

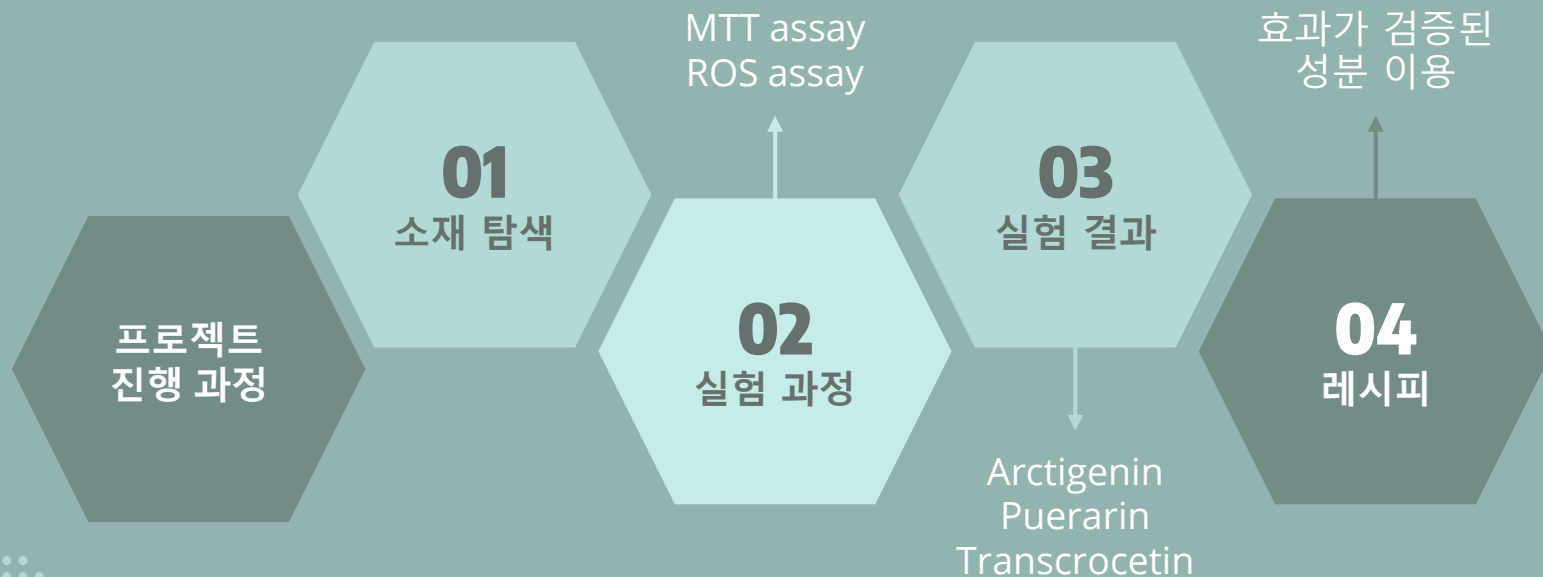
# 바이오식의약 소재의 기능 및 이용 연구

담당교수: 임화선 교수님

담당조교: 이민경 조교님

조원: 김하진, 안하정, 우현주, 이수원, 이정빈

# 목차



# 진행 과정

1. 피부세포 염증 완화에 효과가 있는 식의약소재 탐색
2. 식의약 소재를 사용한 피부세포 실험
3. 피부세포 염증 완화가 효과가 있는 소재를 사용한 레시피 개발

# 소재 탐색

## 1. 소재탐색

식품	약용 식물	해조류	광물
<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ <b>참</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 푸에라린</li> </ul> </li> <li>▶ <b>우방자</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 악티게닌</li> </ul> </li> <li>▶ 베리류 <ul style="list-style-type: none"> <li>- 안토시아닌</li> </ul> </li> <li>▶ 치자 <ul style="list-style-type: none"> <li>- 크로세틴</li> </ul> </li> <li>▶ 케일 <ul style="list-style-type: none"> <li>- 퀘르세틴, 베타카로틴</li> </ul> </li> <li>▶ 금어초 <ul style="list-style-type: none"> <li>- 플라보노이드 화합물</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ <b>카모마일</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 크로세틴, 플라보노이드</li> </ul> </li> <li>▶ 금어초 <ul style="list-style-type: none"> <li>- 안토시아닌, 리놀레산, 올레인산</li> </ul> </li> <li>▶ 연꽃 <ul style="list-style-type: none"> <li>- 플라보노이드, 레그헤모글로빈</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ 감태 <ul style="list-style-type: none"> <li>- 플로로탄닌</li> </ul> </li> <li>▶ 라미나리아 디지타타 <ul style="list-style-type: none"> <li>- 베타인</li> </ul> </li> <li>▶ 볼복스 카르테리 <ul style="list-style-type: none"> <li>- 리폭시게니아</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ 황</li> <li>▶ 명반</li> <li>▶ 밀타승</li> <li>▶ 응황</li> <li>▶ 카올린</li> </ul>

실험을 통해 '피부세포 염증완화효과'를 관찰하는 것이 가능하고,  
'관련 연구가 비교적 많이 진행되지 않은' 성분 선택

# 실험 소개

▶ 실험 목적: HaCaT cell에  $H_2O_2$ 를 사용하여 활성산소를 발생시킨 후 Artigenin, Puerarin, Crocetin이 피부세포의 스트레스를 완화시키는지 확인

- 사용한 세포: HaCaT cell – 각질 형성 세포 / 면역 조절, 염증유도물질 생성
- 활성 산소(ROS) : 각질 세포에 산화적 스트레스를 초래하여 여러 피부질환 유발

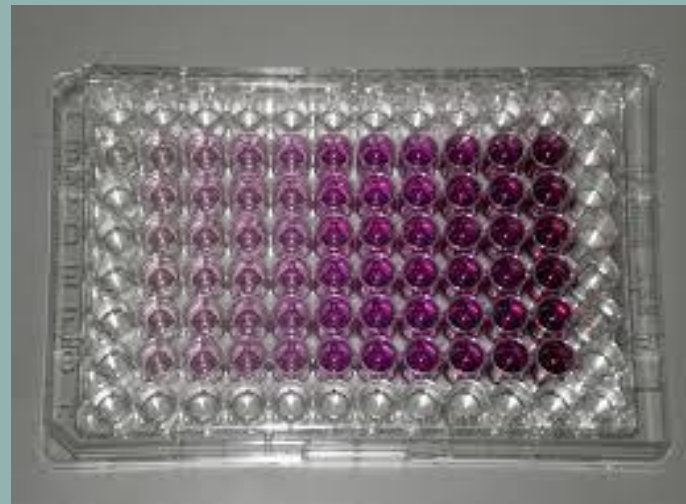
▶ 결과 확인 방법: **MTT assay**를 통해 약물이 세포 사멸을 완화시키는지 확인하고, 그 기전이 ROS 감소를 원인으로 하는지 알아보기 위해 **ROS assay** 진행

# MTT assay

## MTT assay

: 살아있는 세포의 능력을 이용하여 세포의 사멸 변화 관찰  
노란색의 tetrazolium salt가 미토콘드리아의 환원 능력에 의해  
보라색의 formazan을 형성  
(세포가 많이 살아있을수록 진한 보라색을 띠م)

→ 흡광도를 측정하여 세포의 사멸 정도 측정



# ROS assay

## ROS assay

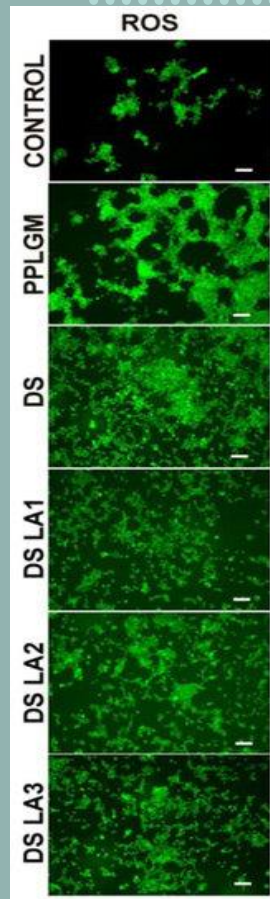
: ROS(reactive oxygen species)가 유발된 정도를 통해 세포의 스트레스 정도 확인

DCFH-DA 시약이 활성 산소와 만나서  
녹색 형광을 띠는 물질인 DCF로 변하는 원리  
(DCF의 생성도) = (ROS의 생성량)

→ 유세포분석기로 녹색 형광도 측정

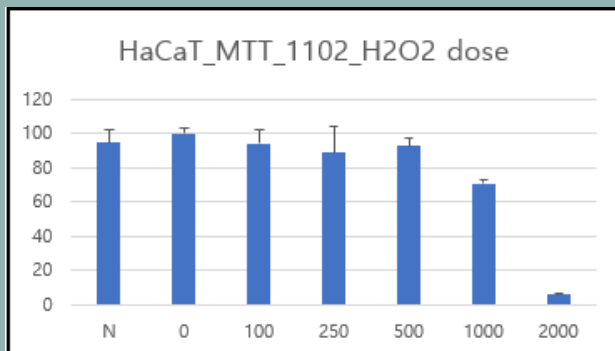


유세포 분석기



# 실험 과정

## 2. 피부세포를 이용한 실험



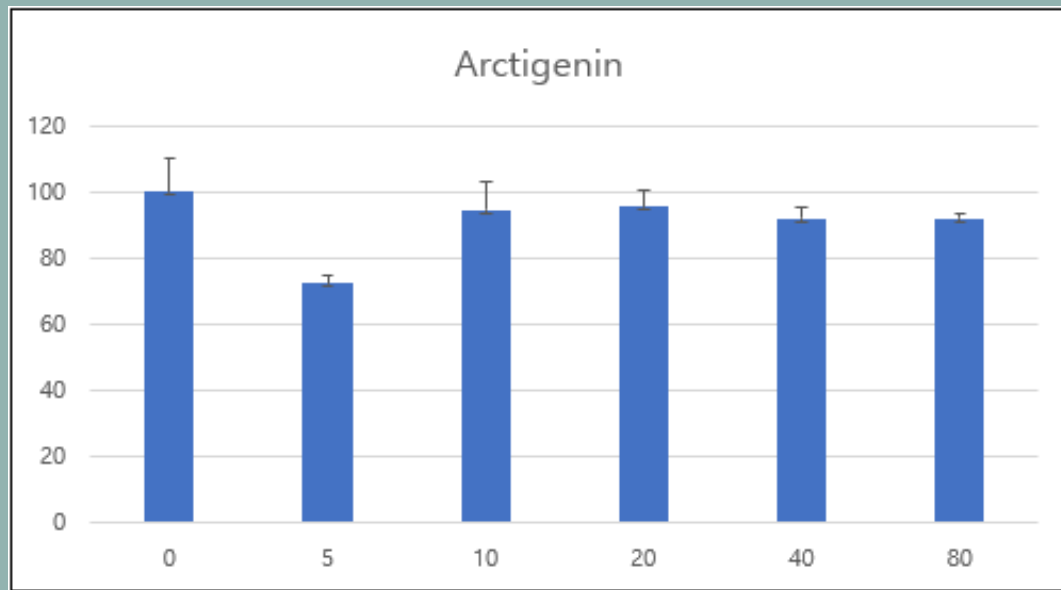
<<최적의 조건을 찾기 위한 예비 실험>>

HaCaT cell에 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 1mM, 1.5mM 처리  
(1mM부터 세포 사멸, 2mM은 사멸 심각)

X축: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 농도(μ M)  
Y축: 빛의 세기(%) = 세포의 생존력



# Arctigenin – MTT assay



X축 : Arctigenin 처리 농도(uM)

Y축 : 빛의 세기(%)

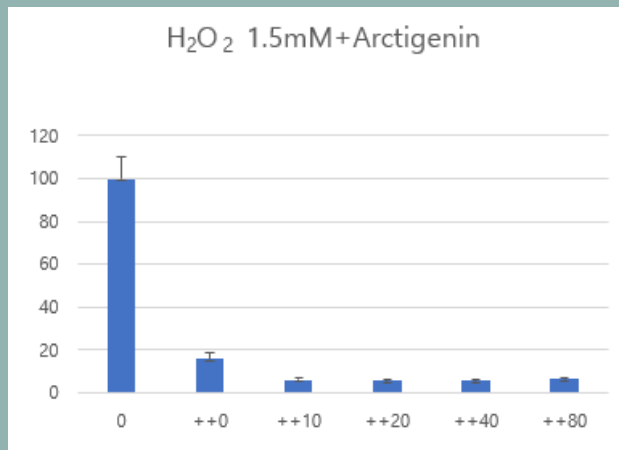
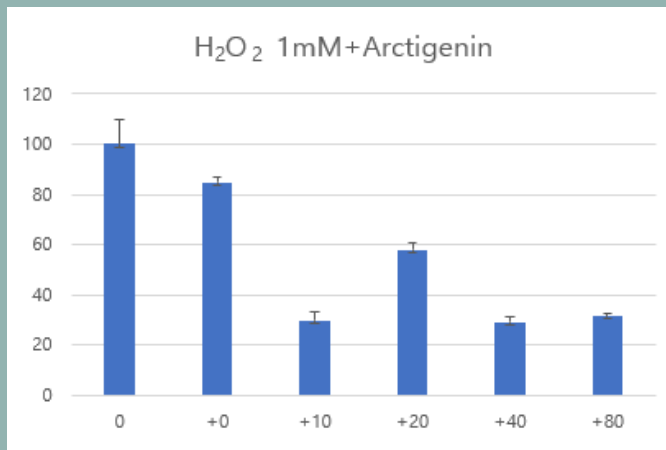
: 0을 기준으로 %로 나타냄

= 세포의 생존력

HaCaT cell에 Arctigenin만 농도별로 처리  
→ Arctigenin에 의해 세포가 죽지 않는다는 결과 확인

# Arctigenin – MTT assay

HaCaT cell에 과산화수소 1mM/1.5mM + Arctigenin 농도별로 처리



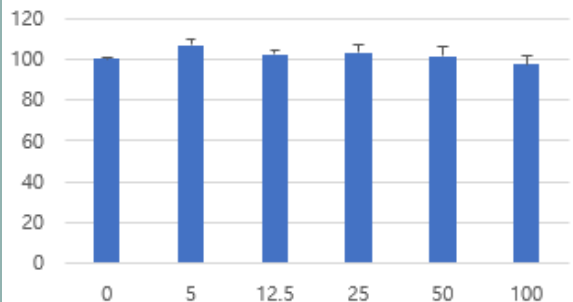
X축 : H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 1mM( +표시) /  
1.5mM(++표시),  
Arctigenin 농도(μM)

Y축 : 빛의 세기(%)  
= 세포 생존률

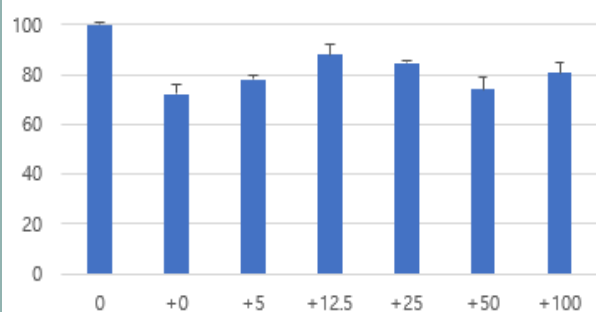
H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>만 넣었을 때보다 Arctigenin을 첨가했을 때 생존율이 낮아짐  
∴ Arctigenin은 세포 손상을 완화시킬 수 없음 (ROS assay 진행 X)

# Puerarin – MTT assay

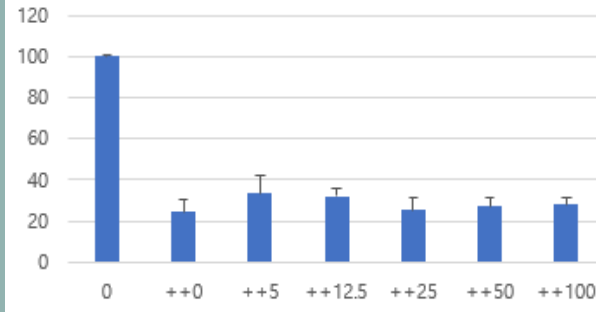
Puerarin dose



HaCaT cell에 Puerarin만  
농도별로 처리  
→ Puerarin에 의해 세포가  
죽지 않는다는 결과 확인

 $H_2O_2$  1mM+Puerarin dose

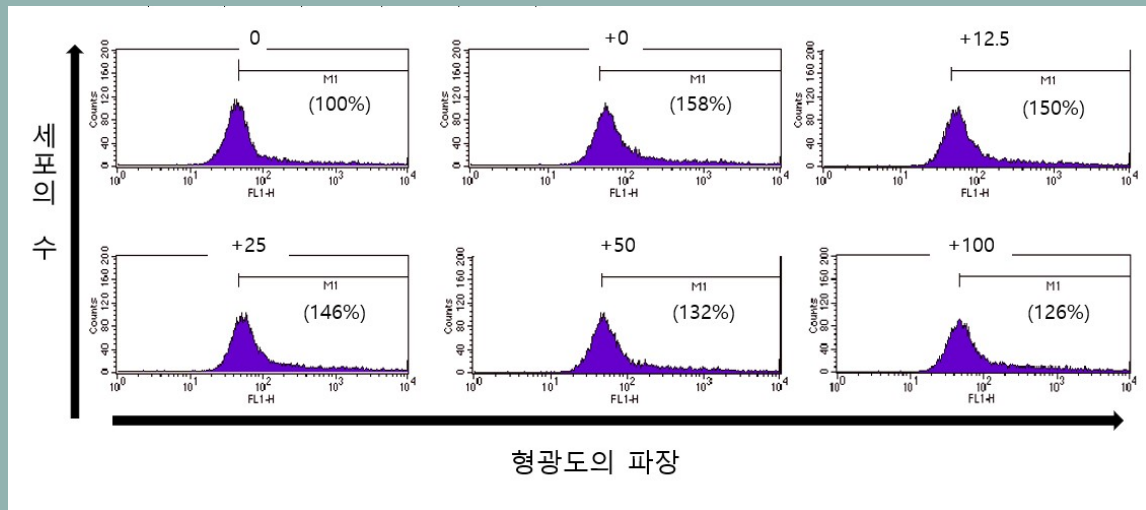
$H_2O_2$  만 처리한 그룹에 비해  
Puerarin을 처리한 그룹의  
세포 생존률이 더 높다는 결과  
확인

 $H_2O_2$  1.5mM+Puerarin dose

$H_2O_2$  만 처리한 그룹에 비해  
Puerarin을 처리한 그룹의 세포  
생존률이 높다는 결과 확인  
(그러나 1.5mM에서는 세포의  
사멸율이 너무 높아서 회복율이  
적음)

∴ Puerarin은 세포의 스트레스 완화에 효과가 있음

# Puerarin – ROS assay



M bar

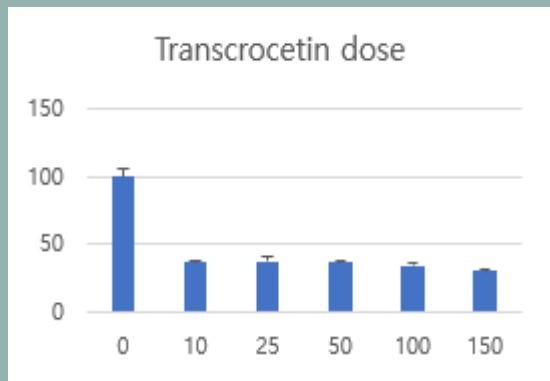
: 아무것도 처리하지 않았을 때  
세포의 수가 가장 많은 파장부터  
파장이 가장 큰 부분까지 나타낸  
것 - 이 안에 속한 세포 수를  
100%라고 가정

→ M bar에 속한 세포 수  
적을수록 ROS 유발 정도가 낮음

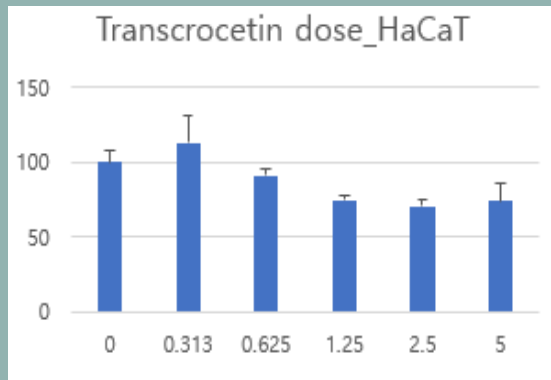
- 파장이 높을수록 형광도 높음 = ROS 유발 정도 높음
- Puerarin의 농도 진해질수록 M bar에 속한 세포 수의 퍼센트가 낮아짐  
= 낮은 파장에서 형광도를 나타내는 세포가 많아짐

∴ Puerarin으로 인해 과산화수소에 의한 산화적 스트레스가 완화됨

# Transcrocetin – MTT assay



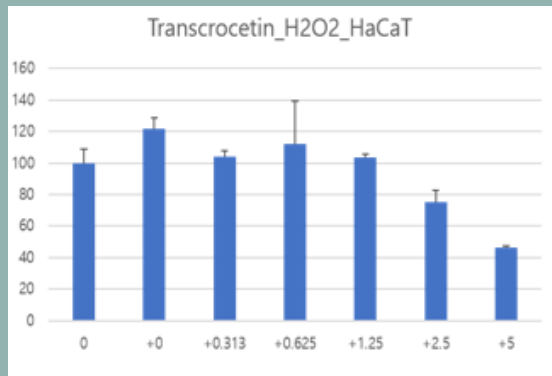
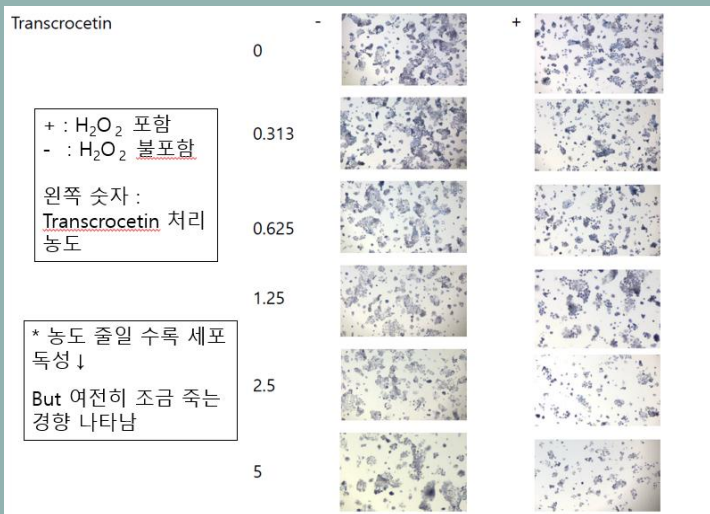
농도 ↓



이전의 다른 약물들과 비교했을 때 세포가 죽는 경향이 나타남

∴ Transcrocetin은 세포 독성이 있음

# Transcrocetin – MTT assay



Transcrocetin의 농도를 낮추고 과산화수소와 병행처리한 결과

-Transcrocetin이 세포 사멸을 완화시키지 못함

-과산화수소가 이전의 실험과 같이 HaCaT cell에 영향을 잘 미치지 못함 (Plate에 세포가 고르게 seeding되지 않았거나 과산화수소의 활성이 떨어진 것이 원인으로 추정)

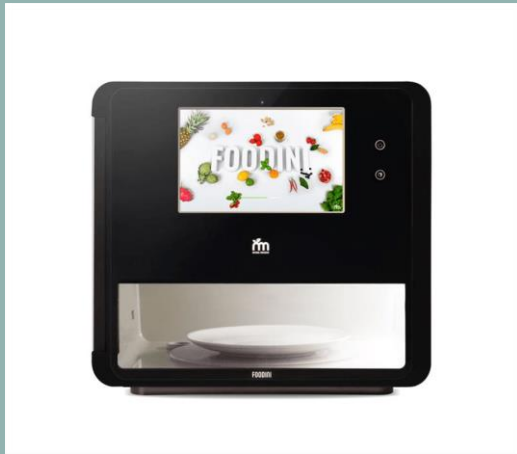
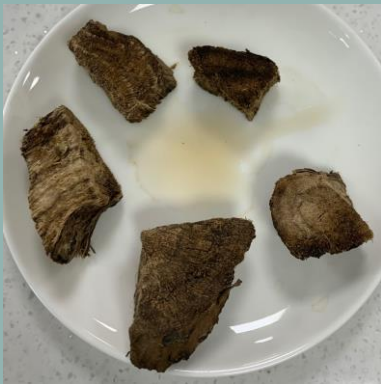
# 효과가 검증된 성분을 이용한 레시피 개발

## ▶ 기존 계획

- ▷ 'Artigenin이 함유된 우방자'와 'Puerarin이 함유된 갈근'을 이용하여 국수를 만든다.
- ▷ 'Crocetin이 함유된 치자황색소'를 사용하여 빨간색 쿠키를 3D Food Printer, Foodini를 이용하여 만든다.

# Puerarin을 사용한 레시피 개발

▶ 'Puerarin이 함유된 갈근'을 이용하여 쿠키, 초콜릿 만들기





# Puerarin을 사용한 레시피 개발

## ▶ 'Puerarin이 함유된 갈근'을 이용하여 쿠키 만들기

### 재료

박력분 250g, 무염 버터 100g, 스테비아 설탕 30g, 소금 2g, 베이킹파우더 2g,  
계란 1개, 갈근 20g(약 4스푼)



### 맛

- 끝맛이 약간 쓴 것 외엔 일반 버터쿠키와 비슷했다.
- 갈근을 곱게 갈지 않아 질긴 것이 씹히기도 했다.

# Puerarin을 사용한 레시피 개발

▶ 'Puerarin이 함유된 갈근'과 FOODNIN를 이용하여 초콜릿 만들기

## 재료

중탕한 초콜릿(100g) + 갈근가루(10g 약 2스푼)

## 과정

- ▷ FOODINI를 구동시킬 수 있는 농도를 맞추기 위해  
중탕한 초콜릿 100g에 갈근을 한 번에 넣지 않고 여러 번  
나눠서 총 10g 첨가
- ▷ 노즐 40으로 FOODINI를 구동시켜 별 모양 초콜릿을 만듦.



# Puerarin을 사용한 레시피 개발



맛

쿠키와 다르게 초콜릿의 단  
맛이 쓴맛을 잘 잡아주어  
일반 초콜릿과 같은 맛이  
났다.

# Puerarin을 사용한 레시피 개발

## ▶ 'Puerarin이 함유된 갈근'으로 핫케이크 만들기

### 재료

박력분 100g, 무염 버터 20g, 스테비아 설탕 5g, 소금 2g, 우유 100g + 갈근가루 15g(약 3스푼)

### 과정

- ▷ FOODINI를 구동시킬 수 있는 농도를 맞추기 위해  
핫케이크 반죽에 갈근을 한 번에 넣지 않고  
여러 번 나눠서 총 15g 첨가

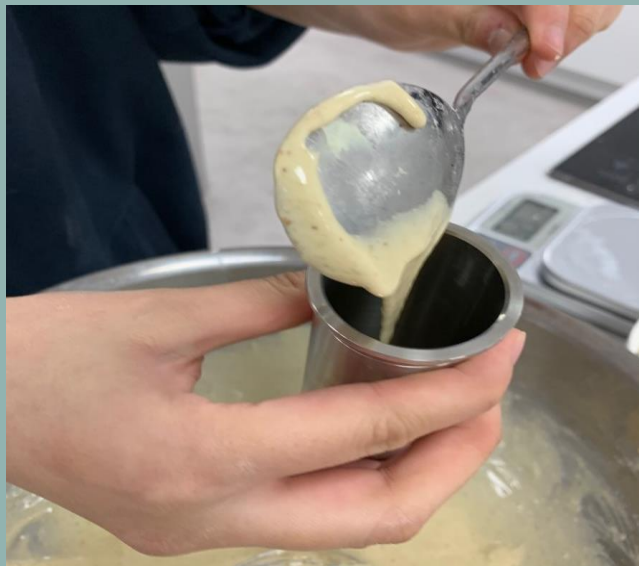


# Puerarin을 사용한 레시피 개발

▶ 'Puerarin이 함유된 갈근'으로 핫케이크 만들기

## 결과

▷ 반죽의 농도가 너무 묽었고  
노즐 앞부분의 핫케이크 반죽이 공기와 닿으면 굳어서  
FOODINI를 사용하는 것이 불가능하다고 판단하여  
숟가락으로 모양을 잡은 후 오븐에 구웠다.



# Puerarin을 사용한 레시피 개발

▶ 'Puerarin이 함유된 갈근'으로 핫케이크 만들기



## 맛

- 매우 짭은 맛이 났다.
- 3D프린터 구동이 가능한 농도를 맞추기 위해 갈근가루를 많이 첨가했기 때문이다.



저희의 발표를 들어주셔서 감사합니다.

또한, 프로젝트에 도움 주신 많은 분들께 감사의  
인사를 드립니다.

