<sub>2</sub> incubator(HERACELL 150i) 액정 패널 수리
  - 사용 용도 : 항염 효능평가, 미백 효능평가 (동물세포 이용 실험)
  - 수리 내용 : 동물 세포 배양에 필요한 배양기인 CO<sub>2</sub> incubator의 디스플레이 패널 액정 고장에 따른 수리
- 초순수제조장치(Sartorius Arium 611VF) 필터 교체
  - 사용 용도 : 알코올 함량측정, 항산화 효능평가, 항염 효능평가, 미백 효능평가
  - 수리 내용 : 관련 실험에서 시료 및 시약을 용해, 희석하는 데에 필요한 초순수(De-ionized water)를 제조하는 장치의 필터 교체
- 고압멸균기(AC-14) 열선 교체
  - 사용 용도 : 항염 효능평가, 미백 효능평가
  - 수리 내용 : 관련 실험에서 실험기자재의 멸균에 필요한 고압멸균기의 열선 노후화에 따른 교체

## □ 실험 방법

가. 할랄인증 관련 제품 내 알코올 함량 사전 예비분석

(1) 시료 정보

○ ‘수다캘럭시’ 제품(분말) 그대로 사용

(2) 분석 방법

○ 실험 재료

- Gas Chromatograph 및 column (Agilent, DB-624UI)
- 알코올 표준물질 (1.6%, 0.8%, 0.4%, 0.2%, 0.1% 0.05%)
- 포화 염화나트륨 용액
- 20ml Headspace-용 vial
- Gastight Syringe

○ GC 분석 조건

- SPL1 (시료 기화실)

|             |             |
|-------------|-------------|
| Temperature | 220℃        |
| Carrier Gas | He          |
| Pressure    | 60.3 kPa    |
| Total Flow  | 13.8 mL/min |
| Column Flow | 1.8 mL/min  |
| Purge Flow  | 3.0 mL/min  |
| Split Ratio | 5.0         |

- Column

|                                     |                |            |
|-------------------------------------|----------------|------------|
| Column<br>Information<br>(DB-624UI) | Length         | 30.0 m     |
|                                     | Film Thickness | 1.80 um    |
|                                     | Inner Diameter | 0.32 mm ID |

|  |           |
|--|-----------|
| 시료 분석 프로그램 (Total program time : 15 min) |           |
| Temperature 1                            | 40 °C     |
| Hold Time 1                              | 5 min     |
| Rate 1                                   | 20 °C/min |
| Temperature 2                            | 200 °C    |
| Hold Time 2                              | 2 min     |

- FID (수소염 이온화 검출기)

|             |              |
|-------------|--------------|
| Temperature | 230℃         |
| Makeup Gas  | He           |
| Makeup Flow | 30.0 mL/min  |
| H2 Flow     | 40.0 mL/min  |
| Air Flow    | 400.0 mL/min |

○ 실험 순서

- Headspace용 vial에 시료 500mg 첨가 (알코올 표준물질 사용시 500 $\mu$ l 첨가)
- 포화 NaCl 500 $\mu$ l씩 첨가 후 밀봉
- 60℃ Waterbath에 30분 이상 중탕
- Syringe로 vial의 headspace 부분을 취하여 GC기기로 분석

나. 항산화 효능평가 (ABTS assay)

(1) 시료 정보

- 수다캘럭시(제품) 추출물을 0.45 $\mu$ m filter로 여과 후 사용
- 시료 희석 : 원액, 2배, 4배로 희석하여 사용

(2) 평가 방법

○ 실험 재료

- ABTS(2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)) 7mM 용액
- Potassium persulfate(K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>) 140mM 용액
- Standard solution (Ascorbic acid 80 $\mu$ g/ml, 40 $\mu$ g/ml, 20 $\mu$ g/ml, 10 $\mu$ g/ml)
- 96 well plate
- ELISA reader

○ 실험 순서

- ABTS<sup>+</sup> Stock solution을 제조하여 24시간 방치 후 흡광도(734nm) 값이 0.68~0.72가 되도록 희석
- 시료 및 Standard solution을 96 well plate에 well 당 20 $\mu$ l씩 첨가
- ABTS<sup>+</sup> Solution을 각 well 당 180 $\mu$ l씩 첨가
- 암실, 실온에서 10분간 반응 후 흡광도(734nm) 측정



## 다. 항염 효능평가 (NO assay)

### (1) 시료 정보

- 수다캘럭시(제품) 추출물을 0.45 $\mu$ m filter로 여과 후 사용
- 시료 희석 : 원액, 2배, 4배로 희석한 시료를 (배지 : 시료 = 90 : 10)로 처리하여 실험
- ※최종적으로 시료는 10배, 20배, 40배 희석

### (2) 평가 방법

#### ○ 실험 재료

- 대식세포주 Raw 264.7 cell (TIB-71)
- DMEM 배지 (+10% FBS, 1% Antibiotics)
- 37°C CO<sub>2</sub> incubator
- PBS(Phosphate buffered saline) pH 7.4
- LPS(Lipopolysaccharide) stock solution (1mg/ml)
- Griess reagent system (제조사: Promega)
- Cell counting kit-8 (제조사: Dojindo)
- Cell culture flask(75cm<sup>2</sup>), 24 well plate, 96 well plate

#### ○ 실험 순서

- a. DMEM 배지 (+10% FBS, 1% Antibiotics)에 Raw 264.7 세포 배양
- b. 배양한 세포를 24 well plate에  $2.5 \times 10^5$  cells/well로 분주하여 24시간 배양
- c. 배양액 제거 후 LPS(최종농도 1 $\mu$ g/ml)가 포함된 배지 450 $\mu$ l와 시료 50 $\mu$ l를 첨가하여 24시간 배양 (※최종적으로 시료는 10배 희석)
- d. 배양액을 취하여 96 well plate에서 Griess reagent system을 이용, nitrite 함량 측정
- e. 실험이 끝난 24 well plate는 새 배지로 교환하여 CCK-8 assay를 이용, 세포 독성 여부를 측정하고 독성이 없다고 판단되는 값{Cell viability(% of control)  $\geq$  80%}에 대해서만 항염 효능 평가

## □ 실험 결과

가. 할랄인증 관련 제품 내 알코올 함량 사전 예비분석 (Headspace GC)

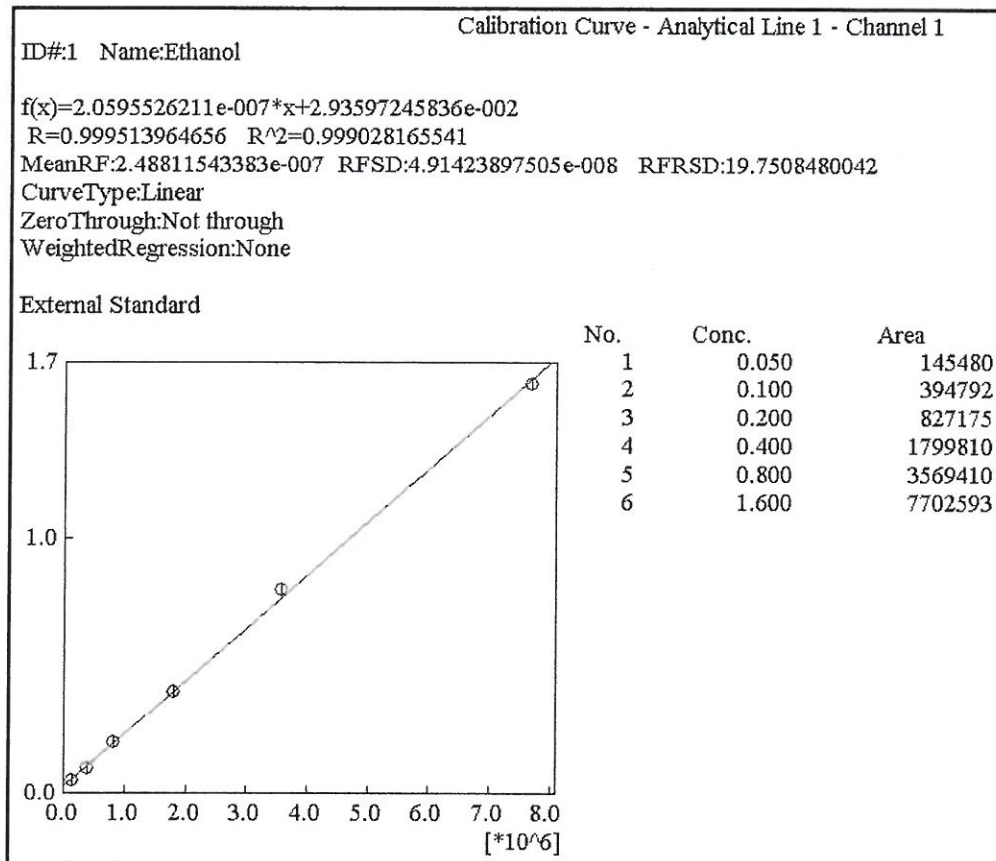


Fig. 1. Standard curve (Ethanol 0.05% ~ 1.6%)

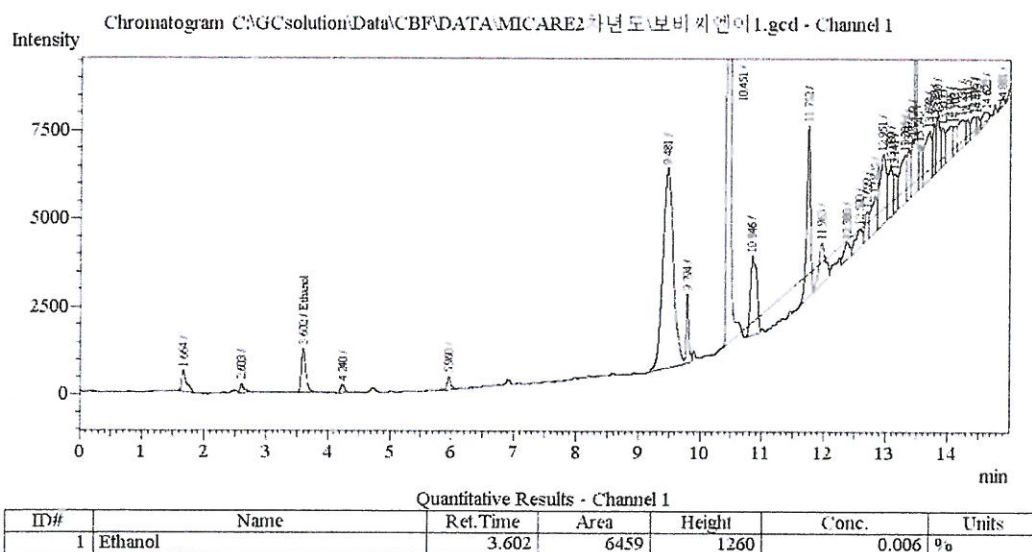
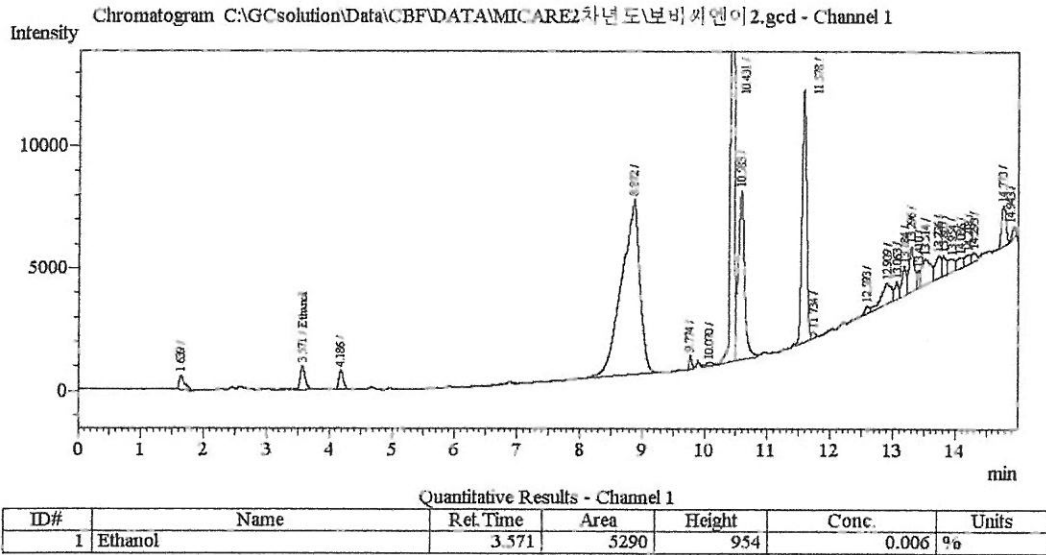


Fig. 2. The alcohol concentration of “수다캘럭시(제품)”. (The first experiment)





## 나. 항산화 효능평가 (ABTS assay)

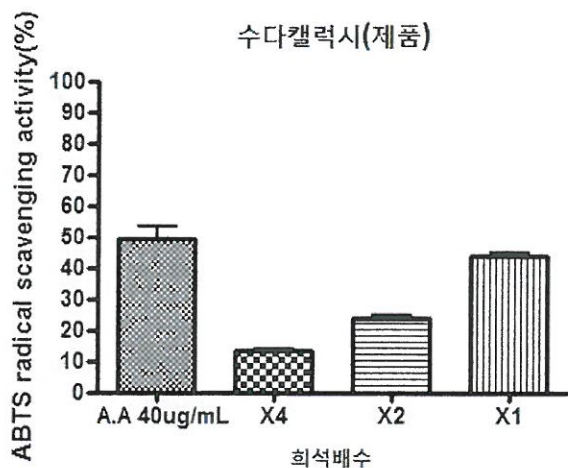


Fig. 5. ABTS radical scavenging activities of “수다캘럭시(제품) 추출물”. Each bar represents the mean  $\pm$  SD of independent duplicate experiments (n=3). Ascorbic acid used for positive control. (A.A ; Ascorbic acid)

- 수다캘럭시(제품) 추출물의 항산화 효능평가(ABTS assay) 결과, 시료제조방법 (“의뢰개요” 참고)에 따라 제조한 시료 원액의 경우, 대표적인 항산화 물질인 Ascorbic acid 40 $\mu$ g/mL과 유사한 항산화 활성을 나타냄(Fig. 5).
- 시료의 농도가 증가함에 따라 라디칼 소거능이 함께 증가하는 것으로 보아, 위 농도(원액~4배 희석액)에서 항산화 효능이 있는 것으로 판단됨(Fig. 5).

## 다. 항염 효능평가 (NO assay)

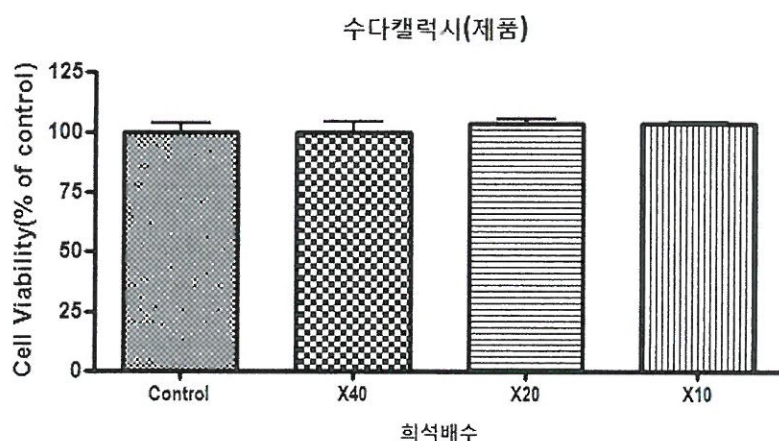


Fig. 6. Cell viability of Raw 264.7 cells after treatment with “수다캘럭시(제품) 추출물” (Control ; untreated group). The cells were cultured in the presence of various concentration of sample for 24hr. Each bar represents the mean  $\pm$  SD of experiment (n=3). (\* $p$ <0.05, \*\* $p$ <0.01, \*\*\* $p$ <0.001 compared to the Control value).

- 수다캘럭시(제품) 추출물의 Raw 264.7 세포에 대한 세포독성 실험 결과, 10배, 20배, 40배 희석액 처리군 모두에서 독성을 보이지 않음(Fig. 6).
- 따라서 모든 시험군에서 항염 효과를 판단함(Fig. 6).

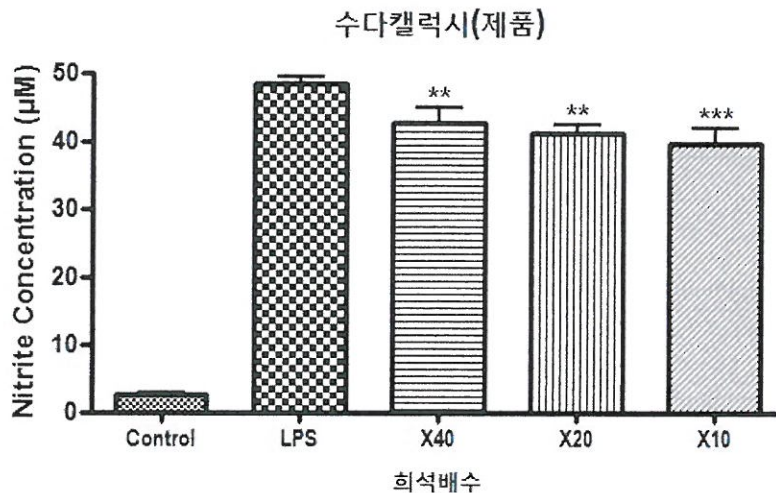


Fig. 7. Effects of “수다캘럭시(제품) 추출물” on the Nitric Oxide (NO) production in LPS-stimulated of Raw 264.7 cells (Control ; non-LPS treated group). Cells were treated with various concentration of sample and stimulated with LPS(1μg/ml) for 24 hr. Each bar represents the mean  $\pm$  SD of experiment (n=3). (\* $p$ <0.05, \*\* $p$ <0.01, \*\*\* $p$ <0.001 compared to the LPS-alone treatment value).

- 수다캘럭시(제품) 추출물의 항염 효능평가(NO assay) 결과, 항염 지표물질인 Nitrite의 생성량이 LPS 단독처리군에서 48.5 μM, 40배 희석액에서 42.7 μM, 20배 희석액에서 41.3 μM, 10배 희석액에서 39.6 μM로 나타나 감소폭은 미미하지만 농도 의존적으로 감소하는 경향을 보임(Fig. 7).
- 시료의 농도가 증가함에 따라 Nitrite 생성량이 감소하는 것으로 보아, 위 농도 (10배 ~ 40배 희석액)에서 “수다캘럭시(제품) 추출물”의 항염 효능이 있는 것으로 판단됨(Fig. 7).

## □ 주의 사항

- (재)춘천바이오산업진흥원은 제품 분석 및 원료 효능평가 공인 인증기관이 아니므로 자료인용시 주의 요함.
- 본 결과보고서는 당 진흥원의 사전 서면동의 없이 홍보, 선전, 광고 및 소송용으로 사용 될 수 없음.