

817021

레스베라
트롤
고함유
톱밥재배
땅콩새싹
추출물을
통한
전립선
건강
개별인정
형
기능식품
개발
최
종
보
고
서
2019

농림축산식품부
농림식품기술기획평가원

보안 과제(), 일반 과제(○) / 공개(○), 비공개()발간등록번호()
기술사업화 지원사업 2019년도 최종보고서

발 간 등 록 번 호

11-1543000-003184-01

레스베라트롤 고함유 톱밥재배 땅콩새싹 추출물을 통한 전립선 건강 개별인정형 기능식품 개발

2020. 7. 17.

주관연구기관 / 농업회사법인(주)레스베라
협동연구기관 / 중앙대학교 산학협력단
위탁연구기관 / 네오뉴트라(주)
(사)한국건강기능식품협회

농 립 축 산 식 품 부
(전문기관) 농림식품기술기획평가원

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “레스베라트롤 고함유 톨밭재배 땅콩새싹 추출물을 통한 전립선 건강 개
별인정형 기능식품 개발”(개발기간 : 2017. 05. 30~ 2019. 12. 31)과제의 최종보고서로
제출합니다.

2020. 07. 17.

주관연구기관명 : 농업회사법인 (주)레스베라 (대표자)



제1, 2 협동연구기관명 : 중앙대학교 산학협력단 (대표자)



제 1위탁연구기관명 : 네오뉴트라(주) (대표자)



제 2위탁연구기관명 : (사)한국건강기능식품협회 (대표자)



주관연구책임자 : 김 배 환

제1협동연구책임자 : 명 순 철

제2협동연구책임자 : 문 성 권

제1위탁연구책임자 : 유 지 숙

제2위탁연구책임자 : 김 영 경

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 연람에 동의
합니다.

보고서 요약서

과제고유번호	817021	해 당 단 계 연 구 기 간	2017.05.30 ~2019.12.31	단 계 구 분	3/3
연구사업명	단 위 사 업	농림축산식품연구개발			
	사 업 명	농림축산식품연구개발			
연구과제명	대 과 제 명	레스베라트롤 고탄유 톱밥재배 땅콩새싹 추출물을 통한 전립선 건강 개별인정형 기능식품 개발			
	세 부 과 제 명	레스베라트롤 고탄유 톱밥재배 땅콩새싹 추출물을 통한 전립선 건강 개별인정형 기능식품 개발			
연구책임자	김배환	해당단계 참여연구원 수	총: 27명 내부: 27명 외부: 명	해당단계 연구개발비	정부: 709,000천원 민간: 179,000천원 계: 888,000천원
		총 연구기간 참여연구원 수	총: 81명 내부: 81명 외부: 명	총 연구개발비	정부: 709,000천원 민간: 179,000천원 계: 888,000천원
연구기관명 및 소속부서명	농업회사법인 (주) 레스베라, (주) 레스베라 연구소			농업회사법인 (주) 레스베라 중앙대학교 의과대학 중앙대학교 식품영양학과	
위탁연구	연구기관명: 네오뉴트라(주), (사)한국건강 기능식품협회			연구책임자: 김배환, 명순철, 문성권, 유지숙, 김영경	

※ 국내외의 기술개발 현황은 연구개발계획서에 기재한 내용으로 같음

연구개발성과의 보안등급 및 사유												
9대 성과 등록·기탁번호												
구분	논문	특허	보고서 원문	연구시설 ·장비	기술요약 정보	소프트 웨어	화합물	생명자원		신품종		
								생명 정보	생물 자원	정보	실물	
등록·기탁 번호												

국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

구입기관	연구시설·장비명	규격 (모델명)	수량	구입연월일	구입가격 (천원)	구입처 (전화)	비고 (설치장소)	NTIS 등록번호

요약

- 톱밥재배 땅콩새싹 추출물의 표준화 과정, 유용물질 공인화 및 기능성평가 완료 및 개별인정형 기능성 원료 신청 주관
- 땅콩새싹 추출물의 전립선비대증 예방에 관한 *in vitro* 효능검증
- 재배 조건에 따른 땅콩새싹 추출물의 유효성분 분석 및 표준화
- 땅콩새싹 추출물의 전립선 건강에 대한 인체적용시험 계획서(프로토콜) 개발
- 기능성 원료의 표준화를 위한 기능/지표성분을 설정하고 정확한 기능/지표성분의 함량을 측정할 수 있는 최적분석조건을 설정.
- 땅콩새싹 추출물의 전립선비대증 예방에 관한 *in vitro* 작용기작
- 땅콩새싹 추출방법 및 땅콩새싹 제품유형에 따른 유효성분 분석 및 표준화
- 땅콩새싹 추출물 및 땅콩새싹 제품의 저장 및 보관기간에 따른 유효성분의 안정성 분석
- 땅콩새싹 추출물의 전립선 건강에 대한 인체적용시험 수행
- 기능/지표성분, 유해물질 등의 규격을 설정하고, 원료의 특성을 확인할 수 있는 영양성분을 확인하여 원료 생산의 표준화
- 발효 톱밥 재배 유기농 땅콩새싹 상품성/인지도 강화 활용 지식 개발
- 전립선 건강 인체 효능 및 안전성 검증
- 식약처 인증을 위한 기능성/안전성 자료 축적
- 인체적용시험 완료 및 개별인정형 건강기능식품 기능성원료 신청

보고서 면수

206 페이지

<요약문>

<p>연구의 목적 및 내용</p>	<p>연구 목적</p> <ul style="list-style-type: none"> - 발효톱밥 땅콩새싹 농축액의 지표물질 성분 분석 및 표준화 기반 구축 - 참나무 발효톱밥 재배 땅콩새싹 농축액의 유기농 재배법 확립 - 지표물질 성분의 표준화 및 안정성 검증 - 발효톱밥 땅콩새싹 농축액의 전립선 건강 효능 검증 (전임상, 임상시험) - 최종적으로, 레스베라트롤 고함유 톱밥재배 땅콩새싹 농축액을 통한 비뇨기건강 개별인정형 기능식품 개발 <p>연구내용</p> <ul style="list-style-type: none"> - 톱밥재배 땅콩새싹 추출물의 표준화 과정 주관 - 땅콩새싹 추출물의 전립선비대증 예방에 관한 <i>in vitro</i> 효능검증 - 재배 조건에 따른 땅콩새싹 추출물의 유효성분 분석 및 표준화 - 땅콩새싹 추출물의 전립선 건강에 대한 인체적용시험 계획서(프로토콜) 개발 - 기능성 원료의 표준화를 위한 기능/지표성분을 설정하고 정확한 기능/지표성분의 함량을 측정할 수 있는 최적분석조건을 설정. - 톱밥재배 땅콩새싹 추출물의 유용물질 공인화 및 기능성평가 주관 - 땅콩새싹 추출물의 전립선비대증 예방에 관한 <i>in vitro</i> 작용기작 - 땅콩새싹 추출방법 및 땅콩새싹 제품유형에 따른 유효성분 분석 및 표준화 - 땅콩새싹 추출물 및 땅콩새싹 제품의 저장 및 보관기간에 따른 유효성분의 안정성 분석 - 땅콩새싹 추출물의 전립선 건강에 대한 인체적용시험 수행 - 기능/지표성분, 유해물질 등의 규격을 설정하고, 원료의 특성을 확인할 수 있는 영양성분을 확인하여 원료 생산의 표준화 - 기능성평가 완료 및 개별인정형 기능성 원료 신청 주관 - 발효 톱밥 재배 유기농 땅콩새싹 상품성/인지도 강화 활용 지식 개발 - 전립선 건강 인체 효능 및 안전성 검증 - 식약처 인증을 위한 기능성/안전성 자료 축적 - 인체적용시험 완료 및 개별인정형 건강기능식품 기능성원료 신청 				
<p>연구개발성과</p>	<ul style="list-style-type: none"> - SCIE 급 논문 3편 - 국제 및 국내 학술대회 발표 4건 - 특허 출원 3건 - 상표 출원 2건 - 개별인정형 건강기능식품 기능성 원료 식약처 인증 신청 				
<p>연구개발성과의 활용계획 (기대효과)</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 본 기획연구를 통해 사업화 가능성을 확인하고, 연장 연구 사업으로 연계하여 3년간의 사업화 개발 완료 후 5년간 연평균 250억원 이상의 가치창출 기대 (기술가치 평가서 근거) - 비뇨기 건강식품 분야의 기능성이 매우 뛰어난 신소재 특허등록 /제품화 및 사업화 실시. - 세계 유일의 참나무 발효톱밥재배 땅콩새싹소재의 우수성 입증을 통해 국내의 농산업의 육성 발전과 고급화를 통한 글로벌 시장 진출 등 세계적 건강식품 소재로 자리매김 할 것으로 기대됨. 				
<p>국문핵심어 (5개 이내)</p>	발효톱밥재배	땅콩새싹	표준화	기능성평가	레스베라트롤
<p>영문핵심어 (5개 이내)</p>	fermented-sawdust farming	Peanut Sprout	Standardization	Functional evaluation	Resveratrol

※ 국문으로 작성(영문 핵심어 제외)

< 목 차 >

제 1 장. 연구개발과제의 개요	6
제 2 장. 연구수행 내용 및 결과	36
제 3 장. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도	176
제 4 장. 연구결과의 활용 계획 등	189

<별첨 1> 연구개발보고서 초록

<별첨 2> 주관연구기관의 자체평가의견서

<별첨 3> 연구성과 활용계획서

제 1 장. 연구개발과제의 개요

1절. 연구개발 목적

1. 연구개발의 최종목표

구분	내용
최종목표	레스베라트롤 고함유 톱밥재배 땅콩새싹 농축액을 통한 전립선 건강 개별인정형 기능식품 개발
세부목표	<ul style="list-style-type: none"> - 땅콩새싹 추출물의 전립선비대증 예방에 관한 <i>in vitro</i> 효능검증 - 재배 조건에 따른 땅콩새싹 추출물의 유효성분 분석 및 표준화 - 땅콩새싹 추출물의 전립선 건강에 대한 인체적용시험 계획서(프로토콜) 개발 - 기능성 원료의 표준화를 위한 기능/지표성분을 설정하고 정확한 기능/지표성분의 함량을 측정할 수 있는 최적분석조건을 설정. - 땅콩새싹 추출물의 전립선비대증 예방에 관한 <i>in vitro</i> 작용기작 - 땅콩새싹 추출방법 및 땅콩새싹 제품유형에 따른 유효성분 분석 및 표준화 - 땅콩새싹 추출물 및 땅콩새싹 제품의 저장 및 보관기간에 따른 유효성분의 안정성 분석 - 땅콩새싹 추출물의 전립선 건강에 대한 인체적용시험 수행 - 기능/지표성분, 유해물질 등의 규격을 설정하고, 원료의 특성을 확인할 수 있는 영양성분을 확인하여 원료 생산의 표준화 - 발효 톱밥 재배 유기농 땅콩새싹 상품성/인지도 강화 활용 지식 개발 - 전립선 건강 인체 효능 및 안전성 검증 - 식약처 인증을 위한 기능성/안전성 자료 축적 - 인체적용시험 완료 및 개별인정형 건강기능식품 기능성원료 신청

2절. 연구개발의 필요성

1. 연구개발의 개요

가. 최종 연구개발 목표



그림 1. 본 연구개발과제를 위한 연구개발 목표 개요도

나. 연구개발 개요

- (1) 건강식품의 잠재수요 높음: 30대 이상 국민의 25%가 자신이 건강하지 않다고 생각하고 51%가 건강식품을 먹는 것으로 조사되었음. 이 조사는 수요 창출 가능성이 충분하다는 것을 의미함. 문제는 “안전성과 기능성이 담보되느냐” 임.

매일경제

2014년 05월 06일 화요일 A10면 종합

성인 1000명에게 건강하냐고 물었더니...

4명중 1명 “아프다”... 51% **건강식품 먹어**

매경·한국리서치 조사

30대 이상 국민 4명 중 1명은 본인이 건강하지 않다고 생각하는 것으로 나타났다. 하지만 건강관리를 위해 운동보다 건강기능식품 섭취나 소식과 같은 소극적인 방법을 더 선호했다.



1.5%에 불과했다.

◆10명 중 7명 동네병원 신뢰 국민 10명 중 7명은 병의원이 충분히 설명을 해주고 보다 좋은 의료서비스를 제공한다면 비용을 추가로 지불할 용의가 있는 것으로 나타났다. 정연진 강남병원장은 “현행 의

그림 2. 건강기능식품에 대한 국민의 관심이 날로 높아지고 있음

- (2) 국내 건강기능식품시장은 년 3000억 만성적자로 세계시장 점유율은 2013년 기준 1.3%에 불과함. 수입 원료와 대비해 가격과 효능 면에서 경쟁력을 갖춘 국내 토종의 기능성 농수산물 자원을 발굴하고 수입 원료를 대체할 수 있는 국산 기능성 원료 등록이 시급한 상황임. 기본 연구 토대 및 제도적 뒷받침 부족으로 최근 신규

원료인정 건수가 현저히 줄고 있는 상태임.

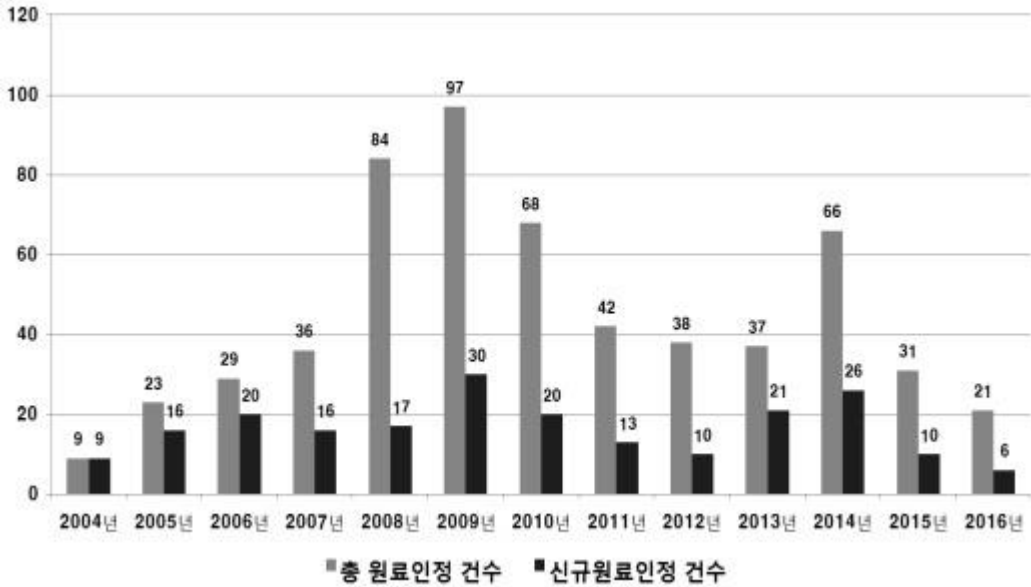


그림 3. 2016 식약처 건강기능식품 기능성 원료 인정 현황

(3) **국산 소재의 개발 필요성 절실:** 우리나라 건강기능식품 시장은 신제품 개발에 나서기보다는 제품을 수입해 판매하는 것에 더 주력하는 상황임.

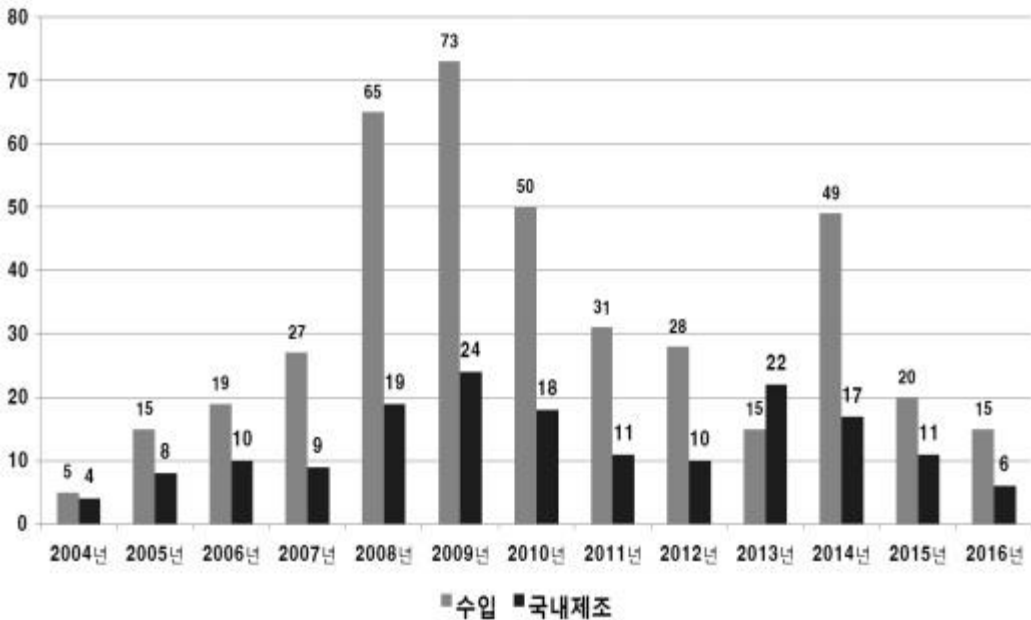


그림 4. 2016 식약처 건강기능식품 기능성 원료 인정 현황

(4) **개별인정형 건강기능식품 전립선 건강 health claim으로 인정된 소재는 매우 적으며 소재 활용의 편중성:** 전립선에 좋은 천연 소재로는 라이코펜, 셀레늄, 비타민E, D 식물성 에스트로젠 등이 알려져 있으나 그중 가장 많이 활용되는 소재는 천연 야자열매인 ‘쏘팔메토 추출물’ (국내 22개 사 66개 제품) 모두 구성

요소에 쏘팔메토 추출물이 포함됨. 쏘팔메토는 수입 소재임. 쏘팔메토가 이미 건강기능식품으로 전립선 비대증이나 발기 부전과 같은 성기능 장애에 자가 치료의 일환으로 상용화됐지만 아직까지 실제적인 치료 효과에 대해서는 정확하게 증명된 바 없음. 더 많은 연구가 필요하겠지만 2006년 2월 발간된 NEJM은 ‘쏘팔메토는 임상결과 전립선비대증의 증상을 전혀 개선시키지 않는다’는 결론을 내렸음. 2011년 9월 발표된 JAMA 논문에서도 “쏘팔메토 열매에서 추출해 만든 제품은 전립선비대증 요로(尿路)증상 개선에 위약효과가 있을 뿐”이라는 결론을 내렸던 경우도 있음. 따라서 안전성과 기능성이 담보된 기능성 식품소재의 개발이 절실함.

- (5) 전립선에 발생하는 질환은 전립선염, 전립선비대증, 전립선암이 있으며 빈도가 매우 높은 질환군으로 노령화 시대에 매우 중요한 건강 이슈임. 최근 세 가지 질환의 발생 및 진행의 주요 기전에 염증 +/- 감염의 중요성이 부각되고 있음. 실제로 전립선비대증 환자나 전립선암 환자는 염증이 동반되어있는 경우가 많고, 염증이 동반된 경우 치료에 대한 반응이 떨어지는 것으로 알려지고 있음. 전립선건강 소재로서 식물 유래 소재는 매우 유용할 것으로 판단됨.

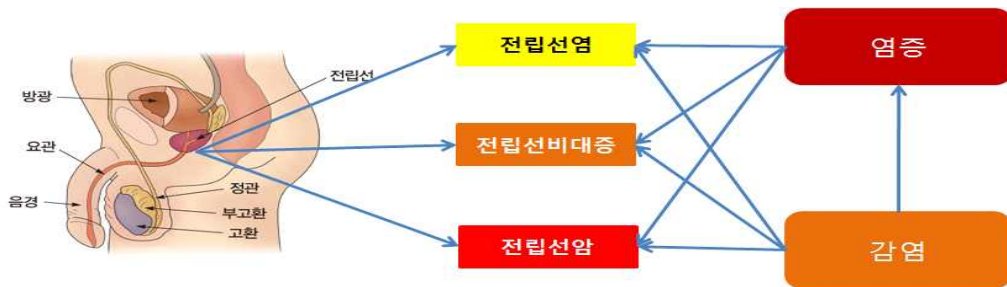


그림 5. 전립선 질환 모식도

- (6) 수경재배와 다른 특성 - 제안 소재의 기능성분 함량, 식감 및 맛의 우수성, 땅콩새싹 추출물의 알려진 대표적 기능 성분은 레스베라트롤(resveratrol) 임. 땅콩이 싹이 되면서 함량이 현저히 증가되는 것으로 알려져 있음. 본 연구자들의 연구 결과에 의하면 수경재배 소재에 비하여 기능성분이 3-5배 많은 것으로 확인됨. 수경재배에 반해 organic 기능성식품 소재/채소로서의 강점이 있음. 또한 식감, 맛, 향이 수경 재배에 비해 탁월함.



참나무발효톱밥 재배

수경 재배

그림. 6 참나무 발효톱밥 재배법과 수경재배법은 다른 방식임.

(7) **땅콩 새싹 소재 ! 전립선 건강에 효과 있을 가능성이 높음.** 땅콩의 isoflavone glucosides나 땅콩 줄기 추출물의 resveratrol이 전립선세포 증식 억제작용이 있는 것으로 알려져 있으며, resveratrol은 *in vitro* 및 동물실험에서 전립선암의 발생 및 진행과 전립선 비대증을 억제하는 것으로 알려져 있음.

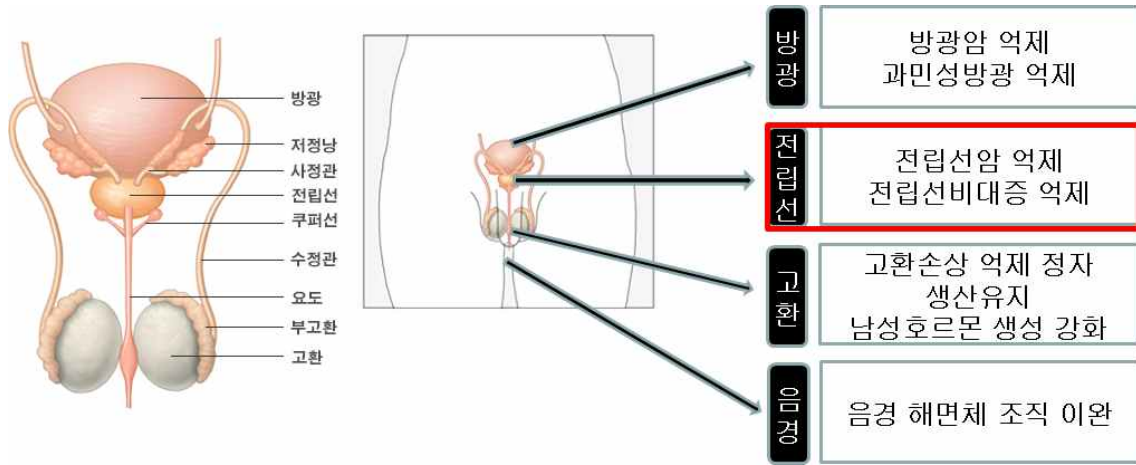


그림 7. 레스베라트롤의 비뇨생식계 효과

(8) **유통 및 시장 점유 경쟁력 측면에서의 강점**

- (가) 재배 특허를 “참나무발효뜸밥을 이용한 땅콩새싹재배법을 특허(특허 제10-1247225호)” 보유하고 있어 시장에서 다른 경쟁업체에 비해 시장 장악력에 강점이 있음.
- (나) 레스베라트롤 기준으로 보면 함량이 3-5배 높으므로 재배과정 소요 비용이 높지만 기능소재의 함량이 탁월하므로 최종 소요비용을 절약할 수 있음.
- (다) 맛, 식감, 향 등의 풍미가 수경 재배에 비하여 탁월하므로 건강기능식품으로 소비자의 신뢰를 사면 비가공 땅콩 새싹채소의 시장 크기도 증가할 가능성이 높음.

다. 연구 전략 및 내용 요약

- (1) 발효 참나무 톱밥 재배 땅콩새싹 추출물을 이용한 비뇨기건강 (전립선 건강) 개별인정형 건강기능식품 인정. 식약처 인정 체계를 기준으로 한 연구 계획 및 연구 데이터 확보하겠음. 표준화, 안전성, 기능성 규명이 핵심 과제임. 제안 소재의 경우는 이미 식품으로 허가되어 판매되고 있어 안전성에 대한 담보가 되어있는 상태임.



그림 8. 개별인정형 건강기능식품 인정을 위한 프로세스 모식도

- (2) 발효 참나무 톱밥 재배 방법 다변화로 다양한 땅콩새싹 추출 소재 파이프라인 구축
- (3) 마케팅에 도움 되는 비노기 건강 관련 재배 땅콩새싹 추출물의 효능/기전 규명
- (4) 사업화

2. 연구개발 대상의 국내·외 현황

가. 땅콩 농산 현황 및 영양 가치

- (1) 우리나라에서는 중부이남 지역이 재배에 적합하다고 알려져 있으며, 물 빠짐이 좋은 지역에서 많이 재배되나 척박한 땅에서도 가능함.
- (2) 북위 38°선이 재배한계선으로 주로 여주, 안동, 부여, 서산 등지에서 많이 재배되지만 북한에서도 땅콩을 재배하는 것으로 알려짐. 척박한 환경에서도 재배가 가능하여 산비탈, 산자락의 빈 땅 등에 소규모로 재배할 수 있으며, 텃밭용으로도 적합함.

나. 땅콩은 불품없는 외모와 이름 때문에 홀대되어 왔으나, 지금은 주목받는 건강식품

- (1) 서양에서 'peanut'은 기분 나쁘거나 심사가 뒤틀릴 때 내뱉는 속어로 '이런 쟁쟁' 정도의 뜻(12.10, 월간 마이더스) 'peanut'의 원래 명칭인 'goober'는 아프리카 콩고어로 '이 멍청한 자식'이란 뜻으로, 미국에 팔려온 아프리카 노예들에게 주식으로 제공되었음.
- (2) 사료였던 것이 '땅콩버터'의 개발 후, 미국인의 일반적인 점심인 '땅콩버터 샌드위치'(Butter and Jelly)로 변신. 최근에 땅콩을 포함한 견과류가 미국 타임지가 선정한 10대 건강식품에 선정되면서 영양학적 가치를 재확인함.
- (3) 우리나라에서는 왜소하고 불품없는 외모 때문에 부정적인 의미가 내포되어 있으며, 식품으로서의 가치 또한 낮게 인식 키 작은 사람을 땅콩에 비유하여 결함으로 여기거나, '심심풀이 땅콩'에 보듯 중요하지 않은 식품으로 저평가됨.

* 건강식품으로 이미지가 바뀌면서 키 작은 사람에 대한 땅콩이란 호칭은 속이 짝 차서

내실 있다는 긍정적인 의미로 변화.

다. **땅콩의 영양가치** : 일부 영양소를 제외하고는 어느 견과류에 비해서도 인체에 필요한 주요 영양분이 매우 풍부한 견과류의 왕(USDA).

- (1) (단백질) 최근 몸짱 열풍으로 아몬드 판매가 늘어나고 있지만 땅콩의 단백질 함량이 더 높다는 것은 잘 알려지지 않은 사실임. 땅콩 100g에 들어있는 단백질의 양은 25.8g으로 아몬드에 비해 21%가 더 높은 단백질의 보고임.
- (2) (엽산) 태아의 신경발달에 도움을 주고, 기형아의 출산을 예방 하는데 도움을 주는 엽산도 매우 풍부 100g당 240 μ g이 들어 있는데, 이는 마카다미아(macadamia)의 22배, 아몬드의 약 5배, 호두의 2.5배.
- (3) (비타민) 중성지방을 낮추는 B3, 항스트레스 비타민으로 알려진 B5, 단백질 대사에 관여하는 B6 등이 견과류 중 최고 수준.
- (4) (칼륨) 칼륨 식품의 대명사로 알려진 바나나(358mg/100g)에 비해서도 97%가 더 높고, 피스타치오(pistachio) 다음 가는 견과류임. 인체 내 나트륨을 밖으로 배출하는 기능이 탁월하여 짠 음식을 많이 먹는 한국인에게 유용한 성분임.

* **한국인의 하루 나트륨 섭취량은 12g으로 세계보건기구(WHO) 권고 량의 2배가 넘음('12, 보건복지부)**

- (5) 지중해식 식단의 건강비밀이라는 올리브유에 많은 올레산과 항산화 물질이 과일 등과 비교해도 뒤처지지 않을 정도임. 볶음 땅콩에는 사과, 당근 보다 항산화물질이 많이 들어 있으며, 블랙베리나 딸기 등과도 맞먹을 정도임. 올레산과 항산화물질에 의한 심장 건강 증진, 항암, 암석 예방, 알츠하이머 예방, 다이어트 효과 등의 기능성이 있다고 보고되어 있음.

라. **지역땅콩 브랜드 성장으로 협력 개발 기회 증가**: 제주도의 '우도 땅콩', 전남 신안의 '자은 땅콩' 등은 마을 단위에서 생산, 가공, 판매까지 담당하는 대표적인 주산단지임. '우도 땅콩(우도엔)'은 해풍의 영향으로 맛이 더욱 고소하고 부드러우며 껍질째 먹는 것으로 유명. 껍질에는 기능성 성분인 '폴리페놀'이 많아 껍질을 제거하고 먹는 것보다 4배나 더 높은 항산화 효과가 있음. 200여 농가에서 150ha 정도 재배하여 약 10억 정도의 소득을 올리는 효자 작목으로 마늘과 쪽파 수확을 끝낸 뒤 후작물로 재배함. 땅콩아이스크림, 쿠키, 볶음땅콩, 알땅콩 등의 특산품을 내놓고 있음.

- (1) 고소하고 담백한 '자은 땅콩'은 알땅콩은 물론 이를 원료로 한 볶음땅콩, 영양죽 분말 등 다양한 가공품 개발로 시장을 개척함. 현재 30여ha 정도 재배하고 있으며, 파종과 수확작업을 기계화하는데 성공함.

마. **땅콩새싹 개발 현황**

- (1) 땅콩새싹의 기능성 소재 개발에 대한 가능성은 2008년 12월, 농촌진흥청에서 정부 정책보도 자료에 의해 처음 발표되었고, 추가로 2010년 3월 (땅콩새싹 실용화 기술 연구), 땅콩 발아해 싹나물로 자라면 종자에서는 거의 없던 레스베라트롤 성분이 적포도주의 50배 이상까지 증가하며, 숙취해소에 유용한 것으로 알려진 아스파라긴산도 콩나물의 60배 가까이 함유되어 있다는 사실을 발표하였음.
- (2) 2009년 3월 농림수산식품부는 땅콩새싹의 기능성을 인지하고 이를 이용한 기능성식품 개발을 위해 농림기술개발사업으로 선정하여 산학 연구활동을 지원하는 등 레스베라트롤의

생리활성과 더불어 땅콩새싹에 대한 연구가 2000년대 후반 활발히 진행되었음.

- (3) 기존에 땅콩의 뿌리에 많이 함유되어 있어 산업적 이용이 어려웠던 기능성물질을 쉽게 이용할 수 있는 싹나물이 개발됨.
- (4) 싹나물로 키우면 항산화 및 암 예방 물질로 알려진 레스베라트롤 (Resveratrol)이 포도주에 비해서 100배 이상 증가
- (5) 기존 싹나물에 비해서 외관 특성이 우수할 뿐만 아니라 수량성이 8.2배에 달하는 우수 품종 ‘조광’을 개발(농촌진흥청)
- (6) 콩나물에 많고 숙취해소에 효과가 좋다고 알려진 아스파라긴산의 함량도 콩나물에 비해 약 8배까지 높다고 보고됨. 아스파라긴산은 질소대사와 에너지 대사를 촉진하고 단백질의 합성을 돕기 때문에 간 기능 강화에 도움.

바. 현재 경쟁개발기술 및 문제점

- (1) 현재 국내에서는 신선 채소, 건조채소, 차, 환 등의 제품 또는 레시피 소재로 제안되고 있음. 그러나 현재 연구 및 생산·판매되고 있는 땅콩새싹 채소 및 음료, 제품들은 모두 수경재배를 통한 땅콩새싹을 활용한 것임,
- (2) 또한, 이를 활용하여 항치매, 항비만, 항고지혈증 등의 건강기능식품 개발이 진행된 적이 있으나 개별인정형 건강기능식품의 개발은 없음. 또한 다양한 나무 톱밥재배를 통한 땅콩새싹에 대한 비뇨기 건강 기능성 연구는 매우 적음. (주)장수채에서 전립선염으로 연구를 수행한 자료가 있음은 확인하였으나 종료 2년 이후 식약처 건강기능식품 부분에 노미네이트되지는 않음.
- (3) 연구자는 수경 재배 땅콩새싹의 생체로서의 근본적 약점은 비린내를 특성으로 하는 맛과 향, 식감 등이라고 판단됨.

사. 땅콩새싹의 기능성분으로 널리 알려져 있는 레스베라트롤

- (1) 레스베라트롤(Resveratrol)은 레스베라트롤 합성 효소(Resveratrol synthase, RS)에 의해 한 분자의 coumaroyl-CoA와 3분자의 malonyl-CoA로부터 합성되는 폴리페놀계 물질임. 식물이 곰팡이나 해충에 노출되면 만들어내는 파이토알렉신으로 포도와 땅콩 등 많은 식물체에 존재함. 레스베라트롤은 포도에서 발견된 스틸벤 계열의 물질임.
- (2) 레스베라트롤은 항암 및 강력한 항산화 작용을 하는 것으로 알려져 있으며, 혈청 콜레스테롤을 낮춰 주는 역할을 하는 것으로 알려져 있음. 이 외에도 항바이러스(antiviral), 신경보호작용 (neuroprotective), 항염증작용(anti-inflammatory), 항노화(anti-aging) 및 수명을 연장시키는 효과 등이 있는 것으로 알려져 있음. 적포도주에는 레스베라트롤이 함유되어 있어 ‘프렌치 패러독스’ (French Paradox)라 하여 적포도주의 섭취와 심혈관질환의 발병률은 부의 상관관계가 있다는 보고는 적포도주가 전 세계적으로 관심을 끌게 된 계기가 되었음. 웰빙 시대에 가장 필요한 성분으로 주목받고 있음. 내추럴스탠다드 협력연구 자료에 의하면 연구가 더 많이 필요해 더 많은 인체 연구가 필요하지만 표와 같은 분야에 효과 가능성이 있다고 보고하고 있음. 또한 수많은 분야에 적용한 사례가 있음.

표.1 과학적 근거에 대한 의견

사용	등급
아래 제시하고 있는 사용은 인간실험이나 동물실험을 거친 것이다. 안전성과 유효성이 항상 보장된 것은 아니다. 일부는 매우 위험할 수 있으므로 자격을 갖춘 보건의료인의 평가를 받아야 한다.	
심혈관계 질환 Cardiovascular disease	C
레스베라트롤의 효과는 식품, 포도주 또는 레스베라트롤 및 다른 성분이 함유된 관련 상품으로 실시한 연구를 통해서만 정확하게 파악할 수 없다. 레스베라트롤만을 이용한 완성도 높은 연구가 수행되어야 한다.	
암 Cancer	C
레스베라트롤의 효과는 식품, 포도주 또는 레스베라트롤 및 다른 성분이 함유된 관련 상품으로 실시한 연구를 통해서만 정확하게 파악할 수 없다. 레스베라트롤과 관련된 암 예방 또는 치료 효과를 명확하게 파악하기 위해서는 레스베라트롤만을 이용한 완성도 높은 연구가 수행되어야 한다.	
장수/항노화 Longevity/anti-aging	C
레스베라트롤 관련 연구에 이용된 레스베라트롤에는 수명 연장 및 항노화를 목적으로 판매되는 약용 식물이 포함되어 있다. 제한된 연구 결과에 따르면 이러한 목적에 도움이 될 수도 있으나 보다 명확한 결론을 내리기 위해서는 더 많은 연구가 수행되어야 한다.	

- ◆ 노인성 황반 변성, 알레르기, 알츠하이머병, 아밀로이드증, 루게릭병(근위축성 측삭경화증), 항진 효과, 항염증 효과, 항균성, 항산화 효과, 항혈소판, 항암 효과, 항바이러스성, 죽상동맥경화증, 골밀도, 암 예방, 허혈성 뇌손상, 화학보호제, 만성 폐쇄성 폐질환, 인지 장애, 미용 효과, 퇴행성 질환, 당뇨병성 신경병증, 당뇨병성 상처 치료, 부종, 엡스타인-바 바이러스, 청력 손실, 헬리코박터 파일로리 감염, 제1형, 제2형 단순포진 바이러스, HIV, 호르몬 불균형, 고콜레스테롤혈증, 면역 증진, 인플루엔자, 허혈성-재관류 손상 예방, 백혈병, 수모세포종, 폐경 증후군, 다발성 경화증, 신독성, 신경아세포종, 신경병증, 뇌세포 보호작용, 통증, 체장염, 파킨슨 병, 조로, 신장 손상, 류마티스성 관절염, 경련, 피부 질환, 척수 손상, 뇌졸중, 혈관성 질환, 혈관 이완, 상처 치유.

- (3) 최근 연구에 의하면 유방암, 전립선암, 대장암, 폐암 등을 포함한 많은 암세포에서 레스베라트롤은 세포 자살을 촉진하는 유전자들의 활성을 통하여 암세포의 증식을 억제할 수 있음이 밝혀졌음.
- (4) 레스베라트롤 함유 천연식물소재를 통한 대사성질환(비만/당뇨 등) 예방 및 치료한다는 연구결과를 발표한바 있으며, 포도 및 땅콩에 있는 레스베라트롤이 치매예방 및 수명연장을 위한 물질이라는 데 대한 연구결과가 있음. 그러나 땅콩새싹이 함유하는 다양한 성분 에 비해 레스베라트롤 하나의 물질에만 국한된 연구 보고가 대부분임.

아. 연구자의 참나무 발효톱밥 땅콩 새싹 재배 기술

- (1) 톱밥 재배 땅콩새싹에 존재하는 다양한 건강 기능성 소재들에 대한 보고가 거의 없고, 톱밥을 이용한 땅콩새싹 재배방법에 대한 시도도 이루어진 적이 없음.
- (2) 본 연구팀에서 보유한 참나무 발효톱밥 재배기술은 세계최초로 특허받은 기술 (10-1247225)로써 유사기술은 존재하지 않으며, 본 재배기술로 자란 땅콩새싹은 기존재배 기술 (수경재배)에 의해 생산된 땅콩새싹에서 나는 콩 특유의 비린내가 거의 나지 않기 때문에, 향이 좋은 고급 땅콩새싹 채소를 생산 할 수 있음. 따라서 다른 경쟁사들 제품과의 차별성과 경쟁력이 있다고 판단됨.

(19) 대한민국특허청(KR)		(48) 공고일자	2018년04월29일
(12) 등록특허공보(B1)		(11) 등록번호	10-1618233
		(24) 등록일자	2018년04월29일
(51) 국제특허분류(Int. Cl.)	(72) 출원인		
A02C 2/00 (2006.01), A02C 7/00 (2006.01)	농림과학기술연구원		
(71) 출원인	농림과학기술연구원		
(72) 출원인	농림과학기술연구원		
(73) 출원인	농림과학기술연구원		
(74) 출원인	농림과학기술연구원		
(75) 출원인	농림과학기술연구원		
(76) 출원인	농림과학기술연구원		
(77) 출원인	농림과학기술연구원		
(78) 출원인	농림과학기술연구원		
(79) 출원인	농림과학기술연구원		
(80) 출원인	농림과학기술연구원		
(81) 출원인	농림과학기술연구원		
(82) 출원인	농림과학기술연구원		
(83) 출원인	농림과학기술연구원		
(84) 출원인	농림과학기술연구원		
(85) 출원인	농림과학기술연구원		
(86) 출원인	농림과학기술연구원		
(87) 출원인	농림과학기술연구원		
(88) 출원인	농림과학기술연구원		
(89) 출원인	농림과학기술연구원		
(90) 출원인	농림과학기술연구원		
(91) 출원인	농림과학기술연구원		
(92) 출원인	농림과학기술연구원		
(93) 출원인	농림과학기술연구원		
(94) 출원인	농림과학기술연구원		
(95) 출원인	농림과학기술연구원		
(96) 출원인	농림과학기술연구원		
(97) 출원인	농림과학기술연구원		
(98) 출원인	농림과학기술연구원		
(99) 출원인	농림과학기술연구원		
(100) 출원인	농림과학기술연구원		



그림 9. 참나무 발효톱밥을 이용한 땅콩새싹 재배기술

(3) 더욱이 본 연구팀에서 보유하고 있는 땅콩나물의 재배방법(10-1247225)을 적용하여 생산된 땅콩새싹은 기존 수경재배를 통해 얻은 땅콩새싹에 비해 레스베라트롤의 함량이 4.5배 이상 검출되었고, 사포닌의 함량은 2배 이상, 엽산의 함량은 1.2배 이상 검출된 것을 확인하였음. 따라서 이러한 결과는 톱밥재지를 이용한 땅콩새싹의 우수성과 건강기능 식품소재로서의 지표물질로 레스베라트롤과 사포닌의 사용 가능성을 시사함.



그림 10. 참나무 발효톱밥을 이용한 땅콩새싹의 성분함유 분석

(4) 참나무 발효톱밥 환경에서 재배된 땅콩새싹의 주요 유효성분은 (스틸베노이드계: 레스베라트롤 등) 그 함유량이 수경재배 땅콩새싹의 3~5배 이상인 것으로 확인되었고, 본 기획과제의 참나무 발효톱밥 땅콩새싹 재배기술은 당사의 독자적인 노하우가 집약된 기술이고, 어느 곳에서도 시도 되지 않은 세계 최초의 땅콩새싹 재배 기술로써 수경재배된 땅콩새싹보다 맛과 향, 식감, 영양성분 등이 현저히 높은 고급 땅콩새싹을 생산할 수 있음.

(5) 이미 시장에서 식품으로 활용되고 추출물을 활용하여 다양한 제품으로 출시되어 유통되고있는 상태로 안전성이 확인되어있음.

(가) 당사에서는 현재 10여종의 땅콩새싹 관련 제품들을 자체개발 및 판매하고 있으며, 신라

호텔, 한국콜마, 세계에프엘, 경남제약, 일동막걸리 등에 소재공급 및 제품개발 예정임.

(나) 이러한 경험을 바탕으로 본 기획과제를 통해 개발되는 기술과 당사가 보유한 노하우를 접목시켜 단독 제품화가 가능하며, 기타 땅콩새싹 관련 사업 및 땅콩농가 재배기술에 크게 기여할 것으로 기대됨.



그림 11. 당사에서 톱밥재배 땅콩새싹을 이용하여 생산한 제품군

자. 땅콩새싹을 이용한 제품 및 기술 개발 현황: 수경재배

(1) 현재 땅콩새싹 제품을 판매하는 국내 대표적인 업체로 장수채가 있으나 수경재배이며, 이외에 기타 다양한 소규모 업체들에서도 모두 수경재배 땅콩새싹 이용한 제품들을 판매하고 있음. 또한 수경재배를 통한 땅콩새싹 재배법 및 음료 등 제품 관련기술 특허도 많이 등록이 되어 있음.

표 2. 땅콩새싹 관련 국내특허 현황

No.	출원번호	발명의명칭	상태	출원인	출원일자
1	1020150055906	UV-B 파장의 LED 조사를 이용한 땅콩새싹의 특정 아미노산 함량을 증가시키는 방법	공개	전북대학교산학협력단	2015.04.21
2	1020150055904	LED 조사를 이용한 땅콩새싹의 항산화 활성을 증가시키는 방법	공개	전북대학교산학협력단	2015.04.21
3	1020150055910	LED 조사를 이용한 땅콩새싹의 티로신 함량을 증가시키는 방법	공개	전북대학교산학협력단	2015.04.21
4	1020150055907	LED 조사를 이용한 땅콩새싹의 시스테인 함량을 증가시키는 방법	공개	전북대학교산학협력단	2015.04.21
5	1020120002376	땅콩새싹분말 및 땅콩새싹분말혼합말가루	취하	(주)복승로하스이삭바이오주식회사	2012.01.09
6	2020110000986	땅콩새싹을 이용한 녹즙제조방법	취하	채영식	2011.02.07
7	1020150105747	땅콩새싹 추출물을 함유하는 미세먼지 또는 황사로부터 발생하는 피부손상 개선용 화장품 조성물	공개	에스케이바이오랜드 주식회사	2015.07.27
8	1020140179472	땅콩새싹 추출물의 농축액을 포함하는 음료 제조방법 및 상기 제조방법에 의해 제조되는 음료	등록	삼성웰스토리 주식회사	2014.12.12
9	10201400	땅콩새싹차 및 그 제조방법	등록	농업회사법인(주)장수채	2014.02.11

	15716			신영택	
10	10201100 27813	땅콩새싹 곡주의 제조방법	등록	농업회사법인(주)장수채 이윤식	2011.03.28
11	10200500 71499	땅콩새싹음료 및 그 제조방법	등록	농업회사법인(주)장수채 신영택	2005.08.04
12	10201500 53688	유황동충하초황계탕, 유황땅콩새싹황계탕, 유황삼황계탕 제조방법	거절	정재현	2015.04.16
13	10201101 04101	땅콩새싹 생산 방법 및 장치	취하	(주)복승로하스	2011.10.12
14	10201600 29006	땅콩새싹을 이용한 건강기능식품 제조방법	등록	농업회사법인 시드바이 오택 주식회사	2016.03.10
15	10201500 78728	땅콩 새싹 추출물을 포함하는 숙취해소 음료 조성물 및 그 제조방법	등록	주식회사 한샘바이오	2015.06.03
16	10201600 54569	땅콩새싹 재배방법	등록	농업회사법인 시드바이 오택 주식회사	2016.05.03
17	10201500 07556	땅콩새싹 재배 방법 및 장치	공개	이해덕 양혜영	2015.01.15
18	10201500 07557	땅콩새싹 재배용 교보재	공개	이해덕 양혜영 박대진	2015.01.15
19	10201200 71521	열풍건조를 이용한 땅콩새싹 추출물의 분말 제조 방법	거절	전남대학교산학협력단	2012.07.02
20	10201200 71522	땅콩새싹으로부터 최적 레스베라트롤 추출 방법	거절	전남대학교산학협력단	2012.07.02
21	10201200 67209	땅콩새싹 추출물을 유효성분으로 함유하는 자외선에 의한 피부손상 예방 또는 치료용 약학조성물	등록	전남대학교산학협력단	2012.06.22
22	10201401 01432	땅콩새싹 추출물의 광안정성을 향상시키기 위한 조성물	공개	(주)주환바이오.셀 주식 회사 뉴엔뉴	2014.08.07
23	10201400 66261	땅콩새싹 다중발효 방법 및 땅콩새싹 다중발효물을 포함하는 조성물	공개	농업회사법인주식회사 한국발효산업	2014.05.30
24	10201400 28134	땅콩새싹을이용한조미료 및 이의 제조방법	공개	(주)복승로하스	2014.03.11
25	10201201 00446	땅콩새싹의 레스베라트롤 함량 증대 방법 및 땅콩새싹의 레스베라트롤 함유 식품	공개	(주)복승로하스	2012.09.11
26	10201200 49389	열풍건조형땅콩새싹 및 땅콩새싹 레스베라트롤 함량 증가방법	공개	(주)복승로하스	2012.05.09
27	10201000 78699	땅콩새싹의 레스베라트롤 함량을 증가시키는 방법	거절	주식회사농심	2010.08.16
28	10200800 04028	땅콩새싹 추출물 및 이를 함유한 식품 조성물, 화장품조성물, 의약품 조성물	거절	신영택	2008.01.14
29	10201301 11127	프로토펙티나아제를 이용한 땅콩새싹 효소 추출물의 제조방법	포기	(주) 차바이오에프앤씨	2013.09.16
30	10201500 14998	땅콩나물 재배방법	등록	농업회사법인 주식회사 이장남닷컴	2015.01.30

(2) 땅콩새싹 관련 연구는 국내외에서 진행되어 왔으나, 수경재배 땅콩새싹의 전립선염 질환에 대한 국소적인 효과를 검증한 (주)장수채의 일부 연구와 최근 땅콩나물, 석창포, 백수로 추출물의 두 가지 이상의 조합을 유효성분으로 하는 전립선 비대증의 예방 또는 개선에 대한 연구를 제외하면, 전립선 질환에 대한 광범위한 치료 및 예방과 관련된 기능성에 관한 연구는 보고된 바가 없음. 더욱이 남성 갱년기 건강과 관련하여 진행된 관련 연구는 없는 것으로 조사되었음. 본 연구과제는 땅콩새싹을 기능성 식품의 원료로 이용하여 전립선 관련 질환과 남성 갱년기 질환에 대한 기능성을 확인하고 상용화하는 것임.

표3. 새싹채소를 이용한 전립선질환 개선관련 국내외 특허현황

No.	국가	출원번호/ 등록번호	명칭	출원인/ 등록권자
1	KR	10-1624704	탈모 또는 전립선 비대증의 예방, 치료 또는 개선용 약학 조성물 및 건강기능식품용 조성물	재단법인 전남생물산업진흥원(KR)
2	KR	10-2016-701818 5	5-알파 환원효소의 억제를 위한 식물 추출물에 기반한 조성물	바이오넵 에스알엘
3	KR	10-1665875	국내자생식물을 이용한 전립선 질환 치료용 조성물	중앙대학교 산학협력단
4	KR	10-0841068	아비에트산을 포함하는 약학 조성물	대구한의대학교산학협력단
5	JP	5632619	테스토스테론-5 α -환원효소 저해제	NIPPON MENA ADE KESHOHIN KK
6	JP	5191525	테스토스테론 5 α -환원효소 저해제 및 안드로겐 수용체 결합 저해제, 항남성호르몬제, 양모화장료 및 전립선 비대 억제제	MARUZEN PHARMACEUT CO LTD
7	JP	5153039	항남성호르몬제 및 두발 화장료	MARUZEN PHARMACEUT CO LTD
8	JP	4672124	테스토스테론 5 α -환원효소 저해제 및 안드로겐 수용체 결합 저해제, 항남성호르몬제, 양모화장료, 전립선 비대 억제제 및 건강 보조 식품	MARUZEN PHARMACEUT CO LTD
9	JP	4448034	음양곽추출물의 약물 조제 상의 응용	中國香港新界元朗工業
10	CN	101040977	Medicine for treating prostate disease and method for preparing same	ChengduDI'AOJiuHongPh armaceuticalFactory
11	CN	001230160	Application of bamboo leaf total flavone in medicine for treating and preventing prostata disease and health-care-food	LifuBiologicalScience&Te ch.Co.,Ltd.,ZhejiangUniv., Hangzhou
12	PC T	PCT-IB2015-0 51621	COMPOSITIONS BASED ON PLANT EXTRACTS FOR INHIBITION OF THE 5-ALPHA REDUCTASE	BIONAP S.R.L.

차. 참나무 발효톱밥을 이용한 땅콩새싹 개발 국외현황

(1) 땅콩새싹관련 국외특허현황 : 미국, 유럽, 일본 등에서 땅콩새싹에 관한 특허가 다수 존재하나, 참나무 발효톱밥을 이용한 땅콩새싹에 대한 연구는 미비한 실정임. (키프리스 발취)

표 4. 땅콩새싹관련 국외특허현황

국가	발명의 명칭	출원 번호	공개 번호	등록 번호	출원 일자	등록 일자	출원인
JP	PEANUT SPROUT PRODUCTION AND DEVICE THEREFOR (낙화생도 야자의 제조 방법 및 그 장치)	0900 1554 1997 0015 54	0924 8065 1997 2480 65	-	1997 .01.0 8	-	YAMAZA KI EIICHI
JP	NUTRITIOUS SUPPLEMENT OBTAINED FROM PEANUT SPROUT AND METHOD FOR PRODUCING THE SAME (낙화생 스프라우트에서 얻어진 영양 보조제와 그 제조법)	1737 9828 2005 3798 28	1917 5022 2007 1750 22	0482 8227	2005 .12.2 8	2011 .09.2 2	MAEDA TAKIRO MATSU HATA KUNIMAS A
JP	PEANUT SPROUT AND ITS PRODUCTION (낙화생도 야자 및 그 제조 방법)	0324 1970 1991	0507 6245 1993	0269 8719	1991 .09.2 0	1997 .09.1 9	MAEDA TAKIO

		2419 70	0762 45				
JP	GERMINATED PEANUT-CONTAINING HEALTH FOOD AND HEALTH DRINK (발아 피넛 함유의 건강 식품 및 건강 음료)	1923 2557 2007 2325 57	2106 0865 2009 0608 65	-	2007 .09.0 7	-	SPROUTS INTERNA TIONAL:K K
US	SPROUTED CEREAL, METHOD FOR MANUFACTURING SAME, FOOD PRODUCT CONTAINING SAME, AND BDNF PRODUCTION ACCELERATOR (발아된 곡식, 이의 제조방법, 이를 포함하는 식품과 BDNF 생산 가속기)	1400 5390	2014 0065 249	-	2012 .03.1 9	-	Hiroji Yanamoto
US	Composition of dehydrated powdered mung bean sprout and plant fiber for use as dietary supplement in healthcare (의료에 있는 건강 보조 식품으로 사용하기 위해 탈수 분말로 된 녹두 스프라우트와 식물 섬유계의 조성물)	0835 8367	-	0548 7894	1994 .12.1 9	1996 .01.3 0	-
US	Method for enhancing resveratrol content of peanut compositions (피넛 조성물의 레스베라트롤 콘텐츠를 개선하기 위한 방법)	1113 7604	2005 0266 143	0766 6455	2005 .05.2 5	2010 .02.2 3	Resurreccio n Anna V. A. Rudolf Jaime L. Phillips Robert Dixon Chin nan Manjeet
US	Treated peanut seeds (처리된 땅콩 종피)	0624 4765	-	0437 2080	1981 .03.1 7	1983 .02.0 8	Gustafson, Inc.
US	Peanut seed treating (땅콩 종피 처리)	0611 1726	-	0433 9456	1980 .01.1 4	1982 .07.1 3	Gustafson, Inc.
US	Process of producing soy milk from sprouted soybeans (발아된 콩으로부터의 생산하는 두유액의 과정)	0339 9997	-	-	1965 .04.0 5	-	-
US	FERMENTED SOY NUTRITIONAL SUPPLEMENTS INCLUDING MUSHROOM COMPONENTS (버섯형 성분을 포함하는 발효된 콩 영양 보충제)	1456 9310	2015 0216 918	-	2014 .12.1 2	-	Vijaya Nair
EP	PROCESS FOR PRODUCING PEANUT SPROUTS (피넛 스프라우트를 생산하기 위한 과정)	0375 6695 .7	0168 3409	-	2003 .10.1 7	-	Ueharashok ai Co., Ltd.
EP	Composition of dehydrated powdered mung bean sprout and plant fiber for use as dietary supplement in healthcare (의료에 있는 건강 보조 식품으로 사용하기 위해 탈수 분말로 된 녹두 스프라우트와 식물 섬유계의 조성물)	9511 6144 .7	-	0071 7996	1995 .10.1 3	2001 .03.2 1	ARCOPHA RMA S.A.
EP	Production Of Pharmaceutically Active Proteins In Sprouted Seedlings (발아 묘목에 있는 조제학적으로 활성 단백질의 생산)	1419 5179 .8	0285 3599	-	2003 .11.1 2	-	iBio, Inc.

(2) 땅콩새싹관련 논문현황 : 땅콩새싹관련 국내외 논문이 60편 정도 검색 (키프리스)이 되며, 고지혈증, 치매 등 다양한 질환에서의 효능이 보고되었으며, 국내저자들이 많은 비중을 차지함. 그 중 19편의 논문이 Pubmed에서 검색됨.

1. Peanut sprout extract attenuates cisplatin-induced ototoxicity by induction of the Akt/Nrf2-mediated redox pathway. Youn CK, Jo ER, Sim JH, Cho SI. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2017 Jan;92:61-66.
2. The phytoestrogenic stilbenes, arachidin-1 and resveratrol, modulate regulatory T cell functions responsible for successful aging in aged ICR mice. Weng BB, Lin WS, Chang JC, Chiou RY. *Int J Mol Med*. 2016 Dec;38(6):1895-1904.
3. Enrichment of caffeic acid in peanut sprouts and evaluation of its in vitro effectiveness against oxidative stress-induced erythrocyte hemolysis. Wang G, Lei Z, Zhong Q, Wu W, Zhang H, Min T, Wu H, Lai F. *Food Chem*. 2017 Feb 15;217:332-41.
4. Beneficial Influence of Short-Term Germination on Decreasing Allergenicity of Peanut Proteins. Li Y, Sun X, Ma Z, Cui Y, Du C, Xia X, Qian H. *J Food Sci*. 2016 Jan;81(1):T255-61.
5. Preparation of resveratrol-enriched and poor allergic protein peanut sprout from ultrasound treated peanut seeds. Yu M, Liu H, Shi A, Liu L, Wang Q. *Ultrason Sonochem*. 2016 Jan;28:334-40.
6. The supplementation effects of peanut sprout on reduction of abdominal fat and health indices in overweight and obese women. Ha AW, Kim WK, Kim JH, Kang NE. *Nutr Res Pract*. 2015 Jun;9(3):249-55.
7. Ethanol Extract of Peanut Sprout Lowers Blood Triglyceride Levels, Possibly Through a Pathway Involving SREBP-1c in Rats Fed a High-Fat Diet. Ha AW, Kang NE, Kim WK. *J Med Food*. 2015 Aug;18(8):850-5.
8. Ethanol Extract of Peanut Sprout Exhibits a Potent Anti-Inflammatory Activity in Both an Oxazolone-Induced Contact Dermatitis Mouse Model and Compound 48/80-Treated HaCaT Cells. Choi DI, Choi JY, Kim YJ, Lee JB, Kim SO, Shin HT, Lee SC. *Ann Dermatol*. 2015 Apr;27(2):142-51.
9. Properties of Milk Supplemented with Peanut Sprout Extract Microcapsules during Storage. Lee YK, Ganesan P, Kwak HS. *Asian-Australas J Anim Sci*. 2013 Aug;26(8):1197-204. doi: 10.5713/ajas.2013.13060.
10. Peanut sprouts extract (*Arachis hypogaea* L.) has anti-obesity effects by controlling the protein expressions of PPAR γ and adiponectin of adipose tissue in rats fed high-fat diet. Kang NE, Ha AW, Woo HW, Kim WK. *Nutr Res Pract*. 2014 Apr;8(2):158-64.

11. The Preventive Effects of Nanopowdered Peanut Sprout-added Caciocavallo Cheese on Collagen-induced Arthritic Mice. Kim DH, Chang YH, Kwak HS. Korean J Food Sci Anim Resour. 2014;34(1):49–56.
12. Preliminary separation and purification of resveratrol from extract of peanut (*Arachis hypogaea*) sprouts by macroporous adsorption resins. Xiong Q, Zhang Q, Zhang D, Shi Y, Jiang C, Shi X. Food Chem. 2014 Feb 15;145:1–7.
13. Laxative effect of peanut sprout extract. Seo JY, Kim SS, Kim HJ, Liu KH, Lee HY, Kim JS. Nutr Res Pract. 2013 Aug;7(4):262–6.
14. Peanut sprout ethanol extract inhibits the adipocyte proliferation, differentiation, and matrix metalloproteinases activities in mouse fibroblast 3T3-L1 preadipocytes. Kim WK, Kang NE, Kim MH, Ha AW. Nutr Res Pract. 2013 Jun;7(3):160–5.
15. Ethanol extract of peanut sprout induces Nrf2 activation and expression of antioxidant and detoxifying enzymes in human dermal fibroblasts: implication for its protection against UVB-irradiated oxidative stress. Choi JY, Choi DI, Lee JB, Yun SJ, Lee DH, Eun JB, Lee SC. Photochem Photobiol. 2013 Mar–Apr;89(2):453–60.
16. Reveal Salmonella 2.0 test for detection of *Salmonella* spp. in foods and environmental samples. Performance Tested Method 960801. Hoerner R, Feldpausch J, Gray RL, Curry S, Islam Z, Goldy T, Klein F, Tadese T, Rice J, Mozola M. J AOAC Int. 2011 Sep–Oct;94(5):1467–80.
17. Crystal structure of prunin-1, a major component of the almond (*Prunus dulcis*) allergen amandin. Jin T, Albillos SM, Guo F, Howard A, Fu TJ, Kothary MH, Zhang YZ. J Agric Food Chem. 2009 Sep 23;57(18):8643–51.
18. Peanut cross-reacting allergens in seeds and sprouts of a range of legumes. Jensen LB, Pedersen MH, Skov PS, Poulsen LK, Bindslev-Jensen C, Andersen SB, Torp AM. Clin Exp Allergy. 2008 Dec;38(12):1969–77.
19. Germination of peanut kernels to enhance resveratrol biosynthesis and prepare sprouts as a functional vegetable. Wang KH, Lai YH, Chang JC, Ko TF, Shyu SL, Chiou RY. J Agric Food Chem. 2005 Jan 26;53(2):242–6.

3. 연구개발의 중요성

가. 국내 건강기능식품 시장 및 개발 측면에서의 중요성

(1) 건강기능식품 국내 현황 및 문제점

(가) 건강기능식품 현황

- ① 건강기능식품은 아무 원료나 사용할 수 없음. 건강기능식품은 크게 ‘고시형’과 ‘개별인정형’으로 나뉘는데, 고시형은 식약처에서 이미 검증한 홍삼, 비타민 등의 원료로 별도의 인정절차 없이 누구나 제조·판매할 수 있음. 반면, 개별인정형은 판매자가 안정성, 기능성 등의 자료를 식약처에 직접 제출해 검증을 받아야 함.
- ② 건강기능식품 생산액 매년 증가하여 식약처에 따르면, 2013년 건강기능식품 총 생산액은 1조4820억 원으로 2012년(1조491억 원)에 비해 5.2% 증가했음. 생산액은 매년 확대되고 있으나 건강기능식품 원료의 해외 의존도는 매우 높은 상황임.
- ③ 현재 국내에서 건강기능식품으로 인정받은 것은 마늘을 비롯해 인삼, 클로렐라 등 60종임. 이 중 국내 연구개발로 인정된 품목은 2012년을 기준으로 26%에 불과하고, 국내 농산물을 원재료로 사용한 경우는 이보다 더 낮음. 또 상위 5% 정도를 제외하고는 대부분 영세한 중소기업체에서 생산하고 있으며, 이 중 일부는 생산자주문방식에 의해 대기업으로 유통되고 있음.
- ④ 현재 국내에서 개별인정 기능성 식품 영역은 표 5 와 같고 최근 10년간 가장 많이 인정받은 기능성은 ‘체지방 감소(79건)’, ‘관절/뼈 건강(50건)’, ‘간 건강(38건)’, ‘혈당 조절(35건)’, ‘눈 건강(27건)’, ‘항산화(26건)’, ‘기억력 개선(24건)’ 순이었음.

표 5. 기능성 분류 및 내용

번호	기능성	
	분류	내용
1	피로개선	피로 개선에 도움
2	혈당조절	식후 혈당상승 억제에 도움
3	체지방감소	체지방 감소에 도움
4	간건강	간 건강에 도움
		알콜성 손상 으로부터 간을 보호하는 데 도움
5	혈행개선	혈행 개선에 도움
6	기억력개선	기억력 개선에 도움
7	관절/뼈건강	관절 건강에 도움
		뼈 건강에 도움
8	혈중중성지방개선	혈중중성지방 개선에 도움
9	운동수행능력/지구력 향상	운동능력 향상에 도움
		지구력 증진에 도움
10	장 건강	장내 유익균 증식 및 유해균 억제에 도움
		면역을 조절하여 장 건강에 도움
		배변활동 원활에 도움
11	갱년기여성 건강	갱년기 여성의 건강에 도움
12	눈 건강	눈의 피로도 개선에 도움
		눈 건강에 도움
13	피부 건강	자외선에 의한 피부손상으로부터 피부 건강을 유지하는데

		도움
		피부 보습에 도움
14	배뇨기능	방광에 의한 배뇨기능개선에 도움
15	긴장 완화	스트레스로 인한 긴장 완화에 도움
16	요로 건강	요로의 유해균 흡착 억제로 요로 건강에 도움
17	칼슘흡수도움	칼슘 흡수에 도움
18	항산화	항산화에 도움
19	소화 기능	소화기능 개선에 도움
20	혈압 조절	높은 혈압 감소에 도움
21	전립선 건강	전립선 건강 유지에 도움
22	인지능력	인지능력 개선에 도움
23	면역 기능	면역력 증진에 도움
		과민면역반응 완화에 도움
24	충치감소	충치발생위험감소에 도움
25	콜레스테롤개선	혈중 콜레스테롤 개선에 도움
26	과민피부상태 개선	면역과민반응에 의한 피부상태 개선에 도움을 줄 수 있음
27	갱년기 남성건강	갱년기 남성의 건강에 도움을 줄 수 있음

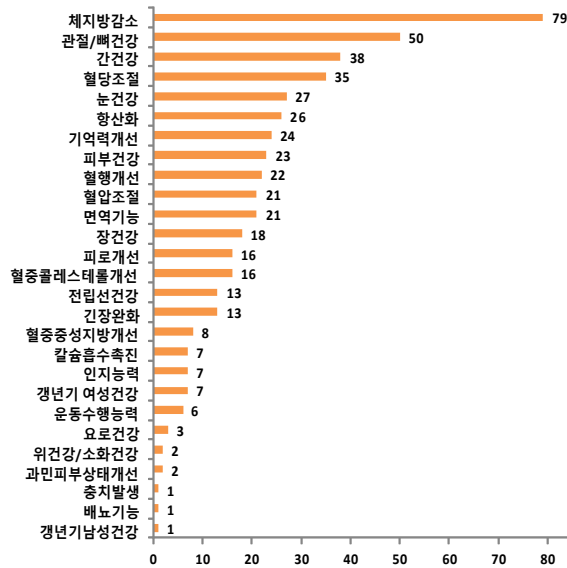


그림 12. 최근 10년간 가장 많이 인정받은 기능성

※ 동일 원료에서 2가지 기능성을 인정받은 경우, 2건으로 산출하여 계산함

(나) 건강기능식품 관련 문제점

- ① 한 조사에 의하면 30대 이상 국민의 25%가 자신이 건강하지 않다고 생각하고 51%가 건강식품을 먹는 것으로 조사되었음. 수요는 충분함. 문제는 안전하고 효과가 있느냐임. 국내 건강기능식품시장은 년 3000억 만성적자로 세계시장 점유율은 2013년 기준 1.3%에 불과함.

성인 1000명에게 건강하냐고 물었더니...

4명중 1명 “아프다”... 51% **건강식품** 먹어

매경·한국리서치 조사

30대 이상 국민 4명 중 1명은 본인이 건강하지 않다고 생각하는 것으로 나타났다. 하지만 건강관리를 위해 운동보다 건강기능식품 섭취나 소식과 같은 소극적인 방법을 더 선호했다.



1.5%에 불과했다. ◆10명 중 7명 동네병원 신뢰 국민 10명 중 7명은 병여원이 충분히 설명을 해주고 보다 좋은 의료서비스를 제공한다면 비용을 추가로 지불할 용의가 있는 것으로 나타났다. 정영진 강남병원장은 “헌데 의

그림 13. 건강기능식품에 대한 국민의 인식 고조.

- ② 수입 원료와 대비해 가격과 효능 면에서 경쟁력을 갖춘 국내 토종의 기능성 농수산물 자원을 발굴하고 수입 원료를 대체할 수 있는 국산 기능성 원료 등록이 시급한 상황임. 기본 연구 토대 및 제도적 뒷받침 부족으로 최근 신규 원료인정 건수가 현저히 줄고 있는 상태임.

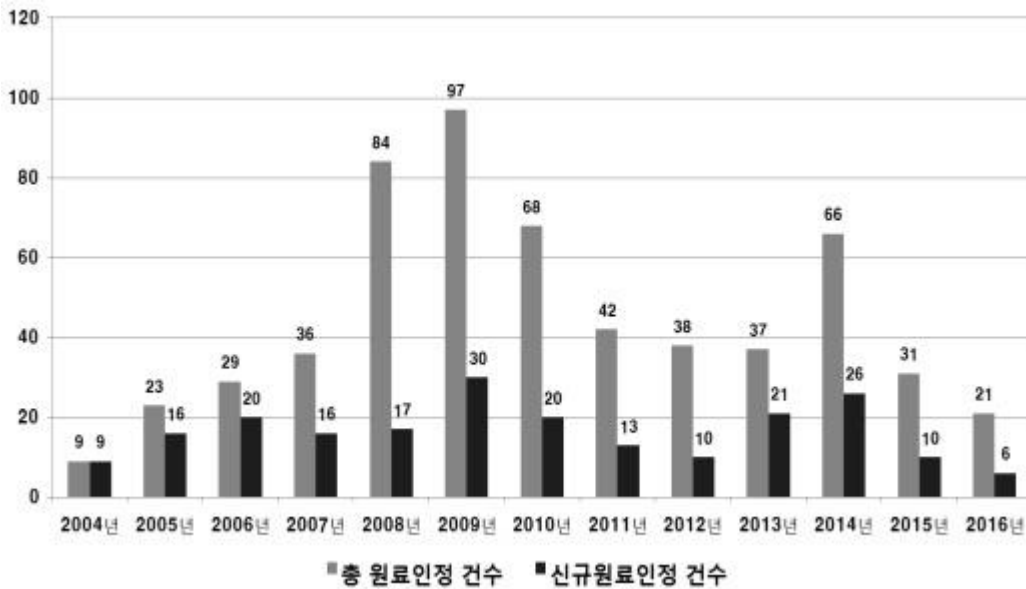


그림 14. 2016 식약처 건강기능식품 기능성 원료 인정 현황

- ③ 식약처 건강기능식품기준과가 지난 2013년 발표한 ‘건강기능식품 개발 지원 및 활성화 방안’에 따르면, 정부의 전체 연구개발 총투자액 중 건강기능식품 개발 비율은 0.3%에 불과함(2010년 8개 부처 조사).
- ④ 국내 건강기능식품 기술은 자체 연구개발보다 수입 의존도가 높고 다른 나라에 비해 원천기술력도 낮음. 특히 미국의 경우 관련기술의 73%가 원천기술인 반면, 우리나라는 23%에 불과함.
- ⑤ ‘맞춤형 신기능 식품 개발기술’의 격차는 6.5년, ‘기능성 식품소재 관리. 계측. 평가 기

술'의 격차는 8.7년임. 식약처는 농산물, 자생 약용식물, 생약성분 등 기초연구는 지속적으로 수행했으나 산업계와의 연계가 미흡하고 제품화를 고려하지 않은 개발로 전임상 수준에 머무르거나 중복 투자로 제품화 실적은 저조하다고 밝혔음.

- ⑥ 우리나라 건강기능식품 시장은 신제품 개발에 나서기보다는 제품을 수입해 판매하는 것에 더 주력하는 상황임. 그러나 최근 환율 변동으로 시장의 성장이 영향을 받으면서 자체 연구개발을 통해 신제품 개발에 집중할 필요성이 부각되고 있고 이런 경향이 생겨나고 있는 실정임.

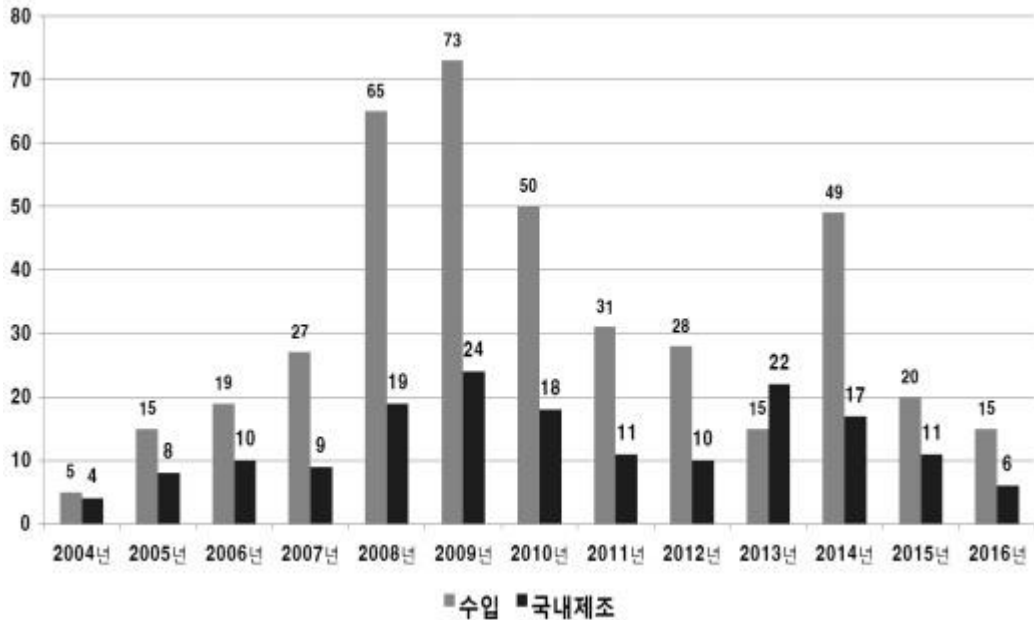


그림 15. 2016 식약처 건강기능식품 기능성 원료 인정 현황

⑦ 비노생식기 영역 건강기능식품 현황 및 문제점

- ㉔ 개별인정형 건강기능식품 전립선 건강 health claim으로 인정된 소재는 매우 적으며 소재 활용의 편중성: 전립선에 좋은 천연 소재로는 라이코펜, 셀레늄, 비타민E, D 식물성 에스트로젠 등이 알려져 있으나 그중 가장 많이 활용되는 소재는 천연 야자 열매인 ‘쏘팔메토 추출물’ (국내 22개 사 66개 제품) 모두 구성 요소에 쏘팔메토 추출물이 포함됨. **쏘팔메토는 수입 소재임.** 쏘팔메토가 이미 건강기능식품으로 전립선 비대증이나 발기 부전과 같은 성기능 장애에 자가 치료의 일환으로 상용화됐지만 아직까지 실제적인 치료 효과에 대해서는 정확하게 증명된 바 없음. 더 많은 연구가 필요하겠지만 2006년 2월 발간된 NEJM은 ‘**쏘팔메토는 임상결과 전립선비대증의 증상을 전혀 개선시키지 않는다**’는 결론을 내렸음. 2011년 9월 발표된 JAMA 논문에서도 “쏘팔메토 열매에서 추출해 만든 제품은 전립선비대증 요로(尿路)증상 개선에 위약효과가 있을 뿐”이라는 결론을 내렸던 경우도 있음. 따라서 **안전성과 기능성이 담보된 기능성 식품소재의 개발이 절실함.**

표 6. 비노생식기 영역 기능성 분류 및 내용

번호	기능성		기능성 원료명
	분류	내용	
1	배뇨기능	방광에 의한 배뇨기능개선에 도움	-호박씨추출물 등 복합물
2	요로 건강	요로의 유해균 흡착 억제로 요로 건강에 도움	-크랜베리추출물, 파크랜 크랜베리추출분말
3	전립선 건강	전립선 건강 유지에 도움	-쏘팔메토열매추출물, 쏘팔메토열매추출물 등 복합물
4	갱년기 남성건강	갱년기 남성의 건강에 도움을 줄 수 있음	MR-10 민들레등복합추출물
5	갱년기 여성 건강	갱년기 여성의 건강에 도움	프랑스해안송껍질추출물, 백수오 등 복합추출물, 석류추출물, 홍삼(홍삼농축액), 석류농축액, 회화 나무열매추출물, 오미자추출물
6	정자운동성	정자 운동성 개선에 도움	마카젤라틴화분말
7	질건강	유산균증식을 통한 여성 질 건강에 도움	UREX 프로바이오틱스

나. 땅콩새싹의 특성 측면에서의 개발 필요성

- (1) 새싹채소는 씨앗으로부터 싹이 돋아 잎이 발아한지 1주일 정도의 어린 채소를 말하는 것으로, 크기는 작지만 다 자란 채소보다 미네랄과 비타민, 식이섬유소 등의 영양소를 적게는 3~4배 이상, 많게는 20배 이상 함유되어 있다고 보고되어 있음. 이는 씨앗에서 싹이 발아할 때, 외부 곰팡이 등의 외부위험 인자로부터 자신을 방어하는 요소로 건강에 유용한 여러 생리활성물질을 생산하기 때문으로 알려져 있으며, 최근 무, 순무, 메밀, 배추, 양배추, 브로콜리, 유채, 다채(비타민), 청경채, 들깨, 옥수수, 홍화, 부추, 적채, 크로바, 비트, 땅콩과 같은 다양한 새싹채소들이 건강 유지 및 질환 예방을 위한 식품으로 주목받고 있는 추세임.
- (2) 이 중 땅콩은 콩과에 속하는 일년생의 초복식물로서 지방과 단백질을 많이 함유하고 있는 고열량 식품으로, 발아된 **땅콩새싹**에는 땅콩 특유의 고소한 맛과 함께 항암, 항산화에 효과적인 스틸베노이드 (stilbenoids) 계열성분이 (레스베라트롤, 아스파라긴산, 사포닌 등) 함유되어 있으며, 혈중 콜레스테롤을 저하시켜주는 올레인산과 신경전달물질인 아세틸콜린의 원료가 되어 기억력증진에 도움이 되는 레시틴, 체내 지방산 산화를 억제시킴으로써 노화와 동맥경화를 막아주는 비타민-E, 알콜대사를 도와주는 나이아신이 풍부하며, 그 밖에 비타민-B1, -B2 등이 함유되어 있음.
- (3) 또한 땅콩에서 땅콩새싹으로 변화되면서 칼로리와 지방질이 현저하게 줄어들고 (땅콩에 비해 지방이 10분의 1), 땅콩에는 없는 비타민-C가 생성되는 한편, 식이섬유가 풍부하여 변비예방 및 다이어트 식품으로도 적합하며, 또 열량은 적으면서 칼슘, 철분, 인 칼륨, 아연 등 각종 무기질과 미네랄, 특히 노화방지에 효과적인 토코페롤 등이 다량 함유되어 있어 영양 불균형이 우려되는 현대인에게 필요한 보조식품으로 관심이 높아지고 있음.
- (4) 땅콩새싹은 다른 새싹채소와 마찬가지로 땅콩도 싹이 발아할 때 외부자극으로부터 보호하거나 성장을 위해 필요한 다양한 생리활성 물질을 많이 생산하게 되는데, 특히 땅콩새싹

에 함유되어 있는 **레스베라트롤** (3,5,4'-trans- trihydroxystilbene, Resveratrol) 성분은 **땅콩에 비해 90배 이상**이며, 이는 레스베라트롤 함량이 가장 많다고 알려진 **적포도주 (평균 0.6mg/mg)보다 무려 23~24배 이상** 높은 것으로 보고됨. 또한 땅콩새싹은 땅콩에 비해 적게는 3배 이상 많게는 90배 이상의 필수아미노산을 많이 함유하고 있어, 우리 인체에 꼭 필요한 필수 아미노산 공급원으로 인정받았음. 뿐만 아니라 땅콩새싹은 **적포도주의 50배에 달하는 레스베라트롤은 물론 콩나물에 8배에 달하는 아스파라긴산, 홍삼의 6배에 이르는 사포닌** 성분을 함유하고 있음.



그림 16. 땅콩종자와 땅콩새싹의 생리활성물질 함유량 비교

- (5) 특히, 본 연구진들이 수경재배 땅콩새싹 건채(9일 재배)와 톱밥배지 땅콩새싹 건채(6일, 9일 재배)에 대한 레스베라트롤의 성분을 분석한 결과, 각각 수경재배 땅콩새싹 건채는 4.34ppm(9일 재배), 톱밥배지 땅콩새싹 건채는 3.44ppm(6일 재배)가 검출되었으나, 톱밥배지 땅콩새싹 건채에서는 19.65ppm(9일 재배)이 검출되어, 결과적으로 톱밥배지 땅콩새싹 건채(9일 재배)가 수경재배 땅콩새싹 건채(9일 재배)에 비해 레스베라트롤의 함량이 약 4.5배 이상 검출됨을 알 수 있었음. 또한, 톱밥배지를 이용한 땅콩새싹 추출물은 수경재배를 이용한 땅콩새싹 추출물보다 사포닌 함량이 2배 이상 높다는 결과를 얻었음.

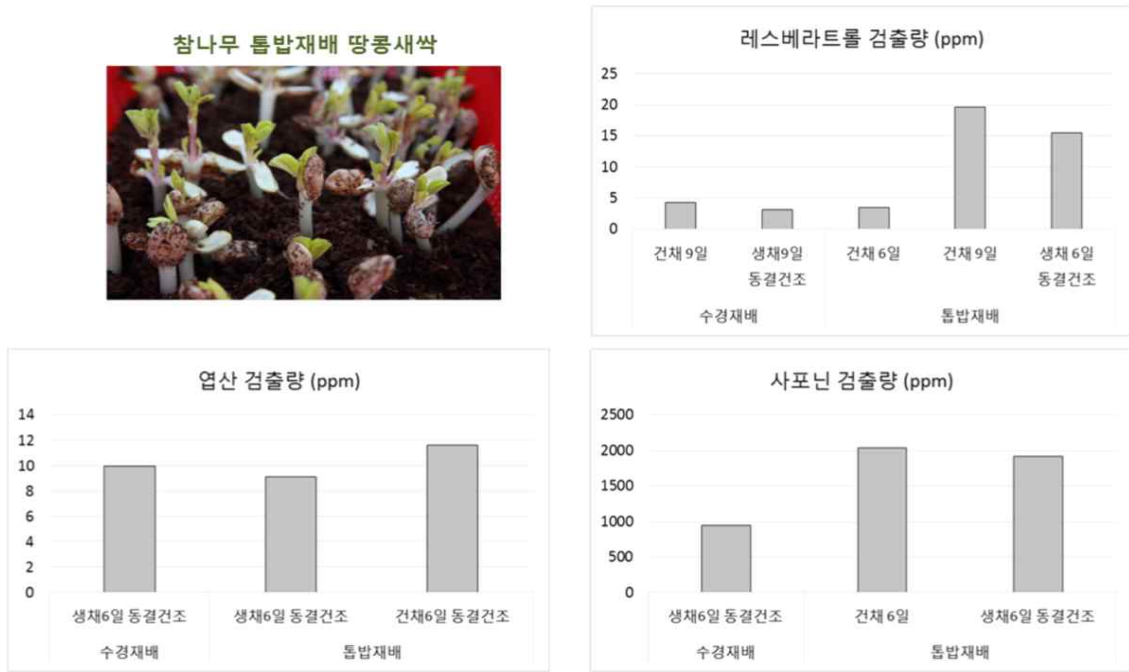


그림 17. 참나무 발효 톱밥재배 땅콩 새싹과 수경재배 땅콩새싹간의 주요 활성물질들의 검출량

- (6) 땅콩새싹의 주요 함유물질인 레스베라트롤은 식물에서 발견된 항산화 물질인 폴리페놀 계열에 속하는 물질로 포도, 땅콩, 오디, 베리류 등에 많이 들어있으며, 다양한 연구를 통해 강력한 항산화 작용과 암 예방, 노화방지, 혈관질환, 치매예방, 알콜성 간질환, 동맥경화, 당뇨병, 여성갱년기 장애 및 심뇌혈관 질환에 효능이 있다고 알려져 있음. 따라서 레스베라트롤을 다량 함유한 참나무 발효톱밥에서 재배한 땅콩새싹을 이용한 식품 소재화 기술개발은 전세계기능성 식품 시장에서 경쟁력을 확보할 수 있을 것으로 사료됨.
- (7) 기존 식물유래 소재 개발 시 문제점: 식물은 방대한 생물다양성이 있으며 독성이 없거나 적어 중요한 기능성 소재로 활용될 수 있는 커다란 잠재력을 지녔음. 그러나 다음과 같은 한계점에 의해 식물유래 유용물질을 상용화되는데 어려움이 있었음.
- ① 식물 유래의 약리물질은 희귀한 것들이 많아 공급량의 대량 확보가 어려움.
 - ② 같은 식물이라 하더라도 식물체 부위 산지, 날씨, 재배법 등에 따라 해당 약리물질의 함량이 차이.
 - ③ 자연 채취나 재배를 통하여 얻어지므로, 확보하는데 장시간 소요.
 - ④ 여러 물질이 복합적으로 존재하므로, 분리/정제에 고비용 요구.
- ㉞ 천연 소재 기반 식품 개발에는 재료의 채취 장소, 계절 등 매우 다양한 스펙트럼의 환경적 요인으로 재료를 표준화하는데 큰 어려움이 있는 것이 주지의 사실임. 이는 표준화가 용이한 새로운 개념의 기술 적용이 필요함을 시사함. 소재의 표준화가 외국 시장 진입의 큰 걸림돌이었음.
- (8) 발효 참나무 톱밥 재배는 표준화된 환경에서 유기농 소재를 활용하여 다양한 기능성을

가진 유기농 건강기능식품 소재의 개발이 가능한 장점이 있음. 따라서 이 연구를 통한 예방 및 건강유지 소재 개발 모델이 수립된다면 파급 효과가 큰 분야로 예측됨

- (9) **발효 참나무 톱밥 재배 땅콩새싹의 건강소재로서의 가치:** 2차 대사작용으로 생성되는 유용물질 함량이 높음을 stilbene의 일종인 resveratrol의 함량의 증가로 확인할 수 있음. 일반적으로 식물의 귀중한 화학물질이란 2차 대사산물임. 2차 대사물질이란 1차 대사를 거쳐 생산되며, 그 물질이 생존에 필수적인 구성성분이 아닌 물질을 의미함. 산업적으로 이용 가능한 2차 대사산물에는 항 종양물질, 세포막 구성성분, hormone 및 steroid 생합성 전구체로서 식물체내에 있어서 극히 중요한 역할을 담당하는 sterol, 강한 항균작용, 창상 치료 작용, 항궤양 작용이 있는 shikonin, 식물 천연색소의 carotenoid계, quinone계, chlorophyll계, flavonoid, 약제로서 중요한 식물 알칼로이드 등 아주 다양한 물질들이 포함되어 있음. 따라서 땅콩 새싹 특히 발효 참나무 톱밥 재배 땅콩새싹은 알려지지 않은 많은 다양한 2차 대사 산물을 함유하고 있을 가능성이 높음.
- (10) **발효 참나무 톱밥 재배 시스템의 장점:** 재배 조건의 다변화를 통해 다양한 기능성 소재를 개발할 수 있음. 특히 표준화된 유기농 식품소재 개발 측면에서 높은 장점이 있음.

다. 미충족 건강 수요에 근거한 중요성

- (1) **전립선에 발생하는 질환:** 전립선에 발생하는 질병에는 전립선염, 전립선비대증, 전립선암이 있음. 전립선 비대증은 중년 이후에 발생하여 전립선의 양성 증식으로 요도가 압박되어 발생하여 60대 남성의 60%가 가지고 있는 다빈도 노인성 질환임. 전립선암은 서양에서 가장 많은 암이며 사망률 2위임. 최근 우리나라에서도 급격히 증가되어 남성 발생 암중 빈도 4위임.
- (2) **발생을 및 재발율이 높은 전립선염:** 전립선염은 50세 이하의 남성에서 가장 흔하게 발병하는 전립선 질환으로 성인 5%에서 9%의 발병률을 보이며, 남성 50%가 평생 한번은 전립선염 증상 경험한다거나 비뇨기과 외래 환자의 25%를 차지한다는 주장이 있을 정도로 매우 흔한 다양한 형태의 통증이나 배뇨 증상을 보이는 요로 질환임[Woo, 1994]. 또한 높은 재발율이 특징임.
- (3) **전립선 염증의 의미:** 전립선비대증에서 전립선 염증이 동반되는 경우가 많으며, 전립선비대증의 발생이나 진행과정에 염증 기전이 매우 중요함. 전립선암의 경우 염증 소견이 있으면 암의 진행이 빠르고 예후가 나쁜 것으로 알려져 있음. 전립선비대증 또한 염증 소견이 동반되면 증상이 심하고 전립선크기 또한 더 큰 것으로 알려져 있음.
- (4) **전립선 비대증의 문제점**
- (가) 전립선비대증이란
- ① 전립선은 남성에게만 존재하는 조직으로, 우리 몸에서 방광 바로 아래 위치함. 무게는 약 20g, 크기는 약 3×4× 2cm의 밤톨 모양임. 전립선은 70%가 선조직, 30%가 섬 유근조

직으로 이루어져 있음. 조직 구성에서 짐작할 수 있듯이 전립선액 분비가 주된 기능임. 전립선액은 정액의 구성 물질로 정자의 운동성을 도와주며 요로 감염에 대한 방어 기능이 있음.

- ② 최근 노령 인구의 증가, 식생활의 서구화, 건강에 대한 관심도가 증가하면서 전립선비대증 환자가 증가되고 있는데 실제로 국내에서도 **10년 전에 비하여 전립선비대증으로 진료 받은 환자의 수가 4-6배정도 증가함**
- ③ 전립선비대증은 정액의 일부 성분을 분비하는 남성의 생식기관인 전립선의 크기가 커지면서 소변보는 데 문제가 생기는 질환임. 보통 전립선 크기는 20g으로 밤이나 호두 크기정도인데, **노화로 인해 전립선이 이상 증식하여 커지면서 요도를 압박함.**

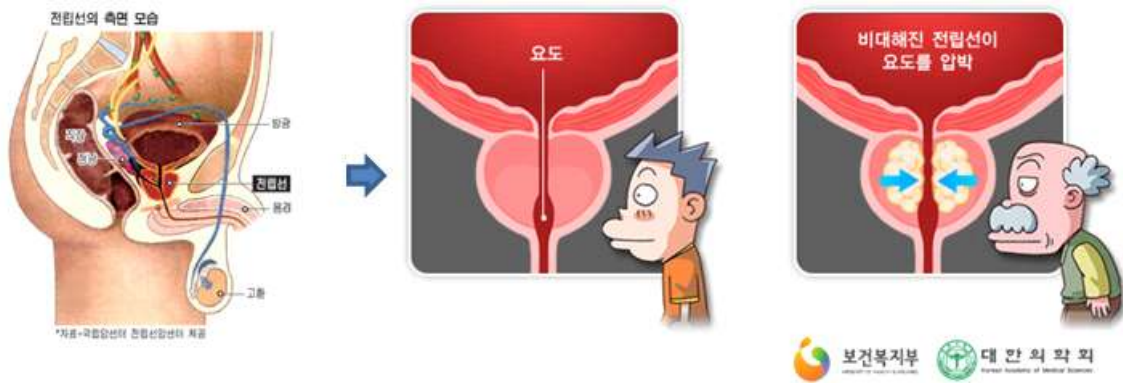


그림 18. 전립선 비대증의 기전 및 증상

(나) **전립선비대증의 증상들** : 전립선비대증으로 인한 증상은 비대된 전립선에 의해 요도가 좁아져서 생기는 증상 (배뇨후 잔뇨감, 소변 줄기가 끊어짐, 소변 줄기가 약함, 소변이 금방 나오지 않고 힘을 주어야 나옴 등)과 방광 자극 증상 (배뇨후 2시간 이내에 다시 소변이 마려움, 소변이 마려울 때 참기 힘들, 밤에 자다가 소변을 보기 위해 자주 깬 등)으로 나눌 수 있음. 이러한 증상들은 삶의 질을 저하시키기 때문에 일상 생활에 여러 가지의 불편을 초래하게 됨.



그림 19. 전립선 비대증의 증상

(다) 중년이후 남성의 삶의 질을 저하시키는 주요 건강 문제 “전립선비대증”:

- ① 비뇨기과학회 조사에 따르면 전립선 건강 이상 증상은 일반적으로 삶의 질 상태를 매우 악화시키는 것으로 나타났음. 전립선비대증이 있는 경우 방광증상으로 인해 성생활 만족도가 낮아졌다고 답한 비율이 3배 이상 높았으며, 17.2%가 성생활 빈도에 영향을 끼친다고 답했음.
- ② 전립선비대증이 있는 경우 건강문제로 업무시간과 능률이 저하됐다고 답변한 비율이 39.2%로 전립선비대증이 없는 응답자의 24.5%에 비해 높았으며, 업무시간과 능률이 영향을 받았다고 답변한 응답자의 비율은 연령대가 낮을수록 높게 나타났음.
- ③ 구체적인 업무활동영향에 대해서는 직장의 위치나 업무시간을 결정하는데 중요한 요인으로 작용한다는 답변이 18.7%로 가장 높았으며, 13.1%는 잦은 화장실 출입이 업무에 방해가 되며, 2.1%는 이직이나 조기은퇴, 퇴사를 당한 적이 있다고 답했음.
- ④ 사회생활이 왕성한 40대의 전립선비대증 환자의 경우 우울증 동반 비율이 16.8%로 평균(11.5%)보다 훨씬 높았으며, 업무활동에 영향을 받는 빈도 역시 45.4%로 평균(39.2%)보다 높았음. 따라서 전립선 건강 이상은 “40대이상 남성에게 매우 흔한 질환 삶의 질, 정상적인 업무, 성기능에도 중요한 영향을 미치는 것으로 나타났음.

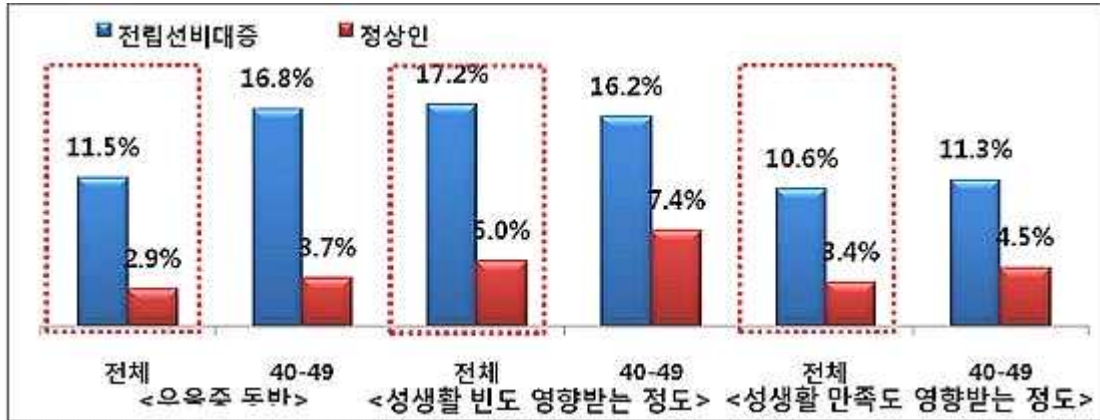


그림 20. 전립선비대증이 삶의 질에 미치는 영향

(라) 대기요법 환자의 많은 수가 진행되거나 수술을 받게 됨. 따라서 예방 기술이 필요함:

전립선증상을 지닌 환자 중 많은 경우는 증상이 심하지 않아 약물치료나 수술적 치료와 같은 적극적인 치료가 필요하지 않음. 국제전립선증상점수표의 증상점수가 7점 이하인 정도의 하부요로증상을 가진 환자는 치료하지 않고 경과를 지켜보는 대기요법의 대상이 될 수 있음. 또한 국제전립선증상점수표의 증상점수가 8점에서 19점 사이인 중등도의 환자도 하부요로증상에 따른 불편함이 없다면 대기요법의 대상이 될 수 있음. 대기요법 시행 후 일부 증상은 자연적으로 호전이 되기도 하고, 수년간 증상의 변화 없이 유지될 수 있음. 중등도 증상이 있는 대기요법군의 36%는 5년 안에 결국 수술을 받았으며 나머지 64%는 대기요법을 유지하였음. 수술을 받은 군을 분석하였을 때, 수술 전 불편함의 정도가 컸던 환자일수록 수술 결과가 좋았음. 또 다른 대규모 연구에서는 대기요법을 시행한 결과 1년째 85%가 증상의 변화가 없었으나, 5년째는 65%가 병의 진행을 보였음.

(5) 전립선암의 문제점: 암에서도 치료와 관련된 부작용을 경감시킬 수 있는 소재 필요

(가) 치료 방법은 일반적으로 저위험도 전립선암(lower risk prostate cancer), 중등도 위험도 전립선암은 수술이나 방사선 치료, 고위험도암은 방사선치료+/- 남성호르몬차단치료, 전이암은 화학적 또는 수술적 남성호르몬차단 치료를 하게 됨. 80-90%의 환자가 남성호르몬 차단 치료에 반응을 보이지만 12-18개월 사이에 남성호르몬차단에 비의존적인 거세비의존성암(castration-independent prostate cancer)로 진행되기 시작하게 됨. 거세비의존성암은 대부분 급격히 진행되어 단기간에 환자의 생명을 위협하게 됨.

(나) 이차호르몬제(second line hormonal agents) 치료는 일반적으로 증상이 있는 환자에서는 도움되지 않으며 증상이 없는 환자에서 유용하지만 반응기간이 보통 2-6개월로 짧은 단점이 있음.

(다) 세포독성 화학치료제로는 Taxanes(Docetaxel, Paclitaxel), Mitoxantone, Estramustine, Adriamycin, Vinorelbine, Carboplatin 등이 활성제제로 알려져있으나 생존기간 연장에는 큰 기여가 없는 것으로 알려져 있음. docetaxel 일차약제로 시도되고 있음. 또한 이들의 다양한 병합치료가 시도되고 있음. 따라서 새로운 개념의 접근이 필요함.

(라) 화학치료제의 효과를 최대화하기 위한 방법에는 일상적인 용량을 자주 투여하거나 고용량을 투여하는 방법 그리고 병합투여가 있음. 그러나 투여간격이나 양을 증가시키는 경우에 문제는 부작용이 문제임.

(마) 화학치료제의 부작용은 골수억제작용, 면역억제, 오심 및 구토, 탈모, 점막염, 설사, 감기 유사증상 등이 있음, 따라서 이상적인 항암화학치료는 암세포를 선택적으로 억제하고 부작용은 적은 것이라 할 수 있는데, 이를 충족시키는 방법은 암특이적 표적 약물전달 시스템을 적용시키거나 세포독성 작용은 떨어지지만 정상세포의 손상을 예방하는 식품의 병용 투여도 대안이 될 수 있음.

라. 표적 기전 측면에서의 중요성

(1) 전립선에 발생하는 질환은 전립선염, 전립선비대증, 전립선암이 있으며 빈도가 매우 높은 질환군으로 노령화 시대에 매우 중요한 건강 이슈임. 최근 세 가지 질환의 발생 및 진행의 주요 기전에 염증 +/- 감염의 중요성이 부각되고 있음(그림 1). 실제로 전립선비대증 환자나 전립선암 환자는 염증이 동반되어있는 경우가 많고, 염증이 동반된 경우 치료에 대한 반응이 떨어지는 것으로 알려지고 있음. 전립선건강 소재로서 식물 유래 소재는 매우 유용할 것으로 판단됨.

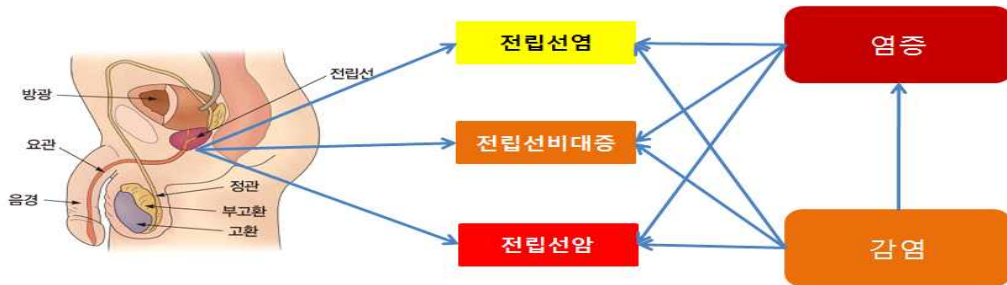


그림 21. 전립선 질환 모식도

(2) **땅콩 새싹 소재 ! 전립선 건강에 효과 있을 가능성이 높음.** 땅콩의 isoflavone glucosides나 땅콩 줄기 추출물의 resveratrol이 전립선세포 증식 억제작용이 있는 것으로 알려져 있으며, resveratrol은 *in vitro* 및 동물실험에서 전립선암의 발생 및 진행과 전립선비대증을 억제하는 것으로 알려져 있음.

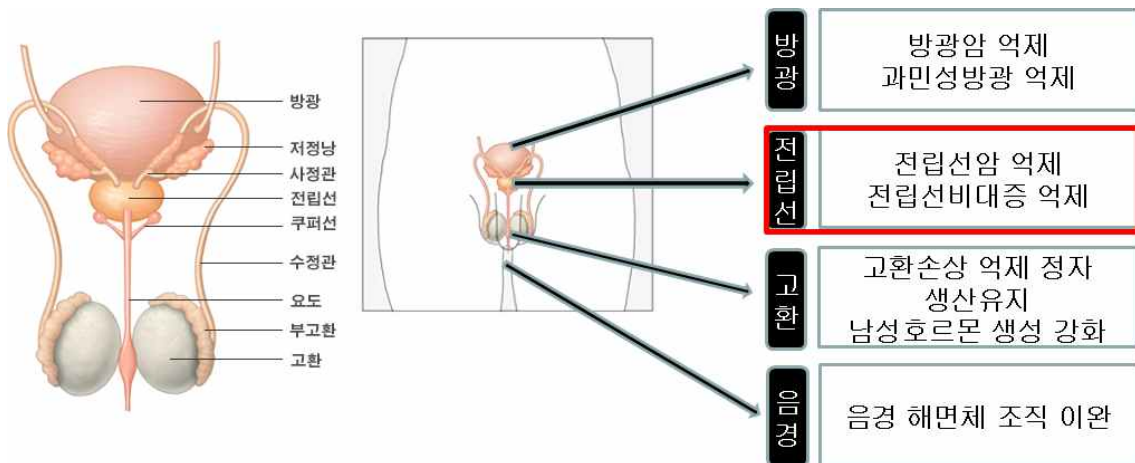


그림 22. 레스베라트롤의 비뇨생식계 효과

3절. 연구개발 범위

1. 1차년도

가. 개발 목표

- (1) 주관연구기관 ((주)레스베라) :
 - (가) 톱밥재배 땅콩새싹 추출물의 표준화 과정 주관
- (2) 협동연구기관 1 (중앙대학교 명순철 교수팀) :
 - (가) 땅콩새싹추출물의 전립선비대증 예방에 관한 *in vitro* 효능검증
 - ① 발효 톱밥 땅콩 새싹의 기능성 성분 최적화 유기농 재배 기술 개발
 - ② 기능성 자료 축적을 위한 전립선 건강 효능/기전 규명
- (3) 협동연구기관 2 (중앙대학교 문성권 교수팀) :
 - (가) 재배 조건에 따른 땅콩새싹 추출물의 유효성분 분석 및 표준화
 - (나) 추출 방법에 따른 이화학적 특성 연구
- (4) 위탁연구기관 (네오뉴트라㈜) :
 - (가) 땅콩새싹추출물의 전립선 건강에 대한 인체적용시험 계획서(프로토콜) 개발
- (5) 위탁연구기관 ((사)한국건강기능식품협회) :
 - (가) 기능성 원료의 표준화를 위하여 설정된 기능/지표성분 분석법에 대한 교차검증.
 - (나) 땅콩새싹(원재료), 땅콩새싹추출물(기능성 원료)의 안전성 확보 및 원료특성 확인을 위하여 곰팡이 독소(아플라톡신 B1, B2, G1 및 G2의 합) 확인

나. 개발 내용 및 범위

- (1) 주관연구기관 ((주)레스베라) :
 - (가) 톱밥재배 땅콩새싹 추출물의 공정 단계별 표준화
 - ① 표준재배법 검증 (온도/ 습도/ 톱밥발효 기간/ 급수량 등 변수에 따른 지표물질 검사)
 - ② 표준재배법 확정 및 생체 지표물질 공인성적서 생산
 - ③ 표준 재배법 단계별 연구 시료 생산(생체/열풍건조건채/동결건조 건채/ 물 추출물/주정 추출물/농축액/ 농축액SD/농축액 동결분말)
 - ④ 단계별 성분분석의뢰 (레스베라트롤, 사포닌)
 - ⑤ 단계별 공인성적서 생산
 - ⑥ 표준 공정확립
 - ⑦ 표준 추출물 성분분석 및 공인성적서 생산
 - ⑧ 표준 추출물 양산 (3회 반복)
 - ⑨ 양산 표준 추출물 성분분석 및 공인성적서 생산(3회 반복)
 - ⑩ 참나무발효톱밥에서 자란 ‘레스베라 땅콩새싹 추출물’ 표준화 완료
- (2) 협동연구기관 1 (중앙대학교 명순철 교수팀)
 - (가) 유기농업자재(국립 농산물품질관리원 인증) 처리에 따른 새싹의 생육 변화 규명
 - ① 땅콩새싹 소규모 재배 모델링에 의한 생육 조건 최적화
 - ② 유기농 재배 방법에 따른 기능성 물질 비교 분석 (예측기전 특이적 방법 적용)
 - (나) 실험실 기반 표준화 소재 활용 *in vitro* 효능 기전 연구

- ① 새싹추출물의 타깃 조직 세포주 기반 기능성 연구: 전립선 상피세포주, 전립선 기질세포주, 방광 상피세포주, 방광평활근세포주 등
 - ㉠ 세포 과증식 억제효과 관찰 및 기전 연구(성장인자 및 세포 사멸 관련 연구)
 - ㉡ 추출물이 전립선세포 5-alpha reductase 발현 또는 활성도에 미치는 영향 평가
 - ㉢ 추출물이 세포주 hemichannel(connexin 또는 pannexin) 발현에 미치는 영향 분석
 - ㉣ 방광 상피세포의 prostaglandin E2, ATP, BDNF, 또는 NGF 생성 및 유리능에 미치는 영향 측정
 - ㉤ 추출물이 평활근 phosphodiesterase(type 5, 4) 발현 또는 활성에 미치는 영향 분석
- (다) 실험실 기반 표준화 소재 활용 in vivo 효능 기전 연구 (예측기전 특이적 방법 선택)
 - ① 동물실험 IRB 통과
 - ② 새싹추출물이 설치류 방광절편의 수축/이완 활성에 미치는 영향 분석(organ bath, isometric tension study):
 - ③ 새싹추출물이 in vivo 전립선건강 모델에 미치는 효과: 설치류 전립선비대증 모델, 방광출구 폐색모델, 또는 과민성방광 모델
 - ㉠ 전립선 조직학적검사(H & E stain, immunohistochemistry)
 - ㉡ 방광 조직학적검사(H & E stain, immunohistochemistry)
 - ㉢ 배뇨간격, 배뇨횟수, 방광 압력 변화 등 측정
 - ㉣ 소변: PGE2, BDNF, 또는 NGF, 소변 creatinine 대비 농도로 측정
- (3) 협동연구기관 2 (중앙대학교 문성권 교수팀) :
 - (가) 땅콩새싹추출물의 전립선상피세포 및 간질세포의 신호전달 및 전이에 대한 효과 관찰
 - ① Immunoblot을 이용하여 세포신호전달 (ERK1/2, JNK, p38MAPK, AKT) 및 전이 관련 단백질 (MMP-2, MMP-9, transcription factors) 변화 측정
 - (나) 재배 조건을 달리한 땅콩새싹, 추출물 및 가공제품의 유효 성분 분석 및 표준화
 - ① 일자를 달리하여 발효한 톱밥배지에서 재배한 땅콩새싹의 유효 성분 확인
 - ② 레스베라트롤
 - ③ 엽산
 - ④ 아미노산
 - ⑤ 사포닌
 - (다) 기능성 원료의 규격 관리를 위하여 기능/지표성분 설정, 분석법 확립 및 시험법 검증 (Method Validation)
 - ① 땅콩새싹추출물의 표준화를 확인할 수 있는 기능/지표성분을 확인하고, 기능/지표성분을 확인할 수 있는 HPLC, GC 등 정밀기기를 이용한 분석법을 설정
 - ② 설정한 분석법의 특이성, 직선성, 정확성, 정밀성 등의 설정을 통해 개발된 분석법의 검증(Method Validation) 실시
- (4) 위탁연구기관 (네오뉴트라㈜) :
 - (가) 인체적용시험 자료 검색 및 정리, 인체적용시험 계획서 (프로토콜) 개발
 - ① 선행연구자료 수집
 - ㉠ 국내외 학술지 및 학술 데이터베이스를 활용한 “전립선 건강” 관련 인체적용시험 자료 확보, 검토 및 선별

- ㉔ 활용 데이터베이스 : Pubmed, NDSL, 모노그래프 등
- ㉕ 주요 검색어 : BPH(Benign Prostatic Hypertrophy; 전립선 비대증), LUTS(Lower Urinary Tract Symptom; 하부요로증상), IPSS(International Prostate Symptom Score), PSA(prostate specific antigen, 전립선 특이 항원) 등
- ㉖ 인체적용시험 자료의 유형

Type	내 용
Type 1	무작위 배정 대조군 대비 인체중재 시험 (Double Blind, Randomized Controlled Trial, RCT)
Type 2	Observational Cohort Studies
Type 3	Non-randomized intervention trials, case-controlled studies, Cross-sectional studies, case series

- ① 검토 및 선별 : 검색된 인체적용시험 자료의 유형, 시험디자인, 피험자 특성 및 GCP 가이드라인 등에 따라 자료 검토 및 선별작업 실시
- ② 조사된 인체적용시험 자료 검토 및 식품의약품안전처 건강기능식품 가이드라인을 바탕으로 프로토콜 초안 작성

(5) 위탁연구기관 ((사)한국건강기능식품협회) :

- (가) 기능성 원료의 표준화를 위하여 설정된 기능/지표성분 분석법에 대한 교차검증.
- (나) 설정된 분석방법에 대하여 반복성, 재현성 확인을 통하여 분석법 검토, 실험실간 함량 편차 확인
- (다) 땅콩새싹(원재료), 땅콩새싹추출물(기능성 원료)의 안전성 확보를 위하여 위해 성분인 곰팡이 독소 (아플라톡신 B₁, B₂, G₁ 및 G₂ 합)등 확인
- (라) 표준화 작업 시 각 공정 단계별 기능/지표성분 함량 확인(공인분석기관 성적서 발행)

2. 2차년도

가. 개발 목표

(1) 주관연구기관 ((주)레스베라) :

- (가) 톱밥재배 땅콩새싹 추출물의 유용물질 공인화 및 기능성평가 주관

(2) 협동연구기관 1 (중앙대학교 명순철 교수팀) :

- (가) 땅콩새싹추출물의 전립선비대증 예방에 관한 *in vitro* 작용기작
 - ① 발효 참나무톱밥 땅콩 새싹의 기능성 성분 최적화 유기농 재배 개술 개발
 - ② 기능성/안전성 자료 축적을 위한 전립선 건강 효능/기전 규명
 - ③ 임상시험을 통한 안정성 및 전립선 건강 효능 검증

(3) 협동연구기관 2 (중앙대학교 문성권 교수팀) :

- (가) 땅콩새싹 추출물 제조공정별 유효성분 함량분석 및 표준화

(4) 위탁연구기관 (네오뉴트라주) :

- (가) 땅콩새싹추출물의 전립선 건강에 대한 인체적용시험 수행

(5) 위탁연구기관 ((사)한국건강기능식품협회) :

- (가) 기능성 원료인 땅콩새싹추출물의 기능/지표성분 및 유해물질에 대한 기준·규격 설정
- (나) 원료의 특성을 확인할 수 있는 영양성분을 확인 및 안전성 확인을 위한 잔류농약 분석
- (다) 표준화 작업 시 필요한 유효성분 분석 (공인분석기관 성적서 발행)

나. 개발 내용 및 범위

(1) 주관연구기관 ((주)레스베라) :

- (가) 톱밥재배 땅콩새싹 추출물의 유용물질 공인화 작업 및 기능성평가 추진
 - ① 표준 재배 생체의 지표물질 외의 유용물질 공인화작업 추진 (사포닌, 아미노산, 엽산)
 - ② 표준 추출물의 지표물질 외의 유용물질 공인화작업 추진 (사포닌, 아미노산, 엽산)
 - ③ 기능성 평가용 표준추출물 시료 생산 및 공급
 - ④ 임상실험용 표준 추출물의 제품 및 플라시보 생산 및 공급
 - ⑤ 식약처와 기능성평가 중간과정 점검 및 평가
 - ⑥ 중간 평가 결과 사업화 추진 체계와 연계한 사업화 계획 수정 및 사업화 계획 완성

(2) 협동연구기관 1 (중앙대학교 명순철 교수팀) :

- (가) 유기농업자재(국립 농산물품질관리원 인증) 처리에 따른 새싹의 생육 변화 규명
 - ① 땅콩새싹 공장 재배 모델링에 의한 생육 조건 최적화
 - ② 유기농 재배 방법 기능성 물질의 차이 분석 비교
- (나) 표준화 소재 활용 *in vitro* 효능 기전 연구
 - ① 새싹추출물의 타깃 조직 세포주 기반 기능성 연구: 전립선 상피세포주, 전립선 기질세포주, 방광 상피세포주, 방광평활근세포주 등
 - ㉠ 세포 과증식 억제효과 관찰 및 기전 연구(성장인자 및 세포 사멸 관련 연구)
 - ㉡ 추출물이 전립선세포 5-alpha reductase 발현 또는 활성도에 미치는 영향 평가
 - ㉢ 추출물이 세포주 hemichannel 발현에 미치는 영향 분석
 - ㉣ 방광 상피세포의 prostaglandin E2, ATP, BDNF, 또는 NGF 생성 및 유리능에 미치는 영향 측정
 - ㉤ 추출물이 평활근 phosphodiesterase(type 5, 4) 발현 또는 활성에 미치는 영향 분석
- (다) 표준화 소재 활용 *in vivo* 효능 기전 연구 (식약처 인정 자료구축 활용)
 - ① 동물실험 IRB 통과
 - ② 새싹추출물이 설치류 방광절편의 수축/이완 활성에 미치는 영향 분석 (organ bath, isometric tension study)
 - ③ 새싹추출물이 *in vivo* 전립선건강 모델에 미치는 효과: 설치류 전립선비대증 모델, 방광출구 폐색모델, 만성 전립선염 또는 과민성방광 모델
 - ㉠ 전립선 조직학적검사(H & E stain, immunohistochemistry)
 - ㉡ 방광 조직학적검사(H & E stain, immunohistochemistry)
 - ㉢ 배뇨간격, 배뇨횟수, 방광 압력 변화 등 측정
 - ㉣ 소변: PGE2, BDNF, 또는 NGF, 소변 creatinine 대비 농도로 증명
- (라) *in vivo* 효능 기전 연구 (표준화 소재 활용 최종 *in vivo* 효능 검증/기전 확립)
 - ① 새싹추출물이 *in vivo* 전립선건강 모델에 미치는 효과: 설치류 전립선비대증 모델, 방광출구 폐색모델. 또는 과민성방광 모델

- ㉠ 전립선 조직학적검사(H & E stain, immunohistochemistry)
- ㉡ 방광 조직학적검사(H & E stain, immunohistochemistry)
- ㉢ 배뇨간격, 배뇨횟수, 방광 압력 변화 등 측정
- ㉣ 소변: PGE2, BDNF, 또는 NGF, 소변 creatinine 대비 농도로 측정

(마) 인체 효능 및 안전성 평가

- ① 전립선 건강 인체 효능 및 안전성 연구 IRB 통과
- ② 전립선 건강 인체 효능 및 안전성 연구(case controled, double blind study): 전임상 작용 기전과 연계된 임상

(3) 협동연구기관 2 (중앙대학교 문성권 교수팀) :

(가) 추출용매 및 추출 조건을 달리하여 추출한 땅콩새싹 추출물에서 유효 성분 함량 분석 및 이를 통한 최적 추출 조건 설정

- ① 레스베라트롤 등 분석
- ② 사포닌 분석
- ③ Folate 분석

(나) 땅콩새싹 추출물 제조공정별 유효 성분 함량 분석 및 표준화

- ① 레스베라트롤 등 분석
- ② 사포닌 분석
- ③ Folate 분석

(다) 전립선 간질세포 및 상피세포에서 땅콩새싹추출물의 전이 및 신호전달에 대한 효과 재관찰

- ① immunoblot을 이용한 세포신호전달 (ERK1/2, JNK, p38, AKT)과 전이관련 단백질 (transcription factors 등) 변화 재측정

(4) 위탁연구기관 (네오뉴트라주) :

(가) 인체적용시험 계획서 개발 완료 및 IRB 승인, 인체적용시험 수행, 모니터링 실시 등

- ① 1차년도 작성된 프로토콜 초안(Draft Version)에 대해 내/외부 전문가 논의를 거쳐 수정 및 보완
- ② 인체적용시험 계획서 개발 완료 및 IRB 승인
- ③ 주요목적 : 땅콩새싹추출물의 전립선 건강에 대한 유효성 및 안전성 검사
- ④ 대상자의 선정 및 제외기준 (향후 프로토콜에 따라 변경될 수 있음)

선정기준	제외기준
1) BPH(Benign Prostatic Hyperplasia; 전립선 비대증)로 고통 받는 자 2) IPSS(International Prostate Symptom Score) 점수가 12~24인 자 3) 뇨 부피가 100 mL 이상인 자 4) 전립선 부피가 25cc 미만인 자 5) 소변 머뭇거림, 소변이 뚝뚝 떨어짐이 빈번한 자 등	1) 기형이 있는 자 2) 방광질환의 가족력이 있는 자 3) 잔뇨가 60mL 이상인 자, 350mL 이상인 자 4) 혈뇨증환자 5) 생식기에 감염 또는 암이 있는 자 6) 저노속으로 내시경 받은 자, 전립선 비대증 치료를 받은 자 7) 심장질환, 당뇨병, 고혈압, 신장 또는 간의 부적합자 등

⑤ 대상자 수 : 약 60~80명

⑥ 시험디자인 : 무작위배정(randomized), 이중맹검(Double blind) 및 위약(placebo) 대조 인체적용시험

⑦ 자발적으로 인체적용시험 동의서에 서명한 사람이 인체적용시험에 참가하면 인구학적 조사, 병력조사, 약물투여력 조사, 이학적 검사, 활력징후, 신체계측, 임상병리검사, 임신반응검사(가임기 여성만 해당), 심전도 검사를 실시하고 선정/제외기준에 적합하면 무작위배정을 통한 인체적용시험 대상자 등록이 이루어 짐.

⑧ 시험군 또는 대조군으로 배정된 인체적용시험 대상자는 시험식품 또는 대조식품을 섭취(각 군의 배정비율은 시험군 : 대조군 = 1 : 1)

⑨ 수시 모니터링

㉠ 모니터링의 목적

a) 시험대상자의 권리와 복지 보호

b) 보고된 인체적용시험 관련 자료가 근거문서(Source Documents)와 대조하여 정확하고(accurate) 완전하며(complete) 검증이 가능한지(verifiable) 확인

c) 인체적용시험이 승인된 계획서, 임상시험관리기준 및 관련규정에 준수하여 수행되는지를 점검

⑩ 모니터링의 내용

항 목	내 용
연구자 파일	① 연구자 파일의 Subject visit log, Subject screening & enrollment log 업데이트 확인 ② IRB 문서 등 인체적용시험 관련 문서 및 의사소통 문서 업데이트 확인
근거문서	① 시험대상자의 ICF 확인 ② 시험대상자의 방문1~4증례기록서 및 근거문서 확인
약국 파일	① 보관 장소/온도/시험용 식품 보관상태 확인 ② 약국 파일의 온도기록, 불출현황 확인
기 타	① 부족한 material 확인 ② 쿼리 해결 확인

(5) 위탁연구기관 ((사)한국건강기능식품협회) :

(가) 땅콩새싹추출물의 기준·규격 설정

- ① 기능성 원료의 표준화를 위하여 성장, 기능/지표물질성분, 중금속(납, 카드뮴, 총비소, 총수은), 미생물(대장균군) 등의 규격을 설정
- ② 원재료 및 기능성 원료의 잔류농약 분석을 통한 안전성 확보
- ③ 기능성 원료의 열량, 탄수화물, 단백질, 지방, 수분, 회분, 나트륨 등의 분석을 통한 영양성분 정보를 제공

3. 3차년도

가. 개발 목표

- (1) 주관연구기관 ((주)레스베라) :
 - (가) 기능성평가 완료 및 개별인정형 기능성 원료 신청 주관
- (2) 협동연구기관 1 (중앙대학교 명순철 교수팀) :
 - (가) 발효 톱밥 재배 유기농 땅콩새싹 상품성/인지도 강화 활용 지식 개발
 - (나) 전립선 건강 인체 효능 및 안전성 검증
 - (다) 식약처 인증을 위한 기능성/안전성 자료 축적
- (3) 협동연구기관 2 (중앙대학교 문성권 교수팀) :
 - (가) 전립선비대증 예방 동물모델에서 땅콩새싹추출물의 효과에 따른 바이오마커 발현 validation
 - (나) 땅콩새싹 추출물의 저장 및 보관기간에 따른 유효성분의 안정성 분석
- (4) 위탁연구기관 1 (네오뉴트라주) :
 - (가) 인체적용시험 완료 및 개별인정형 건강기능식품 기능성원료 신청
- (5) 위탁연구기관 2 ((사)한국건강기능식품협회) :
 - (가) 건강기능식품 기능성원료 신청에 필요한 공인성적서 발행
 - (나) 땅콩새싹 추출물의 저장 및 보관기간에 따른 유효성분의 안정성 분석

(2) 개발 내용 및 범위

- (1) 주관연구기관 ((주)레스베라) :
 - (가) 기능성평가 완료 및 개별인정형 기능성 원료 신청 주관
 - ① 임상실험 수행 점검 및 중간 데이터 분석 및 평가
 - ② 기능성평가 결과 취합 및 결과 보고서 작성
 - ③ 전립선 건강 개별인정형 건강기능식품 신청
 - ④ 건강기능식품 제형 연구 및 시제품 제작
 - ⑤ 전립선 건강기능식품 시제품 홍보 및 마케팅 투자 계획 수립
 - ⑥ 양산 투자 계획 수립
 - ⑦ 전립선 건강 개별인정형 건강기능식품 인증 획득
 - ㉠ 협동연구기관(네오뉴트라주) : DM(Data Management) 및 통계분석, 결과보고서 작성 및 IRB 승인, 개별인정형 건강기능식품 기능성원료 신청서 작성 및 신청

(1) 협동연구기관 1 (중앙대학교 명순철 교수팀) :

- (가) 표준화 소재와 유기농 개발 소재의 기능성 비교연구: 땅콩새싹 추출물의 전립선건강 예방 nutrionic 프로파일링
- (나) 식약처 인증 자료 보완 데이터 생성 및 사업화 활성을 위한 기능성 연구
- (다) 전립선 건강 인체 효능 및 안전성 연구 계속 진행
- (라) 기능성 안전성 자료 축적 정리

(2) 협동연구기관 2 (중앙대학교 문성권 교수팀) :

- (가) 전립선비대증 예방 동물모델에서 땅콩새싹추출물의 효과에 따른 바이오마커 발현 validation
 - ① 전립선비대증 예방 동물모델에서 땅콩새싹추출물의 처리 후 바이오마커의 발현 분석 및 그 프로파일 작성
- (나) 건강기능식품 소재로서 땅콩새싹 추출물을 일반적인 유통온도(실제유통)와 남용 온도 (극단의 환경)에 보관하면서 일정기간 마다 유효성분 함량의 변화 분석
 - ① 레스베라트롤 분석
- (다) 저장 및 보관기간에 따른 땅콩새싹 추출물의 미생물 변화 측정
 - ① 대장균군 정성분석
 - ② 세균수 측정
- (라) 수분 함량 변화 측정
 - ① 저장 기간에 따른 땅콩새싹 추출물의 수분 함량 변화를 측정함.
- (마) 관능 평가
 - ① 땅콩새싹 추출물의 색과 향, 맛을 저장 초기와 저장 말기에 두차례 관능검사를 실시하여 평가함.
- (바) 땅콩새싹 추출물의 유통기한 설정

(4) 위탁연구기관 (네오뉴트라㈜) :

- (가) DM(Data Management) 및 통계분석, 결과보고서 작성 및 IRB 승인, 개별인정형 건강기능식품 기능성원료 신청서 작성 및 신청
 - ① 인체적용시험 종료
 - ② DM/통계 분석 및 인체적용시험 결과보고서 작성
 - ③ DM(Data Management) 및 통계분석
 - ㉠ DB 구축 및 코딩
 - ㉡ DM 및 통계분석을 통해 임상시험의 유효성 및 안전성을 분석함(통계적 유의성을 $p < 0.05$ 수준에서 판정)
 - ④ 인체적용시험 결과보고서 작성 및 IRB 제출/승인
 - ㉢ 인체적용시험 종료 결과 및 통계분석에 따른 결과를 바탕으로 결과보고서 작성
 - ㉣ 유효성 및 안전성 평가자료에 근거하여 해당 약물의 유용성을 유익성-위험성 차원에서 최종적

으로 평가하며, 기준 자료에 비추어 임상적으로 어떤 의미를 갖는지 고찰

- ① 최종 승인된 인체적용시험 계획서
- ② 최종 승인된 임상시험자 자료집(Investigator's Brochure)
- ③ 시험 대상자 동의서 및 설명문
- ④ 증례기록서 사본
- ⑤ 인체적용시험 심의에 대한 IRB status
- ⑥ 인체적용시험계획 변경 및 종료 심의의뢰서, 승인통지서
- ⑦ 무작위배정표
- ⑧ 인체적용시험 책임자 서명
- ⑨ 시험대상자 일람표(인구학적 정보, 복용전 특성, 복용 순응도, 병용약물, 유효성 평가결과, 안전성 평가결과)

㉔ 수록문서

㉕ IRB 제출 및 승인

④ 개별인정형 건강기능식품 기능성원료 신청

⑤ 목적 : 땅콩새싹 추출물의 전립선 건강에 대한 개별인정형 건강기능식품 기능성원료 인정을 위한 신청

⑥ 식품의약품안전처 개별인정형 건강기능식품 기능성원료 신청서 작성 및 신청

- ① 제출자료 전체의 총괄 요약본
- ② 기원, 개발경위, 국내/외 인정 및 사용현황 등에 관한 자료
- ③ 제조방법 및 그에 관한 자료
- ④ 원료의 특성에 관한 자료
- ⑤ 기능성분(또는 지표성분)에 대한 규격 및 시험방법에 관한 자료
- ⑥ 유해물질에 대한 규격 및 시험방법에 관한 자료
- ⑦ 안전성에 관한 자료
- ⑧ 기능성내용 및 그에 관한 자료
- ⑨ 섭취량, 섭취시 주의사항 및 그 설정에 관한 자료
- ⑩ 의약품과 같거나 유사하지 않음을 확인하는 자료

(5) 위탁연구기관 ((사)한국건강기능식품협회) :

(가) 건강기능식품 기능성원료 신청에 필요한 공인성적서 발행

① 땅콩새싹추출물 중 레스베라트롤 함량 확인 및 성적서 발행

(나) 땅콩새싹 추출물의 저장 및 보관기간에 따른 유효성분의 안정성 분석

① 저장 및 보관기간에 따른 아미노산 중 유리 아스파라긴 함량 확인

감안한 표준화 계획을 작성하여 표준화 작업을 수행하고 표준화된 추출물이 각종 실험에 사용될 수 있도록 재배, 생산, 제조하여 공급함.

- (7) 레스베라와 제2 협동은 한국기능식품 연구원에 표준 추출물을 검증의뢰함.
- (8) 레스베라는 임상실험 계획에 따른 제품과 플라시보를 제조하여 공급함.
- (9) 네오뉴트라와 제1협동은 식약처 가이드라인에 맞춘 임상실험을 실시함.
- (10) 네오뉴트라는 각 실험데이터들을 취합하여 식약처에 기능식품신청을 함.
- (11) 레스베라는 사업화 관련된 시제품생산/마케팅/양산 계획들을 점검하고 차질없이 추진함.
- (12) 연구기간내 개별인정형 건강기능식품 기능성원료 신청을 완료하기 위하여, 다음과 같이 세부전략을 구축하여 추진

(가) 내부 및 전문가 검토: 주관 및 협동 연구기관, 전문가(전문외)

- ① 설정된 기능성에 대한 기능성 자료(전임상 및 인체적용시험)를 확보하고, 건강기능식품 기능성원료에 적합한 자료를 검토/선별
- ② 기능성 시험(전임상 및 인체적용시험)에 대한 계획안(protocol draft)을 설정
- ③ 기능성 시험 계획안은 전임상(in vivo 및 in vitro) 시험을 통해 해당 기능성의 작용기전을 입증할 수 있도록 설계 되어야 하며, 인체적용시험에서 유용한 효과를 나타낼 수 있도록 설계
- ④ 기능성 시험을 수행한 후 통계분석/방법에 대한 설정이 계획되어야 하고, 시험군 간 통계적 유의성을 확보하기 어려운 biomarker(유전자 발현 등)에 대해 보조적인 분석방법을 설정하여 추가적인 유효 biomarker 확보를 강구
- ⑤ 기능성 시험 계획안에 대해 연구기관 간 논의 후 수정된 계획안을 설정(기능성 자료만을 통해 설계된 계획안이 실제로 수행 가능한지에 대한 검토, 연구 환경(인력 및 경비 등)에 적합한지에 대한 검토)
- ⑥ 상기 내용을 반영한 기능성 시험 계획안(draft)을 설정하고, 이를 전문가(전문외)와 논의 및 수정하여 기능성 시험 최종 계획안(draft)으로 설정
- ⑦ 최종 설정된 기능성 시험 계획안(draft)을 식품의약품안전처(MFDS)와 논의 및 검토

(나) 식품의약품안전처(MFDS) 사전 검토

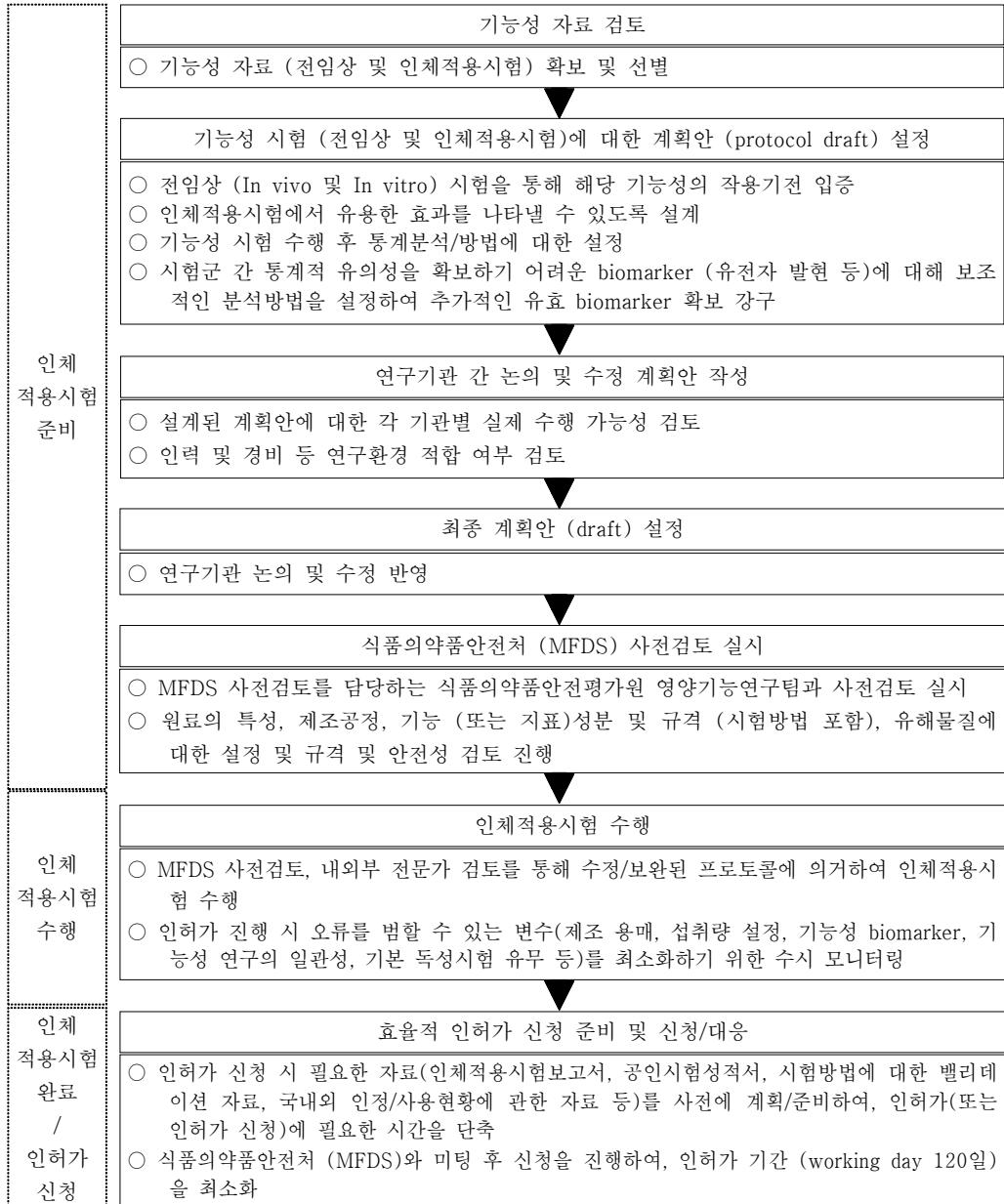
- ① 식품의약품안전처(MFDS) 사전 검토는 해당 업무를 담당하고 있는 “식품의약품안전평가원 영양기능연구팀”과 진행함
- ② 기능성 내용이 [“건강기능식품에 관한 법률” 제3조]에 부합됨과 타당성을 설명함
- ③ 상기 “1)”과 같이 설정된 기능성 시험 계획안(draft)에 대해 검토 되어야 함
- ④ 시험디자인, 시험모델, 측정 biomarker등에 대한 문제점 발생 시 내부 논의 후 반영하도록 하며, 추가적인 식품의약품안전처(MFDS) 사전 검토가 필요할 수도 있음
- ⑤ 기능성에 대한 자료 및 신청 시 제출자료에 대해서 논의하며, 문제점 및 필요사항에 대해서 수정/보완
- ⑥ 원료의 특성, 제조공정, 기능(또는 지표)성분 및 규격(시험방법 포함), 유해물질에 대한

설정 및 규격 및 안전성에 대한 부분도 면밀히 검토하여 식품의약품안전처(MFDS) 사전검토 시에 논의

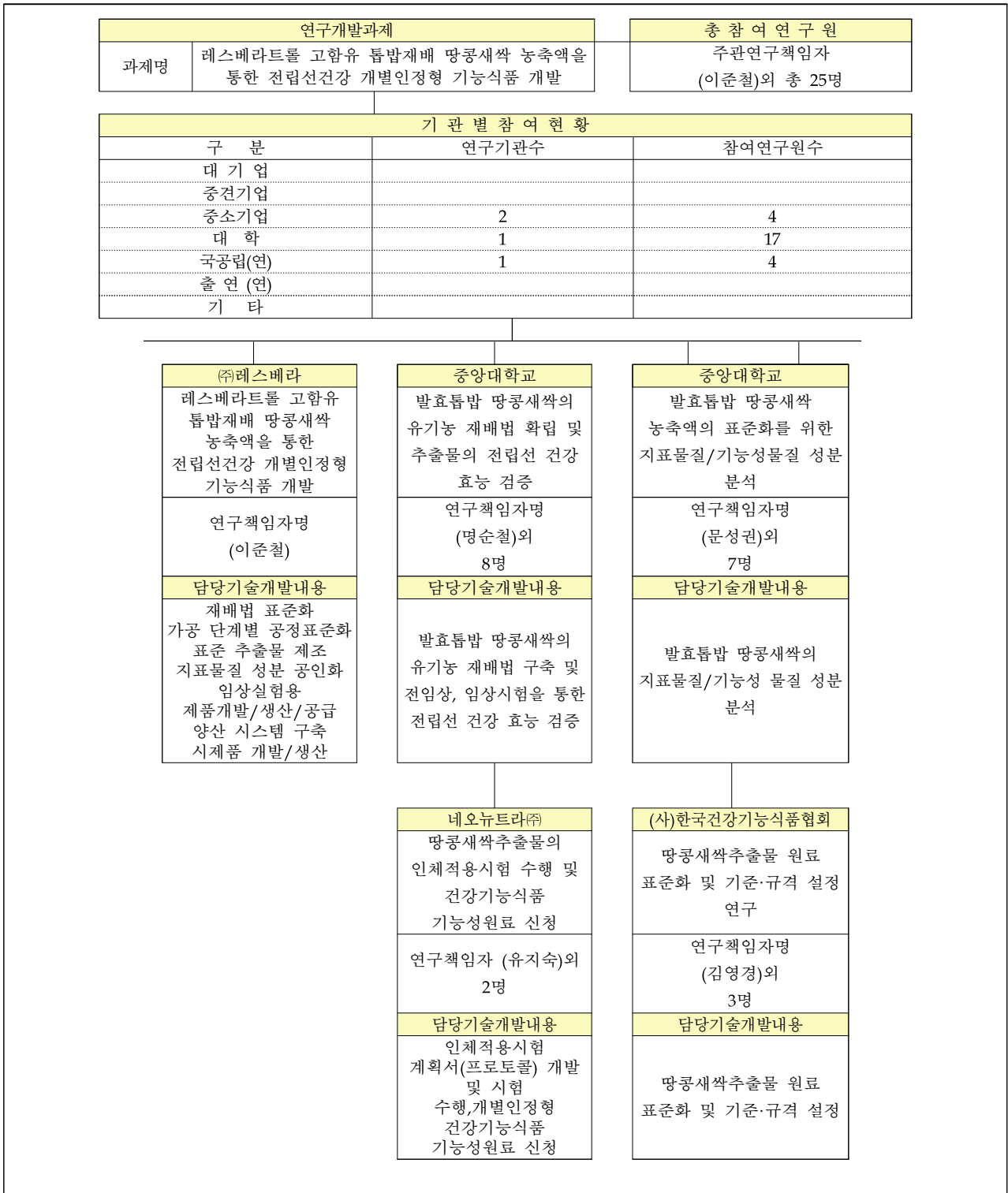
(다) 업무 추진 세부 전략

- ① 식품의약품안전처(MFDS) 사전검토, 내부검토 및 전문가 검토를 통해 수정/보완된 기능성 시험(전임상 및 인체적용시험) 최종 계획안(protocol)에 따른 시험을 수행함.
- ② 신청하고자 하는 원료의 제조기준(Lab scale 및 scale up) 및 규격 등을 가이드(guide) 하여, 연구의 질적 향상(연구의 속도, 효율성 및 다양성)을 증진시킬 수 있도록 함.
- ③ 인허가 진행 시 오류를 범할 수 있는 다양한 변수(제조 용매, 섭취량 설정, 기능성 biomarker, 기능성 연구의 일관성, 기본 독성시험 유무 등)를 최소화 하여, 경제적/효율적인 연구를 계획
- ④ 인허가 신청 시 필요한 자료(인체적용시험보고서, 공인시험성적서, 시험방법에 대한 벨리데이션 자료, 국내외 인정/사용현황에 관한 자료 등)를 사전에 계획/준비하여, 인허가 (또는 인허가 신청)에 필요한 시간을 단축
- ⑤ 인허가 신청 전에 신청 자료를 구비하여 식품의약품안전처(MFDS)와 미팅을 한 후 신청을 진행하여, 인허가 기간(working day 120일)을 최소화
- ⑥ 인허가 신청 후 식품의약품안전처(MFDS) 담당자와 주기적인 연락을 통해 진행 사항을 파악하고, 추가적인 자료가 필요할 경우 즉시 대응

<인체적용시험 시기에 따른 인허가 추진 흐름도>



2. 연구개발 추진체계



3. 추진 일정

1차년도																
일련 번호	연구내용	월별 추진 일정												연구 개발비 (단위: 천원)	책임자 (소속 기관)	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12			
1	툽밥재배 땅콩새싹 추출물의 공정 단계별 표준화														10,900 (현물40,000)	이준철 (주)레스베라
2	유기농업자재(국립 농산물품질관리원 인증) 처리에 따른 새싹의 생육 변화 규명														17,700	명순철 (중앙대학교)
3	실험실 기반 표준화 소재 활용 in vitro 효능 기전 연구														29,500	명순철 (중앙대학교)
4	실험실 기반 표준화 소재 활용 in vivo 효능 기전 연구 (예측기전 특이적 방법 선택)														41,300	명순철 (중앙대학교)
5	땅콩새싹추출물의 전립선상피세포 및 간질세포의 사멸에 대한 효과 관찰														23,600	문성권 (중앙대학교)
6	재배 조건을 달리한 땅콩새싹 추출물의 유효 성분 분석 및 표준화														23,600	문성권 (중앙대학교)
7	인체적용시험 계획서(프로토콜) 개발														25,400	유지숙 (비오뉴트라주)
8	기능성 원료의 표준화를 위한 최적분석법조건을 설정 교차검증														10,000	김영경 (사)한국건강 기능식품협회
2차년도																
1	툽밥재배 땅콩새싹 추출물의 유용물질 공인화 작업 및 기능성평가 추진														16,060 (현물60,000)	이준철 (주)레스베라
2	유기농업자재(국립 농산물품질관리원 인증) 처리에 따른 새싹의 생육 변화 규명														8,860	명순철 (중앙대학교)
3	표준화 소재 활용 in vitro 효능 기전 연구														26,580	명순철 (중앙대학교)
4	표준화 소재 활용 in vivo 효능 기전 연구 (식약처 인정 자료구축 활용)														35,440	명순철 (중앙대학교)
5	in vivo 효능 기전 연구 (표준화 소재 활용 최종 in vivo 효능 검증/기전 확립)														17,720	명순철 (중앙대학교)
6	인체 효능 및 안전성 평가														53,160	명순철 (중앙대학교)

2절 연구수행 결과

1. 주관, 협동, 위탁기관별 연구 결과

가. 주관연구기관 ((주)레스베라) :

- (1) 톱밥발효시간에 따른 수율 변화 체크하여 실제 재배법에 적용한 결과
 - (가) 45일-60일 발효톱밥의 경우 총수율 10% 이상 상승
 - (나) 환기시간에 따른 곰팡이 발생율을 비교 연구하여 1일 2시간 환기시스템을 1일 4시간으로 확대한 결과 곰팡이 발생율이 20% 이상 감소.
- (2) 톱밥재배땅콩새싹추출물의 레스베라트롤, 소야사포닌, 아스파라긴산, 엽산 등의 유용성분을 포도주, 홍삼, 콩나물, 브로콜리 등과 비교하여 공인성적서 발행
- (3) 톱밥재배땅콩새싹의 추출용매에 따른 레스베라트롤 및 유용성분 함량분석결과
 - (가) 주정을 용매로 사용한 경우가 일반 정제수만을 사용한 경우보다 레스베라트롤은 2배 이상, 기타 유용성분은 10%이상 함유된 결과를 바탕으로 기존 열수추출에서 주정추출로 추출방법 변경
- (4) 톱밥재배땅콩새싹추출물의 기본공정 확정
 - (가) 최종 농축과 SD 및 FD 분말의 테스트를 통하여 텍스트린 첨가하는 SD 공정으로 확정
- (5) 톱밥재배 환경에 추가로 레스베라트롤이 증가될 수 있는 공정을 추가하여 초고농도 레스베라트롤을 함유하는 땅콩새싹 재배 방법 개발 → 특허 출원
 - (가) 발명의 명칭 : 땅콩 나물 재배 방법
 - (나) 출원번호 : 10-2-2-0006549
 - (다) 출원일자 : 2020. 01. 17
 - (라) 출원인 : 농업회사법인 주식회사 레스베라
 - (마) 출원번호 통지서

출원번호통지서

출원일자 2020.01.17
특기사항 심사청구(유) 공개신청(무) 참조번호(2001)
출원번호 10-2020-0006549 (접수번호 1-1-2020-0056320-24)
출원인명칭 농업회사법인 주식회사 레스베라(1-2014-022176-3)
대리인성명 최달용(9-1998-000558-2)
발명자성명 김배환 한세환
발명의명칭 땅콩 나물 재배 방법

특 허 청 장

(바) 특허 출원용 표지 : 발명 지원 표시 부분

【이 발명을 지원한 국가연구개발사업】

【과제고유번호】 817021-03

【부처명】 농림축산식품부

【연구관리전문기관】 농림식품기술기획평가원

【연구사업명】 기술사업화지원사업

【연구과제명】 레스베라트롤 고품유 톱밥재배 땅콩새싹 추출물을 통한
전립선 건강 개별인정형 기능식품 개발

【기여율】 1/1

【주관기관】 농업회사법인 (주)레스베라

【연구기간】 2017.05.30 ~ 2019.12.31

(6) 톱밥재배땅콩새싹추출물의 지표물질 규격설정 (한국기능식품연구원)

(7) 기능성 인증을 위해서 GMP시설을 갖춘 에스엔디에서 땅콩새싹추출분말 원료 생산. 인체 적용시험용 제품 생산 (한국콜마비엔에이치)

(8) 톱밥재배땅콩새싹주정추출분말을 이용한 정제제품과 기능성소재와 콜라보레이션한 제품들을 개발하여 기능식품인증에 대비한 마켓테스트용 제품출시

(가) 레스베라미라클(파우더 스틱형 제품)

(나) 레스베라미라클진(츄어블 건강보조식품)

(다) 레스베라쏘팔메토전립과워(전립선건강기능식품)

(라) 레스베라해피큐(항산화,면역력,전립선 다기능 건강기능식품)

(마) 레스베라참싹도라지차

(9) 레스베라미라클 (파우더 스틱형 제품)



미라클은 땅콩새싹주정추출분말을 50% 함유한 2.5g 스틱분말형 제품으로 기존 농축엑스타일의 병제품을 분말형대로 전환하여 소비자가 소지하기가 쉽고 편리하게 복용할 수 있게 만든 제품

(10) 레스베라미라클진(츄어블 건강보조식품)



미라클진은 땅콩새싹주정출출분말을 활용한 주아블 제품으로 땅콩새싹이 함유된 최초의 정제형 제품으로 2018년 11월 현재 카자흐스탄 수출이 확정되어 카자흐스탄에 제품등록이 진행되고 있고 2018년 레스베라 제품 중에 매출 신장율 1위에 해당하는 제품으로 향후 레스베라의 제품제형의 지향점을 제시한 제품

(11) 레스베라쏘팔메토전립파워(전립선건강기능식품)



레스베라 전립파워는 톱밥재배 땅콩새싹의 in-vitro, in-vivo 실험결과를 바탕으로 개별인정형 기능식품원료 인증 전에 기존 고시형 기능성원료인 쏘팔메토를 주원료로 하되 땅콩새싹의 함량을 최대한으로 하여 개발한 전립선건강기능식품으로 땅콩새싹의 효과를 간접적으로 평가할 수 있는 기회를 가질 수 있는 제품. 그동안 땅콩새싹으로는 건강과 관련된 어떠한 홍보도 할 수 없었던 것에 비하여 전립선 카테고리 속에 땅콩새싹을 런칭시키는 매우 큰 역할을 하는 제품

(12) 레스베라해피큐(항산화, 면역력, 전립선 다기능 건강기능식품)



레스베라 해피큐는 항산화, 면역력, 전립선의 3중기능성 건강기능식품으로 땅콩새싹이 추구하는 멀티기능성을 가진 건강식품의 지향점을 제시하는 제품. 2차년도 연구를 통해 기존 액상 형태의 제품구조에서 정제형태의 제품구조로 전환하여 제품의 부가가치를 확대할 수 있는 향후 레스베라의 사업추진 방향성을 찾을 수 있는 매우 유익한 기회였음.

(13) 레스베라참씩도라지차



레스베라 참씩도라지차는 침출차로서 땅콩새싹과 도라지를 콜라보, 로스팅하여 맛과 향이 좋은 건강 차로 개발한 것인데, 땅콩새싹의 건강상의 효익 외에 최근 건강상 큰 이슈가 되고 있는 미세먼지에 의한 인후 건강을 고려한 다기능 음료

나. 제1협동연구기관 (중앙대학교 명순철 교수팀) :

(1) 땅콩새싹주정추출물의 전립선비대증 예방에 관한 in vitro 효능검증

(가) 땅콩새싹주정추출물의 세포증식의 효과 (MTT assay)

- ① 여러 전립선 정상/암 세포주들을 배양하여서 실험에 사용하였음. 전립선 세포주 (정상)- HPEpiC, RWPE-1, WPMY-1 와 전립선 암세포주- LNCaP, PC-3를 5x10³ cells/96well plate에 seed하여서 12, 24, 48, 72시간동안 땅콩새싹주정추출물을 0, 1, 2, 5, 10, 25 ug/ml 농도로 처리하여서 MTT를 시행하였음. (그림24-28)
- ② 전립선 세포주에서는 땅콩새싹주정추출물에 의한 세포증식의 효과가 거의 없음을 확인하였음. (그림24-26)
- ③ 전립선 암세포주에서는 땅콩새싹주정추출물에 의한 세포증식의 효과가 감소함을 확인하였음. 따라서 땅콩새싹 주정추출물은 암세포의 증식을 억제할 수 있는 가능성을 보여준 결과임. (그림27-28)

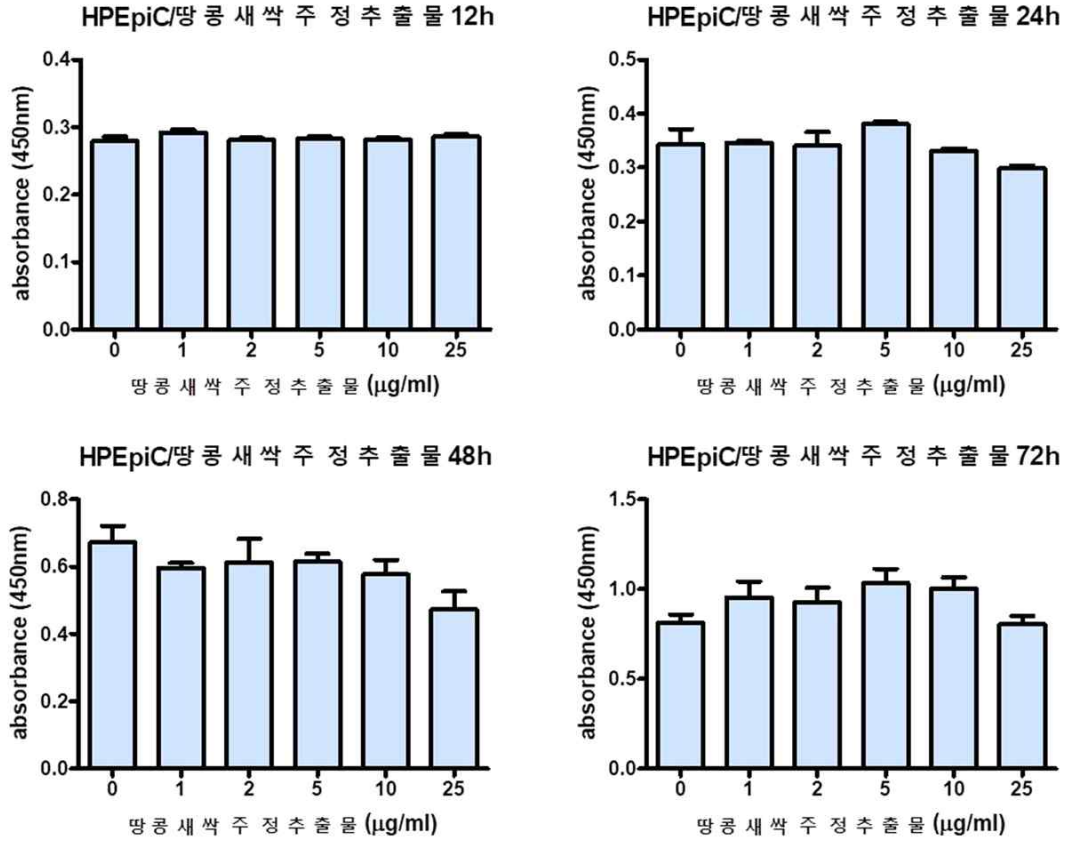


그림 24. HPEpiC 세포에서의 땅콩새싹주정추출물에 의한 세포증식 관찰.

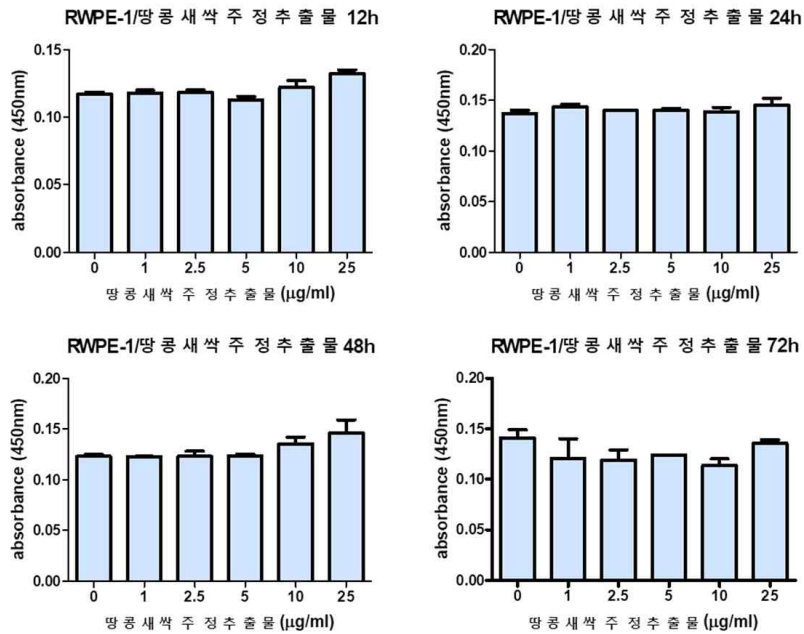


그림 25. RWPE-1 세포에서의 땅콩새싹주정추출물에 의한 세포증식 관찰.

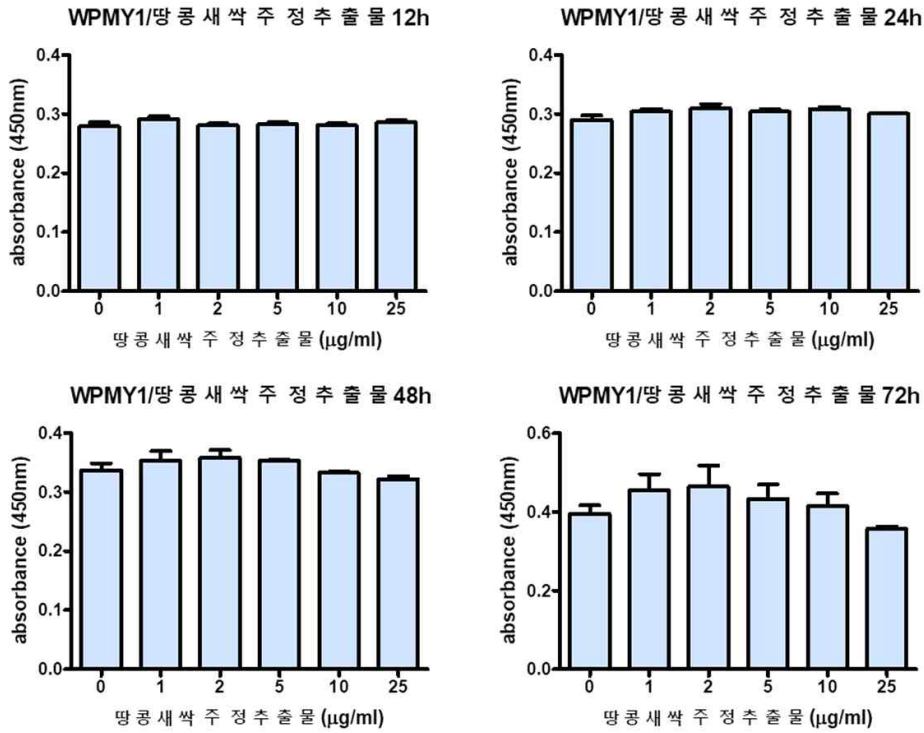


그림 26. WPMY-1 세포에서의 땅콩새싹주정추출물에 의한 세포증식 관찰.

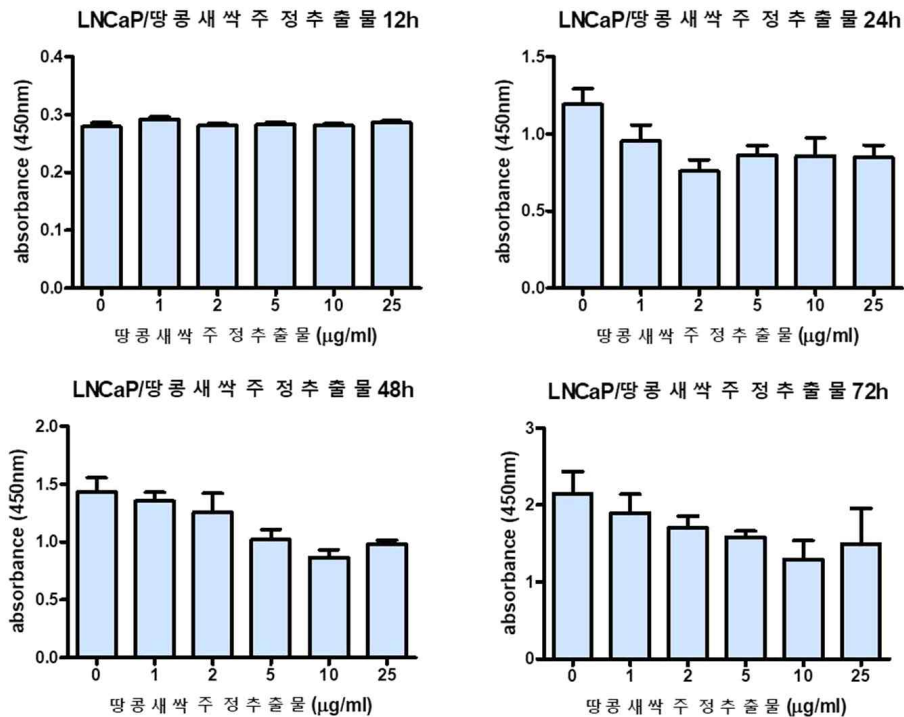


그림 27. LNCaP세포 (전립선 암세포주) 에서의 땅콩새싹주정추출물에 의한 세포증식의 억제 효과.

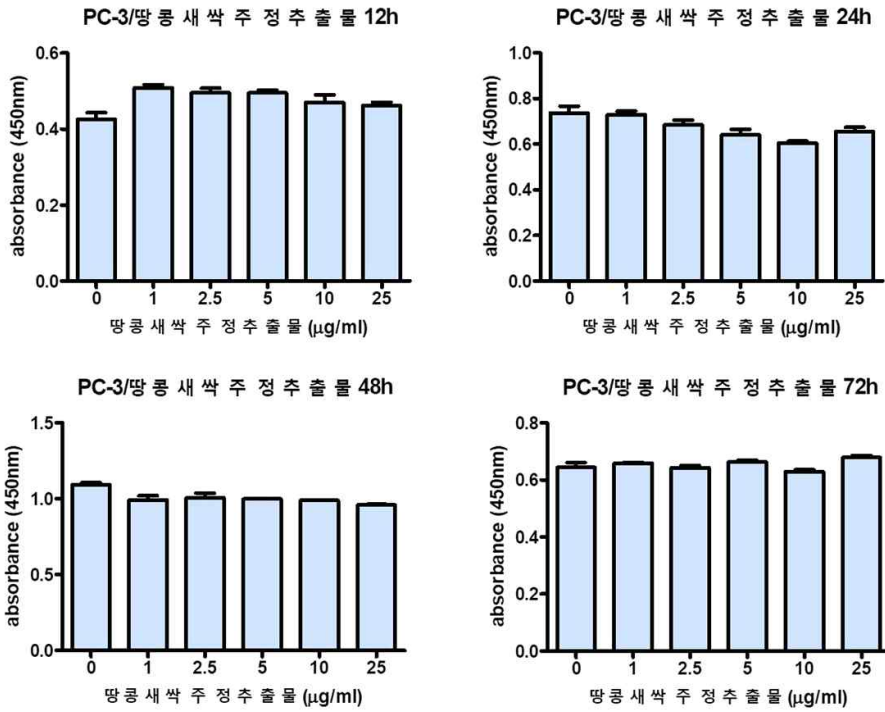


그림 28. PC-3세포 (전립선 암세포주) 에서의 땅콩새싹주정추출물에 의한 세포증식의 억제효과.

(나) 땅콩새싹주정추출물에 의한 DEFB1의 mRNA 발현 양상

① 전립선 세포주 RWPE-1에서 땅콩새싹주정추출물 0, 1, 2.5, 5, 10 ug/ml 농도로 24시간 처리하여서 total RNA를 추출한 후, cDNA를 제작하여서 qRT-PCR을 실시하였음. 이때, housekeeping gene은 18s rRNA로 정량화 했으며, 사람의 항(균)생 펩티드의 한 종류인 DEFB1의 mRNA수준을 확인하였음. 땅콩주정추출물 5ug/ml을 처리한 군에서 약 35배정도 DEFB1의 발현양이 현저하게 증가함을 확인하였음. 이 결과는 땅콩새싹주정추출물에 의한 항(균)생 효과의 가능성을 보여주었음. (그림29)

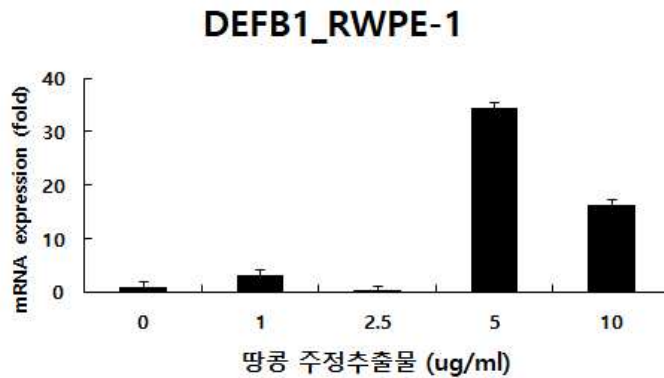


그림 29. RWPE-1세포에서의 땅콩새싹주정추출물에 의한 항(균)생 펩티드, DEFB1 mRNA발현 양상.

(다) 땅콩새싹주정추출물에 의한 DEFB1의 단백질 발현 양상

① 전립선 세포주 RWPE-1에서 땅콩새싹주정추출물 0, 5ug/ml 농도로 24시간 처리하여서 세포를 4% PFA로 고정시킨 후, DEFB1 antibody를 처리하고, 형광을 띠는 2차 antibody (녹색 형광)를 반응시켰음. 세포의 핵은 PI로 염색 (빨강 형광)하였음. 그런 후, 공초점주사형광현미경 (confocal microscopy)을 통해서 항(균)생 펩티드, DEFB1의 단백질 발현 양상을 확인하였음. 그 결과 땅콩새싹주정추출물 5ug/ml 농도 처리군에서 대조군에 비해서 DEFB1의 발현이 증가함을 확인하였음. (그림 30)

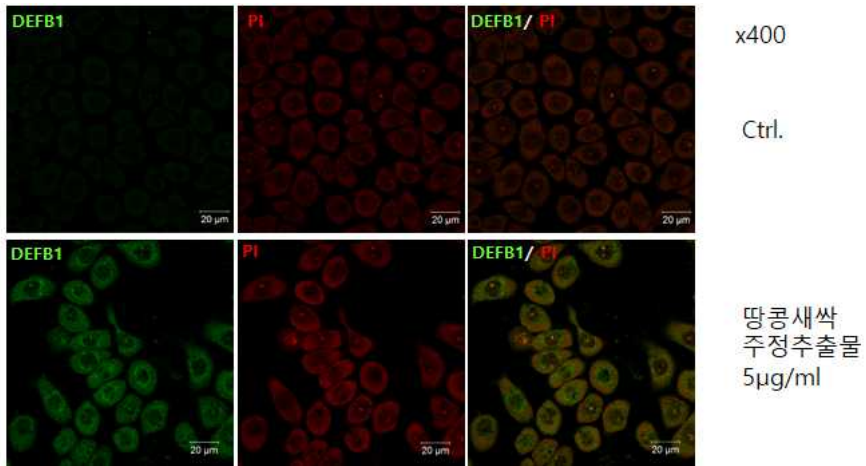


그림 30. RWPE-1세포에서의 땅콩새싹주정추출물에 의한 항(균)생 펩티드, DEFB1 단백질 발현 양상.

(2) 유기농 참나무 발효톱밥을 이용한 땅콩의 파종방향에 따른 새싹 발아율과 뿌리 성장률 비교

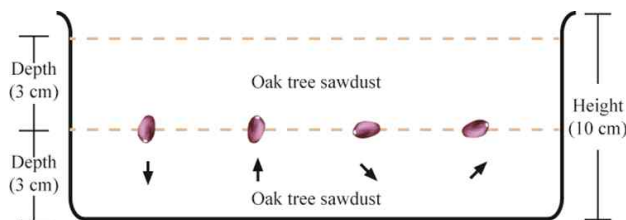


그림 31. 유기농 참나무 발효톱밥 트레이(50 × 30 × 10 cm)에 땅콩을 파종하여 씨눈의 파종방향에 따른 발아율 및 뿌리 성장률을 확인하였음.

(가) 각각의 땅콩의 파종방향에 따른 새싹 발아율 비교 확인 (그림 32)

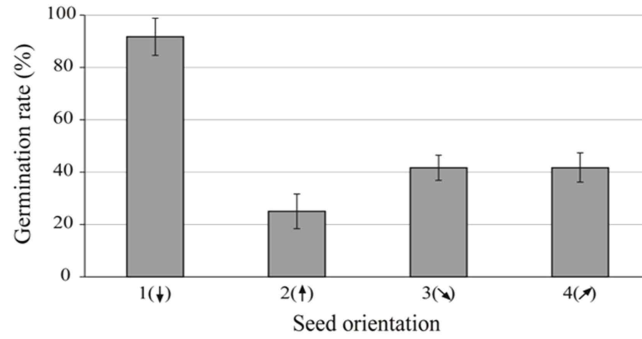


그림 32. 과중방향에 따른 땅콩새싹의 발아율 확인결과. 1번 (씨눈방향 아래)은 발아율이 91.7%로 가장 높았으며, 땅콩 과중시에 씨눈의 방향을 아래로 하여 과중할 때 새싹의 발아율을 증가시킴을 확인함.

(나) 땅콩의 과중방향에 따른 새싹무게 비교 확인 (그림 33)

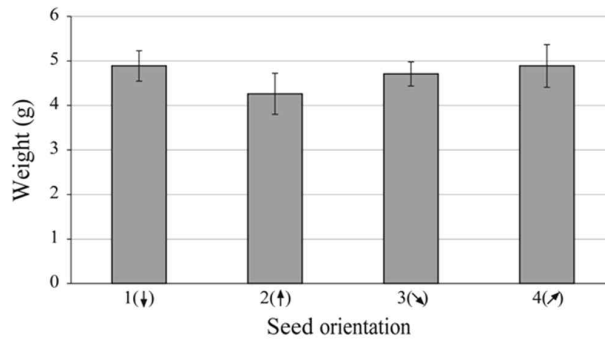


그림 33. 과중방향에 따른 땅콩새싹의 새싹무게 확인결과. 뿌리 성장률은 과중방향에 따라 큰 차이가 없지만, 새싹 발아율이 가장 낮았던 2번 (씨눈 방향 위)이 미세하게 뿌리생장률이 저조한 것을 확인하였음.

(다) 땅콩의 과중방향에 따른 땅콩새싹의 각 부위별 길이 비교 (그림 34)

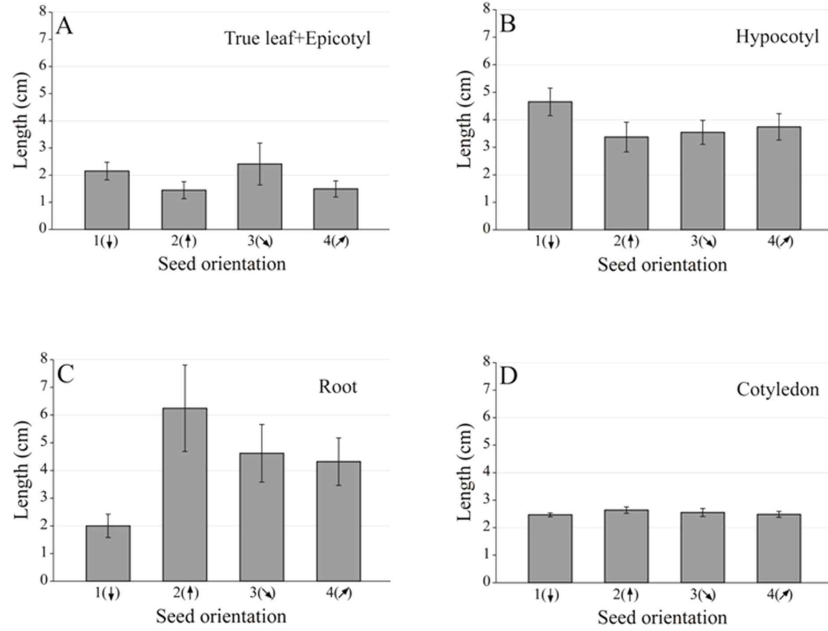


그림 34. 파종방향에 따른 땅콩새싹의 각 부위별 성장률 비교 확인결과. 참나무 발효톱밥에서 얻은 땅콩새싹의 A: 본엽(true leaf)+상배축(epicotyl), B: 배축(hypocotyl), C:뿌리(root) 및 D: 자엽(cotyledon)의 길이를 비교하였음. 본엽과 상배축은 씨눈 방향이 아래인 1, 3번의 생장이 좋았음. 배축은 씨눈 방향이 아래인 1번의 생장이 좋았으며, 뿌리는 씨눈 방향이 위쪽인 2번의 생장이 좋았음. 자엽의 경우 대체로 비슷한 양상을 보였는데, 이는 본 실험에 사용된 땅콩의 크기가 서로 일정함을 의미함.

(라) 땅콩의 파종방향에 따른 땅콩새싹의 상부성장률(vigour index) 확인 (그림 35)

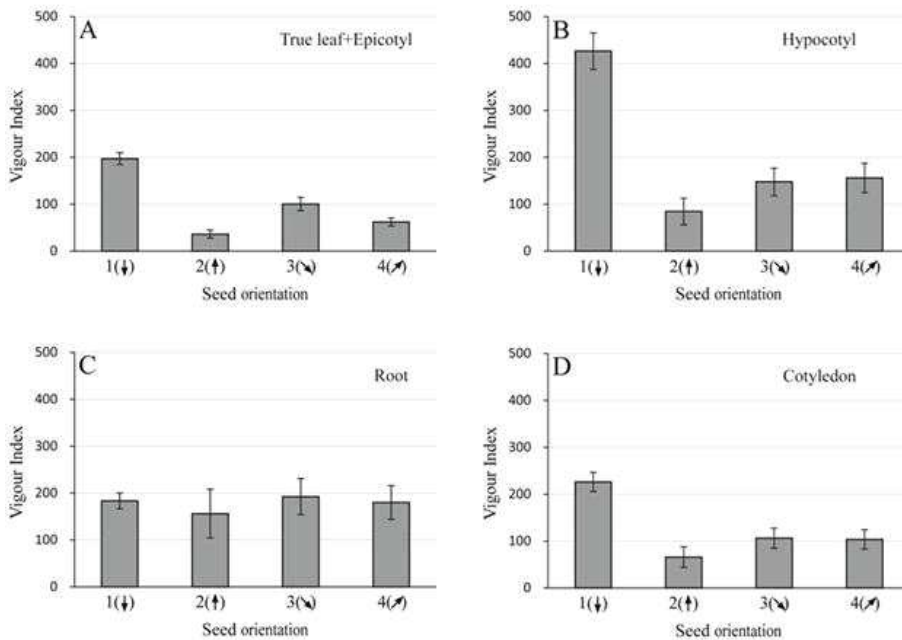


그림 35. 땅콩의 파종방향에 따른 땅콩새싹의 상부성장률 비교 확인. 상부성장률은 [길이(cm)×발아율(%)]로 계산하였음. 대체적으로 씨눈 방향이 아래인 1번의 상부성장률이 높은 경향을 보였음.

(마) 땅콩의 과종방향에 따른 땅콩새싹의 외형 비교 (그림 36)

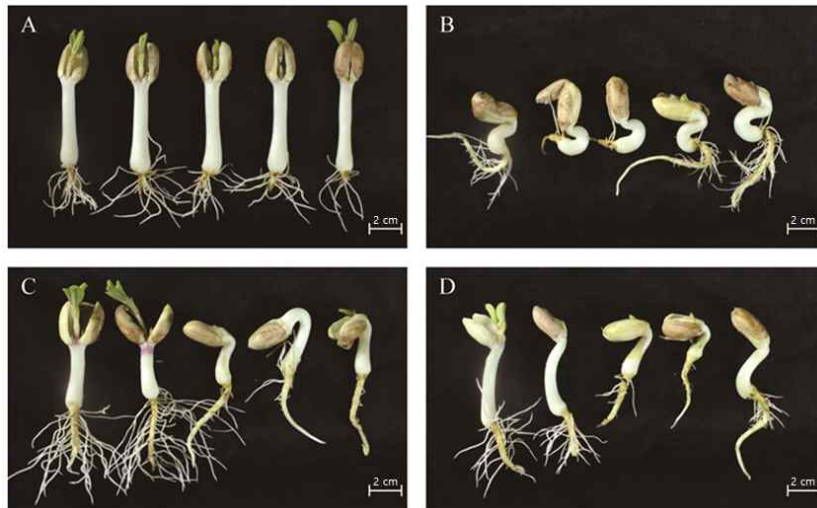


그림 36. 땅콩의 과종방향에 따른 땅콩새싹의 외형 비교. A. 씨눈방향 아래, B. 씨눈방향 위, C. 씨눈방향 우하, D. 씨눈방향 좌상. 씨눈 방향을 아래로 하여 과종한 땅콩에서 가장 양호한 땅콩새싹이 형성되었음을 확인함.

(3) 유기농 참나무 톱밥의 발효기간에 따른 땅콩새싹의 발아율과 생장률 비교

(가) 톱밥의 발효기간에 따른 땅콩새싹 발아율 비교

① 각 톱밥의 발효기간은 미발효, 30일, 45일, 60일 총 네 가지 조건임. 톱밥 발효기간에 따른 땅콩 종자 과종 디자인은 아래와 같음. (그림 37)

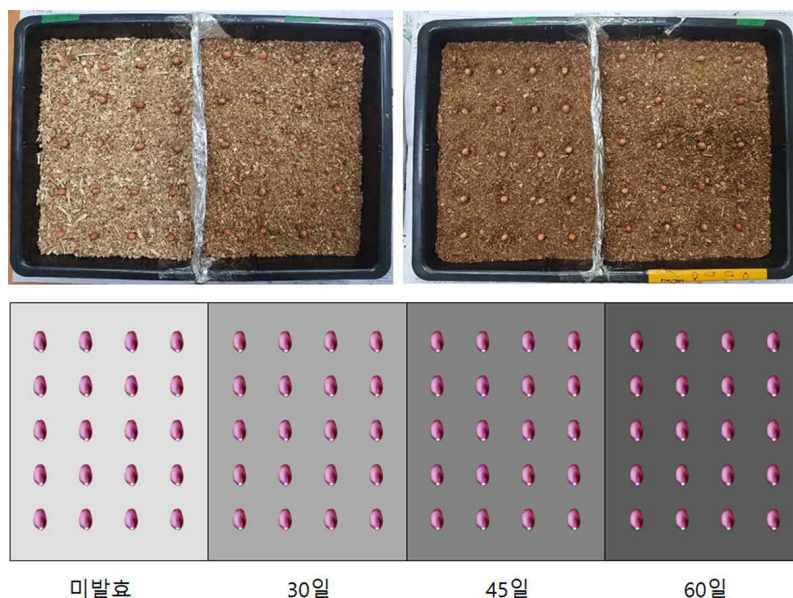


그림 37. 톱밥 발효기간에 따른 땅콩 종자 과종 디자인. 서로 다른 발효기간의 톱밥 트레이(50 × 30 × 10 cm)를 준비하여 땅콩을 과종하였음. 각각의 횡 방향마다 5개씩, 총 20개의

중자를 과중하였음.

(나) 참나무 톱밥의 발효기간에 따른 땅콩새싹의 발아율 비교 (그림 38)

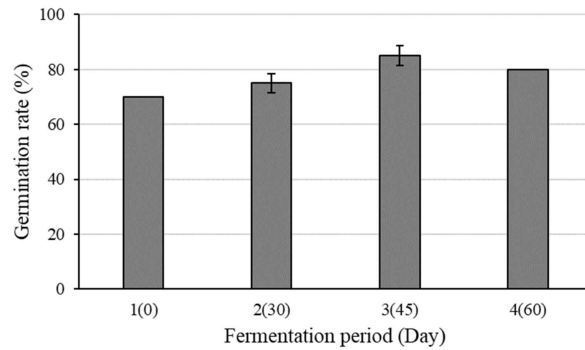


그림 38. 참나무 톱밥의 발효기간에 따른 땅콩새싹의 발아율 확인결과. 대체로 발효기간에 따른 뿌리 성장률의 큰 차이점을 보이지 않았음.

(다) 참나무 톱밥의 발효기간에 따른 땅콩새싹의 총량 무게 비교 (그림 39)

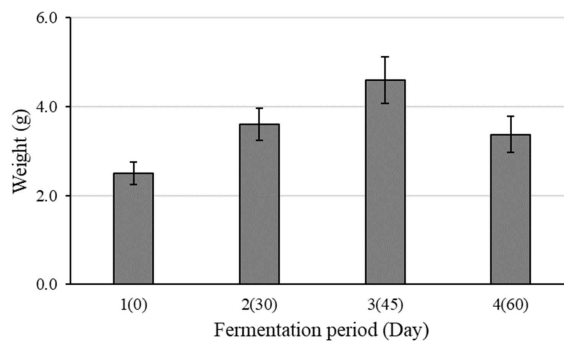


그림 39. 참나무 톱밥의 발효기간에 따른 땅콩새싹의 총량 무게를 확인하였음. 45일간 발효된 참나무 톱밥의 땅콩새싹이 4.6 g으로 가장 높은 중량을 보였음. 그러나 발효시키지 않은 톱밥의 땅콩새싹은 2.5g으로 가장 낮은 중량을 보였음.

(라) 참나무 톱밥의 발효기간에 따른 땅콩새싹의 각 부위별 길이 비교 (그림 40)

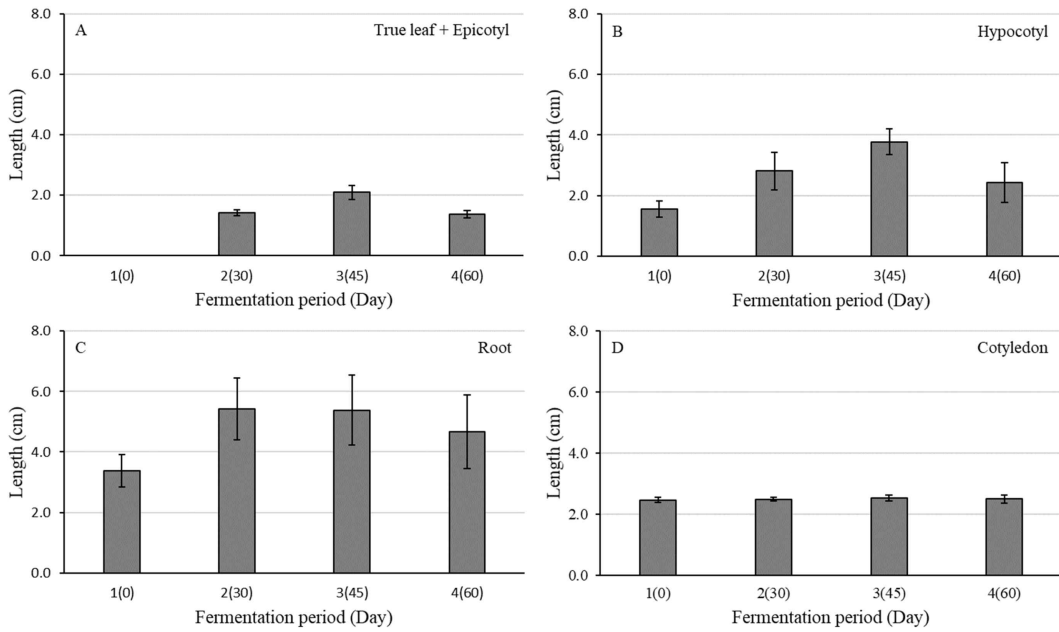


그림 40. 참나무 톱밥의 발효기간에 따른 땅콩새싹의 각 부위별 성장률 비교 확인. 각각 달리 발효시킨 참나무 발효톱밥에서 얻은 땅콩새싹의 A: 본엽(true leaf)+상배축(epicotyl), B: 배축(hypocotyl), C:뿌리(root) 및 D: 자엽(cotyledon)의 길이를 비교하였음. 본엽과 상배축, 배축은 45일 발효톱밥에서 생장이 좋았음. 뿌리는 30일, 45일 발효톱밥에서 생장이 좋았음. 자엽의 경우 대체로 비슷한 양상을 보였는데, 이는 본 실험에 사용된 땅콩의 크기가 서로 일정함을 의미함.

(마) 참나무 톱밥의 발효기간에 따른 땅콩새싹의 상부성장률(vigour index) 비교 (그림 41)

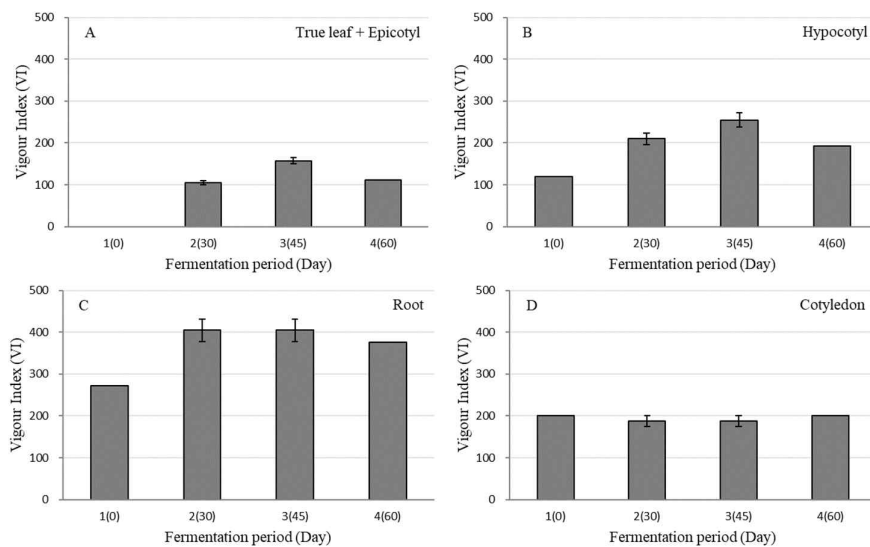


그림 41. 참나무 톱밥의 발효기간에 따른 땅콩새싹의 상부성장률 비교 확인. 상부성장률은 [길이(cm)×발아율(%)]로 계산하였음. 대체적으로 각 부위별 성장률과 비슷한 양상을 보였음.

(바) 참나무 톱밥의 발효기간에 따른 땅콩새싹의 형태 비교 (그림 42)

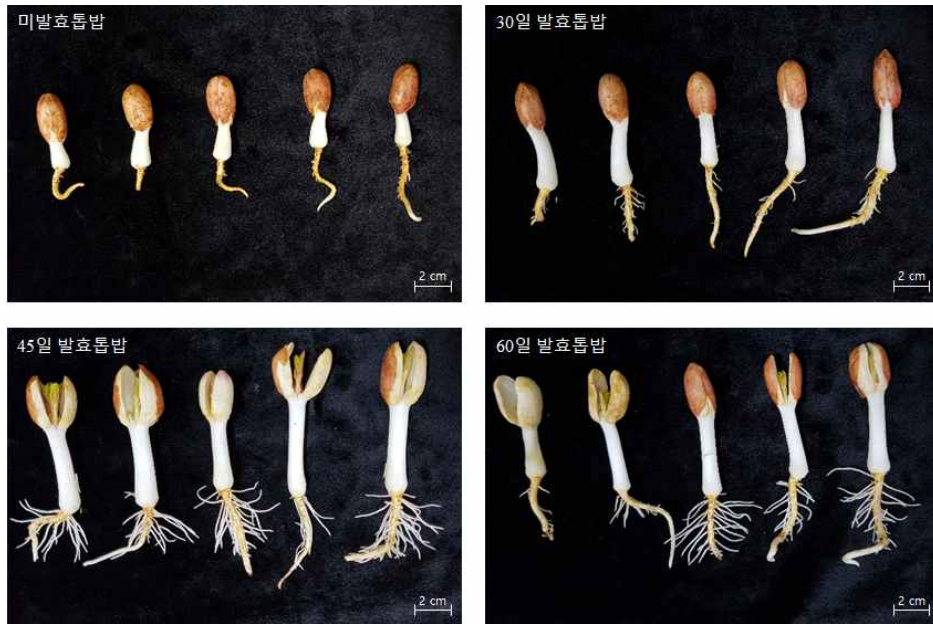


그림 42. 참나무 톱밥의 발효기간에 따른 땅콩새싹의 외형비교. 미발효톱밥과 30일 발효톱밥에서는 본잎을 관찰할 수 없었으며, 비교적 덜 자란 형태를 보였음. 45일 발효톱밥과 60일 발효톱밥에서는 정상적인 성장을 보였음.

(4) 유기농 참나무 톱밥의 발효기간에 따른 미생물 (박테리아) 분포 확인 (그림 43, 44)

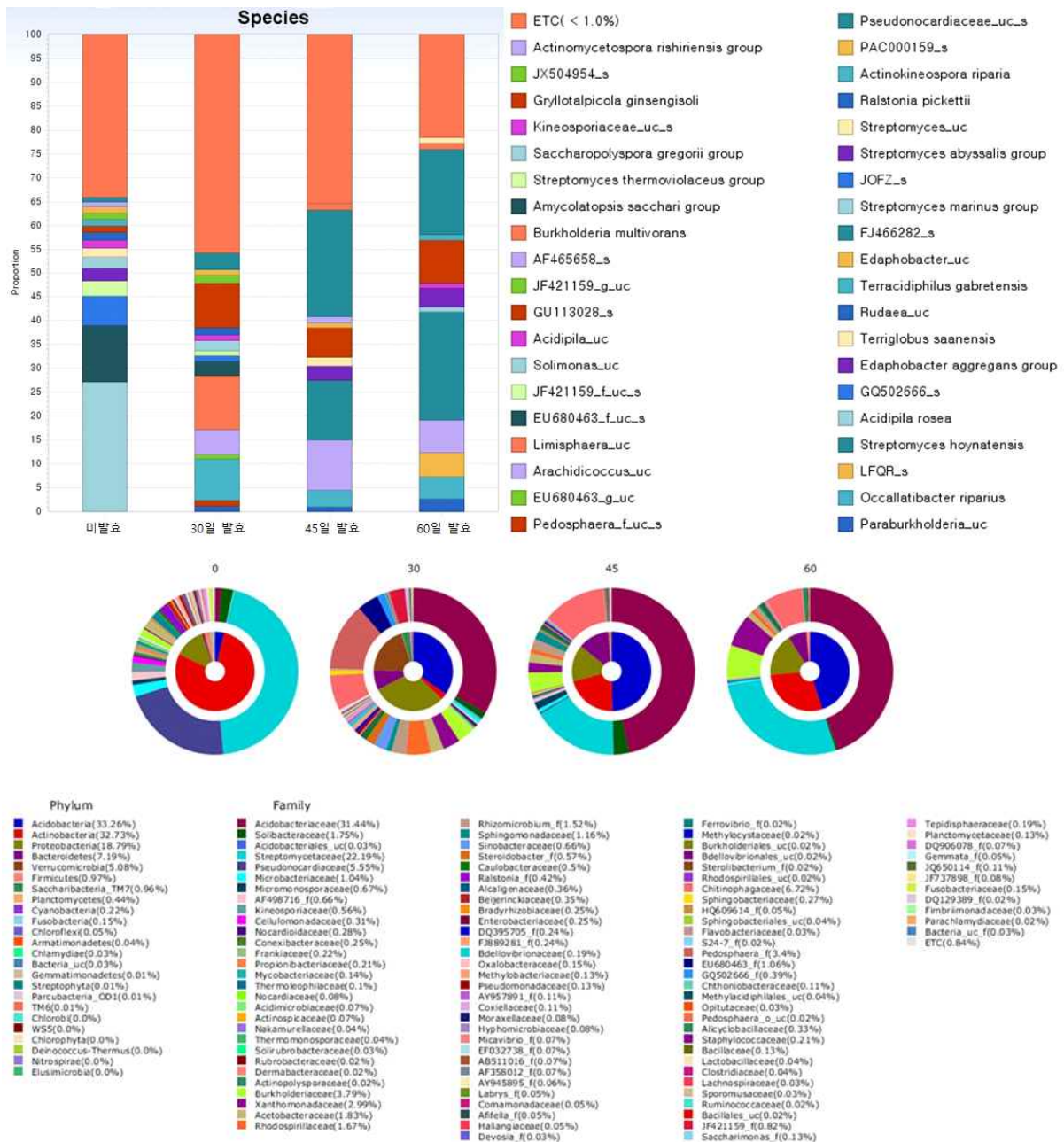


그림 43. 참나무 톱밥의 발효기간에 따른 박테리아 분포도. 분류구성을 통해 문(phylum)에서 종(species)까지 분류계급 별로 박테리아의 분포를 확인하였음. 미발효일 때 존재하던 Chlorophyte, Trebouxiophyceae, Coccomyxa, Streptophyta, Eudicotyledon, Core eudicotyledon, Cucurbitaceae, Cucumis, Cucumis sativus, Euphorbiaceae 등 13종이 발효된 톱밥에서는 검출되지 않았으며, FJ466282_s, GU113028_s, Occallatibacter riparius, Arachidicoccus_uc, Streptomyces hoynatensis 등이 발효된 톱밥에서만 검출되었음.

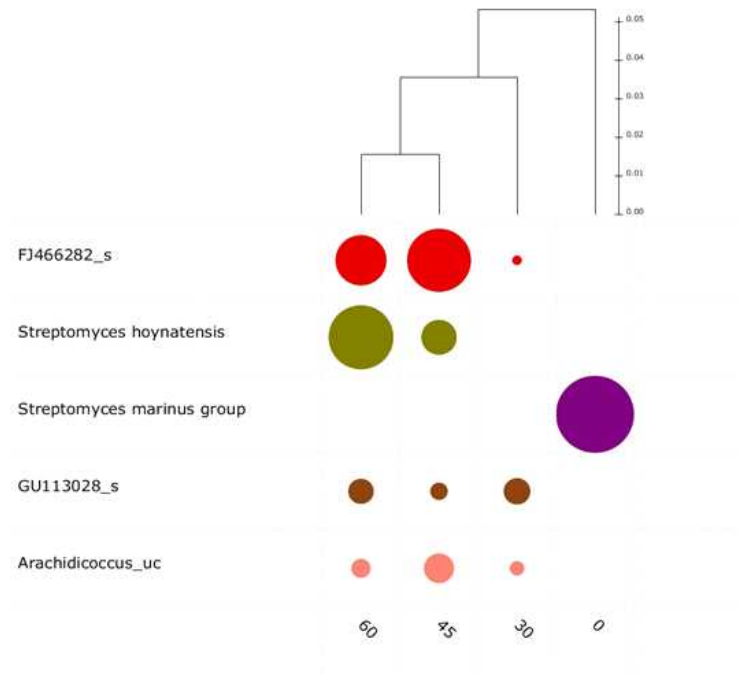


그림 44. 참나무 톱밥의 발효기간에 따른 박테리아 분포 (히트 맵) 모식도. 각 톱밥들에 공통적으로 분포하고있는 박테리아의 계통 종류와 분포 정도를 원형 차트로 표현한 결과임. 각각의 톱밥에 5%이상 공통되는 박테리아를 확인한 결과 5종의 박테리아가 공통적으로 분포하고 있음. 미발효 톱밥에는 Streptomyces marinus group의 박테리아가 대체적으로 많음을 확인하였고, 발효 후 45일 뒤에는 FJ466282_s, 60일 뒤에는 Streptomyces hoynatensis가 대체적으로 많이 분포하고 있음을 확인하였음. GU113028_s와 Arachidicoccus_uc는 대부분의 톱밥들에서 거의 비슷한 분포 정도를 보였음. 계통상으로는 45일과 60일이 가장 가까웠으며 이후, 30일과 미발효의 순서였음.

(5) 전립선 세포의 IL-6에 의한 증식에 발효톱밥 재배 땅콩새싹 추출물이 미치는 영향

(가) 연구 방법

- ① RWPE-1과 WPMY1 세포를 5x10³/well로 각각 seeding하고 IL-6 재조합 단백질을 WPMY-1 은 72시간, RWPE-1은 120시간 처리하여 세포의 증식 효과를 확인함.
- ② RWPE-1과 WPMY1 세포를 5x10³/well로 각각 seeding하고 24시간 후에 IL-6 재조합 단백질을 처리한다. WPMY1 세포에 IL-6를 2.5% FBS가 들어있는 배양액에 섞어서 처리하고 36시간 뒤 발효톱밥 재배 땅콩새싹 주정추출물을 농도별로 처리한 후에 CCK-8 assay kit을 사용하여 세포 증식을 확인함. RWPE-1 세포에 IL-6를 성장인자가 들어가지 않은 배양액에 섞어서 처리하며 72시간 후 동일한 조건의 IL-6를 포함한 성장인자가 들어가지 않은 배양액으로 갈아줌. 12시간 후에 발효톱밥 재배 땅콩새싹 주정추출물을 농도별로 처리하고 36시간 뒤 CCK-8 assay kit을 사용하여 세포 증식을 확인함.

(나) 결과

- ① WPMY1세포와 RWPE-1 세포에서 만성 염증 기전에서 대표적인 cytokine인 IL-6에 의하여 세포 증식이 유도되는 농도는 4-8ng/ml로 확인되었음. (그림 45) 각각의 세포에 IL-6를 6ng/ml로 처리하여 세포증식을 유발한 후 발효톱밥 재배 땅콩새싹 주정추출물을 농도별로 처리하면 RWPE-1에서는 20ug/ml에서 세포 증식이 유의적으로 감소되는 것을 확인하였고, WPMY1에서는 10ig/ml 농도와 100ig/ml 농도에서 유의적으로 감소되는 것이 확인되었음.(그림 46, 47)

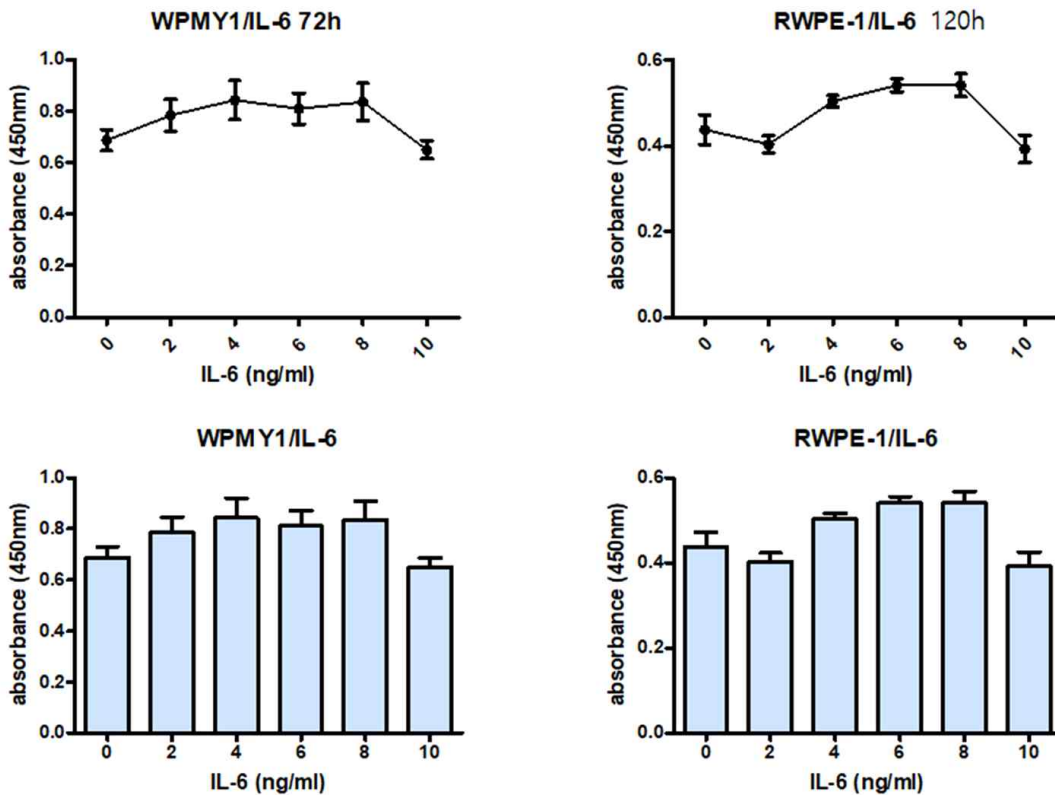


그림 45. IL-6 농도 의존적 처리로 전립선 간질세포 WPMY-1과 전립선선세포 RWPE-1의 증식이 증가함

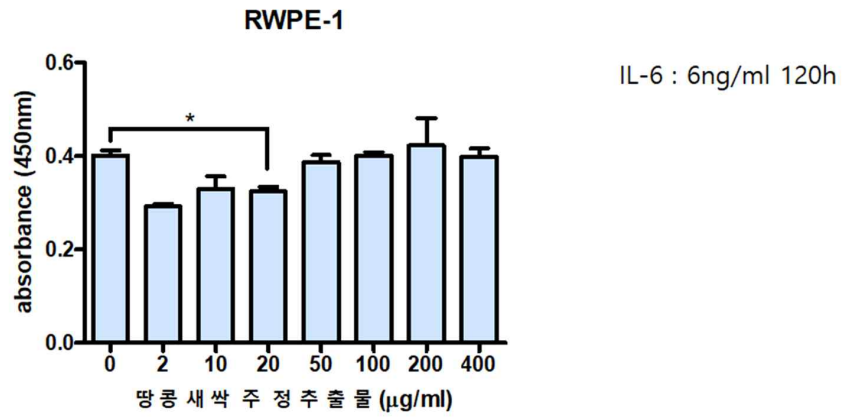


그림 46. IL-6 농도 6 ng/ml 처리로 증강된 RWPE-1세포의 증식이 추출물 2-20 ug/ml 구간에서 억제됨.

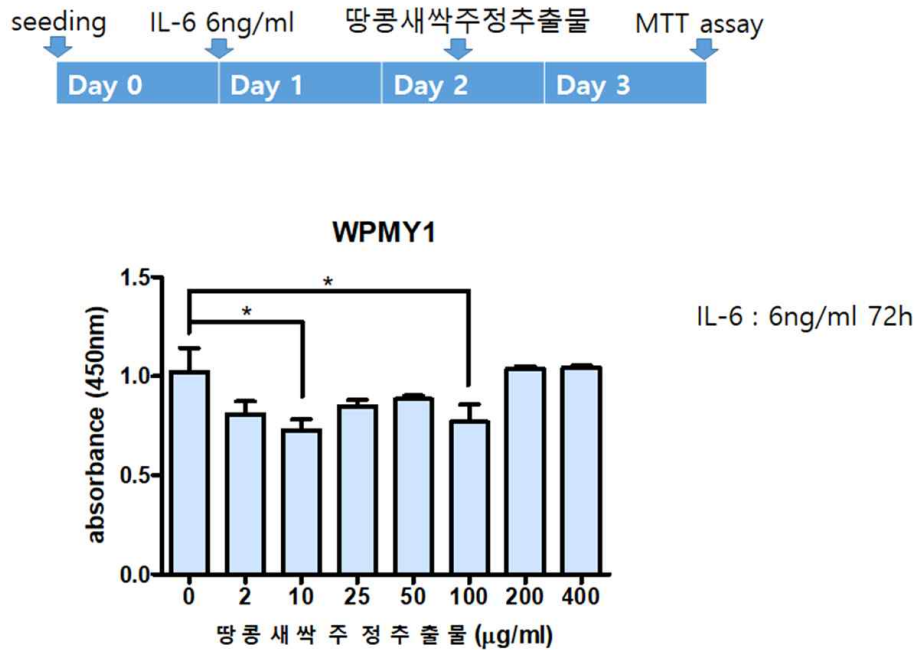


그림 47. IL-6 농도 6 ng/ml 처리로 증강된 RWPE-1세포의 증식이 추출물 2-100 ug/ml 구간

에서 억제됨

(6) 전립선 세포의 IL-6에 의한 EMT에 발효톱밥 재배 땅콩새싹 추출물이 미치는 영향

(가) 연구방법

① RWPE-1 세포를 성장인자가 들어가지 않은 배양액에 IL-6 재조합단백질 50ng/ml을 넣어 처리하고, 72시간 뒤에 성장인자가 들어가지 않은 배양액에 IL-6 재조합단백질 50ng/ml과 발효톱밥 재배 땅콩새싹 주정추출물 25ig/ml, 100ig/ml, 400ig/ml의 농도로 섞어 48시간 처리한다. 처리한 RWPE-1세포는 RNA를 추출하여 실시간 중합효소연쇄반응으로 암 전이를 억제하는 E-cadherin 유전자와 암을 유발시키는 EMT 마커인 Vimentin 유전자를 확인하였음. 사용된 프라이머는 E-cadherin F: 5'-CGACCCAACCCAAGAATCTA-3'와 E-cadherin R: 5'-AGGCTGTGCCTTCCTACAGA-3', Vimentin F: 5'-GAGAAC TTTGCCGTTGAAGC-3', Vimentin R: 5'-TCCAGCAGCTTCCTGTAGGT-3', β -Actin F: 5'-GGACTTCGAGCAAGAGATGG-3' , β -Actin R: 5'-AGCACTGTGTTGGCGTACAG-3' 이다. 또한 Western blot으로 E-cadherin (CST, 14472) 단백질과 Vimentin (CST, 5741)단백질, β -actin (Santa cruz, sc-47778) 단백질 양상을 확인하였음.

(나) 연구 결과

① 만성 염증 기전에서 대표적인 pro-inflammatory cytokine인 IL-6에 의하여 EMT를 유도하면 상피세포 특성을 반영하는 E-cadherin 유전자가 감소하며, 감소된 E-cadherin 유전자는 발효톱밥 재배 땅콩새싹 주정추출물의 처리된 농도 의존적으로 회복되는 것을 확인하였다. 그리고 IL-6에 의하여 증가된 EMT 간질세포 마커인 Vimentin 유전자는 발효톱밥 재배 땅콩새싹 주정추출물의 처리된 농도 의존적으로 감소되는 것을 실시간 중합효소연쇄반응 (real-time PCR)으로 mRNA 발현 양상을 확인하였음.(그림 48) 또한 단백질 발현 양상도 mRNA 양상과 유사하게 IL-6에 의하여 E-cadherin 단백질이 감소하였다가 발효톱밥 재배 땅콩새싹 주정추출물의 처리에 의하여 회복되고, 증가된 Vimentin 단백질은 발효톱밥 재배 땅콩새싹 주정추출물의 처리에 의하여 감소되는 것을 Western blot으로 확인하였음.(그림 49)

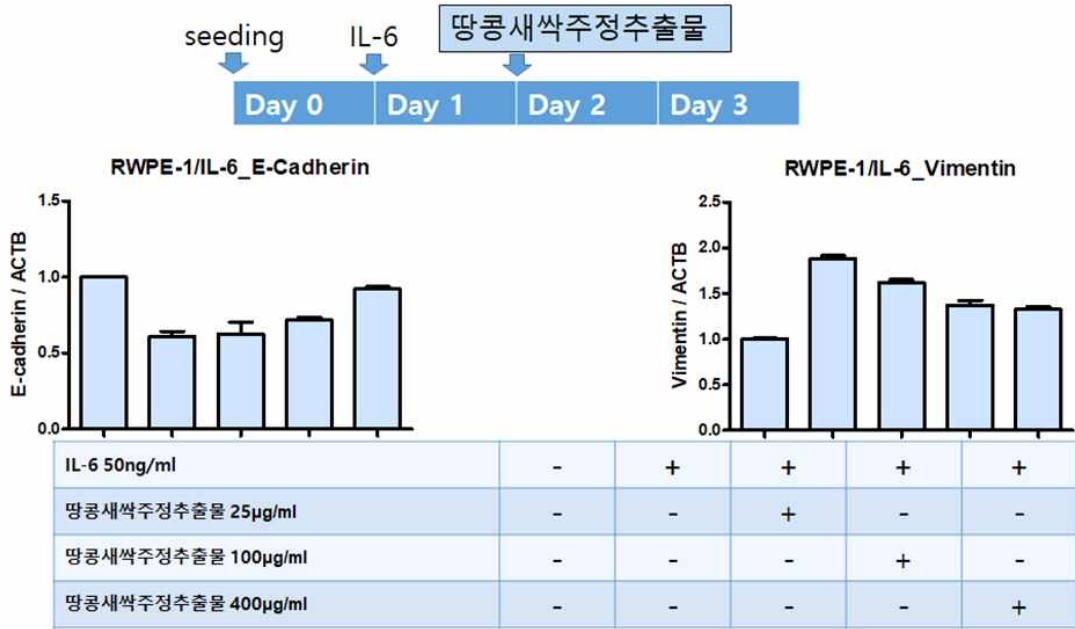


그림 48. RWPE-1세포에서 IL-6처리로 감소한 cadherin이 추출물 처리로 mRNA발현이 증가하고 IL-6처리로 증가한 vimentin이 추출물 처리로 mRNA발현이 감소함.

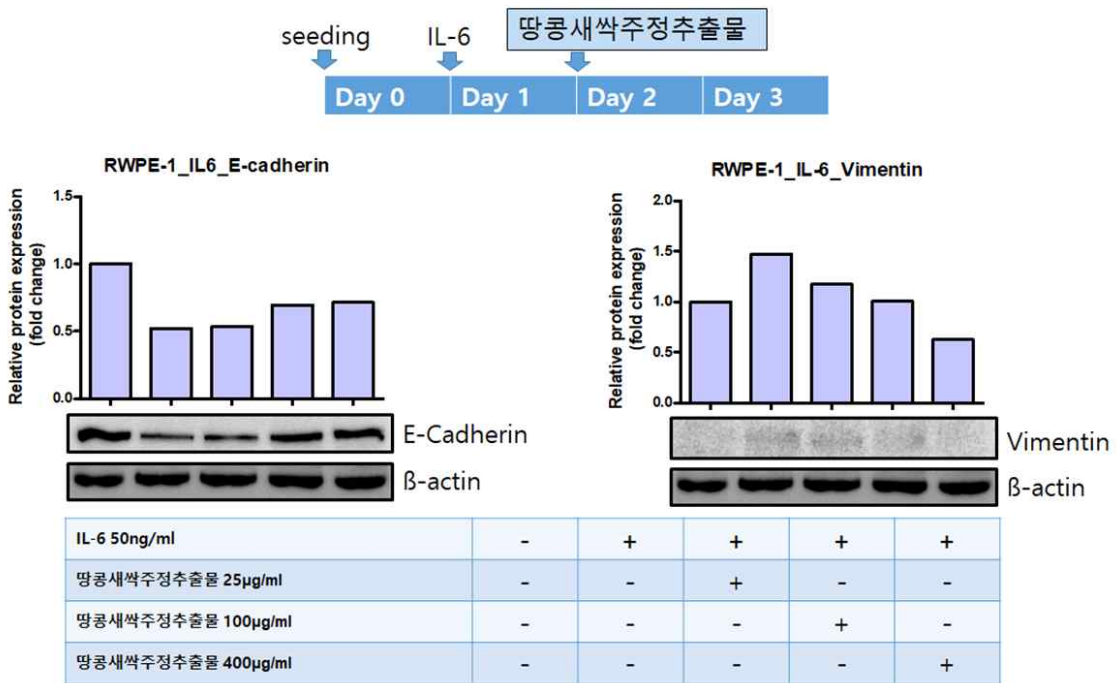


그림 49. RWPE-1세포에서 IL-6처리로 감소한 cadherin이 추출물 처리로 단백질 발현이 증가하고 IL-6처리로 증가한 vimentin이 추출물 처리로 단백질 발현이 감소함.

(7) LPS요도 주입으로 발생한 생쥐 전립선질환 모델에서 발효톱밥 재배 땅콩새싹 추출물

이 미치는 영향

(가) 방법

- ① 발효톱밥 재배 땅콩새싹 주정추출물을 물에 섞어서 미리 먹인 마우스의 요도에 1mg/ml의 농도인 LPS를 100 ul씩 주입하여 전립선질환 모델을 수립하였고(그림 6), 발효톱밥 재배 땅콩새싹 주정추출물을 50mg/Kg의 농도로 먹인 그룹과 100mg/Kg의 농도로 먹인 그룹으로 나눠 3일 먹인 그룹과 9일 먹인 그룹으로 구분하였고 추출물은 LPS 주입 2일 전부터 투여하였음. 전립선 조직을 수거하여 고정 후 HE염색으로 확인하였음.



그림 50. 요도에 LPS 주입 방법

(나) 결과

- ① LPS 주입 후 3일 에 전립선에서 염증반응과 약간의 섬유화(fibrosis 및 fibroblast의 증가)가 확인되었고 추출물 처리한 군에서는 염증 및 섬유화가 억제되는 것을 확인하였음. (그림 51) LPS 주입 10일에는 LPS 처리군에서 염증과 함께 섬유화가 확인되었으나, 추출물 처리군에서는 완화되는 경향이 확인되었음.(그림 52)

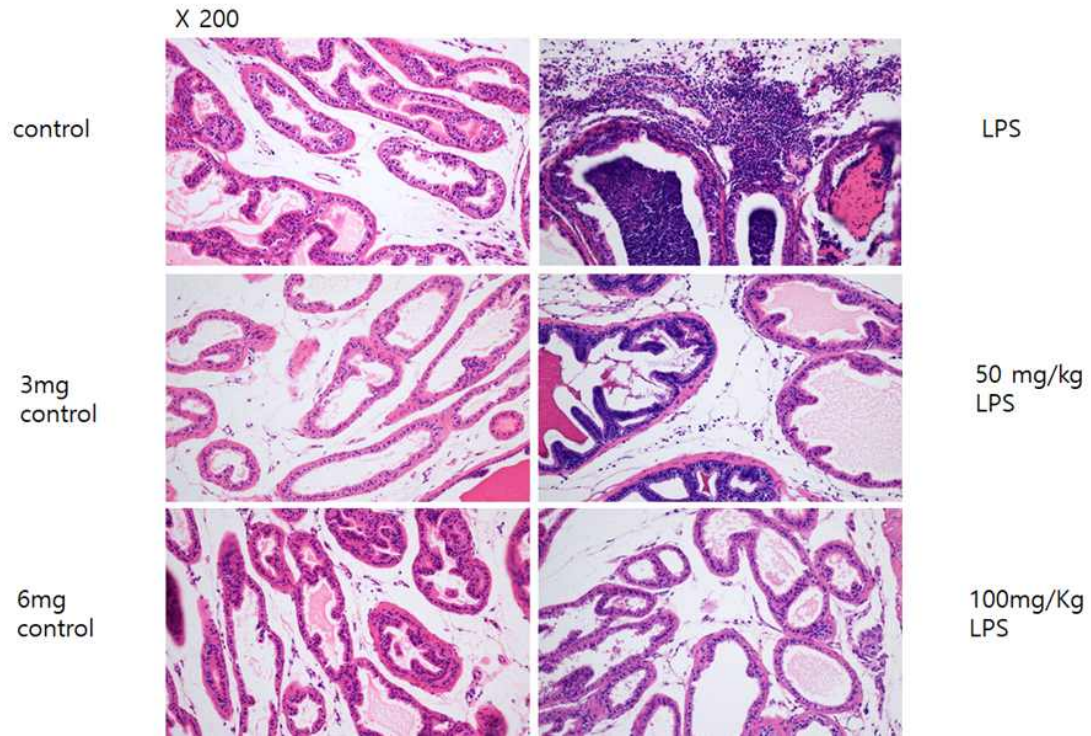


그림 51. 3일군에서 추출물 처리 군이 염증이나 섬유화가 감소하는 경향을 보임

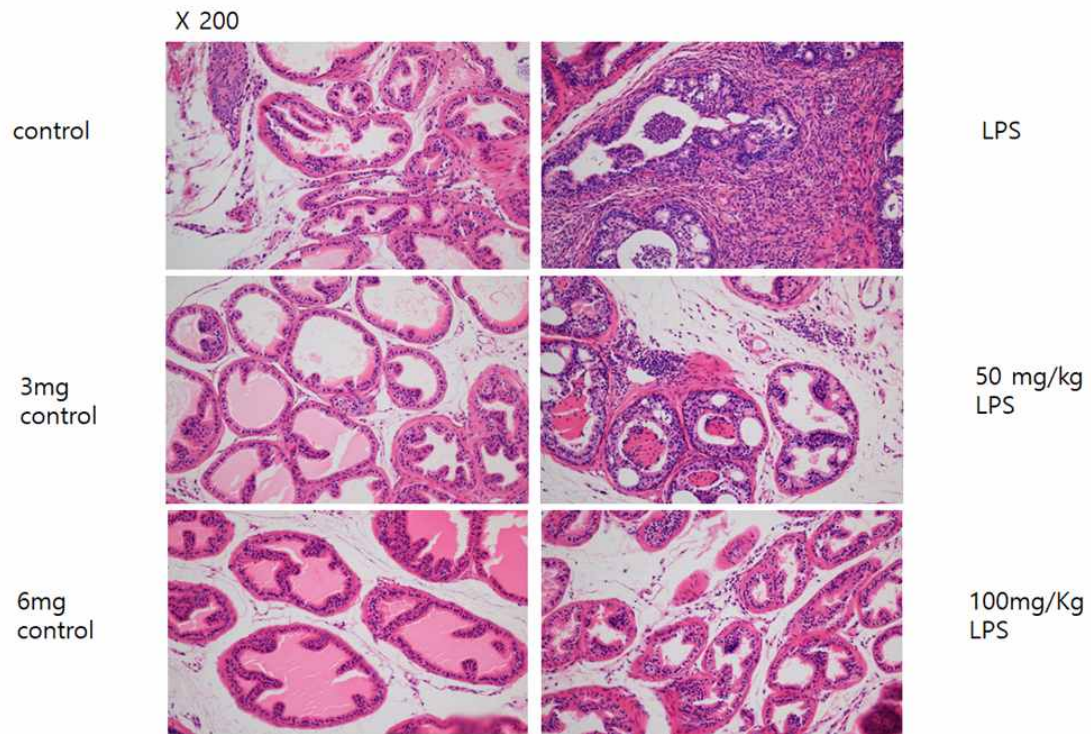


그림 52. 9일군에서 추출물 처리 군이 염증이나 섬유화가 감소하는 경향을 보임

(8) 땅콩새싹 추출물이 방광절편의 이완에 미치는 효과 연구

(가) Organ bath study

① 방광 절편의 제작

㉠ 쥐 Sprague-Dawley Rat (SD rat)를 밀폐된 용기에 100% 이산화탄소를 30초~1분간 주입하여 실신시킨 후, 경동맥 절개로 실혈을 유발하여 즉시 시켰다. 적출한 백서방광의 정부(dome) 쪽을 분리하여, 100% 산소로 포화된 HEPES 완충의 생리적 용액(NaCl 140mM, KCl 5mM, CaCl₂ 2mM, MgCl₂ 1mM, glucose 11mM, HEPES 5mM pH 7.4) 내에서 1×1×4mm 크기의 방광 평활근 절편을 만든다.

② 등장성 수축 측정

㉠ 쥐의 방광 평활근 절편을 용량 15ml의 실험용기에 옮긴 후 등장성 장력변환기(isometric force transducer 52-9545, Harvard, U.K.)에 연결하고 이때 발생한 신호를 디지털-아날로그 신호 변환기 및 증폭기(PowerLab 4SP, ADI instruments, Australia)를 사용하여 개인용 PC(IBM-PC, Pentium 4)에 기록 저장하였다. 실험조건으로는 37°C의 항온에서 조직절편에 0.5g의 안정 장력을 준 상태로 혼합가스(95부피% 산소와 5부피% 이산화탄소)를 공급함. 수술로 인한 손상을 회복시키고 대사 물질의 축적을 피하기 위하여 생리용액을 매 30분마다 바꾸어주면서 2시간 이상 휴식을 취한 후 수축력을 측정하였다. 실험에 사용한 생리적 용액은 NaCl 116mM, KCl 5mM, CaCl₂ 2mM, MgCl₂ 1mM, NaHCO₃ 24mM, glucose 11mM가 되도록 조성하였으며, pH는 HCl을 이용 7.4로 적정하여 사용하였다. 휴식 후 조직 절편의 상태를 확인하기 위하여 적정 용량의 아세틸콜린(acetylcholine, ACh) 10⁻⁵M을 투여하여 수축이 유발되는지 확인하고, ACh에 의한 수축 상태의 유지가 적절한가를 평가하기 위하여 ACh 투여 후 30분간 특별한 처치 없이 관찰하여 최대 안정 수축장력의 초기 값을 30분 이후에도 90% 이상 나타낼 때를 적절한 긴장도가 유지된 것으로 간주함. 수축 후 sodium nitroprusside(SNP) 10⁻⁵M에 의한 이완이 유발되는가를 확인하여, 적절한 수축 및 이완반응을 보이지 않는 조직은 배제함. 모든 실험 과정에서 조직의 상태를 검증하여 초기 수축 및 이완반응의 50% 미만의 반응이 보였을 때는 조직이 손상된 것으로 간주하여 실험을 종료함.

(나) 방광절편의 이완효과 검증

① 추출물이 쥐방광 수축이완에 미치는 영향

㉠ 추출물이 acetylcholine(ACh)에 의한 이완 효과 관찰(도 4); ACh 10⁻⁸~10⁻⁴M 농도 의존적 평활근의 수축이, 추출물 1, 10, 50 ug/ml 20분 전처리 후 변화를 관찰함.

(다) 결과

① 땀콩추출물은 농도 의존적으로 ACh에 의한 수축을 약간 억제함. 세포실험 농도를 적용하여 이완 정도가 미약한 것으로 추정됨(그림 53)

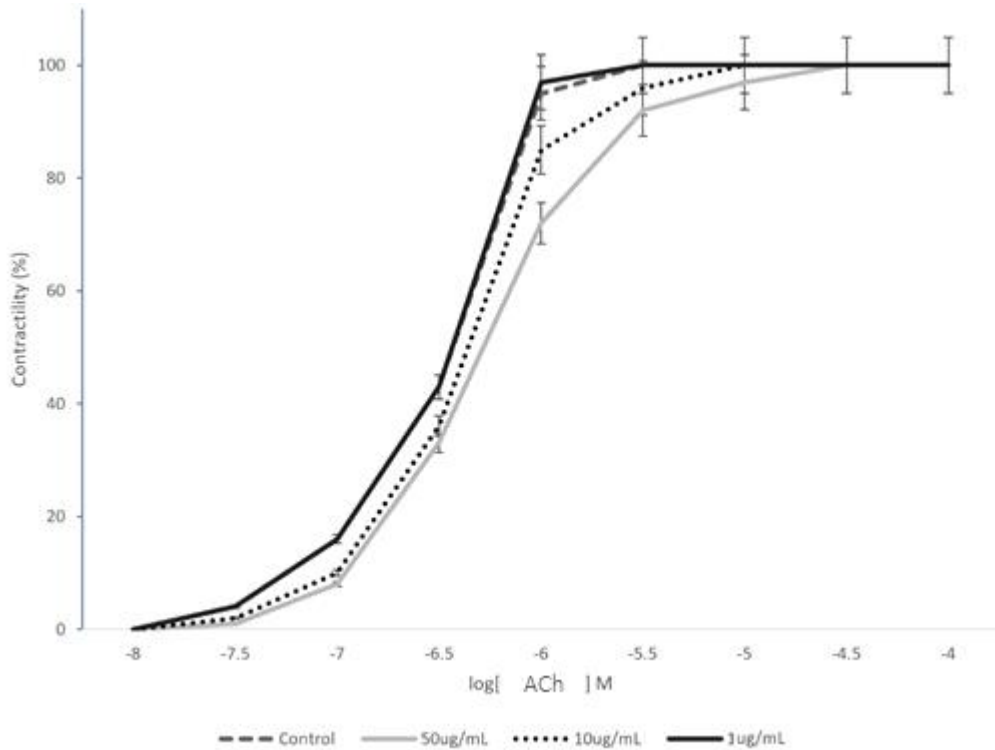


그림 53. 방광새싹 추출물에 의한 수축 방광의 이완 작용

(9) 발효톱밥 재배 방광새싹 추출물이 pannexin-1, connexin-43 발현에 미치는 영향

(가) 요로 상피세포암 세포주 TCCSUP 세포에 톱밥발효 방광새싹추출물 처리 후 intercellular communicating channel, 또는 hemichannel proteins PANX1과 GJA1(connexin-43) 유전자의 발현 확인함. 과민성방광에서 channel의 의미는 방광을 자극하는 ATP등의 물질이 이를 통하여 배출되면 방광의 예민도가 올라갈 가능성이 있는 기전중의 하나임.

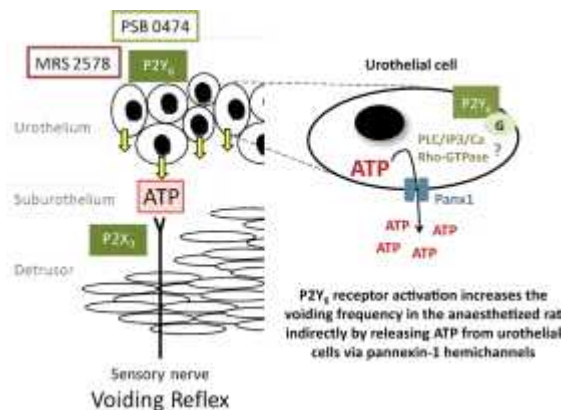


그림 54. pannexin-1 발현 증가에 의한 방광의 영향 모식도. (Timóteo et al., 2014)

(나) 방광암세포주인 TCCSUP 세포에 방광새싹추출물을 농도별로 처리 후 간극결합단백질 유전자인 PANX1과 GJA1의 발현을 확인한 결과 10ug/ml과 24ug/ml에서 발현이 감소

하는 것을 확인하였음. 따라서 방광의 예민도를 떨어뜨리는데 본 소재가 효과 있을 수 있음.

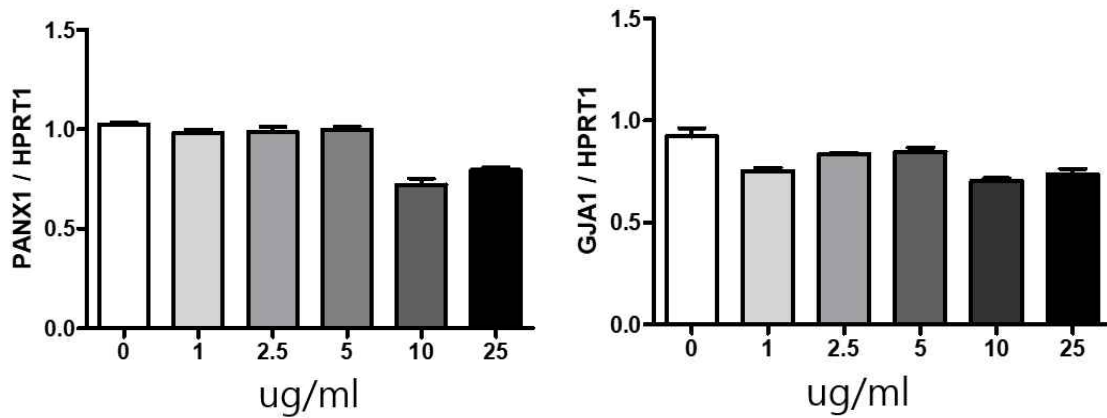


그림 55. 땅콩새싹 추출물에 의한 요로 상피의 pannexin-1과 connexin-43(GJA1) 감소

(10) 밀식 재배에 따른 땅콩새싹의 발아율과 생장률 비교

(가) 밀식 재배에 따른 땅콩새싹의 발아율 및 생장률 비교실험

- ① 땅콩의 재배 밀도에 따른 비교실험을 위하여 땅콩의 간격을 아래 그림과 같이 일정 간격을 조정하여 재배함. 땅콩의 재배 밀도에 따른 발아율 및 생장률 비교실험의 그림은 아래와 같음, (그림 56)



그림 56. 땅콩의 재배 밀도에 따른 비교실험의 모식도. 참나무발효톱밥을 담고 있는 트레이(50 × 30 × 10 cm)에 땅콩(*Arachis hypogaea* L.)종자를 파종하였음. 왼쪽 위부터 시계 방향으로 56개, 30개, 16개, 9개임.

(나) 땅콩 재배 밀도에 따른 땅콩새싹의 무게 비교

① 땅콩 재배 밀도에 따른 땅콩새싹의 무게 비교표는 아래와 같음. (그림 57)

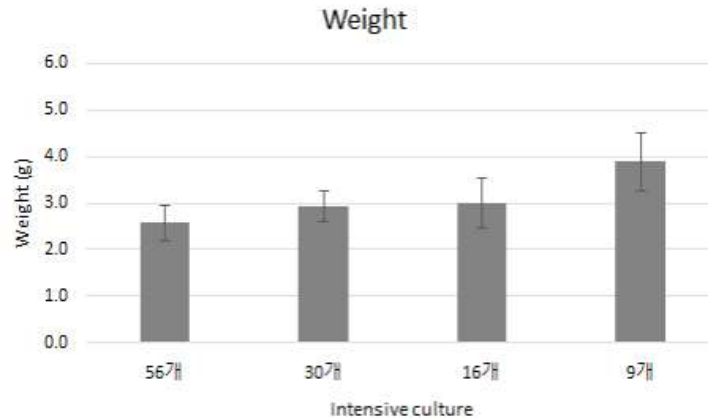


그림 57. 땅콩 재배 밀도에 따른 땅콩새싹의 무게 비교표. 땅콩새싹을 수확하여 무게를 측정하였음. 땅콩 재배 밀도가 높아질수록 땅콩 새싹 수확 무게가 줄어들었음. 가장 재배 밀도가 높은 땅콩새싹은 3.9g 으로 나머지 땅콩새싹들에 비해 중량이 높았음.

(다) 땅콩 재배 밀도에 따른 각 부위별 길이 비교

① 땅콩 재배 밀도에 따른 각 부위별 길이 비교표는 아래와 같음. (그림 58)

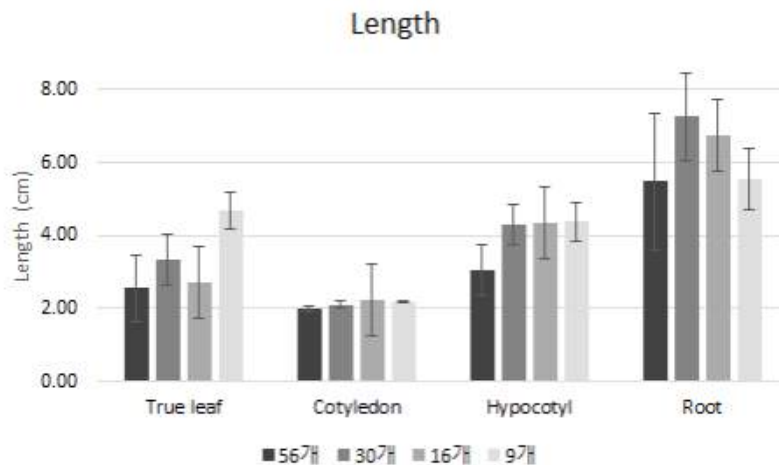


그림 58. True leaf의 경우, 56개 밀도에서 가장 짧은 길이를 가졌고 9개 밀도에서 가장 긴 길이를 보임. Cotyledon의 경우, 밀도별 별다른 차이가 없었음. Hypocotyl의 경우, 9개의 밀도에서 가장 높은 길이를 보였으며 나머지 밀도에서는 비슷한 경향을 보임. Root의 경우, 30개 밀도에서 가장 높은 길이 수치를 보였으나 통계적으로 유의성이 없음.

(라) 땅콩의 재배 밀도에 따른 땅콩새싹의 형태 비교

① 땅콩의 재배 밀도에 따른 땅콩새싹의 형태 비교그림은 아래와 같음. (그림 59)



그림 59. 땅콩의 재배 밀도에 따른 땅콩새싹의 형태 비교그림. 밀식의 차이에 따른 땅콩새싹의 형태를 관찰하였음. 30개와 9개 밀식에서 본잎까지 자라는 가장 성장한 형태를 보였으며, 16개 밀식의 경우에도 본잎까지 자라는 형태를 관찰하였으나, 본잎의 길이에서 다소 차이를 보였음. 하지만 56개 밀식의 경우 땅콩 간의 성장 차이가 컸으며, 다른 실험군에 비하여 낮은 성장률을 보임.

※ 결과적으로, 본 실험에서는 땅콩 재배 밀도가 높아질수록 수확한 땅콩새싹의 무게 및 길이가 줄어들었음. 따라서 적절한 땅콩재배 밀도를 유지해야 할 것임.

(마) 참나무 톱밥의 발효시기에 따른 곰팡이 분포(분류구성)

① 참나무 톱밥의 발효시기에 따른 곰팡이 분포(분류구성) 그래프는 아래와 같음. (그림 60)

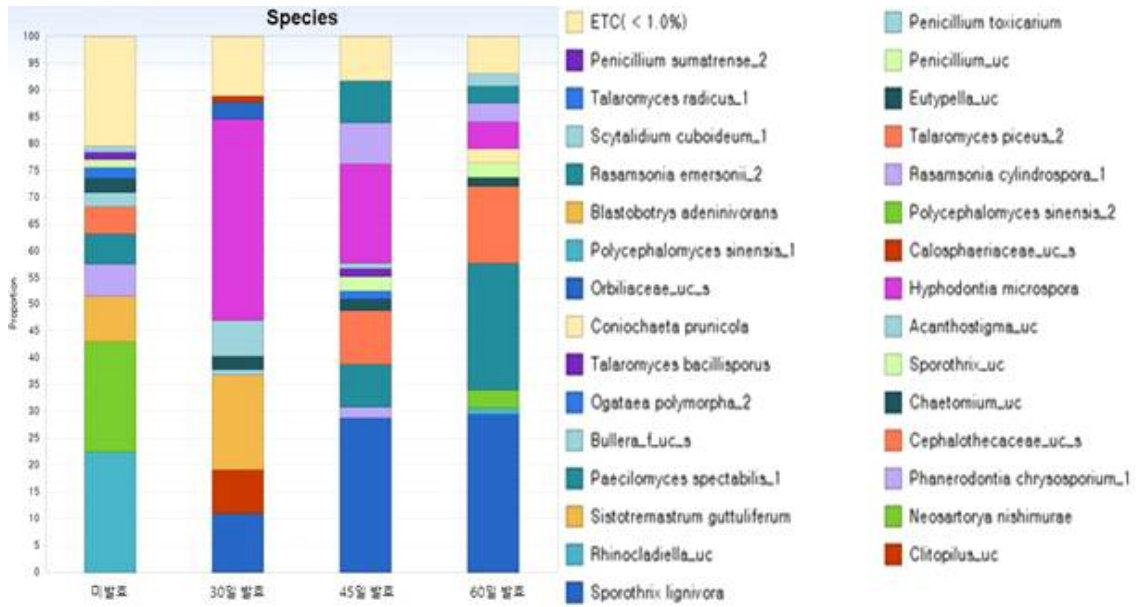


그림 60. 참나무 톱밥의 발효시기에 따른 곰팡이 분포(분류구성) 그래프. 분류구성을 통해 문(phylum) 레벨에서 종(species) 레벨까지 분류계급 별로 군집의 구성을 개괄적으로 확인함. 미발효일 때 존재하지 않았던 Sporothrix lignivora가 발효 일자가 증가할수록 우점하였음. 그러나 Hyphodontia microspora의 경우 발효 일자가 증가할수록 감소함.

(바) 참나무 톱밥의 발효시기에 따른 곰팡이 분포(더블 파이 차트)

- ① 참나무 톱밥의 발효시기에 따른 곰팡이 분포(더블 파이 차트) 그래프는 아래와 같음.
(그림 61)

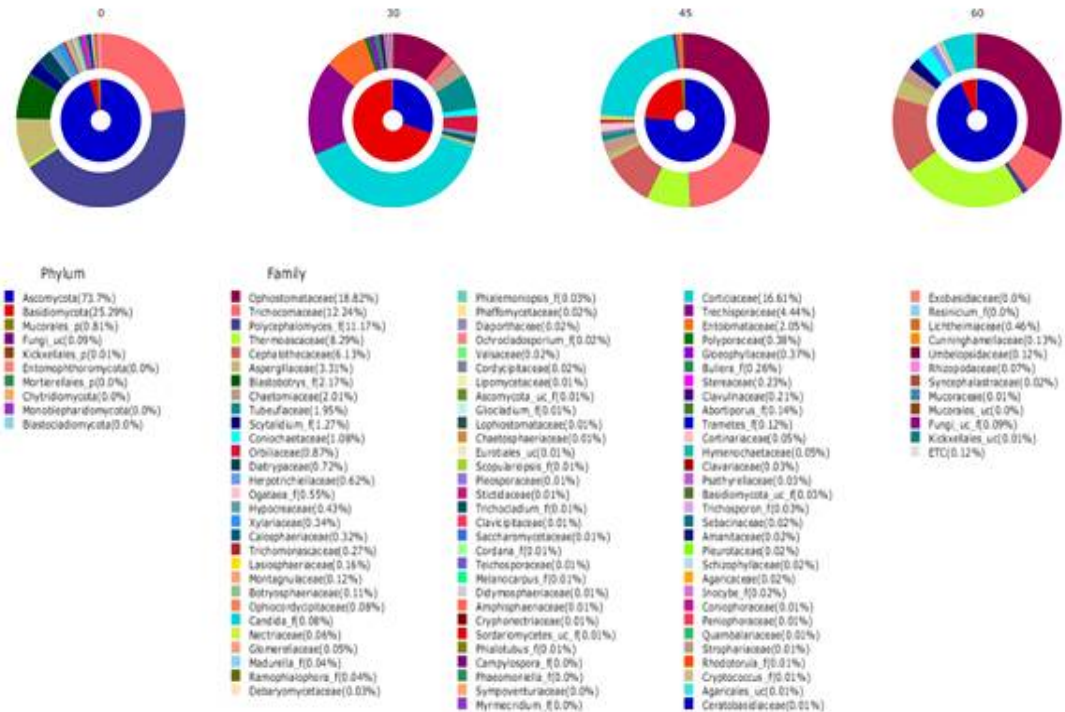


그림 61. 참나무 톱밥의 발효시기에 따른 곰팡이 분포(더블 파이 차트) 그래프. 더블 파이 차트를 통해 문(Phylum)과 과(Family) level에서 비교한 결과. 문(Phylum)의 경우, Basidiomycota는 톱밥이 발효 시 일시적으로 증가한 후 감소하였으나, Ascomycota의 경우에는 감소한 후에 증가하였음. 과(Family)의 경우, Orbiliaceae_uc_s, Sistotremastrum guttuliferum, Calosphaeriaceae_uc_s, Clitopilus_uc는 톱밥 발효 시 생겨났다가 30일이 지나고 사라지며 Sporothrix lignivora는 증가하다가 45일 이후에는 동일 양이 지속됨.

(사) 참나무 톱밥의 발효시기에 따른 곰팡이 분포(히트 맵)

① 참나무 톱밥의 발효시기에 따른 곰팡이 분포(히트 맵) 모식도는 아래와 같음. (그림 62)

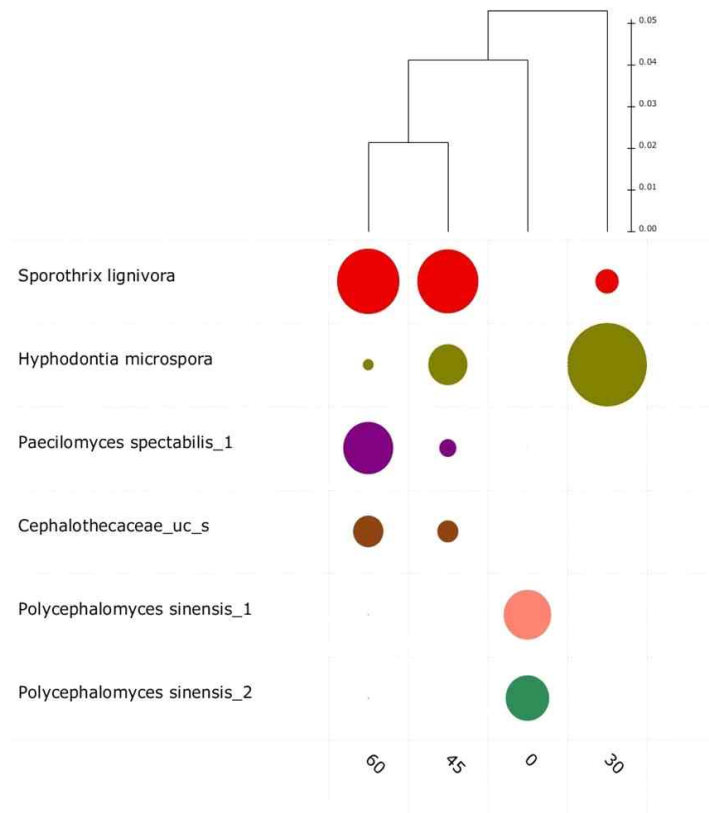


그림 62. 참나무 톱밥의 발효시기에 따른 곰팡이 분포(히트 맵) 모식도. 샘플들이 공유하고 있는 계통형의 종류와 정도를 원형 차트로 확인함. 히트 맵을 통해 전체 샘플을 대상으로 5%이상 공유되는 종을 계산한 결과 전체 6종이 공유되고 있으며, 미발효일 때는 존재하지 않았던 *Sporothrix lignivora*가 발효 후 30일 뒤에는 우점함을 알 수 있었고 *Hyphodontia microspora*는 발효 후 30일에 가장 우점하였다가 점점 감소하는 것을 볼 수 있음. 계통상으로는 45일과 60일이 가장 가까웠으며 이후, 30일과 미발효의 순서

있음.

※ 1년차와 2년차 연구결과를 종합해보면 박테리아와 곰팡이균들의 구성이 미발효와 30, 45, 60 일 발효톱밥에서 서로 다름을 알 수 있었음. 땅콩새싹의 vigor index의 차이도 미발효 톱밥보다 발효 톱밥에서 더 높은 결과를 얻었음. 이 결과들을 분석해보면 발효톱밥에서의 박테리아 및 곰팡이 균들의 변화가 땅콩새싹의 발아와 생장에 주요한 영향을 끼친다는 것을 확인함.

※ 위탁과제(CRO): 전립선비대증 효능 검증 인체시험 프로토콜 확립 및 IRB 획득

(11) 전립선 조직의 IL-6에 의한 증식에 발효톱밥 재배 땅콩새싹 추출물이 미치는 영향

(가) 연구 방법

- ① 땅콩새싹 추출물의 rat 전립선 조직의 IL-6에 의한 증식을 감소하는지 확인하고자 SD rat을 이용해서 IHC (immunohistochemistry) 방법을 사용하여 IL-6, IL-6R의 발현양상을 확인함. 그룹은 normal, testosterone, 땅콩새싹 50mg/kg, 100mg/kg, Finasteride (positive control) 이며, 각각 10마리씩 준비하였음.

(나) 결과

- ① H&E staining 결과를 보면, testosterone 그룹에서 세포의 증식이 관찰이 되며, 그에 비해 땅콩새싹 50mg, 100mg/kg로 준 그룹들은 상대적으로 세포의 증식이 감소가 관찰이 되며, Finasteride도 비슷하게 감소함을 확인함. IL-6 안티바디로 IHC를 한 결과, testosterone 그룹에서 IL-6발현의 증가를 관찰하였고, 그에 비해 땅콩새싹 50mg, 100mg/kg로 준 그룹들은 상대적으로 IL-6발현의 감소되며, Finasteride도 비슷하게 감소함을 확인함. IL-6R 안티바디로 IHC를 한 결과도 IL-6와 비슷한 경향성을 보임. 결과적으로 땅콩새싹이 전립선 조직에서 세포증식에 관여하는 IL-6, IL-6R의 발현이 감소하는데 효과가 있음을 예상할 수 있음.

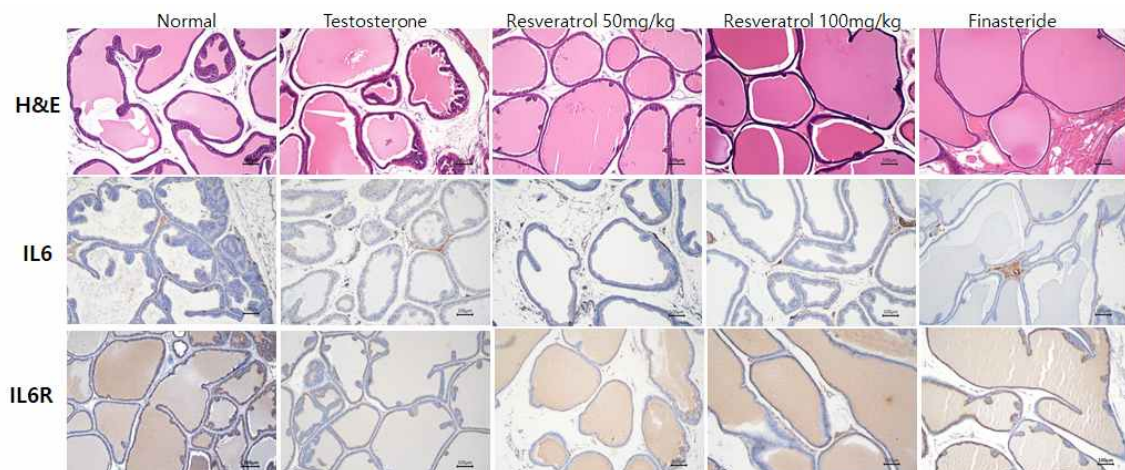


그림 63. 발효톱밥 재배 땅콩새싹 추출물이 rat 전립선에 미치는 영향.

(12) 요 NGF (Nerve growth factor), PGE2(Prostaglandin E2), ATP (Adenosine triphosphate) 측정

(가) 배뇨증상이 있는 사람 Urine을 발효톱밥 재배 땅콩새싹 투여 전후 채취한 후, 원심분리하여 거대 단백질을 분리하고 위의 상등액을 취해서 ELISA(enzyme-linked immunosorbent assay) 기법을 이용해서 실험을 수행함. 각각 urine에 대해서 NGF (Nerve growth factor), PGE2(Prostaglandin E2), ATP (Adenosine triphosphate) activity를 측정하였음. 투여 후에 감소 경향이 확연 하지만 요creatinine으로 보정하고 placebo 투여 군과 비교하면 통계적 유의성은 없었음.(p >0.05)

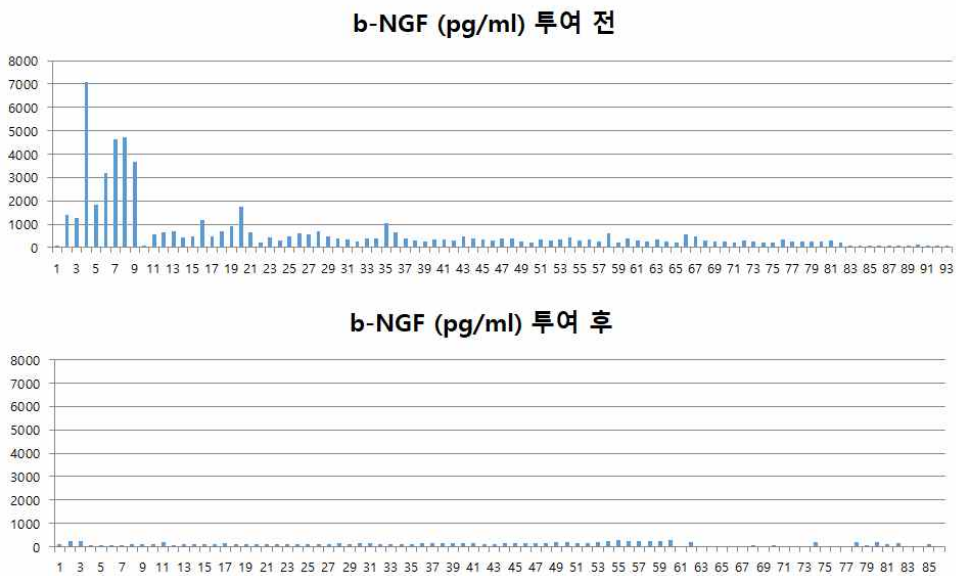


그림 64. 투여 전후 요 NGF 농도

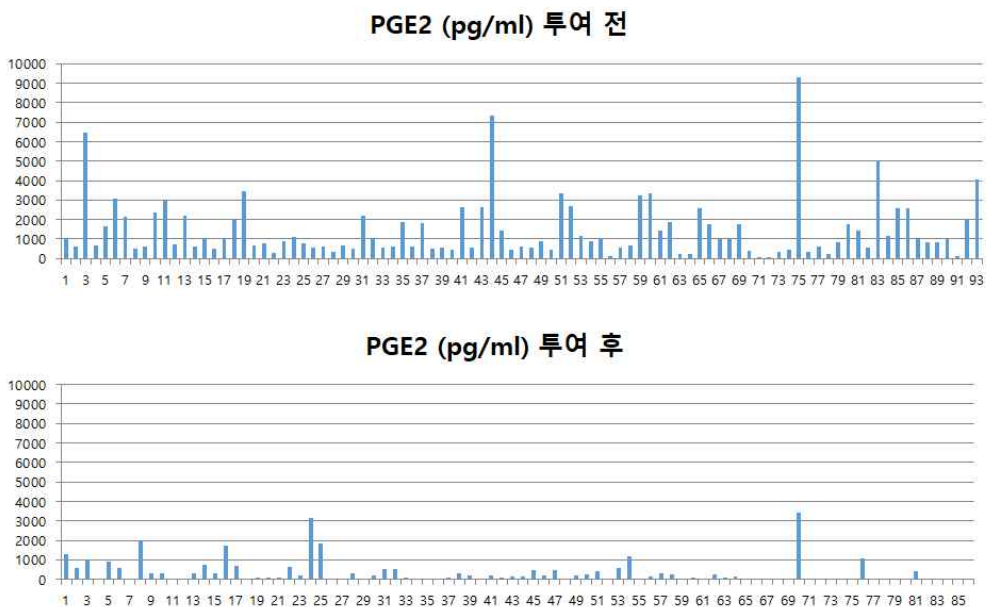


그림 65. 투여 전후 요 PGE2 농도

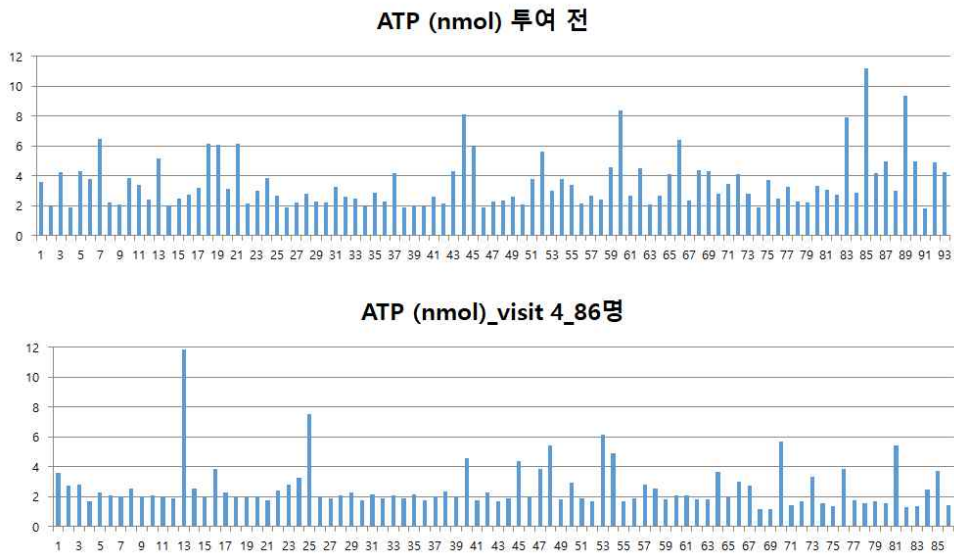


그림 66. 투여 전후 요 ATP 농도

(13) 관련 특허 출원

중앙대학교 산학협력단 - 지적권관리 시스템 - Internet Explorer				
의뢰번호	P20180270	관리번호	CAU20183002KR	
구분	국내특허 [대한민국]	현재상태	출원완료보고완료	
소속	의학부(임상)	성명	명순결	
명칭(국문)	쌀겨 추출물을 포함하는 남성 갱년기 증후군 예방 또는 치료용 조성물	명칭(영문)	Composition for preventing or treating andropause related symptoms comprising the extract of rice bran	
우선권		우선일		
출원번호	10-2019-0001336	출원일자	2019-01-04	
PCT번호		PCT일자		
등록번호		등록일자		
발명서 출원 심사청구 중간사건 등록/권리유지 비용 기타보고 첨부파일 키프리스				
<input checked="" type="radio"/> Yes <input type="radio"/> No				
관련 연구과제	과제계정번호	20180386	과제책임자	명순결
	과제명	발효통발 팥공세사의 유기농 재배법 확립 및 추출물의 전립선 건강 효능 검증		
	사업명	기술사업화지원사업	세부사업명	기술사업화지원사업
	부처명	농림축산식품부	연구관리 전문기관	농업회사법인 주식회사 레스베라
	당해년도기간	2018-01-01 ~ 2018-12-31	총연구기간	2017-05-30 ~ 2019-12-31
	과제고유번호	817021032HD020	기여율	100 %
	주관기관	중앙대학교 산학협력단		

그림 67. 특허명: 쌀겨 추출물을 포함하는 남성 갱년기 증후군 예방 또는 치료용 조성물

의뢰번호	P20180271	관리번호	CAU20183001KR
구분	국내특허 [대한민국]	현재상태	출원완료보고완료
소속	의학부(임상)	성명	명순철
명칭(국문)	레드 클로버 추출물을 포함하는 남성 갱년기 증후군 예방 또는 치료용 조성물	명칭(영문)	Composition for preventing or treating andropause related symptoms comprising the extract of red clover
우선권		우선일	
출원번호	10-2019-0001342	출원일자	2019-01-04
PCT번호		PCT일자	
등록번호		등록일자	

발명서			
출원	심사정구	중간사건	등록/권리유지
<input checked="" type="radio"/> Yes <input type="radio"/> No			
과제계정번호	20180386	과제책임자	명순철
과제명	발효통발 땅콩새싹의 유기농 재배법 확립 및 추출물의 전립선 건강 효능 검증		
사업명	기술사업화지원사업	세부사업명	기술사업화지원사업
부저명	농림축산식품부	연구관리 전문기관	농업회사법인 주식회사 레스베라
당해년도기간	2018-01-01 ~ 2018-12-31	총연구기간	2017-05-30 ~ 2019-12-31
과제고유번호	817021032H0020	기여율	100 %
주관기관	중앙대학교 산학협력단		

그림 68. 특허명: 레드클로버 추출물을 포함하는 남성 갱년기 증후군 예방 또는 치료용 조성물

(14) 톱밥의 발효기간이 땅콩새싹에 미치는 영향에 대한 실험

(가) 톱밥의 발효기간이 다른 땅콩새싹의 발아율과 생장률 비교

① 톱밥의 발효기간이 다른 땅콩새싹의 발아율과 생장률 비교실험을 위하여 땅콩의 간격을 일정 간격을 조정하여 재배함. 참나무발효톱밥을 담고 있는 트레이(50 × 30 × 10 cm)에 땅콩(*Arachis hypogaea* L.)종자를 파종하였음. 또한 본 실험에 대한 결론을 얻기 위해 미발효(0일), 30일, 45일 그리고 60일 발효된 톱밥을 사용하였음. 땅콩의 재배 밀도에 따른 발아율 및 생장률 비교실험의 결과는 아래와 같음.

(나) 톱밥의 발효기간에 따른 땅콩 발아율 비교

① 톱밥의 발효기간에 따른 땅콩 발아율 비교표는 아래와 같음. (그림 69)

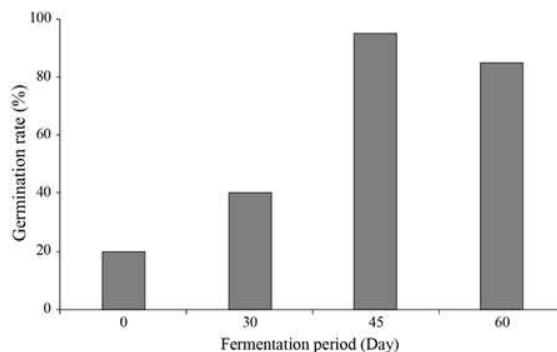


그림 69. 톱밥의 발효기간에 따른 땅콩 발아율 비교표. 0일, 30일, 45일, 그리고 60일 발효된 각각의 톱밥에 땅콩을 20개씩 심은 뒤 각 군별 발아율을 측정하였음. 45일 발효된 톱밥에

심은 땅콩의 발아율이 제일 높았음. 톱밥의 발효기간이 길수록 땅콩 발아율이 높은 듯 하나(95%), 발효기간이 가장 긴 60일 발효 톱밥에서는 오히려 발아율이 약간 낮음(85%)을 확인함.

(다) 톱밥의 발효기간에 따른 땅콩 무게 비교

① 톱밥의 발효기간에 따른 땅콩 무게 비교표는 아래와 같음. (그림 70)

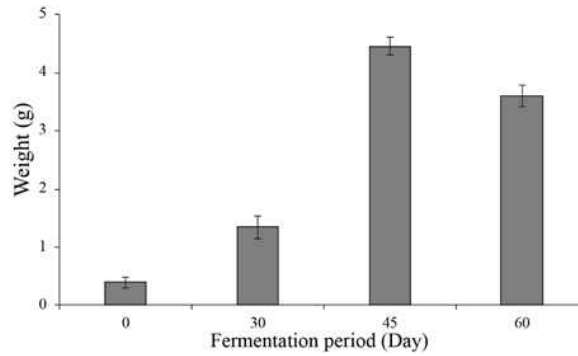


그림 70. 톱밥의 발효기간에 따른 땅콩 무게 비교표. 톱밥의 발효기간에 따른 땅콩 발아율 실험과 마찬가지로, 발효기간이 45일인 톱밥에서 자란 땅콩의 무게가 가장 높았으나(4.6 g), 60일 발효 톱밥에서 자란 땅콩은 오히려 무게가 감소함.

(라) 톱밥의 발효기간에 따른 각 부위별 길이 비교

① 톱밥의 발효기간에 따른 각 부위별 길이 비교표는 아래와 같음. (그림 71)

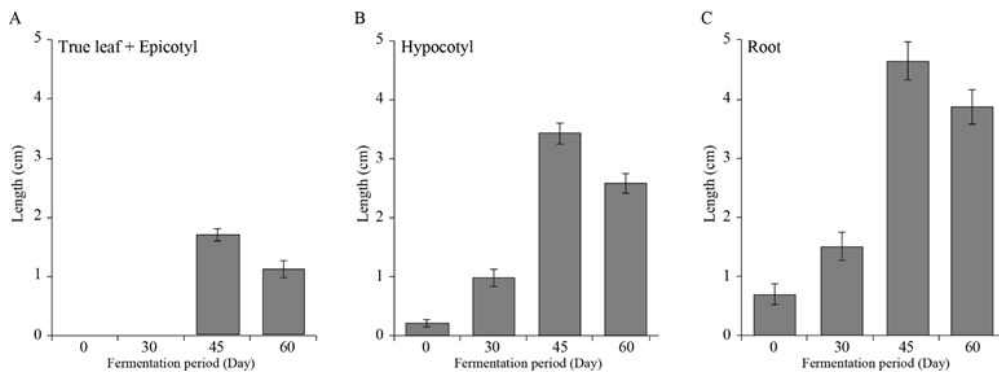


그림 71. 톱밥의 발효기간에 따른 각 부위별 길이 비교표. 45일 발효된 톱밥에서 자란 땅콩의 True leaf+Epicotyl, Hypocotyl 그리고 Root 모두 길이가 가장 길었음.

(마) 톱밥의 발효기간에 따른 각 부위별 활력지수 비교

① 톱밥의 발효기간에 따른 각 부위별 활력지수 비교표는 아래와 같음. (그림 72)

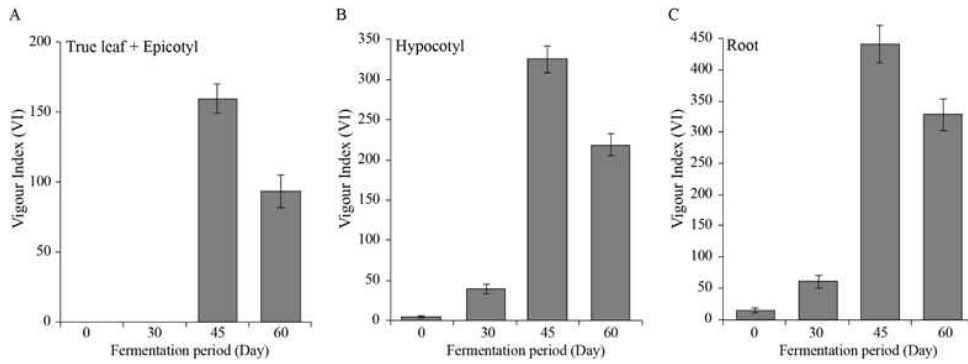


그림 72. 톱밥의 발효기간에 따른 각 부위별 활력지수 비교표. 가장 효율적인 바이오매스 생산을 위한 톱밥 발효기간을 결정하기 위해 발아율과 조직 길이의 두 가지 기준을 이용하여 활력지수를 얻었음. 활력지수는 발아율X조직길이로 계산하였음. 위의 실험들과 마찬가지로 45일 발효된 톱밥에서 자란 땅콩의 True leaf+Epicotyl, Hypocotyl 그리고 Root 모두 활력지수 역시 가장 높았음.

(바) 톱밥의 발효기간에 따른 땅콩새싹의 형태 비교

① 톱밥의 발효기간에 따른 땅콩새싹의 형태 비교그림은 아래와 같음. (그림 73)

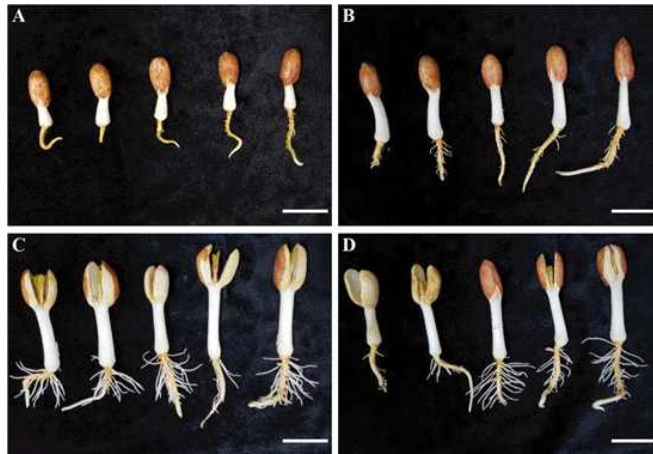


그림 73. 톱밥의 발효기간에 따른 땅콩새싹의 형태 비교그림. 각 발효군(0, 30, 45, 그리고 60 일) 톱밥에서 자란 땅콩을 과중 후 관찰하였음. 0일, 30일 그리고 45일 발효된 톱밥에서 자란 땅콩이 발효기간이 길수록 가장 성장한 형태를 보였으나, 60일 발효된 톱밥에서 자란 땅콩은 오히려 45일 발효 톱밥의 땅콩에 비해 낮은 성장형태를 보임. 특히, 뿌리의 성장형태(뿌리길이, 뿌리털)가 두드러지게 차이남.

※ 결과적으로, 본 실험에서는 톱밥의 발효기간이 45일 일 때 발아율, 무게, 길이, 성장형태 등 모든 부분이 월등히 좋았음. 따라서 45일 발효된 톱밥이 땅콩을 재배하는데 있어 좋은 환경을 제공해 준다는 결론을 얻음.

(사) 45일 발효 참나무 톱밥으로 재배된 땅콩새싹의 재배기간별 레스베라트롤 함량 비교분석

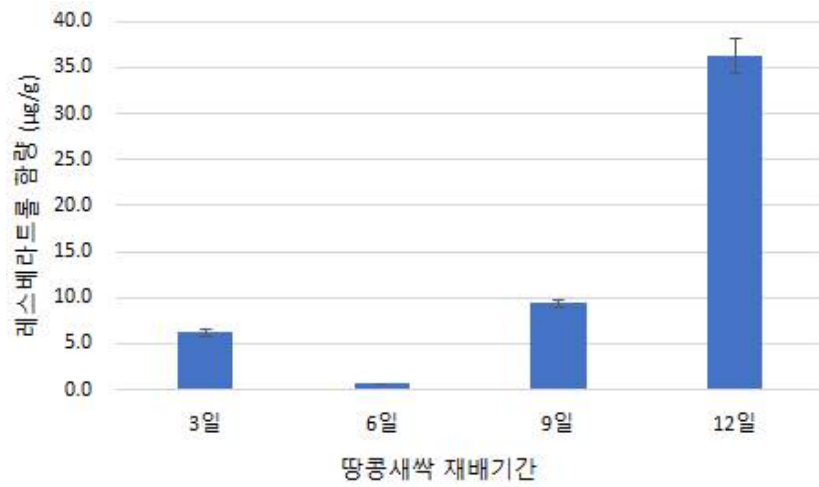


그림 74. 땅콩 새싹 재배에 가장 적합한 45일 발효 참나무 톱밥으로 땅콩새싹을 재배하였을 때, 12일째에서 가장 높은 레스베라트롤 함량을 보였음.

표 7. 45일 발효 참나무 톱밥으로 재배된 땅콩새싹의 재배기간별 레스베라트롤 함량 비교분석

샘플명		Amount	Weight(g)	결과값 ($\mu\text{g/g}$)	평균값 ($\mu\text{g/g}$)
3일	전체	0.257	1.0050	6.39	6.17±0.18
		0.241	1.0106	5.96	
		0.267	1.0857	6.15	
	떡잎	0.339	1.1186	7.58	7.81±1.03
		0.285	1.0656	6.69	
		0.419	1.1415	9.18	
	줄기+뿌리	0.000	1.0091	0.00	미검출
		0.000	1.0169	0.00	
		0.000	1.0025	0.00	
6일	전체	0.039	1.0104	0.96	0.62±0.44
		0.037	1.0394	0.89	
		0.000	1.0336	0.00	
	떡잎	0.053	1.1472	1.15	1.19±0.18
		0.041	1.0267	1.00	
		0.058	1.0137	1.43	
	줄기	0.000	1.0356	0.00	0.21±0.29
		0.025	1.0065	0.62	
		0.000	1.0034	0.00	
	뿌리	0.538	1.0292	13.07	12.36±1.85
		0.408	1.0384	9.82	
		0.589	1.0382	14.18	
9일	전체	0.396	1.0272	9.64	9.35±0.53
		0.404	1.0298	9.81	
		0.365	1.0610	8.60	
	떡잎	0.277	1.0121	6.84	7.73±1.32
		0.280	1.0350	6.76	
		0.396	1.0319	9.59	
	줄기	0.178	1.0194	4.37	3.22±0.96
		0.082	1.0116	2.03	
		0.138	1.0594	3.26	
	뿌리	0.104	1.0309	2.52	3.04±0.78
		0.101	1.0294	2.45	
		0.166	1.0032	4.14	
12일	전체	1.272	1.0187	31.22	36.25±4.40
		1.686	1.0052	41.93	
		1.457	1.0229	35.61	
	떡잎	1.267	1.0005	31.66	29.82±2.27
		1.073	1.0075	26.63	
		1.271	1.0191	31.18	
	줄기	2.864	1.0044	71.29	73.08±13.72
		3.640	1.0032	90.71	
		2.306	1.0071	57.24	
	뿌리	0.770	1.0148	18.97	16.33±8.20
		0.210	1.0022	5.24	
		0.994	1.0023	24.79	

(15) 인체시험: 발효톱밥 재배 땅콩새싹 추출물의 전립선비대증에 대한 효과.

(나) 인체적용 시험 완료: 종료 승인 획득일 2019 11 21



중앙대학교병원 생명윤리위원회

중앙대학교병원 생명윤리위원회	
Tel 02-6299-2738,2739,2740	FAX 02-6299-2880
e-Mail irb@caumc.or.kr	e-IRB 시스템 https://eirb.cauhs.or.kr/
주소 서울특별시 동작구 흑석로 102 (흑석동 224-1) (우) 06973	

심의 결과 통보서

IRB No.	1892-002-344		제출경로	중앙대학교병원		
수신	책임연구자	명승환	소속	비뇨의학과	직위	교수
	의뢰기관	주식회사 레스베라				
연구과제명	전립선 건강에 대한 PBE의 유용성 및 안전성을 평가하기 위한 12주, 무작위배정, 이중맹검, 위약대조 인체적용시험			결기보고주기	0 개월	
Protocol No.	RE8-HC-P8E		Version No.	1.2		
생명윤리법에 따른 분류	<input checked="" type="checkbox"/> 인관대상연구 <input type="checkbox"/> 인체유래물연구 <input type="checkbox"/> 배아줄기세포주이용연구 <input type="checkbox"/> 배아연구 <input type="checkbox"/> 체세포복제배아연구 <input type="checkbox"/> 단성생식배아연구 <input type="checkbox"/> 배아생성의뢰기관 <input type="checkbox"/> 인체유래물은행					
연구종류	임상시험연구	<input type="checkbox"/> 종례보고 <input type="checkbox"/> 생태학적 연구 <input type="checkbox"/> 타액조사연구 <input type="checkbox"/> 조사, 실험, 인터뷰 연구 <input type="checkbox"/> 환자군 연구 <input type="checkbox"/> 환자-대조군연구 <input type="checkbox"/> 인체유래물저장소 연구 <input type="checkbox"/> 등록(레지스트리) 연구 <input type="checkbox"/> 시판약사용 임상시험 <input type="checkbox"/> 전향적 코호트 연구 <input type="checkbox"/> 후향적 코호트 연구 <input type="checkbox"/> 기타				
		연구대상	<input type="checkbox"/> 의약품 <input type="checkbox"/> 생물학적제제 <input checked="" type="checkbox"/> 건강기능식품 <input type="checkbox"/> 의뢰기기 <input type="checkbox"/> 기타			
	상표명		발효새싹추출물			
	Phase	<input type="checkbox"/> 제1상 <input type="checkbox"/> 제1/2상 <input type="checkbox"/> 제2상 <input type="checkbox"/> 제2/3상 <input type="checkbox"/> 제3상 <input type="checkbox"/> 제4상 <input type="checkbox"/> 생물학적제품성 <input checked="" type="checkbox"/> 기타 (건강기능식품)				
	식약처 승인 대상 여부	<input type="checkbox"/> 식약처 승인 대상 <input checked="" type="checkbox"/> 승인 제외 대상				
	임상시험 목적	<input type="checkbox"/> 학술용 <input checked="" type="checkbox"/> 국내(MFDS)허가용 <input type="checkbox"/> 해외 허가용				
승인유료 만료일	2019년 11월 21일		심의대상	연구종류보고		
심의종류	신속심의		심의일자	2019년 12월 14일		
결수일자	2019년 11월 25일		심의결과통보일	2019년 12월 16일		
제출자료 목록	<p>본 연구는 총 106명의 대상자에 대해서 스크리닝 평가를 실시하였으며, 스크리닝 탈락 13명으로 총 93명의 대상자가 등록됨.</p> <p>등록된 93명의 대상자 중 5명(등록의뢰회, 2명)은 기타(발효 허용기간 내 기관 발효이 불가능) 사유로 등록탈락 하였으며, 총 88명의 대상자가 연구를 완료함.</p> <p>*앞서 미승수 보고된 무작위 배정번호 오류 권(CA-8017, CA-8018, CA-8019) 및 발효기간 미연구 권(CA-8001, CA-8010, CA-8011, CA-8017, CA-8019)과 관련하여 종료보고 시 결과 분석에서 오류자들의 포함여부에 대해 기술할 것으로 심의의견이 있어 이에 대한 답변을 함께 기재합니다.</p>					

중앙대학교병원 생명윤리위원회

	<p>부록 2에 포함된 10세 미만 아동 대상자 CA-8017 대상자는 수송비가 높으며, 부록 4의 발명저출생률 -7일 미만이었으나, 발명일 후반기에 연구팀에 대한 설명 미치지 않았으므로 포함하여 PP Set에 포함하고자 하며, CA-8018 대상자는 발명일 후반기에 사후를 확인하여 제외되었고, CA-8019 대상자는 부록 4의 발명저출생률 -21일 미만이었으며, 발명일 후반기에 연구팀에 대한 설명 미치지 않았으므로 포함하여 PP Set에 제외하고자 함.</p> <p>부록 3의 발명저출생률 +10일 미만 대상자(CA-8003)의 경우, 수송비가 낮아 연구팀에 대한 설명 미치지 않았으므로 PP Set에서 제외하고자 하며, 부록 4의 발명저출생률 -7일 미만 대상자(CA-8010), 부록 4의 발명저출생률 +7일 미만 대상자(CA-8011)의 경우, 수송비가 높으며, 발명일 후반기에 연구팀에 대한 설명 미치지 않았으므로 포함하여 PP Set에 포함하고자 합니다.</p>
<p>윤리결론</p>	<p>승인</p>
<p>연구의 수준</p>	<p>Level 1 (최소위험)</p>
<p>윤리적 지원</p>	<p>충분하다고 인정된 결과 '승인' 되었음을 알립니다. 1. 연구결과 기술 시 PPset에 포함하기로 하신 대상자들의 후시 기관 표명에 대해 기술해 주시기 바랍니다.</p>

생명윤리위원회 위원



본 통보서에 기재된 사항은 IRB의 기록된 내용과 일치함을 증명합니다.
본 기관 IRB는 생명윤리 및 안전에 관한 법률, 약사법, 의료기기법 및 ICH-GCP 등 관련 법규를 준수합니다.
본 연구와 이해관계(Conflict of Interest)가 있는 위험이 있을 경우 연구의 심의에서 배제하였습니다.

다. 제2협동연구기관 (중앙대학교 문성권 교수팀) :

(1) 재배 조건을 달리한 땅콩새싹 추출물의 유효 성분 분석 및 표준화

(가) 연구방법

① 분석시료

- ㉞ 재배 조건(30, 45, 60일 톱밥발효)을 달리하여 얻어진 땅콩새싹을 건채, 땅콩새싹 동결 건조 추출액의 유효성분 함량 분석 연구를 수행하였음
- ㉟ 땅콩새싹 농축액, 추출분말 및 가공제품 시료를 제공받아 연구를 수행하였음. (A: 아스파라 파워, G:조아조아, P:프리미엄, Y-100:청춘 100세, ESG:농축액 세계, EDM:농축액 다미, E-P:농축액 분말, Y:청춘(차), SG 4539:세계 SD 50% 분말, SG 4540:세계 주정추출 SD 50% 분말, SG 4542:세계 동결건조, SP: SK 바이오랜드 주정추출, 11 DM 20%:7.11 다미 SD 20%, 11 DM 30%:7.11 다미 SD 30%, 20 DM 30%:7.20 다미 주정추출 SD 30%, 20 DM 50%:7.20 다미주정추출SD 50%)

② 레스베라트롤 분석

㉞ 레스베라트롤 추출방법

- 땅콩새싹 생체, 동결건조, 건채 및 제품에 함유되어 있는 레스베라트롤 함량분석은 Mei 등(2014)의 방법을 변형하여 수행하였음. 액체크로마토그래피 (Waters 2695 alliance system with a waters 2489 detector)를 사용하여 레스베라트롤 함량을 분석하였음. 땅

콩새싹 시료 1 g에 농도를 달리한 메탄올 (50%) 25 mL를 첨가 한 후, 30분 동안 상온에서 초음파 추출하였음. 추출물을 4℃에서 8000 rpm으로 5분 동안 원심분리하여 상등액 얻었으며, 얻어진 상등액을 25 mL로 50%의 메탄올로 정용 한 후 0.45 μm PTFE syringe filter 로 여과한 후 HPLC 분석에 사용하였음.



그림 75. 레스베라트롤 추출방법

㉠ 레스베라트롤 표준용액 제조방법

- 레스베라트롤을 100% 메탄올로 녹인 후 동량의 증류수와 1:1 섞고, 50% 메탄올로 정용한 것을 stock solution으로 사용하였으며. 순차적으로 희석하여 분석에 사용하였음.

㉡ HPLC 분석조건

- HPLC 분석조건은 Shiseido 사의 Capcell Pak C18 MG (5μm, 4.6mm×250mm) 컬럼을 사용하여 40℃에서 실시하였음. 이동상은 0.1% 2,2,2-Trifluoroacetic acid(TFA)와 Acetonitrile(ACN)을 사용하였으며, 이 때 유속은 1 mL/min 으로 하고, UV 검출기의 306 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였음.

㉢ 분석법 검증

- 분석법 검증은 레스베라트롤을 메탄올에 녹여 0.1, 0.2 0.5, 1, 2, 및 5 ppm으로 농도를 달리한 stock solution을 검량선용 표준시료로 사용하여 분석하였음. 레스베라트롤 성분 에 대한 검출한계(Limit of Detection, LOD)와 정량한계(Limit of Quantification, LOQ) 는 표준용액의 크로마토그램을 사용하여 표준편차와 검량선의 기울기에 근거하여 계산 하였음.

$$LOD = 3.3 \times (\text{standard deviation/slope of calibration curve})$$

$$LOQ = 10 \times (\text{standard deviation/slope of calibration curve})$$

③ 엽산 분석

㉠ 시약 및 시액 제조

- 10mM 인산완충용액(pH 8.0): 10 mM 인산수소이나트륨 용액에 10 mM 인산이수소나트륨 용액을 가하여 pH 8.0로 조정하여 제조하였음.
- 표준원액 : 엽산 표준품(99.9%)를 0.1N NaOH 수용액에 녹여 1000 mg/L이 되도록 조제한 후 4°C 이하 암소에 보관하면서 사용하였음.
- 이동상 A : Tetrabutyl ammonium bromide 1.6120 g (5 mM)을 pH 7.2로 조정된 인산완충용액을 가하여 1 L가 되게 한 뒤 0.22 μ m 필터로 여과하여 조제하였음.
- 표준용액 : 표준원액을 이동상A로 희석하여 10 mg/L로 조제하였음.
- 검량선표준용액 : 표준용액을 이동상A로 희석하여 정량하기에 적합한 농도로 3개 이상 조제하였음.

㉡ 엽산 추출 방법

- 샘플 1 g을 25 mL 갈색 플라스크에 정확히 칭량하고, 10 mM 인산완충용액(pH 8.0)을 첨가하여 25 mL로 정용하여 10분간 초음파 추출한 후 튜브로 옮겨 20분간 shaker에서 혼합 후, 5,000 rpm 조건에서 10분간 원심분리하여 상등액을 얻었으며, 얻은 상등액을 0.22 μ m의 membrane filter로 여과한 후 시험용액으로 사용하였음.



그림 76. 엽산 추출방법

㉢ HPLC 분석조건

- HPLC 분석조건은 Shiseido 사의 Capcell Pak C18 UG120 (5 μ m, 4.6×250 mm) 컬럼을 사용하여 40°C에서 실시하였음. 이동상은 5 mM Tetrabutyl ammonium bromide과 아세토니트릴을 8:2로 혼합하여 사용하였으며, 이 때 유속은 1 mL/min 으로 하고, UV 검출기의 280 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였음.

표 8. 엽산 분석을 위한 HPLC의 실험조건

Parameters	Conditions
Column	Capcell Pak C18 MG (5 μ m, 4.6×250 mm)
Mobile phase	A: 5mM Tetrabutyl ammonium bromide 인산완충액(pH 7.2)과 ACN 8:2로 혼합
Flow rate	1 mL/min
Injection volume	20 μ L
Column oven Temp.	40°C
Wavelength	280 nm

㉠ 분석법 검증

- 분석법 검증은 엽산을 100%의 메탄올에 녹여 stock solution을 검량선용 표준시료로 사용하여 HPLC로 분석하였음. 엽산 성분에 대한 검출한계(Limit of Detection, LOD)와 정량한계(Limit of Quantification, LOQ)는 표준용액의 크로마토그램을 사용하여 표준편차와 검량선의 기울기에 근거하여 계산하였음.

$$LOD = 3.3 \times (\text{standard deviation/slope of calibration curve})$$

$$LOQ = 10 \times (\text{standard deviation/slope of calibration curve})$$

④ 사포닌 분석

㉠ 샘플 추출 방법

- 사포닌은 100% 메탄올에 추출하여 0.45 μ m Nylon syringe filter로 여과하여 HPLC로 분석하였음.

㉡ HPLC 분석조건

- 사포닌 함량은 Capcell Pak C18 MG (5 μ m, 4.6mm×250mm) 컬럼을 사용하여 40°C에서 실시하였으며, 함량은 HPLC를 사용하여 측정하였음.

㉢ 분석법 검증

- 분석법 검증은 사포닌을 100% 메탄올에 녹여 stock solution을 검량선용 표준시료로 사용하여 HPLC로 분석하였음. 사포닌 성분에 대한 검출한계(Limit of Detection, LOD)와 정량한계(Limit of Quantification, LOQ)는 표준용액의 크로마토그램을 사용하여 표준편차와 검량선의 기울기에 근거하여 계산하였음.

$$LOD = 3.3 \times (\text{standard deviation/slope of calibration curve})$$

$$LOQ = 10 \times (\text{standard deviation/slope of calibration curve})$$

⑤ 아미노산 분석

- ㉠ 건강기능식품공전 III. 건강기능식품 시험법 중 III.3.3.2 아미노산 시험법에 준함.

⑥ 샘플추출방법

㉠ 구성아미노산분석

- 일정량의 시료를 4 mL Vial 에 취한 후 마개 달린 40 mL 시험관에 0.05% 2-머캅토에탄올 함유 6N 염산 400 μ l를 첨가 한 후, 시료를 취한 4 mL 시험관을 40 mL 시험관을 넣고 마개를 닫음. 건조기 105~110°C에서 22-24시간 가수분해하였음. 가수분해 된 4

mL 시험관 안의 시료를 0.02N 염산을 이용하여 50 mL 부피플라스크 에 옮긴 후 30분 간 초음파 추출한 후 실온으로 냉각하여 0.02N 염산으로 정용한 후 0.45 μ m syringe filter로 여과 후 기기분석하였음.

⑦ 유리아미노산분석

㉠ 일정량의 시료를 50 mL 부피플라스크에 정밀히 취하여 0.02N 염산을 가하여 시료를 녹여 30분간 초음파 추출한 후 실온으로 냉각하여 0.02N 염산으로 정용한 후 0.45 μ m syringe filter로 여과 후 기기분석하였음.

표 9. 아미노산 분석을 위한 HPLC의 실험조건

Parameters	Conditions																										
Column	Capcell Pak C18 UG (5 μ m, 4.6mm \times 250mm)																										
Mobile phase	A: 40 mM NaH ₂ PO ₄ (pH 7.8) B: ACN : MeOH : DW = 45:45:10																										
Gradient mode	<table border="1"> <thead> <tr> <th>time(min)</th> <th>A</th> <th>B</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>95</td> <td>5</td> </tr> <tr> <td>31</td> <td>44</td> <td>56</td> </tr> <tr> <td>33</td> <td>44</td> <td>56</td> </tr> <tr> <td>34</td> <td>0</td> <td>100</td> </tr> <tr> <td>38</td> <td>0</td> <td>100</td> </tr> </tbody> </table>	time(min)	A	B	0	95	5	31	44	56	33	44	56	34	0	100	38	0	100								
	time(min)	A	B																								
	0	95	5																								
	31	44	56																								
	33	44	56																								
	34	0	100																								
38	0	100																									
Flow rate	1.5 mL/min																										
Injection volume	Program																										
	<table border="1"> <tbody> <tr><td>1</td><td>Draw 5μL from vial 2</td></tr> <tr><td>2</td><td>Draw 1μL from Sample</td></tr> <tr><td>3</td><td>Mix 6 μL in Air, max.speed for 2 times</td></tr> <tr><td>4</td><td>Wait 0.5min</td></tr> <tr><td>5</td><td>Draw 0μL from vial 4</td></tr> <tr><td>6</td><td>Draw 1μL from vial 1</td></tr> <tr><td>7</td><td>Mix 7 μL in Air, max speed for 6 times</td></tr> <tr><td>8</td><td>Draw 0μL from vial 4</td></tr> <tr><td>9</td><td>Draw 1μL from vial 3</td></tr> <tr><td>10</td><td>Mix 8μL in Air, max speed for 6 times</td></tr> <tr><td>11</td><td>Draw 16μL from vial 5</td></tr> <tr><td>12</td><td>Mix 24 μL in Air, max speed for 6 times</td></tr> <tr><td>13</td><td>Inject</td></tr> </tbody> </table>	1	Draw 5 μ L from vial 2	2	Draw 1 μ L from Sample	3	Mix 6 μ L in Air, max.speed for 2 times	4	Wait 0.5min	5	Draw 0 μ L from vial 4	6	Draw 1 μ L from vial 1	7	Mix 7 μ L in Air, max speed for 6 times	8	Draw 0 μ L from vial 4	9	Draw 1 μ L from vial 3	10	Mix 8 μ L in Air, max speed for 6 times	11	Draw 16 μ L from vial 5	12	Mix 24 μ L in Air, max speed for 6 times	13	Inject
	1	Draw 5 μ L from vial 2																									
	2	Draw 1 μ L from Sample																									
	3	Mix 6 μ L in Air, max.speed for 2 times																									
	4	Wait 0.5min																									
	5	Draw 0 μ L from vial 4																									
	6	Draw 1 μ L from vial 1																									
	7	Mix 7 μ L in Air, max speed for 6 times																									
	8	Draw 0 μ L from vial 4																									
	9	Draw 1 μ L from vial 3																									
	10	Mix 8 μ L in Air, max speed for 6 times																									
	11	Draw 16 μ L from vial 5																									
	12	Mix 24 μ L in Air, max speed for 6 times																									
13	Inject																										
<table border="1"> <tbody> <tr><td>Vial 1</td><td>OPA reagent</td></tr> <tr><td>Vial 2</td><td>Borate buffer</td></tr> <tr><td>Vial 3</td><td>Fmoc reagent</td></tr> <tr><td>Vial 4</td><td>DW</td></tr> <tr><td>Vial 5</td><td>DW</td></tr> </tbody> </table>	Vial 1	OPA reagent	Vial 2	Borate buffer	Vial 3	Fmoc reagent	Vial 4	DW	Vial 5	DW																	
Vial 1	OPA reagent																										
Vial 2	Borate buffer																										
Vial 3	Fmoc reagent																										
Vial 4	DW																										
Vial 5	DW																										
Column oven Temp.	40 $^{\circ}$ C																										
Wavelength	262 nm, 338nm																										

(나) 결과

① 레스베라트롤 분석 결과

㉔ 땅콩새싹 재배조건에 따른 레스베라트롤 성분 분석

- 재배 조건 (30, 45, 60일 톱밥 발효)을 달리하여 톱밥배지에서 9일 재배한 땅콩새싹의 기능성 성분 함량을 분석하였음. 시료는 50% 메탄올로 추출한 땅콩새싹 건채, 땅콩새싹 동결건조 추출액을 사용하여 땅콩새싹의 주요 지표물질인 레스베라트롤 성분을 비교·분석하였음 (그림 77).

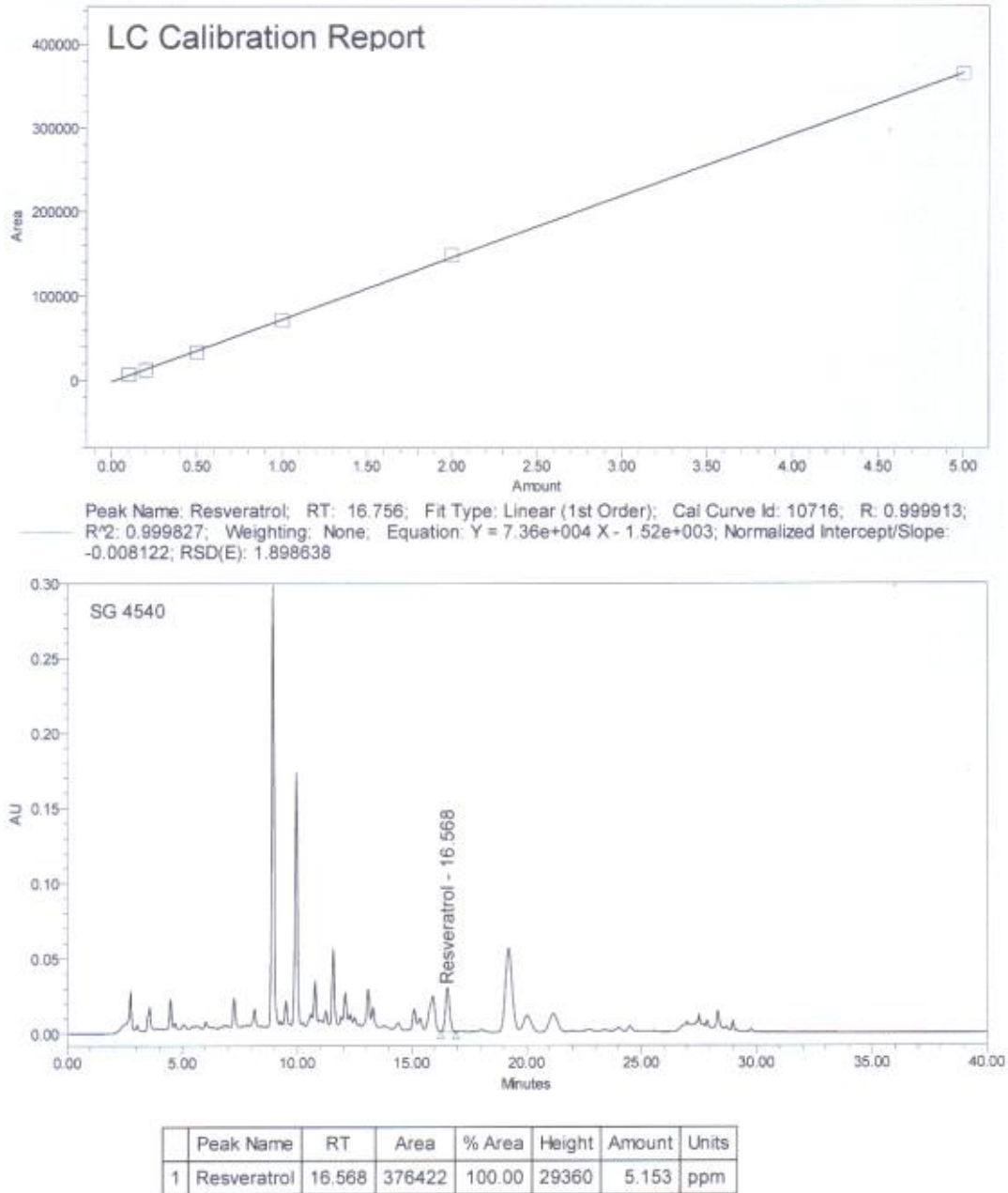


그림 77. HPLC of rasveratrol of peanut sprouts

- 예비실험을 통하여 수경재배 땅콩새싹 건채 (9일)와 60일 발효 톱밥에 9일 재배한 땅콩새싹 건채에 대한 레스베라트롤의 성분 분석 결과 수경재배 땅콩새싹 건채 시료의 레스베라트롤의 함량은 4.34 $\mu\text{g/g}$, 톱밥재배 땅콩새싹 건채 시료의 레스베라트롤의 함량은 $21.43 \pm 0.85 \mu\text{g/g}$ 이 검출되었음 (표 10). 또한 30, 45, 60일 발효 톱밥에 9일 재배한 땅콩새싹 동결건조 시료의 레스베라트롤의 함량은 각각 $14.85 \pm 1.23 \mu\text{g/g}$,

19.62±2.33 $\mu\text{g/g}$, 34.84±1.96 $\mu\text{g/g}$ 였음. 결론적으로 톱밥재배 땅콩새싹 건채의 경우 수경재배 땅콩새싹 보다 레스베라트롤의 함량이 약 5배 이상, 60일 발효 톱밥에 9일 재배한 땅콩새싹 동결건조의 경우 수경재배 보다 약 8배 이상 높은 함량을 나타내었음. 이의 결과를 바탕으로 톱밥재배 땅콩새싹 동결건조 시료의 경우 톱밥 발효 기간이 경과함에 따라 레스베라트롤의 함량이 증가하는 것으로 나타났음 (그림 78).

표 10. Resveratrol contents of fresh, dry or freeze-drying peanut sprouts on different growth cycle

Samples		Resveratrol contents ($\mu\text{g/g}$)
땅콩새싹 건채	D 60	21.43±0.85 ^b
	DF 30	14.85±1.23 ^c
땅콩새싹 동결건조	DF 45	19.62±2.33 ^b
	DF 60	34.84±1.96 ^a

Data values were expressed as mean±SD of triplicate determinations.

The different letters denote significantly different ($p<0.05$) determined by Duncan's multiple test

D60: 60일 발효 톱밥에 9일 재배한 땅콩새싹 건채

DF (30, 45, 65): 30, 45, 60일 발효 톱밥에 9일 재배한 땅콩새싹 동결건조 시료

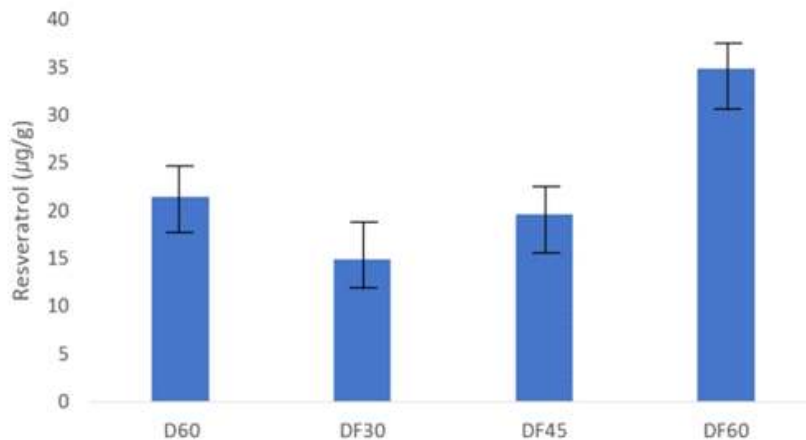


그림 78. 재배 조건을 달리한 땅콩새싹의 레스베라트롤 함량 분석

D60: 60일 발효 톱밥에 9일 재배한 땅콩새싹 건채

DF (30, 45, 65): 30, 45, 60일 발효 톱밥에 9일 재배한 땅콩새싹 동결건조 시료

㉠ 땅콩새싹 가공제품의 레스베라트롤 함량 분석

- 땅콩새싹으로 제조한 땅콩새싹 제품군을 분석한 결과는 표 11와 같음. A 시료는 0.19±0.12 $\mu\text{g/g}$, G는 0.47±0.21 $\mu\text{g/g}$, P는 2.17±0.11 $\mu\text{g/g}$, Y-100은 0.27±0.01 $\mu\text{g/g}$ 로 검출되었음. 액상 차음료 제품의 경우 높은 수분함량(97% 이상)의 제품이며 분석 결과 레스베라트롤이 검출 되지 않았음. 또한 6가지 땅콩새싹 농축 제품 중 SG 4540 분말 제품의 레스베라트롤 함량이 128.50±4.22 $\mu\text{g/g}$ 으로 가장 높게 검출 되었고 농축 액 제품의 경우 레스베라트롤 함량이 ESG는 3.09±0.08 $\mu\text{g/g}$, EDM는 4.60±0.12 $\mu\text{g/g}$ 로 검출되었음. 농축 분말제품 9종의 경우 E-P는 2.77±0.08 $\mu\text{g/g}$, SG 4539는 19.95±0.87 $\mu\text{g/g}$, SG 4540은 45.18±2.45 $\mu\text{g/g}$, 7.11 DM 20%는 10.68±1.24 $\mu\text{g/g}$, 7.11

DM SD%는 9.34±1.21 $\mu\text{g/g}$, 7.20 DM 30%는 57.81±3.54 $\mu\text{g/g}$, 7.20 DM 50%는 50.27±2.45 $\mu\text{g/g}$ 및 SP은 45.35±3.87 $\mu\text{g/g}$ 로 검출되었음. 농축액 제품 보다 분말제품이 높은 레스베라트롤 함량을 나타내었음.

표 11. Resveratrol contents of peanut sprouts product

제품군	Samples	Resveratrol contents ($\mu\text{g/g}$)
농축액 희석제품	A	0.19±0.12 ^f
	G	0.47±0.21 ^f
	P	2.17±0.11 ^e
	Y-100	0.27±0.01 ^f
농축액	ESG	3.09±0.08 ^e
	EDM	4.60±0.12 ^e
	E-P	2.77±0.08 ^e
차	Y	0.00±0.00 ^g
분말	SG 4539	19.95±0.87 ^c
	SG 4540	128.50±4.22 ^a
	SG 4542	45.18±2.45 ^b
	SP	45.35±3.87 ^b
	11 DM 20%	10.68±1.24 ^d
	11 DM 30%	9.34±1.21 ^d
	20 DM 30%	57.81±3.54 ^b
	20 DM 50%	50.27±2.45 ^b

Data values were expressed as mean±SD of triplicate determinations.

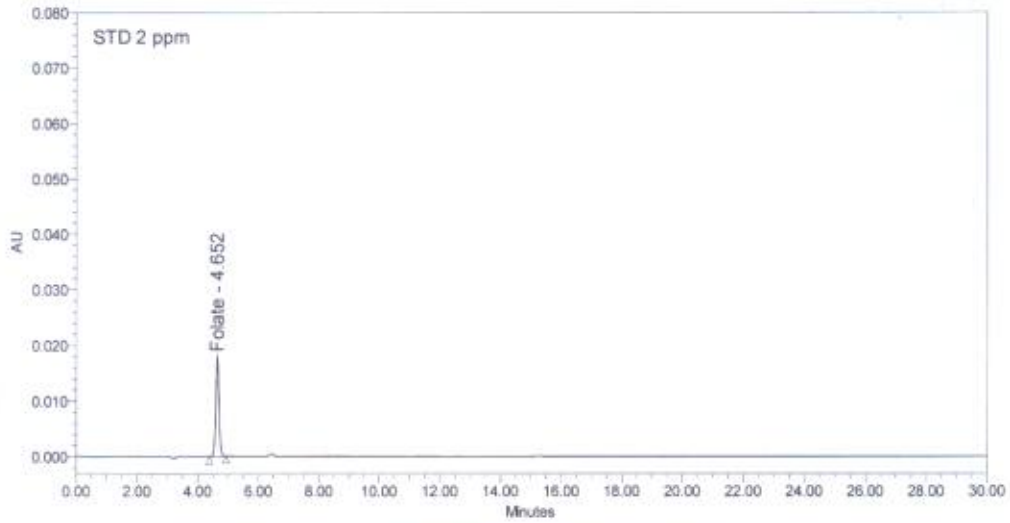
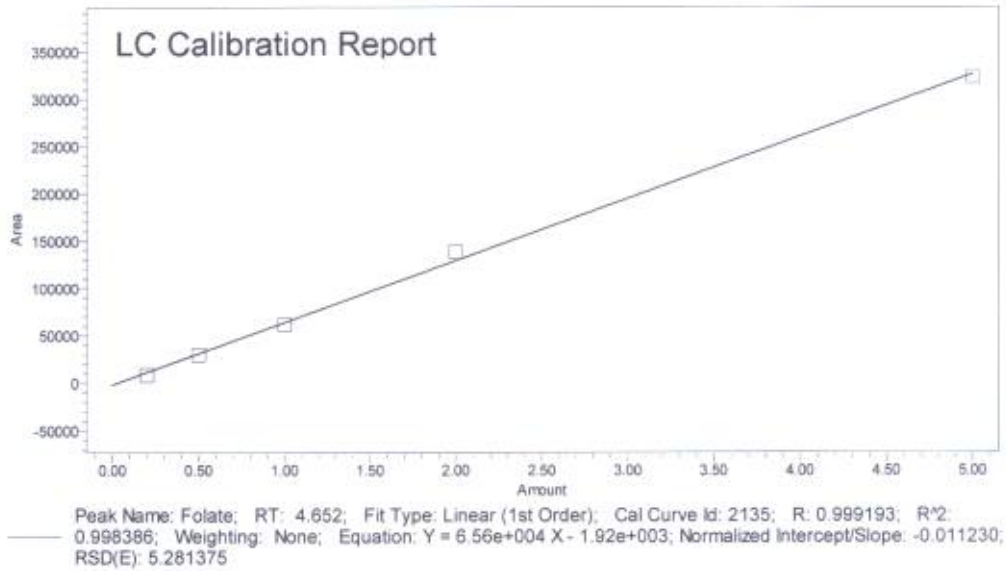
The different letters denote significantly different ($p<0.05$) determined by Duncan's multiple test

A: 아스파라 파워, G:조아조아, P:프리미엄, Y-100:청춘 100세, ESG:농축액 세계, EDM:농축액 다미, E-P:농축액 분말, Y:청춘(차), SG 4539:세계 SD 50% 분말, SG 4540:세계 주정추출 SD 50% 분말, SG 4542:세계 동결건조, SP: SK 바이오랜드 주정추출, 11 DM 20%:7.11 다미 SD 20%, 11 DM 30%:7.11 다미 SD 30%, 20 DM 30%:7.20 다미 주정추출 SD 30%, 20 DM 50%:7.20 다미주정추출SD 50%

② 엽산 함량 분석 결과

㉠ 땅콩새싹 재배조건에 따른 엽산 함량 (그림 79)

- 60일 발효 톱밥에 9일 재배한 땅콩새싹 건체 및 30, 45, 60일 발효 톱밥에 9일 재배한 땅콩새싹 동결건조 시료를 50% 메탄올에 추출하여 분석한 엽산 함량 결과는 표 12과 같음. 땅콩새싹 건체 의 경우 7.26±1.22 $\mu\text{g/g}$ 이 검출 되었으며 발효 30일, 45일, 60일 톱밥 재배한 땅콩새싹 동결 건조한 샘플의 경우 엽산 함량이 각각 9.57±2.11, 9.90±1.78, 11.89±1.35 $\mu\text{g/g}$ 이 검출되었음.



Peak Name	RT	Area	% Area	Height	Amount	Units
1 Folate	4.652	138419	100.00	18254	2.000	ppm

그림 79. HPLC of folate of peanut sprouts

표 12. Folate contents of peanut sprouts on different growth cycle

Samples		folate contents ($\mu\text{g/g}$)
땅콩새싹 건채	D 60	7.26 ± 1.22^a
	DF 30	9.57 ± 2.11^a
땅콩새싹 동결건조	DF 45	9.90 ± 1.78^a
	DF 60	11.89 ± 1.35^a

Data values were expressed as mean \pm SD of triplicate determinations.

The different letters denote significantly different ($p < 0.05$) determined by Duncan's multiple test

D60: 60일 발효 톱밥에 9일 재배한 땅콩새싹 건채

DF (30, 45, 65): 30, 45, 60일 발효 톱밥에 9일 재배한 땅콩새싹 동결건조 시료

㉔ 땅콩새싹 가공제품의 엽산 함량 분석

- 땅콩새싹으로 제조한 땅콩새싹 제품군의 엽산 함량 분석 결과는 표 13와 같음.
- A는 $1.46 \pm 0.04 \mu\text{g/g}$, G는 $1.02 \pm 0.12 \mu\text{g/g}$, P는 $0.44 \pm 0.05 \mu\text{g/g}$, Y-100은 $7.87 \pm 0.93 \mu\text{g/g}$ 로 검출되었고 Y(다류) 같은 경우에는 $0.48 \pm 0.07 \mu\text{g/g}$ 이 검출되었음. 농축액 제품의 경우 ESG, EDM는 각각 $92.17 \pm 5.12 \mu\text{g/g}$, $38.89 \pm 2.45 \mu\text{g/g}$ 로 검출되었음. 농축 분말의 경우 E-P $126.77 \pm 5.12 \mu\text{g/g}$, SG 4539는 $159.12 \pm 3.12 \mu\text{g/g}$, SG 4540은 $181.01 \pm 4.12 \mu\text{g/g}$, SG 4542는 $176.04 \pm 2.41 \mu\text{g/g}$, 11 DM 20%는 $53.25 \pm 2.15 \mu\text{g/g}$, 11 DM 30%는 $62.26 \pm 3.45 \mu\text{g/g}$, 20 DM 30%는 $55.69 \pm 2.79 \mu\text{g/g}$, 20 DM 50%는 $41.93 \pm 4.12 \mu\text{g/g}$ 및 SP 제품은 $62.15 \pm 2.55 \mu\text{g/g}$ 로 검출 되었음. 주정 추출한 제품에서 유의적으로 가장 높은 엽산 함량을 나타내었음. 대체로 분말제품이 농축액상 제품 보다 엽산의 함량이 높게 검출되었음.

표 13. Folate contents of peanut sprouts product

제품군	Samples	folate contents ($\mu\text{g/g}$)
농축액 회석제품	A	1.46 ± 0.04^e
	G	1.02 ± 0.12^e
	P	0.44 ± 0.05^f
	Y-100	7.87 ± 0.93^d
농축액	ESG	92.17 ± 5.12^b
	EDM	38.89 ± 2.45^c
	E-P	126.77 ± 5.12^b
다류	Y	0.48 ± 0.07^f
분말	SG 4539	159.12 ± 3.12^b
	SG 4540	181.01 ± 4.12^a
	SG 4542	176.04 ± 2.41^a
	SP	62.15 ± 2.55^c
	11 DM 20%	53.25 ± 2.15^c
	11 DM 30%	62.26 ± 3.45^c
	20 DM 30%	55.69 ± 2.79^c
	20 DM 50%	41.93 ± 4.12^c

Data values were expressed as mean \pm SD of triplicate determinations.

The different letters denote significantly different ($p < 0.05$) determined by Duncan's multiple test

A: 아스파라 파워, G:조아조아, P:프리미엄, Y-100:청춘 100세, ESG:농축액 세계, EDM:농축액 다미, E-P:농축액 분말, Y:청춘(차), SG 4539:세계 SD 50% 분말, SG 4540:세계 주정추출 SD 50% 분말, SG 4542:세계 동결건조, SP: SK 바이오랜드 주정추출, 11 DM 20%:7.11 다미 SD 20%, 11 DM 30%:7.11 다미 SD 30%, 20 DM 30%:7.20 다미 주정추출 SD 30%, 20 DM 50%:7.20 다미주정추출SD 50%

표 14. Folate methods recovery test, limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ)

Component	Recovery	LOD	LOQ
Folate	93.18%	2.1	5.6

LOD: limit of detection, the lowest analyte concentration that produces a response detentable above the noise level of the system - $(a+3Sa)/b$.

LOQ: quantification limit, the lowest level of analyte that can be accurately and precisely measured - $(a+10Sa)/b$

③ 사포닌 함량 분석 결과

㉞ 땅콩새싹 재배기간에 따른 사포닌 함량 분석 (그림 80)

- 60일 발효 톱밥에 9일 재배한 땅콩새싹 건체 및 30, 45, 60일 발효 톱밥에 9일 재배한 땅콩새싹 동결건조 시료를 100% 메탄올에 추출하여 분석한 사포닌 함량 결과는 다음과 같음 (그림 80).

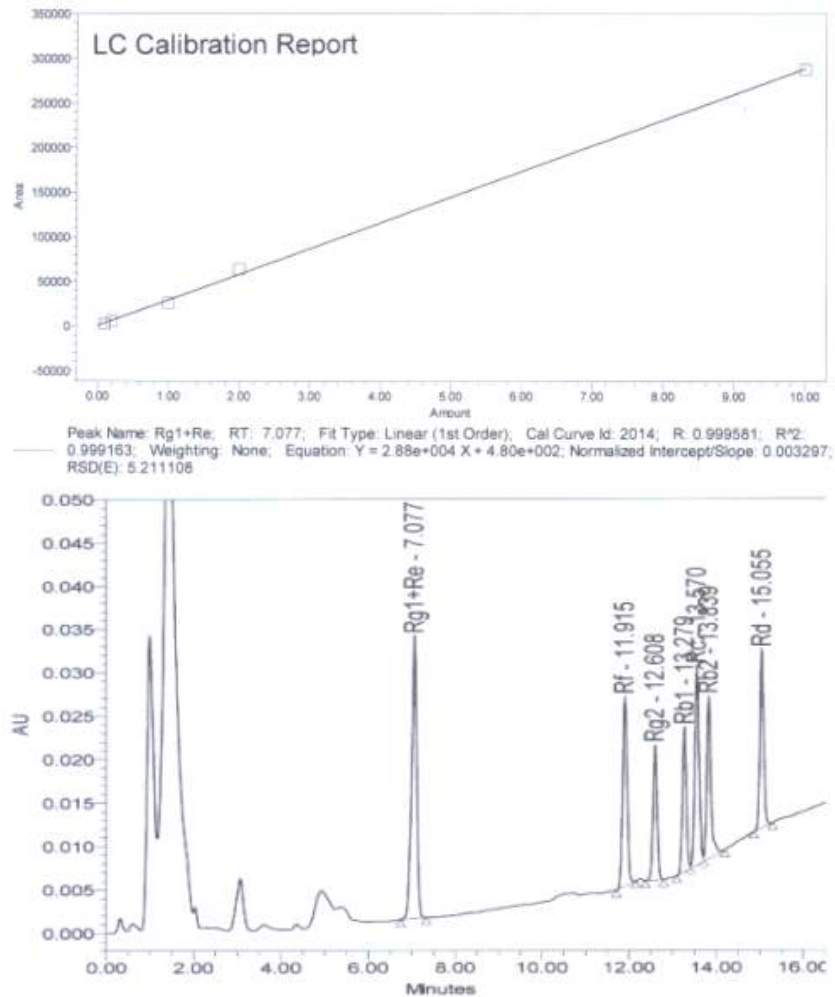


그림 80. HPLC of saponin of peanut sprouts

- 60일 발효 톱밥에 9일 재배한 땅콩새싹 건체의 경우 사포닌 함량이 $130.22 \pm 2.41 \mu\text{g/g}$ 이 검출 되었으며, 30, 45, 60일 발효 톱밥에 9일 재배한 땅콩새싹 동결건조 시료의 경우

톱밥 발효 30일, 45일, 60일 사포닌 함량이 각각 117.25 ± 4.14 , 96.71 ± 2.54 및 82.65 ± 4.21 $\mu\text{g/g}$ 이 검출되었음 (표 15).

표 15. Saponin contents of peanut sprouts on different growth cycle

Samples		Saponin contents ($\mu\text{g/g}$)
땅콩새싹 건채	D 60	130.22 ± 2.41^a
	DF 30	117.25 ± 4.14^a
땅콩새싹 동결건조	DF 45	96.71 ± 2.54^b
	DF 60	82.65 ± 4.21^b

Data values were expressed as mean \pm SD of triplicate determinations.

The different letters denote significantly different ($p < 0.05$) determined by Duncan's multiple test

D60: 60일 발효 톱밥에 9일 재배한 땅콩새싹 건채

DF (30, 45, 65): 30, 45, 60일 발효 톱밥에 9일 재배한 땅콩새싹 동결건조 시료

㉔ 땅콩새싹 가공제품의 사포닌 함량 분석

- 땅콩새싹으로 제조한 땅콩새싹 제품군의 사포닌 함량 분석 결과는 표 16과 같음. A는 20.77 ± 1.21 $\mu\text{g/g}$, G는 25.17 ± 1.42 $\mu\text{g/g}$, P는 64.77 ± 2.14 $\mu\text{g/g}$, Y-100은 30.11 ± 1.54 $\mu\text{g/g}$ 로 검출되었으며, Y(다류) 같은 경우에는 7.59 ± 0.98 $\mu\text{g/g}$ 이 검출되었음. 농축액 제품의 경우 ESG 및 EDM 각각 100.28 ± 2.87 , 237.57 ± 4.12 $\mu\text{g/g}$ 로 검출되었음. 농축 분말의 경우 E-P는 233.78 ± 4.08 $\mu\text{g/g}$, SG 4539는 387.26 ± 1.21 $\mu\text{g/g}$, SG 4540은 335.65 ± 2.48 $\mu\text{g/g}$, SG 4542 제품은 277.98 ± 3.12 $\mu\text{g/g}$, 11 DM 20%는 38.56 ± 1.54 $\mu\text{g/g}$, 11 DM 30%는 127.08 ± 3.42 $\mu\text{g/g}$, 20 DM 30%는 118.17 ± 1.14 $\mu\text{g/g}$, 20 DM 50%는 131.95 ± 3.12 $\mu\text{g/g}$ 그리고 SP 제품은 219.28 ± 2.88 $\mu\text{g/g}$ 로 검출되었음.

표 16. Saponin contents of peanut sprouts product

제품군	Sample	Saponin contents ($\mu\text{g/g}$)
농축액 희석제품	A	20.77 ± 1.21^e
	G	25.17 ± 1.42^e
	P	64.77 ± 2.14^d
	Y-100	30.11 ± 1.54^e
농축액	ESG	100.28 ± 2.87^c
	EDM	237.57 ± 4.12^b
	E-P	233.78 ± 4.08^b
다류	Y	7.59 ± 0.98^f
분말	SG 4539	387.26 ± 1.21^a
	SG 4540	335.65 ± 2.48^a
	SG 4542	277.98 ± 3.12^b
	SP	219.28 ± 2.88^b
	11 DM 20%	38.56 ± 1.54^e

11 DM 20%	127.08±3.42 ^c
11 DM 30%	118.17±1.14 ^c
20 DM 30%	131.95±3.12 ^c

Data values were expressed as mean±SD of triplicate determinations. The different letters denote significantly different ($p < 0.05$) determined by Duncan's multiple test

A: 아스파라 파워, G:조아조아, P:프리미엄, Y-100:청춘 100세, ESG:농축액 세계, EDM:농축액 다미, E-P:농축액 분말, Y:청춘(차), SG 4539:세계 SD 50% 분말, SG 4540:세계 주정추출 SD 50% 분말, SG 4542:세계 동결건조, SP: SK 바이오랜드 주정추출, 11 DM 20%:7.11 다미 SD 20%, 11 DM 30%:7.11 다미 SD 30%, 20 DM 30%:7.20 다미 주정추출 SD 30%, 20 DM 50%:7.20 다미주정추출SD 50%

㉔ 사포닌 분석법 검증

- 사포닌은 stock solution을 검량선용 표준시료를 만들어 HPLC로 분석하였음 (표 17). 이 때 얻어진 사포닌 LOD 값은 각각 2.7 $\mu\text{g/mL}$ 이며, LOQ 값은 각각 6.3 $\mu\text{g/mL}$ 이었음. 이는 시료로부터 사포닌의 분석에 적용할 경우 검출은 2.7 $\mu\text{g/mL}$, 정량은 각각 6.3 $\mu\text{g/mL}$ 수준까지임을 의미함. 본 연구에서 확립한 분석방법은 사포닌의 분석을 위한 검출한계와 정량한계를 검증한 것으로 충분히 활용이 가능할 것으로 사료됨.

표 17. Saponin methods recovery test, limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ)

Component	Recovery	LOD	LOQ
Saponin	89.32%	2.7	6.3

LOD: limit of detection, the lowest analyte concentration that produces a response detectable above the noise level of the system - $(a+3Sa)/b$.

LOQ: quantification limit, the lowest level of analyte that can be accurately and precisely measured - $(a+10Sa)/b$

④ 아미노산 함량 분석 결과

- ㉔ 아미노산 분석은 60일 발효 톱밥에 9일간 재배한 땅콩새싹 생체, 건체, 그리고 땅콩새싹추출물 (sk 바이오랜드 및 세계) 시료를 이용해서 분석함. 분석결과는 표 18와 같음.
- 구성아미노산의 경우 60일 발효 톱밥에 9일 재배한 땅콩새싹 건체에 total 구성아미노산이 198.39 mg/g 으로 가장 많이 검출 되었고 이 중에 글루탐산 및 아스파라긴산이 각각 30.89 mg/g 및 29.85 mg/g이 검출되었음. 땅콩새싹 제품의 경우 땅콩새싹추출물 (세계)의 경우 아스파라긴산 21.22 mg/g이 검출되었음.
 - : 땅콩새싹 생체 보다 건체의 유리 아미노산 함량이 더 높게 검출 되었고 (31.5 mg/g) 두 가지 추출물 시료 중 sk바이오랜드에서 제조한 땅콩새싹 추출물의 유리 아미노산이 더 많이 검출되었음 (51.53 mg/g). 또한 생체 및 건체의 아스파라긴산은 각각 0.28 mg/g, 0.37 mg/g 검출 되었으며, 땅콩새싹추출물 제품의 아스파라긴산은 sk바이오랜드 및 세계 각각 0.60 mg/g, 0.67 mg/g 검출되었음.

표 18. Amino acid contents of peanut sprouts and product

Analysis	Content (mg/g)				
	땅콩새싹(생 채)	땅콩새싹(건 채)	땅콩새싹추출물 (sk바이오랜드)	땅콩새싹추출물 (세계)	
Constituent amino acid	Tyrosine	0.91	5.05	0.52	0.6
	Glycine	1.76	11.37	3.59	4.28
	Serine	1.78	11.21	4.00	4.35
	Alanine	2.14	12.18	6.77	7.13
	Glutamic acid	4.12	30.89	13.21	14.83
	Lysine	1.38	7.93	1.23	1.47
	Leucine	2.00	12.9	2.63	3.07
	Methionine	0.32	1.6	0.52	0.63
	Valin	1.76	10.24	4.06	4.64
	Arginine	2.41	14.88	7.09	6.92
	Aspartic acid	5.23	29.85	19.28	21.22
	Isoleucine	1.20	6.89	2.08	2.35
	Threonine	1.27	7.7	2.16	2.56
	Phenylalanine	1.75	11.23	4.9	5.07
	Proline	2.45	16.8	21.93	19.84
	Histidine	1.06	5.91	2.73	2.56
	Cystine	0.06	0.75	0.27	0.46
	Tryptophan	0.19	1.01	0.53	0.51
	Total	31.79	198.39	97.5	102.49
	Free amino acid	Threonine	0.32	0.95	1.5
Cystine		ND	ND	0.06	0.07
Tyrosine		0.12	0.28	0.5	0.45
Arginine		0.86	2.91	5.24	3.60
Alanine		0.95	2.83	4.24	3.40
Proline		2.66	12.76	22.23	15.57
Lysine		0.07	0.52	0.73	0.46
Histidine		0.48	1.81	2.5	1.41
Isoleucine		0.31	0.68	1.07	0.89
Leucine		0.39	0.63	0.95	0.74
Methionine		0.06	0.23	0.26	0.21
Phenylalanine		0.59	1.78	2.37	1.85
Tryptophan		0.13	0.33	0.52	0.38
Valin		0.58	1.6	2.34	2.00
Glutamic acid		0.54	1.3	2.45	1.82
Aspartic acid		0.28	0.37	0.60	0.67
Serine		0.48	1.71	2.44	1.94
Glycine	0.23	0.81	1.53	1.14	
Total	9.05	31.5	51.53	37.85	

(2) 기능성 원료의 규격 관리를 위하여 기능/지표성분 설정, 분석법 확립 및 시험법 검증

(가) 연구 방법

① 땅콩 새싹 추출물의 표준화를 확인할 수 있는 지표성분인 레스베라트롤을 확인하고 지표성분을 확인할 수 있는 HPLC를 이용한 분석법을 설정하기 위하여 (주)한국기능식품연구원과 함께 교차검증을 실시하였음. 교차검증은 레스베라트롤이 가장 많이 검출된 SG4540 시료를 이용하여 추출용액 메탄올의 농도를 50, 80, 100%로 달리하였으며, syringe filter (Nylon, PTFD) 로 여과하여 HPLC 분석 조건에 따라 진행하였음.

(나) 결과

① 추출용매의 농도에 따른 레스베라트롤 함량 (그림 81)

㉞ 농도를 달리한 메탄올 (50%, 80%, 100%)로 땅콩새싹의 레스베라트롤 함량을 측정한 결과는 표 19과 같음. 추출용매의 농도에 따른 레스베라트롤 함량은 각각 $98.12 \pm 0.56 \mu\text{g/g}$, $100.04 \pm 0.78 \mu\text{g/g}$ 및 $97.36 \pm 0.32 \mu\text{g/g}$ 으로 검출되었으며, 추출농도에 따른 유의적인 차이는 나타나지 않았음. 이에 환경 및 경제적인 조건을 감안하여 땅콩새싹의 레스베라트롤 성분 분석에 50% 메탄올을 추출 용매로 선정하여 분석에 이용하였음.

표 19. Resveratrol contents of peanut sprouts with different extraction concentration

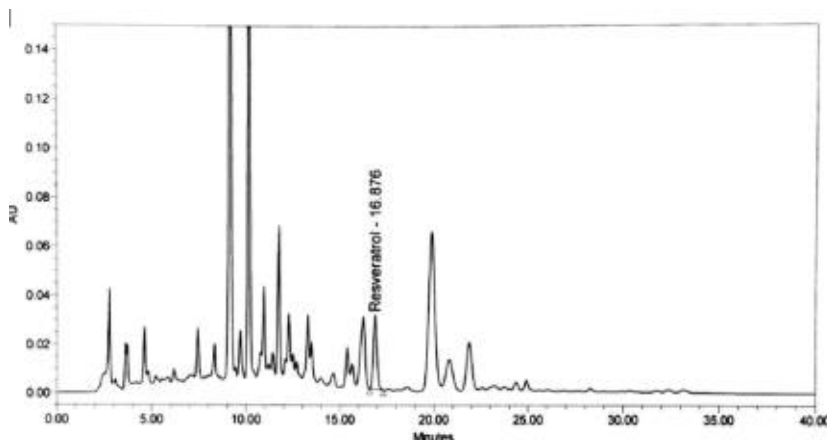
Sample	Resveratrol contents ($\mu\text{g/g}$)
Peanut sprout extract with 50% MeOH	98.12 ± 0.56^a
Peanut sprout extract with 80% MeOH	100.04 ± 0.78^a
Peanut sprout extract with 100% MeOH	97.36 ± 0.32^a

Data values were expressed as mean \pm SD of triplicate determinations. The different letters denote significantly different ($p < 0.05$) determined by Duncan's multiple test

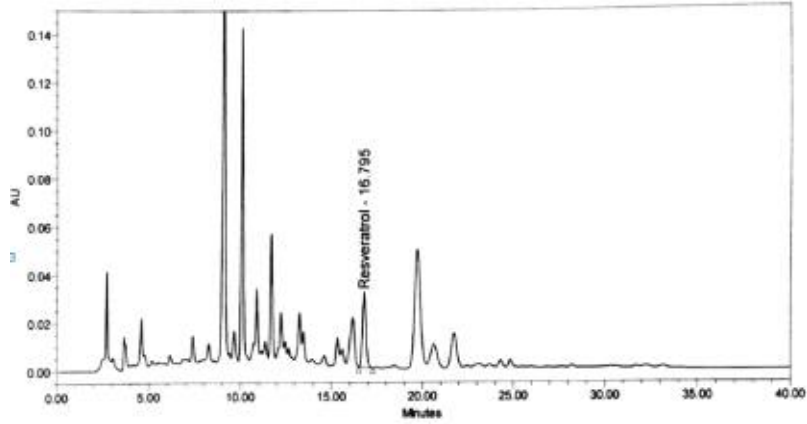
D60: 톱밥 발효 60일 재배한 땅콩새싹 건채

DF(30, 45, 65): 톱밥 발효 30, 45, 60일 재배한 땅콩새싹 동결건조

MeOH 50%



MeOH 80%



MeOH 100%

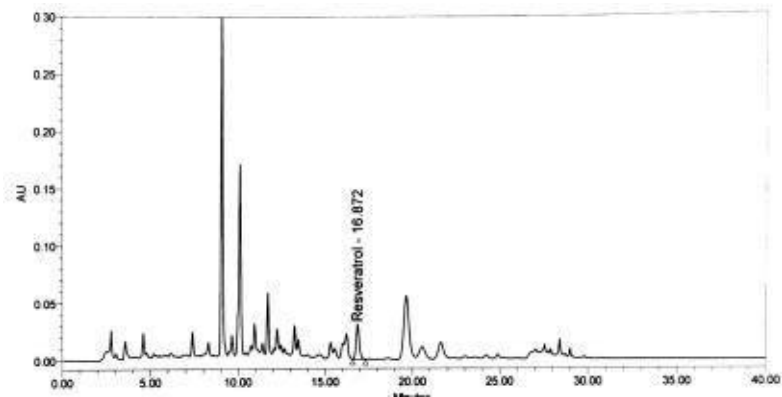


그림 81. HPLC of resveratrol of peanut sprouts extracted with different MeOH concentration

㉞ Syringe filter 종류에 따른 레스베라트롤 함량 (그림 82)

- 땅콩새싹에서 레스베라트롤 성분의 최적 분석 조건을 위해 PTFE와 Nylon syringe filter를 사용하여 예비실험을 시행하였음. 예비시험 가공제품 중 레스베라트롤 성분이 더 높게 검출된 땅콩새싹 가공제품인 SG4540을 시료로 사용하였음. 땅콩새싹 농축제품 SG4540의 50% 메탄올로 추출한 레스베라트롤 함량을 측정한 결과는 표 11과 같음. Nylon syringe filter로 여과한 시료의 레스베라트롤 함량은 $103.96 \pm 1.86 \mu\text{g/g}$ 로 검출되었고 PTFE syringe filter로 여과한 시료의 레스베라트롤 함량 $128.83 \pm 1.02 \mu\text{g/g}$ 으로 검출되었음 ($p < 0.05$). 이러한 결과를 바탕으로 땅콩 새싹의 여과에 PTFE syringe filter를 사용하였음.

표 20. Resveratrol contents of peanut sprouts with different syringe filter

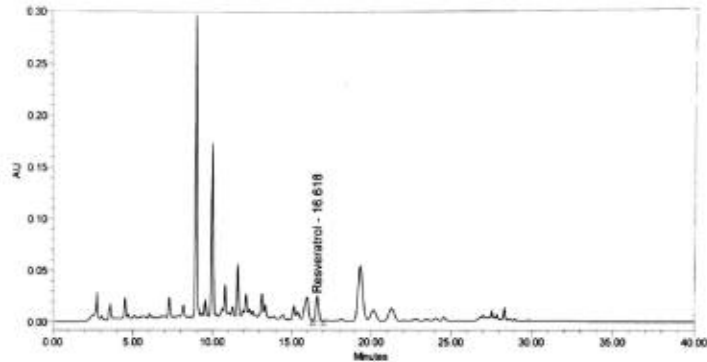
Sample	Resveratrol contents ($\mu\text{g/g}$)
SG 4540 with PTFE syringe filter	128.83 ± 1.02^a
SG 4540 with Nylon syringe filter	103.96 ± 1.86^b

Data values were expressed as mean \pm SD of triplicate determinations.

The different letters denote significantly different ($p < 0.05$) determined by Duncan's multiple test

SG 4540:세계 주정추출 SD 50% 분말

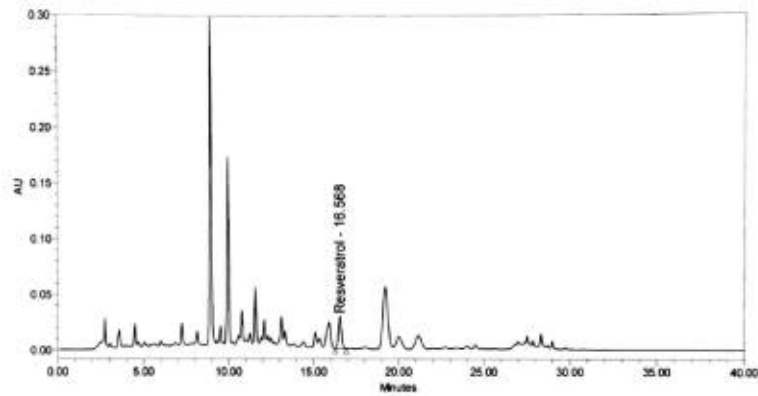
Nylon syringe filter



Peak Name	RT	Area	% Area	Height	Amount	Units
1 Resveratrol	16.618	312145	100.00	24111	4.276	ppm

10.78 ppm

PTFE syringe filter



Peak Name	RT	Area	% Area	Height	Amount	Units
1 Resveratrol	16.568	376422	100.00	29360	5.153	ppm

27.47 ppm

그림 82. HPLC of resveratrol of peanut sprouts with different syringe filter

㉔ 검출성분 단일성 검증

- 설정된 방법으로 검출된 성분의 단일성 확인을 위하여 땅콩 새싹 분말제품을 시료로 사용하였음. 시료로 사용된 제품 (SG4540)과 본 연구에서 사용한 표준물질과 레스베라트롤 성분을 비교한 결과 동일한 retention time에 peak가 측정되었음 (그림 83).

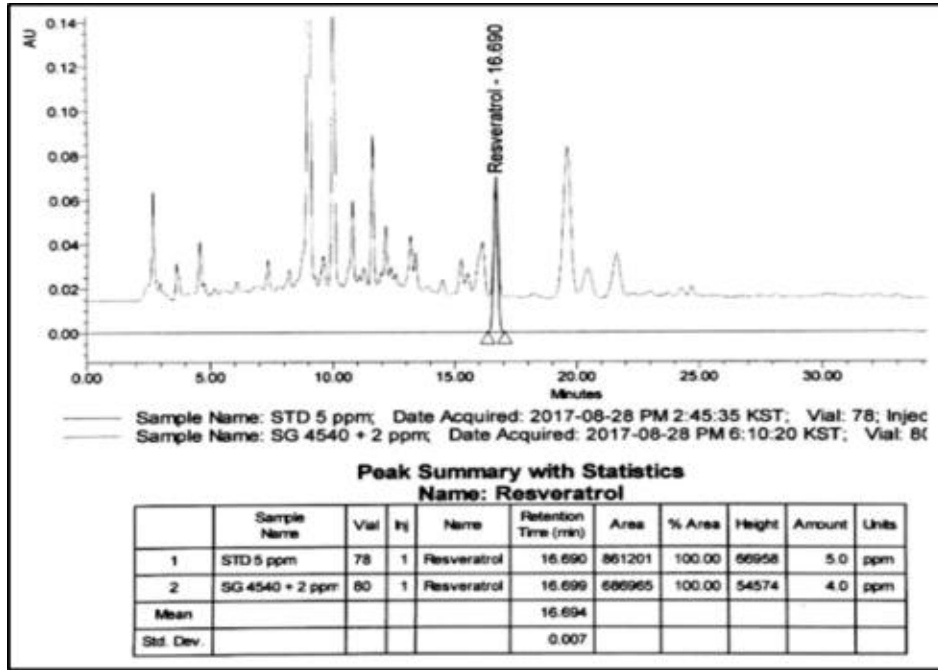


그림 83. 검출성분 단일성 검증

㉔ 레스베라트롤 분석법 검증

- 본 연구에서 확립된 분석방법의 검증을 위하여 레스베라트롤 성분의 검출한계 (LOD)와 정량한계 (LOQ)를 측정하였음(표 21). 레스베라트롤을 100% 메탄올에 녹인 stock solution을 검량선용 표준시료로 사용하여 HPLC로 분석한 결과 레스베라트롤의 LOD값과 LOQ값은 각각 1.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이며, 4.23 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 으로 측정되었음. 이러한 결과는 본 연구에서 확립된 분석법으로 시료의 레스베라트롤 성분을 분석할 경우 검출한계는 1.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 정량한계는 4.23 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 수준까지 가능한 것을 나타낸 것으로 레스베라트롤 성분 분석을 위한 분석방법으로 활용 가능성을 나타냈음.

표 21. Resveratrol methods recovery test, limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ)

Component	Recovery	LOD	LOQ
Resveratrol	99.75%	1.2	4.2

LOD: limit of detection, the lowest analyte concentration that produces a response detectable above the noise level of the system - $(a+3Sa)/b$.

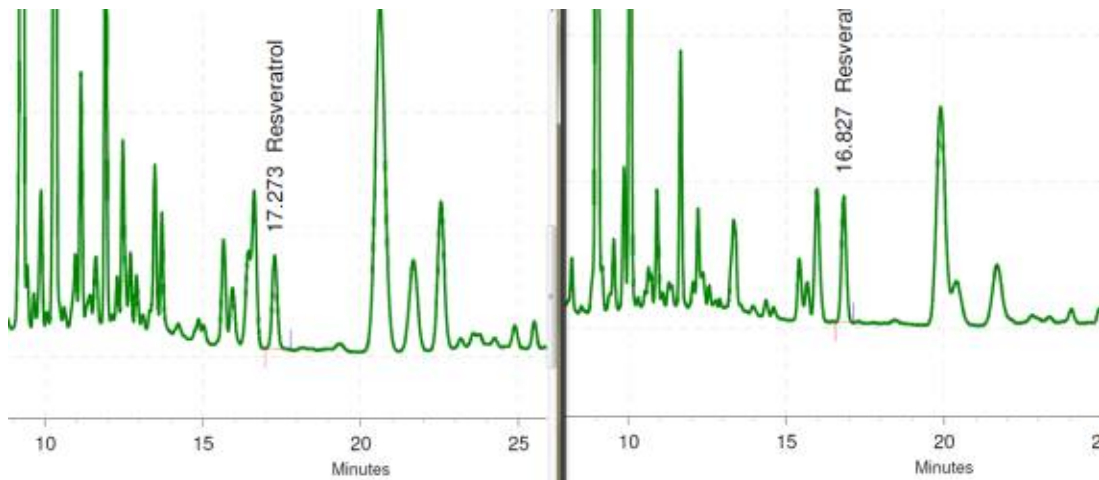
LOQ: quantification limit, the lowest level of analyte that can be accurately and precisely measured - $(a+10Sa)/b$

㉔ HPLC 검출 조건에 따른 레스베라트롤 함량

- HPLC의 Gradient 프로그램을 통하여 레스베라트롤의 피크 분리 및 분석 조건을 설정하고, 반복실험 및 (주)한국기능식품연구원과의 교차 분석을 통하여 HPLC를 이용한 레스베라트롤의 HPLC 최적 분석조건을 확립함 (표 22).

표 22. 레스베라트롤 분석을 위한 HPLC의 실험조건

Parameters	Conditions																														
Column	Capcell Pak C18 MG (5 μ m, 4.6 \times 250 mm)																														
Mobile phase	A: 0.1% 2,2,2-Trifluoroacetic acid(TFA) B: ACN																														
Gradient mode	<table border="1"> <thead> <tr> <th>time(min)</th> <th>A</th> <th>B</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>90</td> <td>10</td> </tr> <tr> <td>10</td> <td>70</td> <td>30</td> </tr> <tr> <td>17</td> <td>75</td> <td>25</td> </tr> <tr> <td>20</td> <td>68</td> <td>32</td> </tr> <tr> <td>23</td> <td>67</td> <td>33</td> </tr> <tr> <td>25</td> <td>30</td> <td>70</td> </tr> <tr> <td>30</td> <td>30</td> <td>70</td> </tr> <tr> <td>35</td> <td>90</td> <td>10</td> </tr> <tr> <td>40</td> <td>90</td> <td>10</td> </tr> </tbody> </table>	time(min)	A	B	0	90	10	10	70	30	17	75	25	20	68	32	23	67	33	25	30	70	30	30	70	35	90	10	40	90	10
	time(min)	A	B																												
	0	90	10																												
	10	70	30																												
	17	75	25																												
	20	68	32																												
	23	67	33																												
	25	30	70																												
	30	30	70																												
	35	90	10																												
40	90	10																													
Flow rate	1 mL/min																														
Injection volume	10 μ L																														
Column oven Temp.	40 $^{\circ}$ C																														
Wavelength	306 nm																														



이전 방법

개선 후

그림 84. HPLC of resveratrol of peanut sprouts with different HPLC detection methods

- (주)한국기능식품연구원과 협의에 의해 설정된 땅콩새싹추출물(세계)의 기능/지표성분인 resveratrol 분석방법에 대하여 특이성, 직선성, 반복성(1차 실험), 재현성(2차 실험)을 확인하기 위하여 분석법을 검토하였음. 반복성과 재현성 실험은 일자를 달리하여 각각 3반복 분석 진행하였음.

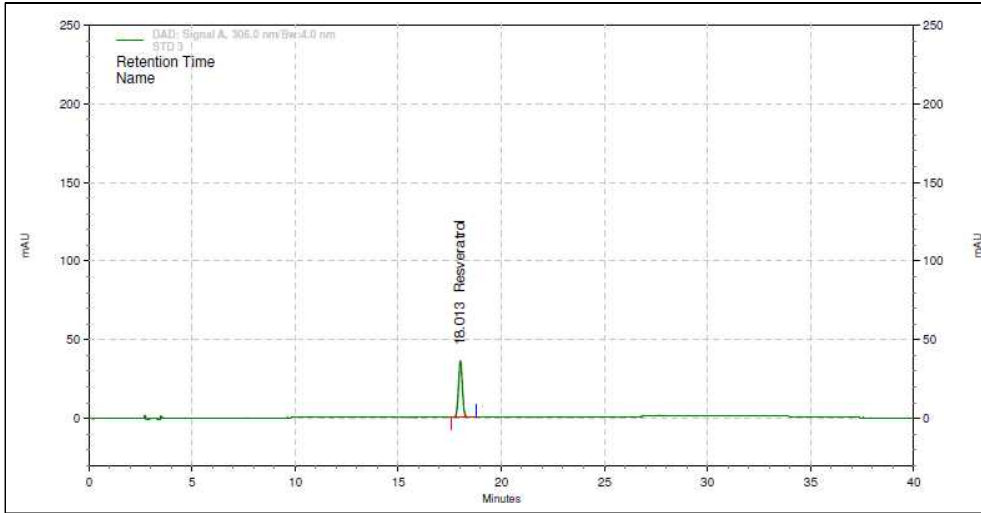
(다) 1차 실험

① Resveratrol의 특이성 확인

② 땅콩새싹추출물 중 resveratrol의 retention time과 peak 분리도 확인

- 표준물질인 resveratrol과 시료를 동일한 분석법으로 분석하여 검출된 peak를 확인하였음. 표준용액과 시험용액이 동일한 시간대(약 18분대)에 peak가 검출되어 동일한 물질임을 확인하였으며, 시험용액에서도 주변 peak와의 분리가 완전히 이루어짐을 확인할 수 있었음 (그림 85).

Standard solution



Peanut sprout extract solution

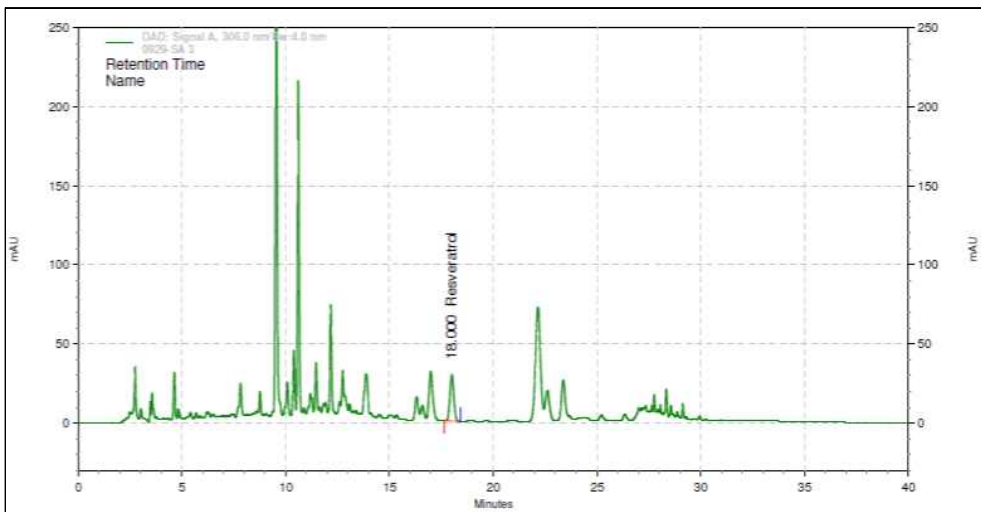
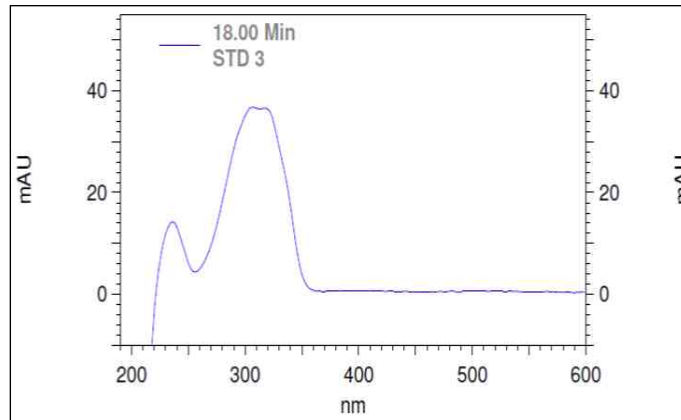


그림 85. Resveratrol HPLC chromatogram of standard solution and peanut sprout extract solution

㉞ 땅콩새싹추출물 중 resveratrol의 spectrum과 peak purity 확인

- 시험용액 중 검출된 resveratrol이 표준용액의 resveratrol과 동일한지 확인하기 위하여 표준용액과 시험용액의 spectrum을 확인하였음. 약 18분대 검출된 peak의 spectrum을 확인한 결과, 표준용액과 시험용액에서 동일한 패턴의 spectrum이 나타남을 확인할 수 있었음 (그림 86).

Standard solution



Peanut sprout extract solution

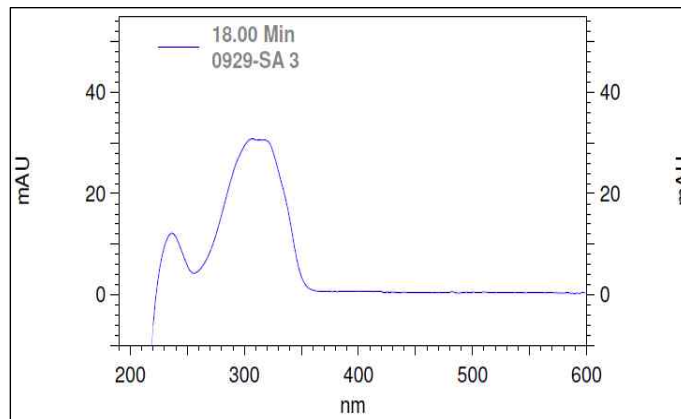
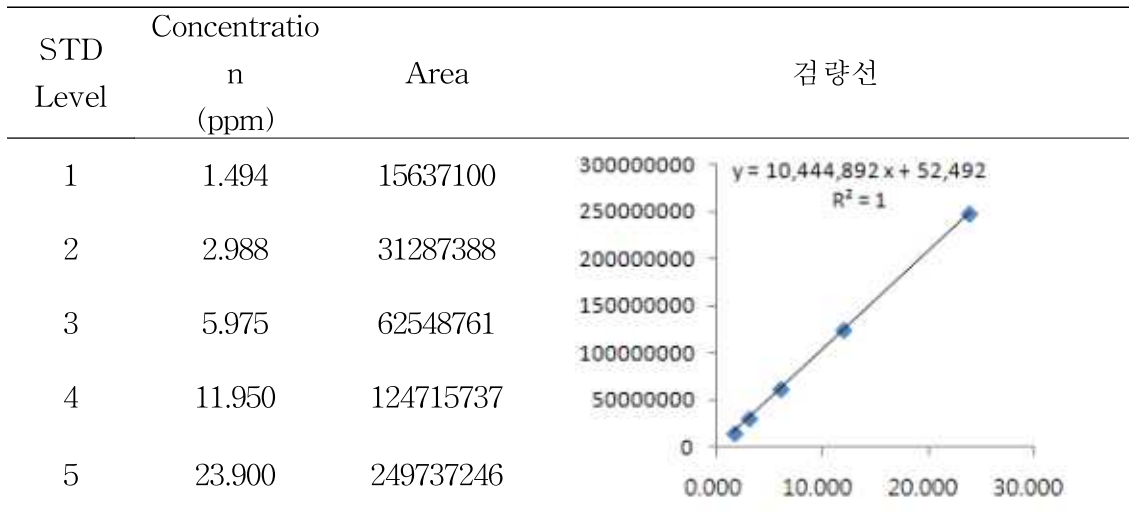


그림 86. Resveratrol spectrum of standard solution and peanut sprout extract solution

㊤ 표준물질 resveratrol의 직선성 확인

- 표준물질인 resveratrol을 취하여 메탄올에 일정량으로 먼저 녹인 후 동량의 증류수를 가하여 최종 50% 메탄올로 정용하여 적절한 농도로 희석, 표준용액을 제조하였음. Resveratrol의 표준용액은 1.494 ~ 23.900ppm 범위에서 직선성이 나타남을 확인하였음 ($R^2 = 1.0000$). 표준용액의 농도에 따른 면적값 및 검량선은 아래 표와 같음 (표 23).

표 23. Resveratrol STD curve



㉔ Resveratrol 분석법의 반복성 확인

- 땅콩새싹추출물 약 1 g을 취한 후 50% 메탄올로 25 mL 정용플라스크에 정용, 30분 동안 초음파 추출하여 땅콩새싹추출물 중 resveratrol의 함량을 산출하였음. 그 결과, 땅콩새싹추출물 중 resveratrol peak는 표준용액과 동일한 시간대에 검출되었고, 그 함량은 120.124±0.043 µg/g으로 편차 없는 결과를 나타냈음 (표 24).

표 24. 땅콩새싹추출물 중 resveratrol의 반복성

No.	시험용액의 농도 (µg/ml)	최종부피 (mL)	시료 채취량 (mg)	희석 배수	표준품 순도 (%)	함량 (µg/g)
1	4.975	25	1035.8	1	1	120.076
2	5.273	25	1097.3	1	1	120.136
3	4.866	25	1012.4	1	1	120.160
평균						120.124±0.043

(라) 2차 실험

① Resveratrol 분석법의 재현성 확인

- ㉔ 반복성 실험과는 다른 날짜에 resveratrol 분석법의 재현성 확인 실험을 진행하였음. 그 결과, 땅콩새싹추출물 중 resveratrol peak는 표준용액과 동일한 시간대에 검출되었고, 함량은 127.531±1.294 µg/g으로 거의 편차 없는 결과를 나타냈음 (표 25).

표 25. 땅콩새싹추출물 중 resveratrol의 재현성

No.	시험용액의 농도 ($\mu\text{g/ml}$)	최종부피 (mL)	시료채취 량 (mg)	희석 배수	표준품 순도 (%)	함량 ($\mu\text{g/g}$)
1	5.728	25	1114.1	1	1	128.534
2	6.060	25	1183.7	1	1	127.989
3	5.596	25	1109.7	1	1	126.070
					평균	127.531 \pm 1.294

- 1차 실험과 2차 실험을 통틀어 볼 때 전체평균값은 123.827 \pm 4.139 $\mu\text{g/g}$ 으로 resveratrol 함량이 미량으로 검출되는 것을 감안한다면 resveratrol 분석법에는 무리가 없는 것으로 사료되었음.
- 이에 따라 (주)한국기능식품연구원과 교차 검증을 통하여 레스베라트롤 분석법으로 선정한 분석 조건의 특이성, 직선성, 정확성, 정밀성 등의 설정을 통해 개발된 분석법을 검증 (Method Validation) 하였음.

㉔ 땅콩새싹 (원재료), 땅콩새싹 추출물 (기능성 원료)의 안전성 확보를 위하여 위해 성분인 곰팡이 독소 (아플라톡신 B1, B2, G1 및 G2 합, 푸모니신, 오크라톡신 A, 데옥시니발레놀, 제랄레논) 등 확인

- 아플라톡신은 고온·다습 환경에서 번식하는 곰팡이(Aspergillus flavus 등)에 의해 생성되는 독소로서 IARC(국제암연구소)에서는 간독성 발암물질로 분류되어 있으며, 땅콩이나 곡류 중의 총 아플라톡신의 기준은 15.0 $\mu\text{g/kg}$ 이하로 특히 B1은 10.0 $\mu\text{g/kg}$ 이하로서 규정되고 있음. 실제 땅콩에 적용되는 곰팡이 독소는 총 아플라톡신(B1, B2, G1 및 G2)이지만 땅콩새싹 재배 시 톱밥에 의해 재배되므로 분석 가능한 곰팡이 독소인 푸모니신(옥수수)와 오크라톡신 A, 데옥시니발레놀, 제랄레논(곡류)을 식품공전 시험방법으로 실시하였음. 원재료인 땅콩새싹은 생채와 건채 두 종류를 분석하였고, 기능성 원료인 땅콩새싹추출물은 두 개의 업체에서 제조된 분말을 분석하였음. 분석 결과, 땅콩새싹 생채, 건채와 땅콩새싹추출물에서는 5가지 항목 모두 불검출로 확인되어 원재료(생채, 건채), 기능성 원료의 곰팡이 독소 오염여부에 대한 안전성은 확인함. 그러나 땅콩새싹 재배과정이나 땅콩새싹추출물의 생산과정 중 곰팡이 독소가 생길 가능성이 높으므로 제조 시 공정별 엄격하게 관리할 필요가 있다고 사료됨. (표 26-28)

표 26. 땅콩새싹(생채)

분석항목	결과
총 아플라톡신(B1, B2, G1 및 G2의 합) ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	불검출
푸모니신 (mg/kg)	불검출
오크라톡신 A($\mu\text{g}/\text{kg}$)	불검출
데옥시니발레놀 (mg/kg)	불검출
제랄레논 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	불검출

표 27. 땅콩새싹(건채)

분석항목	결과
총 아플라톡신(B1, B2, G1 및 G2의 합) ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	불검출
푸모니신 (mg/kg)	불검출
오크라톡신 A($\mu\text{g}/\text{kg}$)	불검출
데옥시니발레놀 (mg/kg)	불검출
제랄레논 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	불검출

표 28. 땅콩새싹추출물(세계)

분석항목	결과
총 아플라톡신(B1, B2, G1 및 G2의 합) ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	불검출
푸모니신 (mg/kg)	불검출
오크라톡신 A($\mu\text{g}/\text{kg}$)	불검출
데옥시니발레놀 (mg/kg)	불검출
제랄레논 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	불검출

- 표준화 작업 시 각 공정 단계별 기능/지표성분 함량 확인(공인분석기관 성적서 발행)

㉔ 다음 표는 각 공정 단계별 resveratrol 함량 수치를 나타낸 것임 (표 29).

표 29. 각 공정단계별 resveratrol 함량

공정 단계	Resveratrol 함량 ($\mu\text{g}/\text{g}$)
땅콩새싹(생채)	0.95
땅콩새싹(건채)	19.56
땅콩새싹추출물(1차 추출액)	4.05
땅콩새싹추출물(2차 추출액)	1.37
땅콩새싹추출물(추출분말, sk바이오랜드)	52.24
땅콩새싹추출물(추출분말, 세계)	138.39

그림 91 - 땅콩새싹추출물(세계)

제 L2017110069 호 분석과전		시험·검사성적서							
제품명	땅콩새싹추출물(세계)	제조일자 (유통기한)							
제뢰인	업체명	농림회사법인주식회사리스베라	성명						
	주소	충청북도 청주시 서원구 남이면 향촌1길 34-13							
제조번호		접수년월일	2017-11-06						
검사의뢰목적	참고용	접수번호	L2017110069						
<p>귀하가 우리 연구원에 시험·검사의뢰한 결과는 다음과 같습니다.</p> <p>시험·검사 완료일: 2017-11-14 시험·검사 책임자: 이경구 검사관련 총 책임자: 김원희</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; margin: 10px 0;"> <thead> <tr> <th style="width: 40%;">시험·검사항목</th> <th style="width: 40%;">시험·검사 결과</th> <th style="width: 20%;">시험·검사원</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>resveratrol(µg/g)</td> <td>138.39 µg/g(137.57, 139.44, 138.16)</td> <td>이순영</td> </tr> </tbody> </table>				시험·검사항목	시험·검사 결과	시험·검사원	resveratrol(µg/g)	138.39 µg/g(137.57, 139.44, 138.16)	이순영
시험·검사항목	시험·검사 결과	시험·검사원							
resveratrol(µg/g)	138.39 µg/g(137.57, 139.44, 138.16)	이순영							
<p>※ 위 관장은 제뢰인 시험·검사 항목만을 대상으로 한 것입니다. ※ 지면이 부족한 경우 시험·검사 및 결과관은 별지로 작성 가능합니다.</p> <p style="text-align: right;">2017년 11월 14일</p> <p style="text-align: center;">한국기농식품연구원</p> <div style="text-align: right; margin-right: 50px;">  </div> <p style="font-size: small; margin-top: 10px;">(사)한국건강기능식품협회 무궁 한국기농식품연구원 http://www.khfi.co.kr 전화번호 02-13628-0400-1</p>									




(3) 추출용매 및 추출 조건을 달리하여 추출한 땅콩새싹 추출물에서 유효성분 함량 분석 및 최적 추출 조건을 설정

(가) 연구방법

① 분석시료

㉞ 설정된 최적 추출용매와 추출 조건을 달리하여 얻어진 땅콩새싹 추출물 시료인 SG 4540 실험실, SG 4540 양산 No. 1, 2, 3, SND 실험실, SND 양산 No. 1, 2, 3 시료를 제공받아 유효성분 함량 분석 및 최적 추출 조건 설정 연구를 수행하였음

㉟ 땅콩새싹 추출물 제조 공정에 따른 유효 성분 함량 분석 및 표준화를 위한 연구수행을 위하여 땅콩새싹 추출물의 1차 추출분, 2차 추출분, 농축액 및 추출분말 시료를 제공받아 연구를 수행하였음.

② 레스베라트롤 분석

㉞ 시료의 레스베라트롤 함량은 1차년도에 결정된 것과 같은 방법을 사용하여 분석을 진행하였음

③ 엽산 분석

㉞ 시료의 엽산 함량은 1차년도에 결정된 것과 같은 방법을 사용하여 분석을 진행하였음

④ 소야사포닌 분석

㉞ 샘플 추출 방법

- 소야사포닌은 Jin 등 (2006) 방법을 변형하여 분석하였음. 샘플 1 g을 칭량한 후, 80% 에탄올 10 mL를 가하여 실온에서 30분간 2번 초음파 추출을 하였음. 추출물을 4°C에서 7800 rpm으로 10분 동안 원심분리하여 상등액 얻었으며, 얻어진 상등액을 80% 에탄올 20 mL로 정용하여 시료로 사용하였음. 정용한 시료는 0.45 µm Nylon syringe filter로 여과하여 HPLC로 분석하였음.

㉟ HPLC 분석조건

- HPLC 분석조건은 Capcell Pak C18 MG (5 µm, 4.6mm×250mm) 컬럼을 사용하여 40°C에서 실시하였음. 이동상은 HPLC급 Water와 Acetonitril(ACN)을 사용하였으며, 이때 유속은 1 mL/min으로 하고, UV 검출기의 파장은 205 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였음 (표 30).

표 30. 소야사포닌 분석을 위한 HPLC의 실험조건

Parameters	Conditions		
Column	Capcell Pak C18 MG (5µm, 4.6mm×250mm)		
Mobile phase	A: 0.05% 2,2,2-Trifluoroacetic acid(TFA) B: ACN		
Gradient mode	time(min)	A	B
	0	63	37
	12	60	40
	25	52	48
	26	0	100
	28	0	100
	33	63	37
	40	63	37
Flow rate	1 mL/min		

Injection volume	20 μ L
Column oven Temp.	40°C
Wavelength	205 nm

㉔ 분석법 검증

- 분석법 검증은 소야사포닌을 100% 메탄올에 녹여 stock solution을 검량선용 표준시료로 사용하여 HPLC로 분석하였음. 소야사포닌 성분에 대한 검출한계 (Limit of Detection, LOD)와 정량한계 (Limit of Quantification, LOQ)는 표준용액의 크로마토그램을 사용하여 표준편차와 검량선의 기울기에 근거하여 계산하였음.

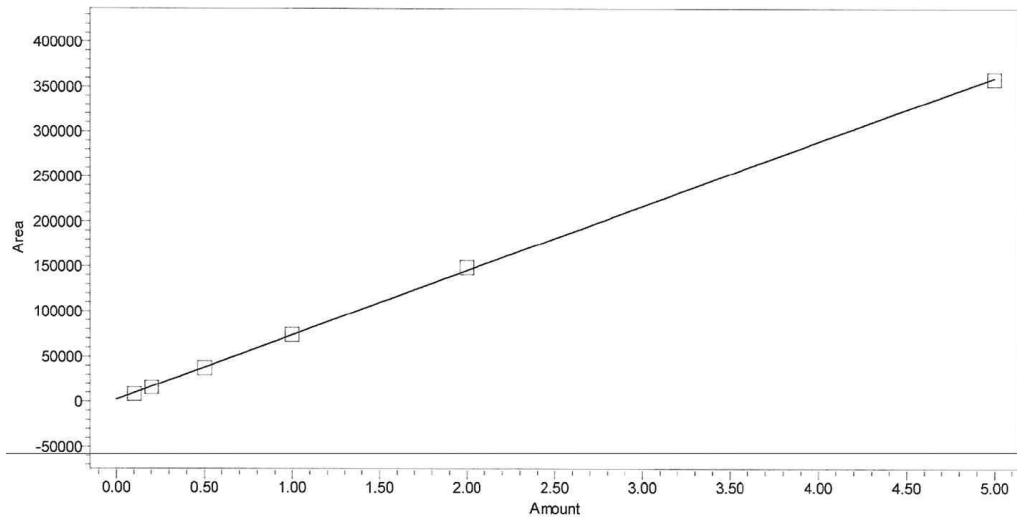
$$\text{LOD} = 3.3 \times (\text{standard deviation/slope of calibration curve})$$

$$\text{LOQ} = 10 \times (\text{standard deviation/slope of calibration curve})$$

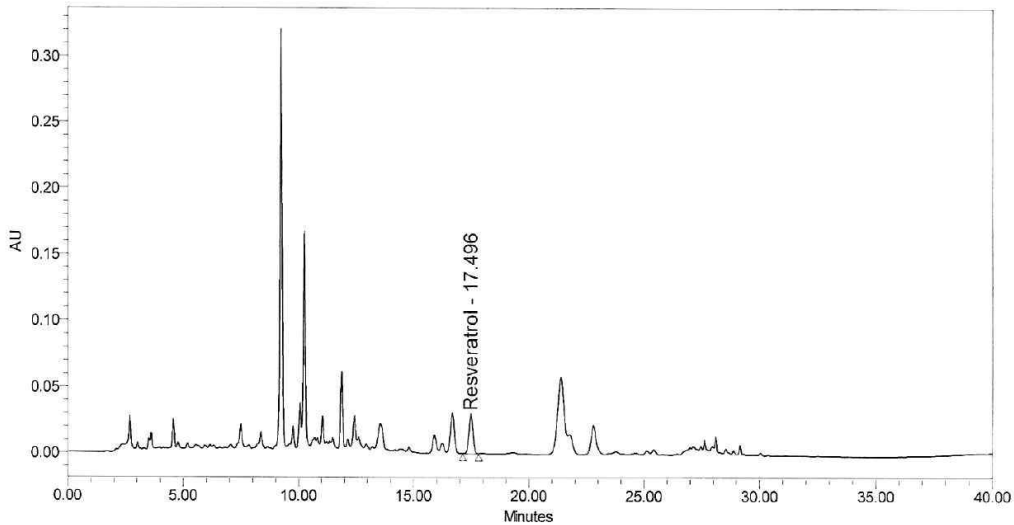
(나) 연구결과

① 레스베라트롤 분석 결과

- ㉔ 땅콩새싹 추출용매 및 추출조건 달리하여 제조한 시료의 레스베라트롤 분석한 크로마토그램은 다음과 같음 (그림 92).



Peak Name: Resveratrol; RT: 17.374; Fit Type: Linear (1st Order); Cal Curve Id: 1818; R: 0.999904; R²: 0.999808; Weighting: None; Equation: $Y = 7.15e+004 X + 2.30e+003$; Normalized Intercept/Slope: 0.012626; RSD(E): 1.929247



	Peak Name	RT	Area	% Area	Height	Amount	Units
1	Resveratrol	17.496	378915	100.00	30490	5.264	ppm

그림 92. HPLC 레스베라트롤 분석

- ㉞ 레스베라트롤을 100% 메탄올에 녹인 stock solution을 검량선용 표준시료로 사용하여 HPLC로 분석한 결과 높은 $R^2=0.9998$ 분석 되었으며, 레스베라트롤의 LOD값과 LOQ 값은 각각 $1.2 \mu\text{g/mL}$ 이며, $4.2 \mu\text{g/mL}$ 으로 측정되었음 (표 31). 이러한 결과는 본 연구에서 확립된 분석법으로 시료의 레스베라트롤 성분을 분석할 경우 검출한계는 $1.2 \mu\text{g/mL}$, 정량한계는 $4.23 \mu\text{g/mL}$ 수준까지 가능한 것을 나타낸 것으로 레스베라트롤 성분 분석을 위한 분석방법으로 활용 가능성을 나타내었음.

표 31. Resveratrol methods recovery test, limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ)

Component	Recovery	LOD	LOQ
Resveratrol	95.54%	1.2	4.2

LOD: limit of detection, the lowest analyte concentration that produces a response detentable above the noise level of the system - $(a+3.3Sa)/b$.

LOQ: quantification limit, the lowest level of analyte that can be accurately and precisely measured - $(a+10Sa)/b$

㉔ 추출 용매 및 추출 조건을 달리한 땅콩새싹 추출물 SG 4540, SG 4540 1, 2, 3, SND 실험실 및 SND 양산 1, 2, 3의 레스베라트롤 함량을 분석한 결과는 표32와 같음.

표 32. 추출용매 및 조건 달리한 SG 4540 및 SND 레스베라트롤 함량

시료	레스베라트롤 함량 ($\mu\text{g/g}$)	
SG 4540	실험실	132.16 \pm 0.96 ^a
	양산1	27.39 \pm 0.15 ^e
	양산2	44.43 \pm 0.24 ^c
	양산3	32.94 \pm 0.16 ^d
SND	실험실	86.18 \pm 0.44 ^b
	양산1	13.42 \pm 0.27 ^g
	양산2	13.11 \pm 0.30 ^g
	양산3	24.45 \pm 0.12 ^f

㉔ 시료 SG 4540 실험실의 레스베라트롤 함량은 132.16 \pm 0.96 $\mu\text{g/g}$ 으로 가장 많이 검출되었음. SG 4540 양산 1,2,3의 레스베라트롤 함량은 각각 27.39 \pm 0.15 $\mu\text{g/g}$, 44.43 \pm 0.24 $\mu\text{g/g}$, 32.94 \pm 0.16 $\mu\text{g/g}$ 이 검출 되었으며, SND 실험실의 레스베라트롤 함량은 86.18 \pm 0.44 $\mu\text{g/g}$ 이 검출되었음. SND 양산 1,2,3는 각각 13.42 \pm 0.27 $\mu\text{g/g}$, 13.11 \pm 0.30 $\mu\text{g/g}$, 24.45 \pm 0.12 $\mu\text{g/g}$ 이 검출되었음. SND 양산 1, 2, 3의 레스베라트롤 함량이 SND 양산은 실험실 보다 약 5배 정도 적게 검출되었음.

② 엽산 함량 분석 결과

㉔ 땅콩새싹 추출용매 및 추출조건 달리하여 제조한 시료의 엽산 분석한 크로마토그램 다음과 같음. (그림 93).

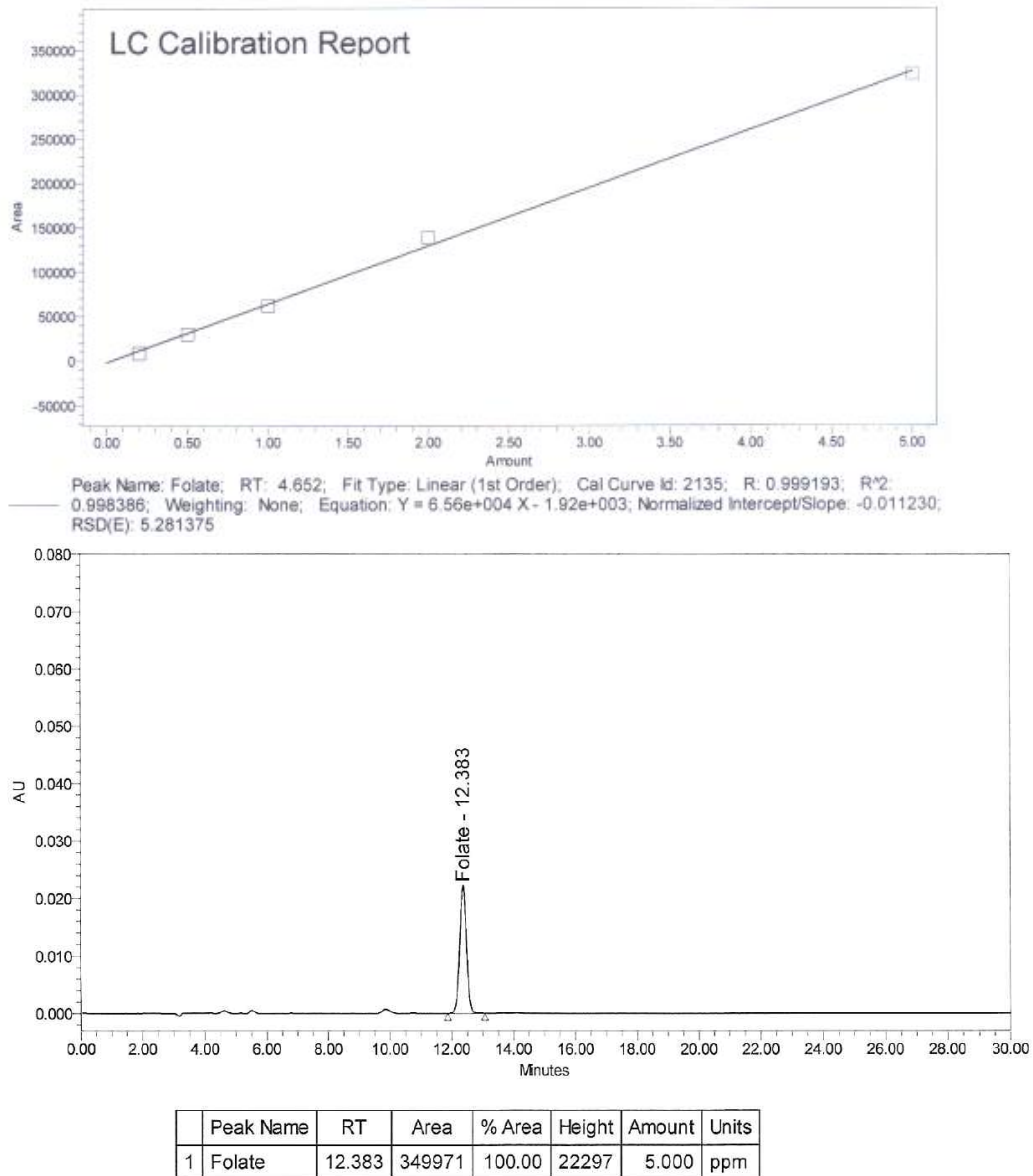


그림 93. HPLC 엽산 분석

④ 엽산은 stock solution을 검량선용 표준시료를 만들어 HPLC로 분석하였다 (표 33). 이 때 검량선용 표준시료를 사용하여 HPLC로 분석한 결과 높은 R²=0.9983을 나타내었음. 측정된 엽산 LOD값은 2.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이며, LOQ 값은 5.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이었음. 이러한 결과는 시료로부터 엽산 분석에 본 연구에서 사용한 방법을 적용할 경우 검출은 2.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 정량한계는 5.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 수준까지임을 의미함. 본 연구에서 확립된 분석방법은 엽산의 분석을 위한 검출한계와 정량한계를 검증한 것으로 충분히 활용이 가능할 것으로 사료됨.

표 33. Folate methods recovery test, limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ)

Component	Recovery	LOD	LOQ
Folate	92.76%	2.3	5.2

LOD: limit of detection, the lowest analyte concentration that produces a response detentable above the noise level of the system - $(a+3.3Sa)/b$.

LOQ: quantification limit, the lowest level of analyte that can be accurately and precisely measured - $(a+10Sa)/b$

㉔ 추출 용매 및 추출 조건 달리한 조건을 달리한 땅콩새싹 추출물 SG 4540, SG 4540 1, 2, 3, SND 실험실 및 SND 양산 1, 2, 3의 엽산함량을 분석한 결과는 표34와 같음.

표 34. 추출용매 및 조건 달리한 SG 4540 및 SND 엽산 함량

시료	엽산 함량 ($\mu\text{g/g}$)	
SG 4540	실험실	192.32 \pm 5.23 ^a
	양산1	143.21 \pm 8.17 ^b
	양산2	157.59 \pm 3.14 ^b
	양산3	120.17 \pm 9.52 ^c
SND	실험실	105.81 \pm 5.75 ^a
	양산1	97.22 \pm 1.25 ^b
	양산2	101.54 \pm 2.27 ^a
	양산3	84.55 \pm 6.42 ^c

㉔ SG 4540 실험실의 엽산 함량은 192.32 \pm 5.23 $\mu\text{g/g}$, SG 4540 양산 1,2,3의 엽산 함량은 각각 143.21 \pm 8.17 $\mu\text{g/g}$, 157.59 \pm 3.14 $\mu\text{g/g}$, 120.17 \pm 9.52 $\mu\text{g/g}$ 이 검출되었음. SND 실험실의 엽산 함량은 105.81 \pm 5.75 $\mu\text{g/g}$ 이 검출되었고, SND 양산 1,2,3의 엽산 함량은 각각 97.22 \pm 1.25 $\mu\text{g/g}$, 101.54 \pm 2.27 $\mu\text{g/g}$, 84.55 \pm 6.42 $\mu\text{g/g}$ 검출되었음.

㉓ 소야사포닌 함량 분석 결과

㉔ 땅콩새싹 추출용매 및 추출조건 달리하여 제조한 시료의 소야사포닌 분석한 크로마토그램 다음과 같음. (그림 94)

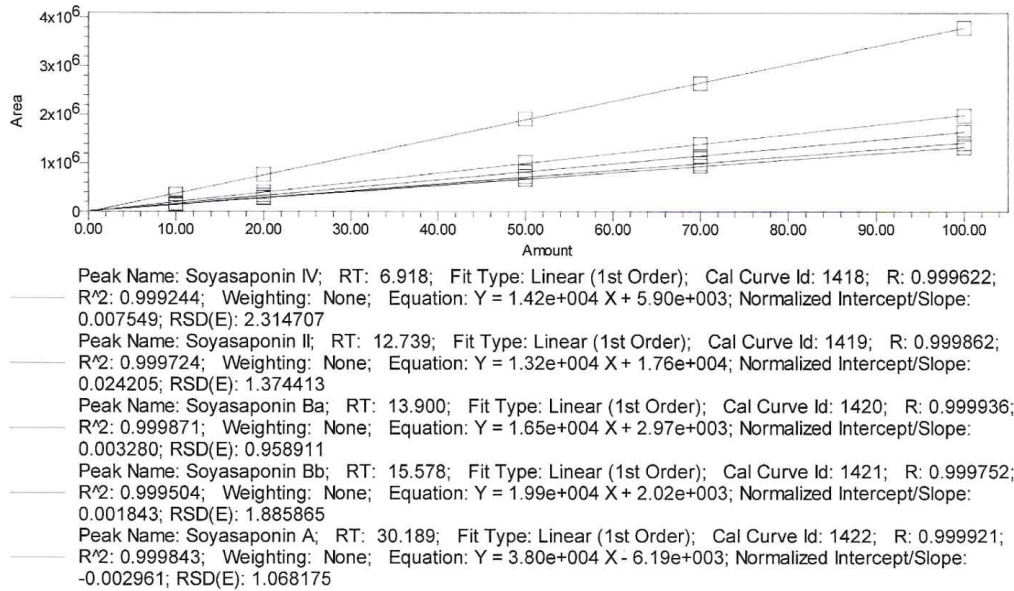


그림 94. HPLC 소야사포닌 분석

㉔ 소야사포닌은 stock solution을 검량선용 표준시료를 만들어 HPLC로 분석하였음 (표 35). 이때 검량선용 표준시료로 사용하여 HPLC로 분석한 결과 높은 R²=0.9992-0.9998 분석 되었으며 얻어진 염산 LOD값은 6.21 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이며, LOQ 값은 12.27 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이었음. 이러한 결과는 시료로부터 소야사포닌의 분석에 적용할 경우 검출은 6.21 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 정량은 각각 12.27 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 수준까지임을 의미함. 본 연구에서 확립한 분석방법은 소야사포닌의 분석을 위한 검출한계와 정량한계를 검증한 것으로 충분히 활용이 가능할 것으로 사료됨.

표 35. Soyasaponin methods recovery test, limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ)

Component	Recovery	LOD	LOQ
Soyasaponin	85.12	6.21	12.27

LOD: limit of detection, the lowest analyte concentration that produces a response detentable above the noise level of the system - $(a+3.3Sa)/b$.

LOQ: quantification limit, the lowest level of analyte that can be accurately and precisely measured - $(a+10Sa)/b$

㉔ 추출 용매 및 추출 조건 달리한 추출물 SG 4540 실험실, SG 4540 양산 1,2,3, SND 실험실 및 SND 양산 1,2,3을 분석한 결과는 표36과 같음.

표 36. 추출용매 및 조건 달리한 SG 4540 및 SND 소야사포닌 함량

시료		소야사포닌 함량 (mg/g)
SG 4540	실험실	1.52±0.12 ^c
	양산1	1.75±0.08 ^b
	양산2	1.87±0.20 ^a
	양산3	1.81±0.14 ^a
SND	실험실	1.77±2.10 ^c
	양산1	2.10±0.02 ^b
	양산2	1.92±0.11 ^b
	양산3	2.43±0.04 ^a

Ⓣ SG 4540 실험실의 소야사포닌 함량은 1.52±0.12 mg/g, SG 4540 1,2,3 양산의 소야사포닌 함량은 각각 1.75±0.08 mg/g, 1.87±0.20 mg/g, 1.81±0.14 mg/g이 검출되었음. SND 실험실의 소야사포닌 함량은 1.77±2.10 mg/g이 검출되었고, SG 4540 1,2,3시료의 소야사포닌 함량은 각각 2.10±0.02 mg/g, 1.92±0.11 mg/g, 2.43±0.04 mg/g이 검출되었음.

(4) 제조공정을 달리하여 추출한 땅콩새싹 추출물에서 유효 성분 함량 분석 및 이를 통한 최적 추출 조건 설정

(가) 땅콩새싹 추출물의 제조공정별 레스베라트롤 함량 분석

① 제조 공정에 따라서 땅콩새싹 추출물을 1차 추출분, 2차 추출분, 농축액 및 추출분말로 처리한 시료 (시료 No. 1, 2, 3 과 Lot 1, 2, 3)의 레스베라트롤 함량을 분석한 결과는 표 37과 같음.

표 37. 제조 공정에 따른 땅콩새싹 추출물의 레스베라트롤 함량

제조 공정	시료	레스베라트롤 함량 (μg/g)
1차 추출분	No.1)	2.00±0.01 ^a
	No.2)	1.57±0.01 ^b
	No.3)	1.68±0.02 ^b
2차 추출분	No.1)	0.46±0.00 ^a
	No.2)	0.25±0.01 ^c
	No.3)	0.35±0.00 ^b
농축액	No.1)	8.20±0.08 ^b
	No.2)	7.86±0.04 ^b
	No.3)	9.07±0.02 ^a

	Lot 1	13.23±0.18 ^b
추출 분말	Lot 2	13.35±0.48 ^b
	Lot 3	22.78±0.54 ^a

① 땅콩새싹 추출물의 제조 공정에 따른 시료의 레스베라트롤 함량 측정 결과 1차 추출분의 경우 No1에서 2.00 $\mu\text{g/g}$ 으로 가장 높게 검출 되었으며, 2차 추출분 No 1, 2, 3 각각의 시료에서 0.46, 0.25, 0.35 $\mu\text{g/g}$ 이 검출되었음. 농축액의 레스베라트롤 함량은 7.86 - 9.07 $\mu\text{g/g}$ 이 검출 되었음. 1, 2차 추출분 시료 No. 1, 2의 레스베라트롤 함량은 유의적 차이를 나타내었지만 농축액 및 추출 분말 시료의 레스베라트롤 함량은 유의적인 차이를 나타내지 않음. 추출 분말 Lot 1, 2, 3의 라스베라트롤 함량은 각각 13.23±0.18 $\mu\text{g/g}$, 13.35±0.48 $\mu\text{g/g}$, 22.78±0.54 $\mu\text{g/g}$ 가 검출되었음.

(나) 땅콩새싹 추출물 제조공정별 엽산 함량 분석

① 제조 공정에 따라서 땅콩새싹 추출물을 1차 추출분, 2차 추출분, 농축액 및 추출분말로 처리한 시료 (시료 No. 1, 2, 3 과 Lot 1, 2, 3)의 엽산의 함량을 분석한 결과는 표38과 같음.

표 38. 제조 공정에 따른 땅콩새싹 추출물의 엽산 함량

제조 공정	샘플명	엽산 함량 ($\mu\text{g/g}$)
1차 추출분	No.1)	114.92±5.21 ^a
	No.2)	94.48±2.59 ^b
	No.3)	91.07±0.48 ^b
2차 추출분	No.1)	13.79±0.45 ^b
	No.2)	18.90±0.84 ^a
	No.3)	12.75±1.58 ^c
농축액	No.1)	91.94±1.22 ^a
	No.2)	89.98±4.22 ^a
	No.3)	72.85±2.38 ^b
추출 분말	Lot 1	137.22±3.45 ^a
	Lot 2	108.41±1.21 ^c
	Lot 3	125.61±5.12 ^b

② 제조 공정에 따른 시료의 엽산 함량 측정결과 1차 추출분의 엽산 함량은 시료 No1, 2, 3에서 각각 $114.92 \pm 5.21 \mu\text{g/g}$, $94.48 \pm 2.59 \mu\text{g/g}$, $91.07 \pm 0.48 \mu\text{g/g}$ 으로 제조 공정 중 가장 높게 검출 되었으며, No. 2, 3번의 엽산 함량은 유의적인 차이를 나타내지 않았음. 2차 추출분의 엽산 함량은 1차 추출분의 엽산 함량의 약 7-8배 낮게 검출되었음(No1, 2, 3시료에서 각각 $13.79 \pm 0.45 \mu\text{g/g}$, $18.90 \pm 0.84 \mu\text{g/g}$, $12.75 \pm 1.58 \mu\text{g/g}$). 농축액 시료 No1, 2, 3에서 엽산 함량은 각각 $91.94 \pm 1.22 \mu\text{g/g}$, $89.98 \pm 4.22 \mu\text{g/g}$, $72.85 \pm 2.38 \mu\text{g/g}$ 이 검출되었음. 추출 분말 시료 Lot1, 2, 3의 엽산 측정 결과 Lot1의 엽산 함량이 $137.22 \pm 3.45 \mu\text{g/g}$ 으로 가장 많이 검출 되었고 Lot2 와 Lot3은 각각 $108.41 \pm 1.21 \mu\text{g/g}$, $125.61 \pm 5.12 \mu\text{g/g}$ 이 검출되었음.

(다) 땅콩새싹 추출물 제조공정별 소야사포닌 함량 분석

① 제조 공정에 따라서 땅콩새싹 추출물을 1차 추출분, 2차 추출분, 농축액 및 추출분말로 처리한 시료 (시료 No1, 2, 3 과 Lot 1, 2, 3)의 엽산의 함량을 분석한 결과는 표39와 같음.

표 39. 제조 공정에 따른 땅콩새싹 추출물의 소야사포닌 함량

제조 공정	샘플명	소야사포닌 함량 (mg/g)
1차 추출분	No.1)	0.33 ± 0.01^c
	No.2)	0.41 ± 0.01^b
	No.3)	0.53 ± 0.12^a
2차 추출분	No.1)	0.05 ± 0.00^a
	No.2)	0.05 ± 0.01^a
	No.3)	0.03 ± 0.01^b
농축액	No.1)	0.98 ± 0.02^a
	No.2)	1.02 ± 0.32^a
	No.3)	0.91 ± 0.25^b
추출 분말	Lot 1	1.47 ± 0.24^a
	Lot 2	1.24 ± 0.08^b
	Lot 3	1.63 ± 0.01^a

② 제조 공정에 따른 시료의 소야사포닌의 함량 측정결과 1차 추출분의 소야사포닌 함량이 가장 많이 검출 되었으며, No1, 2, 3에서 각각 $0.33 \pm 0.01 \text{ mg/g}$, $0.41 \pm 0.01 \text{ mg/g}$, $0.53 \pm 0.12 \text{ mg/g}$ 이 검출되었음. 2차 추출분의 소야사포닌 함량은 1차 추출분과 비교하면 약 6-7배 정도 적게 검출 되었으며, No. 1 와 No. 2의 소야사포닌 함량은 유의적인 차이를 나타내지 않음. 농축액 시료 No1, 2, 3의 소야사포닌 함량은 각각 $0.98 \pm 0.02 \text{ mg/g}$, $1.02 \pm 0.32 \text{ mg/g}$, $0.91 \pm 0.25 \text{ mg/g}$ 이 검출되었음. 추출 분말 시료 Lot1, 2, 3의 소야사포닌 검출 결과 Lot3의 소야사포닌 함량이 $1.63 \pm 0.01 \text{ mg/g}$ 가장 많이 검출 되었고 Lot1, 2에서 각각

1.47±0.24 mg/g, 1.24±0.08 mg/g이 검출되었음.

(5) 땅콩새싹추출물의 기준·규격 설정

(가) 기능성 원료의 표준화를 위하여 성상, 기능/지표성분, 중금속(납, 카드뮴, 총비소, 총수은), 미생물(대장균군) 등의 규격을 설정

① 성상

㉞ 식품공전 제 7. 일반시험법 7.1 성상시험법(관능시험법) 한국표준색이름(산업자원부 기술 표준원) 참조하여 평가하였음. Lot.1, 2, 3 모두 이미, 이취가 없고 고유의 향미가 있는 회황색의 분말로 나타났음.

㉟ 땅콩새싹추출물의 기준 규격을 설정하기 위하여 Lot 시료를 각각 3반복 분석한 결과(표 40)를 토대로 Resveratrol의 함량 범위를 구하였다. 전체 평균±SD, 평균의 80~120%, 각 Lot별 하한치~상한치를 분석하여 Lot 별 함량을 모두 포함할 수 있는 기준규격으로 20.00 µg/g의 70%~130%인 14.00~26.00 µg/g으로 설정하였다. Resveratrol의 함량의 경우 미량이고 Lot 간 함량 편차도 커서 Lot를 추가적으로 생산하여 좀 더 검토하여 규격 설정을 할 필요가 있다고 사료됨.

표 40. Lot 별 Resveratrol의 함량 분석결과

	Lot No.	1	2	3	4	5	6	평균
	반복수							
Resveratrol 함량(µg/g)	1	15.91	15.79	25.64	22.27	18.94	18.57	19.54±3.56
	2	15.97	15.90	25.38	22.36	18.85	18.52	
	3	16.11	15.84	25.75	22.29	19.04	18.58	
	평균	16.00	15.84	25.59	22.31	18.94	18.56	

표 41. Resveratrol 함량 범위(요약)

내 용	Resveratrol 함량(µg/g) 범위
전체 평균±SD	19.54±3.56
각 Lot 별 최소값~최대값	15.79~25.75
설정된 규격	20.00
설정된 규격의 70~130%	14.00~26.00

② 총비소, 카드뮴, 납

㉞ 총비소, 카드뮴, 납의 시험법은 식품공전 제 9. 일반시험법 7. 식품 중 유해물질 시험법 7.1.2 금속별시험 7.1.2.1 납(Pb) 1) 시험용액의 조제 가) 습식분해법 (2) 마이크로웨이브 법에 준하여 실험하였고, 총수은은 식품공전 제 9. 일반시험법 7. 식품 중 유해물질 7.1 중금속 시험 7.1.2.4 수은(Hg)시험법에 준하여 실험하였음.

㉟ 중금속 실험을 진행한 결과, 납 최대 0.0066 mg/kg, 카드뮴 최대 0.0015 mg/kg, 총비소

최대 0.0071 mg/kg로 검출되었고 총수은은 0.0028 mg/kg 검출되었음(표 42). 원료에서 발생할 수 있는 오차, 원료의 1일 최대섭취량, 건강기능식품 기능성 원료 인정에 관한 규정에서 제안하고 있는 중금속 기준(상한값)을 고려하여 안전성에 문제가 없도록 설정하고자 하였으며(표 43), 그 결과 납, 총비소는 1.0 mg/kg 이하, 카드뮴, 총수은은 0.5 mg/kg로 설정하였음(표 44).

표 42. 중금속 분석결과

시험항목	Lot	1	2	3
	납(mg/kg)		0.0238	0.0092
중금속	카드뮴(mg/kg)	0.0146	0.0208	0.0210
	총비소(mg/kg)	0.0248	0.0278	0.0406
	총수은(mg/kg)	0.0020	0.0025	0.0117

표 43. 땅콩새싹추출물 중금속 규격 상한값

시험항목	규격	상한값(이하)*
납(mg/kg)	< 10.8 μ g/일	10.8 μ g/1g
카드뮴(mg/kg)	< 3.0 μ g/일	3.0 μ g/1g
총비소(mg/kg)	< 150 μ g/일	150 μ g/1g
총수은(mg/kg)	< 2.1 μ g/일	2.1 μ g/1g

* 땅콩새싹추출물의 최대섭취량을 1 g/일로 계산, 단, 섭취량 변경 시 검토 필요.

표 44. 중금속 제안규격

시험항목	제안규격 (mg/kg)
납(mg/kg)	1.0 ^{a)}
카드뮴(mg/kg)	0.5 ^{b)}
총비소(mg/kg)	1.0 ^{c)}
총수은(mg/kg)	0.5 ^{d)}

a) 납 : 땅콩새싹추출물의 최대섭취량은 1g/일로 제안된 규격(1.0mg/kg) 범위에서 1.0 μ g/일의 납을 섭취할 수 있음. 이는 식약청의 가이드라인 범위인 10.8 μ g/일 보다 낮은 섭취 기준임.

b) 카드뮴 : 최대섭취량은 1g/일로 제안된 규격(0.5mg/kg) 범위에서 0.5 μ g/일의 카드뮴을 섭취할 수 있음. 이는 식약청의 가이드라인 범위인 3.0 μ g/일 보다 낮은 섭취 기준임.

c) 총비소 : 최대섭취량은 1g/일로 제안된 규격(1.0mg/kg) 범위에서 1.0 μ g/일의 총비소를 섭취할 수 있음. 이는 식약청의 가이드라인 범위인 150 μ g/일 보다 낮은 섭취 기준임.

d) 총수은 : 최대섭취량은 1g/일로 제안된 규격(0.5mg/kg) 범위에서 0.5 μ g/일의 총수은을 섭취

할 수 있음. 이는 식약청의 가이드라인 범위인 2.1 µg/일 보다 낮은 섭취 기준임.

③ 대장균군

- ㉔ 시험법은 식품공전 제 9. 일반시험법 3. 미생물 시험법 3.7 대장균군 3.7.1 정성시험 가. 유당배지법에 준하여 진행하였으며, 실험결과 음성임이 확인되었고(표 45), 건강기능식품 기능성 원료 인정에 관한 규정에 따라 대장균군의 규격을 음성으로 설정하였음(표 46).

표 45. 대장균군 분석결과

시험항목	Lot			
		1	2	C
미생물	대장균군	음성	음성	음성

표 46. 대장균군 제안규격

시 험 항 목		제안규격
미생물	대장균군	음성

㉕ 땅콩새싹추출물의 기준·규격(안)

- 본 연구 결과 땅콩새싹추출물의 기준·규격(안)은 다음과 같음(표 47).

표 47. 땅콩새싹추출물의 기준·규격(안)

시험항목		제안규격
성상		이미, 이취가 없고 고유의 향미가 있는 회황색의 분말
Resveratrol 함량(mg/g)		20.00 mg/g 의 70~130%
중금속	납	1.0 mg/kg 이하
	카드뮴	0.5mg/kg 이하
	총비소	1.0 mg/kg 이하
	총수은	0.5 mg/kg 이하
미생물	대장균군	음성

(나) 원재료 및 기능성 원료의 잔류농약 분석을 통한 안전성 확보

① 잔류농약

- ㉔ 시험법은 식품공전 제9.일반시험법 4.식품 중 잔류농약 분석법 4.1 식품일반 4.1.2 다중농약다성분 분석법 4.1.2.2 다중농약다성분 분석법 식품공전 제9.일반시험법 4.식품 중 잔류농약 분석법 4.1 식품일반 4.1.2 다중농약다성분 분석법 4.1.2.2 다중농약다성분 분석법-제2법에 준하여 진행되었음. 잔류농약은 건강기능식품 기능성 원료 인정에 관한 규정에

의거하여 규격으로 설정하지는 않지만 시험결과를 제출하여야 하는 항목임. 「식품의 기준 및 규격」에 원재료에 대한 농약의 잔류허용기준이 있는 경우에는 「수입식품등검사 지침」(제 2016-11호) 별표 3.1. 동시다분석 검사대상: 58종에 대하여, 없는 경우에는 5가지 농약(엔드린, 디엘드린, 알드린, BHC, DDT)을 분석하여야 함. 땅콩새싹추출물의 경우 원재료인 땅콩에 대한 기준이 있으므로 정밀검사항목 58종을 분석하였음. 분석결과, 정밀검사항목(58종) 모두 불검출로 확인되었음(표 48).

표 48. 잔류농약(58종) 분석 결과

시 험 항 목	Lot. 1
Diazinon	불검출
DDT	불검출
Dicofol	불검출
Dichlorvos	불검출
Malathion	불검출
Methomyl	불검출
Methoxyfenozide	불검출
Methidathion	불검출
Boscalid	불검출
BHC	불검출
Bifenthrin	불검출
Cypermethrin	불검출
Cyprodinil	불검출
Cyhalothrin	불검출
Acetamiprid	불검출
Azoxystrobin	불검출
Atrazine	불검출
Ethion	불검출
Endosulfan	불검출
Imazalil	불검출
Isoprothiolane	불검출
Iprodione	불검출
Carbaryl	불검출
Carbofuran	불검출
Captan	불검출
Quintozene	불검출
Chlorothalonil	불검출
Chlorpyrifos	불검출

시 험 항 목	Lot. 1
Chlorpyrifos-methyl	불검출
Chlorfenapyr	불검출
Tolclofos-methyl	불검출
Triadimefon	불검출
Triazophos	불검출
Triflumizole	불검출
Triflumuron	불검출
Thiamethoxam	불검출
Parathion	불검출
Parathion-methyl	불검출
Paclobutrazol	불검출
Permethrin	불검출
Fenarimol	불검출
Fenitrothion	불검출
Fenvalerate	불검출
Phenthoate	불검출
Fenpropathrin	불검출
Fenhexamid	불검출
Phosmet	불검출
Procymidone	불검출
Prochloraz	불검출
Profenofos	불검출
Flubendiamide	불검출
Flufenoxuron	불검출
Pyraclostrobin	불검출
Pyrimethanil	불검출
Pirimicarb	불검출
Pirimiphos-methyl	불검출
Fludioxonil	불검출
Dimethoate	불검출

(다) 기능성 원료의 열량, 탄수화물, 단백질, 지방, 수분, 회분, 나트륨 등의 분석을 통한 영양 성분 정보를 제공

① 영양성분 분석

㉠ 땅콩새싹추출물에 대한 영양성분분석은 표 49와 같음.

표 49. 영양성분 시험방법 및 결과

시험항목	시 험 방 법	결 과
열량 (Kcal/100g)	식품공전 제9.일반시험법 1.일반성분시험법 6)열량의 계산	372.25
탄수화물(%)	식품공전 제9.일반시험법 1.일반성분시험법 5)탄수화물	74.35
조단백질(%)	식품공전 제9.일반시험법 1.일반성분시험법 3)질소화합물 (1) 총질소 및 조단백질	17.07
조지방(%)	식품공전 제9.일반시험법 1.일반성분시험법 5)지질 (1)조지방	0.73
수분(%)	식품공전 제9.일반시험법 1.일반성분시험법 1)수분	4.76
회분(%)	식품공전 제9.일반시험법 1.일반성분시험법 2)회분	3.09
나트륨 (mg/100g)	식품공전 제9.일반시험법 1.일반성분시험법 1.2.미량영양성분 시험법 1)무기성분	32.56

(6) 땅콩새싹 추출물의 저장 및 보관기간에 따른 유효성분의 안정성 분석

(가) 건강기능식품 소재로서 땅콩새싹 추출물을 일반적인 유통온도(실제유통)와 남용 온도(극단의 환경)에 보관하면서 일정기간 마다 레스베라트롤 함량, 수분 함량, 미생물 함량의 변화를 분석하고, 땅콩새싹 추출물의 유통기간을 산출함. 3개 저장 온도 (25℃, 35℃, 40℃)에서 6개월간 저장하면서 분석을 진행하였음.

(나) 레스베라트롤 함량 분석

① 연구방법

㉔ 땅콩새싹 추출물에 있는 레스베라트롤 함량분석은 Mei 등 (2014)의 방법을 변형하여 수행하였음. 액체크로마토그래피 (Waters 2695 alliance system with a waters 2489 detector)를 사용하여 레스베라트롤 함량을 분석하였음. 땅콩새싹 추출물 1 g에 50% 메탄올 (50%) 25 mL를 첨가한 후, 30분 동안 상온에서 초음파 추출하였음. 추출물을 4℃에서 8000 rpm으로 5분 동안 원심분리하여 상등액을 얻었으며, 상등액을 50%의 메탄올을 이용하여 25 mL로 정용한 후, 0.45 μm PTFE syringe filter로 여과한 후 HPLC 분석에 사용하였음. 분석 방법은 1차년도, 2차년도와 동일한 방법을 사용하였음

② 연구결과

㉔ 땅콩새싹 추출물을 25℃, 35℃, 40℃에 6개월 동안 보관하여 레스베라트롤 함량의 변화를 분석함 (표 50).

표 50. 저장온도 및 기간에 따른 땅콩새싹 추출물의 레스베라트롤 함량(μg/g)

저장기간(월)	저장온도(℃)		
	25	35	40
초기	25.85±0.25 ^a	25.85±0.25 ^a	25.85±0.25 ^a

1	25.56±0.05 ^a	25.58±0.82 ^a	25.13±0.06 ^{ab}
2	25.79±0.11 ^a	25.13±0.09 ^a	24.75±0.13 ^b
3	24.02±0.09 ^c	22.87±0.16 ^b	20.68±0.40 ^c
4	24.99±0.30 ^b	23.47±0.16 ^b	20.57±0.91 ^c
5	24.97±0.15 ^b	22.88±0.44 ^b	17.00±0.88 ^d
6	25.00±0.45 ^b	22.74±0.53 ^b	14.74±0.42 ^e

㉞ 저장 기간에 따라 땅콩새싹 추출물의 레스베라트롤 함량이 감소하였으며, 25℃에서 저장한 땅콩새싹 추출물은 초기 함량 25.56±0.05 μg/g에서 3개월 보관 후 24.02±0.09^c, 6개월 후 25.00±0.45 μg/g으로 감소하여 3개월 이후부터 유의적으로 감소하는 것으로 나타남. 35℃에서는 초기함량 25.85±0.25 μg/g에서 3개월 후 22.87±0.16 μg/g으로 감소하였으나 3개월 이후부터는 유의적인 차이가 나타나지 않음. 반면, 40℃에서 저장한 땅콩새싹 추출물의 경우 2개월 후부터 6개월 까지 가장 크게 감소하면서 유의적인 차이를 나타냄. 결과적으로 저장 온도가 높을수록 땅콩새싹 추출물의 레스베라트롤 함량이 감소하는 것으로 나타남.

㉞ 저장 온도 및 기간에 따른 땅콩새싹 추출물의 외관변화 (그림95).

그림 95. 초기 및 6개월 보관 후 땅콩새싹 추출물의 외관변화



(다) 수분 함량 분석

① 연구방법

㉞ 저장기간에 따라서 땅콩새싹 추출물의 수분함량을 수분함량 측정기(Precisa XM-60, Switzerland)로 측정함.

② 연구결과

㉞ 저장 기간에 따라 25℃에서는 수분 함량의 차이가 거의 없는 반면, 35℃와 40℃에서 보관한 땅콩새싹 추출물의 경우 수분 함량이 다소 증가하는 경향을 보임. 저장 기간에 따라서 40℃에서 저장된 땅콩새싹 추출물의 수분 함량이 초기의 수분 함량보다 가장 크게 증가 하였으며, 25℃에서 저장한 땅콩새싹 추출물의 수분 함량은 초기 수분 함량과 비교했을 때 큰 변화가 없었음.

표51. 저장온도 및 기간에 따른 땅콩새싹추출물의 수분함량(%)

저장기간 (월)	저장온도(℃)		
	25	35	40
초기	3.61±0.12 ^{ab}	3.61±0.12 ^c	3.61±0.12 ^d
1	3.66±0.22 ^a	3.64±0.09 ^c	3.37±0.08 ^d
2	3.35±0.27 ^{bc}	3.43±0.40 ^c	5.14±0.10 ^c
3	3.25±0.03 ^c	4.13±0.08 ^{ab}	5.88±0.09 ^a
4	3.31±0.03 ^c	4.28±0.24 ^{ab}	5.50±0.22 ^b
5	3.29±0.18 ^c	4.47±0.32 ^a	5.62±0.32 ^{ab}
6	3.25±0.17 ^c	4.06±0.15 ^b	5.57±0.20 ^{ab}

(라) 미생물 분석

① 연구방법

㉔ 세균수 측정

- 식품공전 제8. 일반시험법 4. 미생물 시험법 4.5. 세균수 4.5.1. 일반세균수 가. 표준평판법에 의해 실험을 진행함.

검체 25g + 희석수 (×9)
↓균질화
시험용액 1mL과 각 단계 희석액을 1 mL씩 멸균페트리접시에 2매
취하여
약 43~45℃로 유지한 표전한천배지 약 15 mL를 무균적으로 분주
↓36℃, 48시간 배양
집락수 계산

㉕ 대장균군 분석

- 식품공전 제8. 일반시험법 4. 미생물 시험법 4.7. 대장균군 4.7.1. 정성시험 나. BGLB배지법에 의해 실험을 진행함.

검체 25g + (×9)
↓균질화
시험용액 1mL 및 0.1 mL를 BGLB 배지에 각각 2개씩 접종
↓36℃, 48시간 배양
가스를 발생한 시험관으로부터 EMB한천배지에 분리배양
↓36℃, 24시간 배양
그람음성, 무아포성 간균 확인
↓
대장균군 음성/양성 판정

㉖ 아스파라긴(유리) 분석

- 건강기능식품공전 III. 건강기능식품 시험법 중 III.3.3.2 아미노산 시험법에 의해 실험을

진행함.

- 일정량의 시료를 50 mL 부피플라스크에 정밀히 취하여 0.02N 염산을 가하여 시료를 녹여 30분간 초음파 추출한 후 실온으로 냉각하여 0.02N 염산으로 정용한 후 0.45 μ m syringe filter로 여과 후 기기분석하였으며, 분석 방법은 1차년도, 2차년도와 동일한 방법을 사용하였음.

② 연구결과

㉠ 세균수

- 저장 초기 세균수에 비하여 저장 기간 동안 감소하는 경향을 나타냄. 세균수의 측정 결과는 표52과 같음.

표 52. 저장온도 및 기간에 따른 땅콩새싹추출물의 세균수(CFU/g)

저장기간 (월)	저장온도 (°C)		
	25	35	40
초기	41000		
1	5,5,5	5,0,0	5,5,5
2	0,0,0	0,0,0	0,0,0
3	0,0,0	0,0,0	0,0,0
4	0,0,10	0,10,0	0,10,0
5	0,10,5	0,0,5	10,15,0
6	35,0,15	0,0,5	0,0,0

㉡ 대장균군

- 대장균군은 저장 기간 동안 음성의 결과를 나타냄. 대장균군의 측정결과는 표53와 같음.

표53. 저장온도 및 기간에 따른 땅콩새싹추출물의 대장균군(CFU/g)

저장기간 (월)	저장온도 (°C)		
	25	35	40
초기	음성		
1	음성	음성	음성
2	음성	음성	음성
3	음성	음성	음성
4	음성	음성	음성
5	음성	음성	음성
6	음성	음성	음성

㉢ 아스파라긴(유리) 함량

- 아스파라긴(유리)은 저장기간 동안 큰 변화가 없었음. 아스파라긴 함량 측정결과는 표 54와 같음.

표54. 저장온도 및 기간에 따른 땅콩새싹추출물의 아스파라긴 함량

저장기간 (월)	저장온도 (°C)		
	25	35	40
초기	16.04 mg/g		
6	16.33	15.86	15.77

(7) 관능평가

(가) 연구 방법

- ① 식품의약품안전처(발간등록번호:11-1471000-000032-01)에서 발간된 “식품, 축산물 및 건강기능식품의 유통기간 설정실험 가이드라인”에 근거하여 저장 기간에 따른 레스베라트롤 고함유 톱밥재배 땅콩새싹 농축 시료의 색깔 및 냄새 변화를 검사함. 맛에 대한 평가는 가이드라인에 근거하여 제외함.
- ㉠ 연구대상자
 - 연구 대상자는 중앙대학교 식품영양학과 대학원생과 학부생 대상으로 구성함. 선정 기준 및 제외기준 없음.
- ㉡ 예상 연구대상자 수와 산출 근거
 - 연구 대상자 수: 30 명
 - 연구대상자 모집 : 학과 게시판에 모집공고
 - 대상: 중앙대학교 식품영양학과 대학원생 및 학부생

(나) 연구방법

- ① 관능검사는 중앙대학교 식품영양학과 대학원생 및 학부생 대상으로 모집하여 실험 목적을 숙지시켜 훈련시킨 후 실시함. 이 때 땅콩새싹 추출분말의 관능검사(기호도)의 평가 항목은 색깔(color), 냄새 (fragrance)로 대단히 좋은 것은 7점, 좋지도 싫지도 않은 것은 4점, 대단히 나쁜 것은 1점으로 평가하도록 함. 각 시료는 동일한 양으로 흰 종이 그릇에 제공하며, 검사 중의 영향을 최소화하기 위하여 총 검사 시간은 15~20분 이내로 실시함.

(다) 효과 평가 기준 및 방법

- ① 땅콩새싹 추출분말의 관능검사(기호도)의 평가 항목은 색깔(color), 냄새 (fragrance)로 대단히 좋은 것은 7점, 좋지도 싫지도 않은 것은 4점, 대단히 나쁜 것은 1점으로 나타내었음.

(라) 자료분석과 통계적 방법

- ① 실험결과는 SPSS 프로그램(SPSS 23.0 for windows, SPSS Inc.)을 이용하여 분산분석 (ANOVA)을 실시하며, 각 측정 평균값 간의 유의성은 $p < 0.05$ 수준으로 Duncan의 다중범위시험법을 사용함.

(마) 연구 결과

- ① 땅콩새싹 추출물을 25°C, 35°C, 40°C에 6개월 동안 저장한 후 관능평가를 진행한 결과는 다음과 같음 (표55).

표55. 저장온도 및 기간에 따른 땅콩새싹 추출물의 관능평가

저장기간 (월)	냄새			색깔		
	25℃	35℃	40℃	25℃	35℃	40℃
초기	5.17±1.04 ^a	5.17±1.04 ^a	5.17±1.04 ^{ab}	5.80±0.95 ^a	5.80±0.95 ^a	5.80±0.95 ^a
1	5.27±0.89 ^a	5.60±0.88 ^a	5.53±0.92 ^a	5.90±0.79 ^a	5.97±0.75 ^a	5.93±0.81 ^a
2	5.47±0.67 ^a	5.57±0.67 ^a	4.97±0.66 ^{ab}	5.70±0.78 ^a	5.87±0.67 ^a	4.83±0.58 ^a _b
3	6.33±0.65 ^a	5.27±0.68 ^a	4.30±0.59 ^{abc}	6.13±0.67 ^a	5.03±0.60 ^a	3.70±0.64 ^b _c
4	6.00±0.77 ^a	5.13±0.76 ^a	4.13±0.62 ^{abc}	5.97±0.60 ^a	4.90±0.54 ^a	3.40±0.55 ^c
5	5.63±0.55 ^a	4.67±0.47 ^a	3.77±0.56 ^{bc}	5.70±0.64 ^a	4.63±0.56 ^a	3.17±0.52 ^c
6	5.57±0.62 ^a	4.80±0.60 ^a	3.40±0.61 ^c	5.57±0.76 ^a	4.67±0.65 ^a	3.20±0.65 ^c

① 6개월 간 30명의 대상자에게 땅콩새싹추출물에 대한 선호도를 조사한 결과, 저장 온도 25℃에 보관한 땅콩새싹추출물의 경우 색깔 및 냄새에 대한 큰 차이가 없었으며, 저장 기간에 따라서 40℃에서 저장한 땅콩새싹추출물의 색깔 및 냄새에 대한 선호도 점수는 유의적으로 감소하는 것으로 나타남. 특히 40℃에서 보관한 땅콩새싹추출물의 색깔 및 냄새에 대한 관능평가 결과가 가장 낮게 나타남.

(8) 땅콩새싹 추출물의 유통기한 설정

(가) 제품의 특성

① 식품의 성상 : 이미,이취가 없고 고유의 향미가 있는 회황색 분말제품

(나) 실험방법

① 검체의 채취 및 취급방법

㉞ 본 실험에 사용된 제품은 (주)레스베라에서 시판을 위해 포장한 최종 제품을 25℃, 35℃, 40℃ 배양기에 6개월 간 저장시키면서 30일 간격으로 실험을 수행하였음.

- 품질지표 및 실험방법

품질지표	실험방법
세균수	식품공전 제8. 일반시험법 4. 미생물시험법 4.5. 세균수 4.5.1. 일반세균수 가. 표준평판법
대장균군	식품공전 제8. 일반시험법 4. 미생물시험법 4.7. 대장균군 4.7.1. 정성시험 나. BGLB법
관능평가	종합기호도 검사-7점 척도법

- 실험조건

품질지표	실험방법
저장온도	25℃, 35℃, 40℃
저장기간	6 개월

실험주기	30일
실험반복수	3 반복

- 품질한계값

품질지표	품질한계	근거
세균수 (CFU/g)	-	식품공전 제4. 식품별 기준 및 규격
대장균군	-	식품공전 제4. 식품별 기준 및 규격
관능평가	-	식품공전 제4. 식품별 기준 및 규격

(다) 결과

- ① 저장온도에 따른 저장기간별 땅콩새싹 추출물의 품질지표 변화 분석
 ② 땅콩새싹 추출물의 저장 온도에 따른 저장 기간별 레스베라트롤 함량은 아래 표와 같음
 (표56-25℃, 표57-35℃, 표58-40℃).

표56. 땅콩새싹 추출물 25℃ 저장 결과

저장기간 (월)	레스베라트롤 ($\mu\text{g/g}$)	세균수 (CFU/g)	대장균군	관능평가
0	25.85±0.25	41000	음성	5.80±0.95
1	25.56±0.05	5,5,5	음성	5.90±0.79
2	25.79±0.11	0,0,0	음성	5.70±0.78
3	24.02±0.09	0,0,0	음성	6.13±0.67
4	24.99±0.30	0,0,10	음성	5.97±0.60
5	24.97±0.15	0,10,5	음성	5.70±0.64
6	25.00±0.45	35,0,15	음성	5.57±0.76

표57. 땅콩새싹 추출물 35℃ 저장 결과

저장기간 (월)	레스베라트롤 ($\mu\text{g/g}$)	세균수 (CFU/g)	대장균군	관능평가
0	25.85±0.25	41000	음성	5.80±0.95
1	25.58±0.82	5,0,0	음성	5.97±0.75
2	25.13±0.09	0,0,0	음성	5.87±0.67
3	22.87±0.16	0,0,0	음성	5.03±0.60
4	23.47±0.16	0,10,0	음성	4.90±0.54
5	22.88±0.44	0,0,5	음성	4.63±0.56
6	22.74±0.53	0,0,5	음성	4.67±0.65

표58. 땅콩새싹 추출물 40℃ 저장 결과

저장기간 (월)	레스베라트롤 ($\mu\text{g/g}$)	세균수 (CFU/g)	대장균군	관능평가
0	25.85±0.25	41000	음성	5.80±0.95
1	25.13±0.06	5,5,5,	음성	5.93±0.81

2	24.75±0.12	0,0,0	음성	4.83±0.58
3	20.68±0.40	0,0,0	음성	3.70±0.64
4	20.57±0.91	0,10,0	음성	3.40±0.55
5	17.00±0.88	10,15,0	음성	3.17±0.52
6	14.74±0.42	0,0,0	음성	3.20±0.65

(라) 품질지표별 반응속도상수(K)의 산출

① 온도에 의한 가속시험에서 가장 널리 사용하는 수명-스트레스 관계 해석기법은 아레니우스모델(Arrhenius Model)임. 이 모델은 액체, 기체, 고체의 화학반응 시 발생하는 활성화 에너지와 온도의 반응률로 나타낸 것으로 아래와 같은 여러 가지 수식으로 로그 변환하여 수명 예측에 이용됨.

㉓ 품질지표의 반응차수 결정

- 각 저장 온도별 품질지표의 반응속도 및 반응속도상수를 산출하여 품질지표의 반응차수를 결정함.

㉓, ㉔ 식을 이용하여 각 항목의 0차, 1차 반응식을 산출함.

㉓ $A = A_0 + kt$	㉔ $\ln A = \ln A_0 + kt$
A : t시간 후의 측정값 A ₀ : t ₀ 시간에서 측정값 k : 반응속도상수 t : 반응시간(유통기간)	A : t시간 후의 측정값 A ₀ : t ₀ 시간에서 측정값 k : 반응속도상수 t : 반응시간(유통기간)

㉕ 온도 영향에 따른 활성화에너지 산출

- 품질지표의 온도의존성 분석을 위하여 ㉓식(Arrhenius식)을 변형한 식에 따라 1차 선형 회귀분석법으로 $\ln K$ (y축), $1/T$ (x축)으로 얻은 직선의 기울기로부터 ㉔식을 이용하여 활성화 에너지를 구함.

㉓ $K = Ae^{-E_a/RT}$ $\leftrightarrow \ln K = -(E_a/R)(1/T) + \ln A$	㉔ $E_a = -\text{Slope} \times R$
A : 아레니우스 상수 E _a : 활성화에너지(cal/mol) R : 기체상수(1.986 cal/mol) T : 절대온도 K : 반응속도상수	A : 아레니우스 상수 E _a : 활성화에너지(cal/mol) R : 기체상수(1.986 cal/mol)

㉖ 반응속도상수(K) 산출

- ㉓식(변형 아레니우스식)에 따라 시험하지 않은 온도구간의 회귀방정식 추정을 통해 반응속도상수를 산출함.

㉓ $\ln K = -(E_a/R)(1/T) + \ln A$
A : 아레니우스 상수 E _a : 활성화에너지(cal/mol) R : 기체상수(1.986 cal/mol) K : 반응속도상수

㉗ 유통기간의 산출

- 국내 유통온도를 적용하여 각 온도에 노출되는 기간을 산정한 후 해당제품의 유통기간을 산출함.

- 실온유통제품을 위한 실제 국내 유통온도 및 시간을 파악하기 위하여 2018년도 기상청 자료를 참조함 (표59).

표59. 2018년 국내 주요 지역 월별 기온(℃)

	1월	2월	3월	4월	5월	6월	7월	8월	9월	10월	11월	12월
서울	-4.0	-1.6	8.1	13.0	18.2	23.1	27.8	28.8	21.5	13.1	7.8	-0.6
인천	-3.8	-1.8	6.9	11.9	17.0	21.2	26.6	28.1	21.6	13.8	8.5	-0.2
대전	-2.4	-0.4	8.7	13.9	19.2	23.6	27.9	29.0	21.2	13.0	8.0	0.6
대구	-0.9	1.3	9.2	15.0	19.2	23.6	28.2	27.7	21.0	14.3	8.8	2.0
광주	-0.2	1.8	10.0	15.1	19.5	23.6	28.3	28.4	21.6	14.5	9.9	3.2
울산	0.7	2.6	9.5	14.5	18.1	21.6	26.8	27.0	21.1	15.1	10.7	4.1
부산	1.9	3.9	10.0	14.5	17.8	21.5	26.7	27.9	21.9	16.4	12.4	5.7
강릉	-0.2	0.5	9.2	14.5	17.3	23.2	26.8	26.2	20.2	14.1	10.0	2.7
제주	4.9	5.5	11.4	15.9	19.1	22.3	27.3	28.8	23.9	17.9	13.9	8.7
평균	-0.4	1.3	9.2	14.3	18.4	22.6	27.4	28.0	21.5	14.7	10.0	2.9

- 1, 2, 3, 11, 12월(5개월: 151일)의 평균 기온은 10℃ 이하였으며, 4, 10월(2개월: 61일) 14.3~14.7℃, 5월(1개월: 31일) 18.4℃, 6, 9월(2개월: 60일) 21.5~22.6℃, 7, 8월(2개월: 62일) 27.4~28.0℃인 것으로 나타났음. 따라서 연간 온도별 유통기간을 아래 표60과 같이 정리할 수 있음.

표60. 연간 온도별 유통기간

온도	10℃	15℃	20℃	25℃	30℃
시간	151일	61일	31일	60일	62일

㉞ 결과

- 유통 과정 중의 외부적 요인을 고려하여, 아레니우스식에 의하여 얻은 유통기한은 실험 기간 36개월이며, 안전계수 0.8일 적용함. 실제 유통기간은 '실험기간 (36개월) × 안전계수 0.8 = 28.8 개월'이므로 유통기한을 2년으로 설정하는 것이 바람직함. (단, 본 제품은 25℃ 이하로 유지관리 되어야 함.)

(9) 추출 방법에 따른 이화학적 특성 연구

(땅콩새싹 추출물의 전립선 간질세포 및 상피세포의 증식·전이 및 세포신호전달에 대한 효과 관찰)

(가) 땅콩새싹추출물의 전립선 간질세포 및 상피세포의 증식에 대한 효과

① 연구방법

- ㉠ 전립선 간질세포 (WPMY-1)와 상피세포(RWPE-1)를 1×10^6 /plate 로 seeding 하고 24 시간 배양한 뒤, 땅콩새싹추출물 (200, 400, 600, 800, 1000 µg/ml)을 24시간 처리 하고 MTT assay를 통해 세포 증식을 확인함.

② 결과

- ㉠ 땅콩새싹 추출물에서 레스베라트롤 함량이 열수추출물보다 많게 측정됨에 따라 효과관찰 실험에 땅콩새싹 추출물을 사용하였음.

㉔ 전립선비대증은 전립선세포의 과증식과 관련이 있으므로, 살아있는 세포 내 미토콘드리아 효소를 측정하는 실험법인 MTT assay를 통해 땅콩새싹 추출물이 전립선 간질세포와 상피세포의 증식에 어떤 영향을 미치는지 확인하였음. 땅콩새싹 추출물 농도-의존적으로 세포증식이 억제되는 것을 관찰하였음 (그림 96). 땅콩새싹 추출물의 전립선 간질세포에서의 억제효과가 상피세포에서의 억제효과보다 더 좋은 것을 확인하였음.

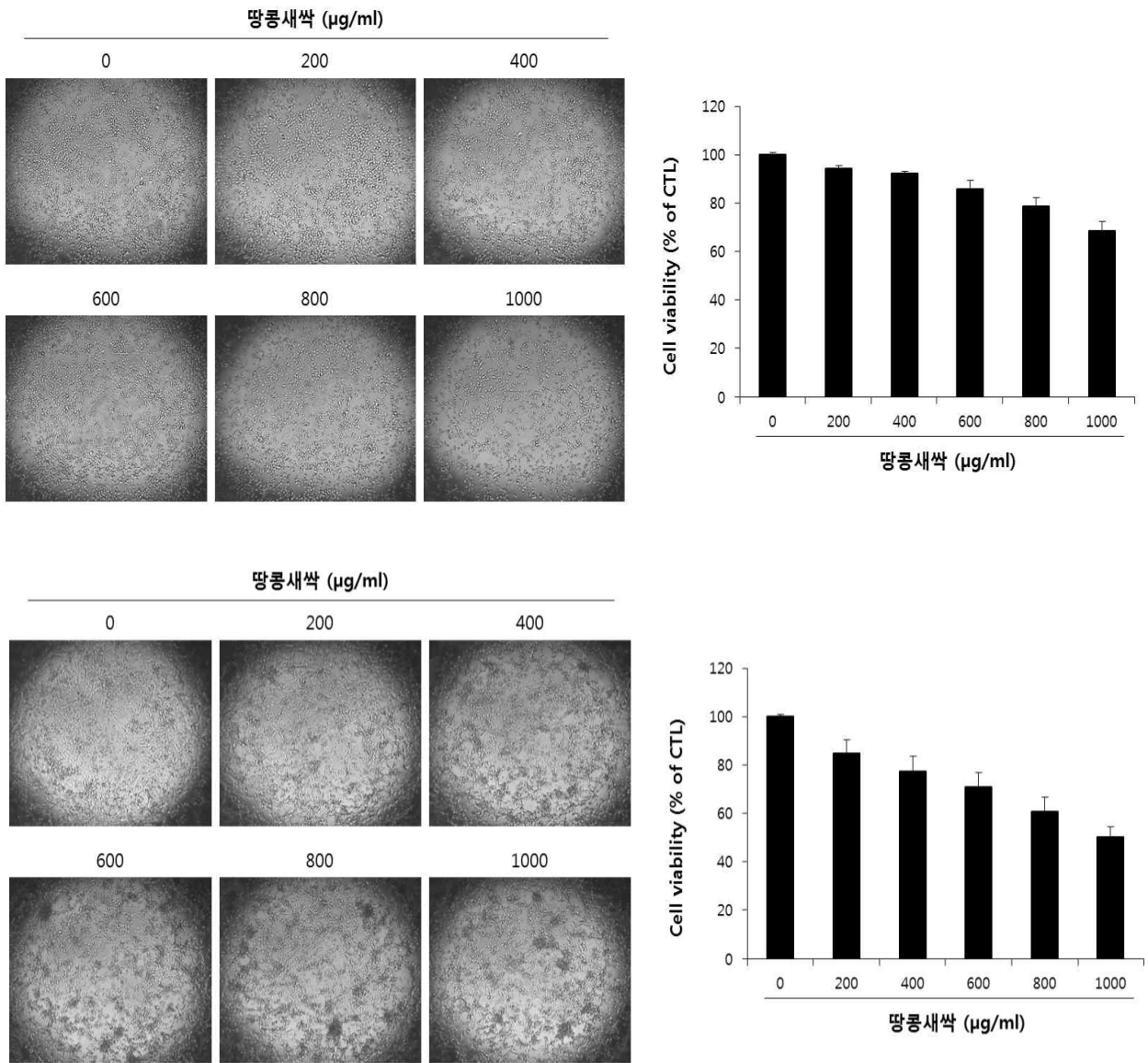


그림 96. 전립선 간질세포 (WPMY-1; 위)와 상피세포(RWPE-1; 아래)에서 땅콩새싹 추출물의 세포증식 억제

(나) 땅콩새싹추출물의 전립선 간질세포 및 상피세포의 세포주기 변화에 대한 효과

① 연구방법

㉔ 세포주기 변화 관찰 : 전립선 간질세포 (WPMY-1)와 상피세포(RWPE-1)를 6-well

plate에 1×10^5 /well로 seeding 하고 24시간 배양한 뒤, 땅콩새싹추출물 (0, 400, 600, 800 μ g/ml)을 24시간 동안 처리하였음. trypsin-EDTA를 이용해 세포를 회수하고 70% 에탄올을 사용하여 3시간동안 세포를 고정 한 뒤 muse cell cycle kit을 이용하여 세포를 염색하고 muse cell analyzer를 통해 세포주기 변화를 확인하였음.

- ㉔ 세포주기 조절인자 관찰 : 전립선 간질세포 (WPMY-1)와 상피세포(RWPE-1)를 6-well plate에 1×10^5 /well로 seeding 하고 24시간 배양한 뒤, 땅콩새싹추출물 (0, 400, 600, 800 μ g/ml)을 24시간 동안 처리하였음. cell lysis를 이용해 세포를 분해한 후, Western blot으로 세포주기 관련 단백질 (Cyclin D1(santa cruz, sc-8396), Cyclin E(santa cruz, sc-247), CDK2(santa cruz, sc-6248), CDK4(santa cruz, sc-23896), p21WAF1(santa cruz, sc-756), p27KIP1(santa cruz, sc-528), p53(santa cruz, sc126), β -actin(santa cruz, sc-47778))의 발현을 확인하였음. 또한 Immunoprecipitation(IP)를 통해 CDK와 CKI의 상호작용을 확인하였음.

② 결과

- ㉔ 세포의 증식은 세포주기와 밀접하게 관련이 있으므로, Cell cycle analysis를 통해 땅콩새싹추출물의 처리에 따른 세포주기의 변화를 관찰하였음. 실험결과 땅콩새싹추출물이 처리된 전립선 간질세포(그림 97)와 상피세포(그림 98)의 세포주기가 농도에 비례하게 G0/G1기의 세포 비율이 높아지는 경향을 보임. 이 결과를 토대로 땅콩새싹추출물 처리에 의해 전립선 세포가 G0/G1기에서 arrest 되는 것으로 예상할 수 있으며, 이에 대한 메커니즘을 알아보기 위해 western blot을 진행하였음.

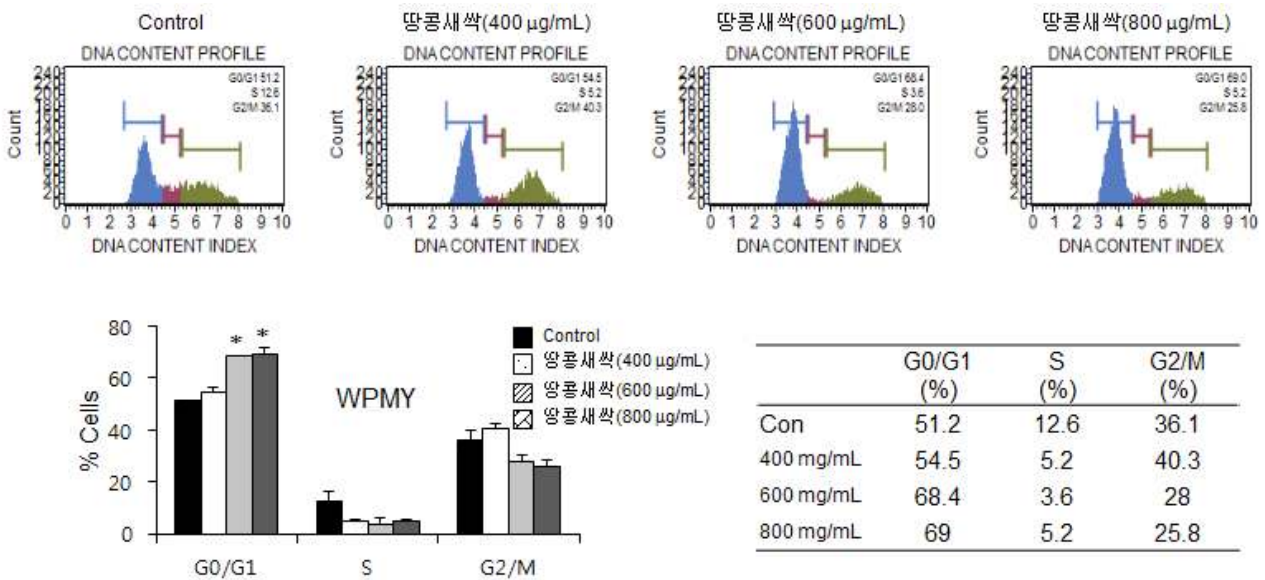


그림 97. 전립선 간질세포 에서 땅콩새싹 추출물의 세포주기 변화에 대한 효과

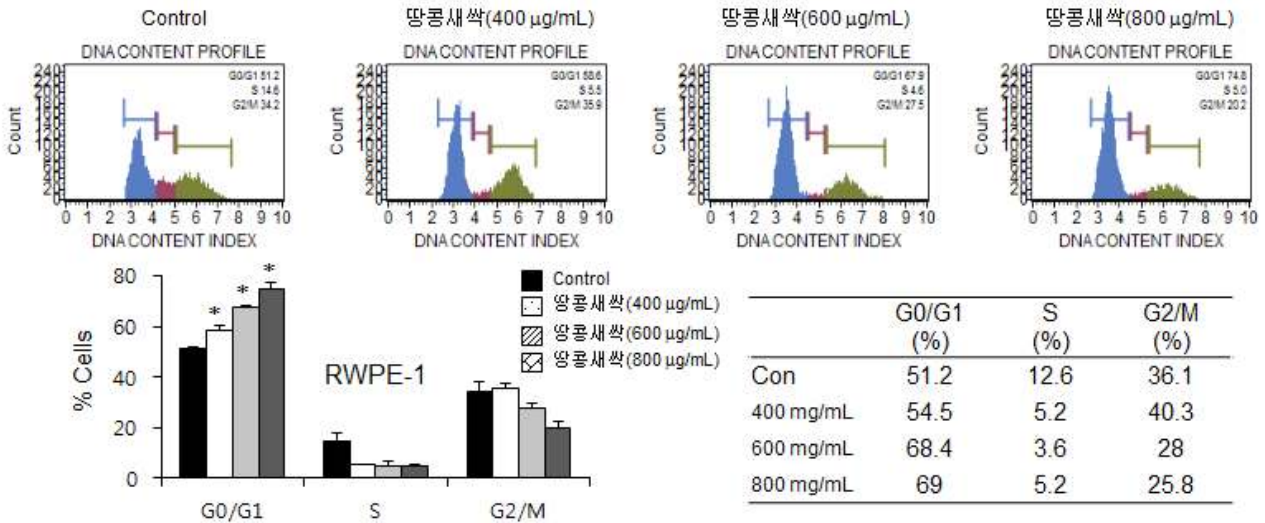
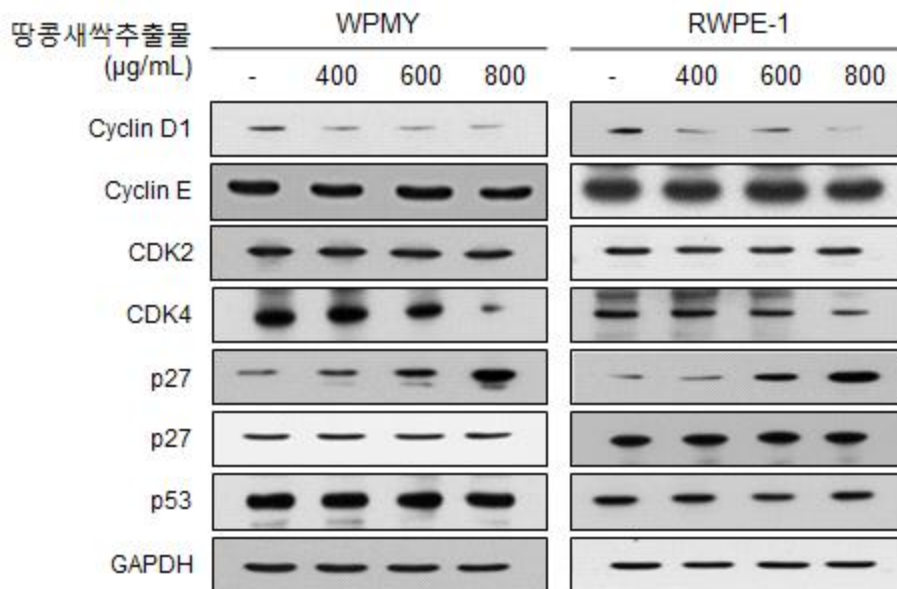


그림 98. 전립선 상피세포 에서 땅콩새싹 추출물의 세포주기 변화에 대한 효과

㉔ 세포주기는 다양한 세포주기 조절인자(Cyclin dependent kinase(CDK), Cyclin, CDK inhibitor(CKI))에 의해 조절됨. G1기에서 CDK2, CDK4, Cyclin D1, Cyclin E등이 결합체를 형성하여 세포주기 진행에 관여하며, CDK와 Cyclin의 결합체에 결합하여 활성을 억제하는 CKI 등이 있음. 땅콩새싹 추출물의 처리에 의한 세포주기 조절 인자의 변화를 관찰 위해 Western blot을 진행하였음. 다양한 농도(0, 400, 600, 800 µg/ml)의 땅콩새싹 추출물 처리에 의해 전립선 간질세포 및 상피세포에서 Cyclin D1, Cyclin E, CDK2, CDK4 의 발현이 감소되었으며, p21의 발현이 증가하는 것을 확인하였음(그림 99 위). 또한 IP를 통해 땅콩새싹 추출물 처리에 의한 p21과 CDK4의 결합 활성 증가를 확인하였음(그림 99 아래).



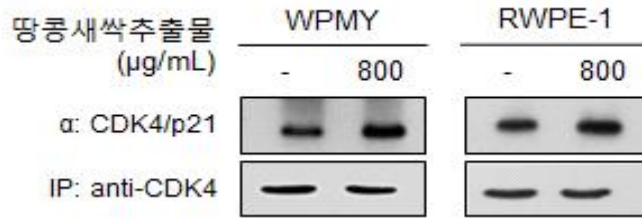


그림 99. 전립선 간질세포 (WPMY-1; 좌)와 상피세포(RWPE-1; 우)에서 땅콩새싹 추출물의 처리에 의한 세포주기 조절인자 발현변화

(다) 땅콩새싹 추출물의 전립선 간질세포 및 상피세포의 신호전달 단백질 발현에 대한 효과

① 연구방법

㉞ 신호전달 단백질 발현 분석 : 전립선 간질세포 (WPMY-1)와 상피세포(RWPE-1)를 6-well plate에 1×10^5 /well로 seeding 하고 24시간 배양한 뒤, 땅콩새싹추출물 (0, 400, 600, 800 $\mu\text{g/ml}$)을 24시간 동안 처리하였음. cell lysis buffer를 이용해 세포를 분해한 후, Western blot으로 신호전달 단백질 (ERK (#9102), p38MAPK (#9212), JNK (#9258), AKT (#9272), p-ERK (#9101), p-p38MAPK (#9211), p-JNK (#9251), p-AKT (#9271))의 발현을 확인하였음.

② 결과

㉞ MAPK 와 AKT signaling pathway는 세포 증식 조절과 관련이 있는 pathway로 알려져 있으며, 전립선비대증 발병에 중요한 역할을 하는 것으로 보고되어 왔음. 땅콩새싹 추출물이 전립선 간질세포 및 상피세포의 신호전달 단백질(AKT와 MAPKs (ERK1/2, JNK, p38))의 발현 변화를 western blot을 통하여 관찰하였음. 전립선 간질세포와 상피세포 모두 JNK가 농도 의존적으로 인산화 되었으며, ERK의 인산화는 감소하는 경향을 보였음. (그림 100).

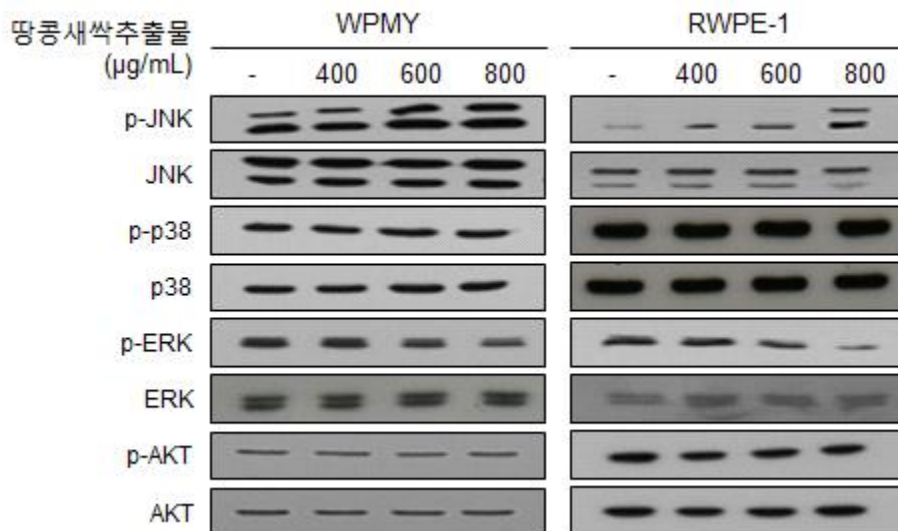


그림 100. 전립선 간질세포 (WPMY-1; 좌)와 상피세포(RWPE-1; 우)에서 땅콩새싹 추출물의 처리에 의한 세포 신호전달 단백질 발현 변화

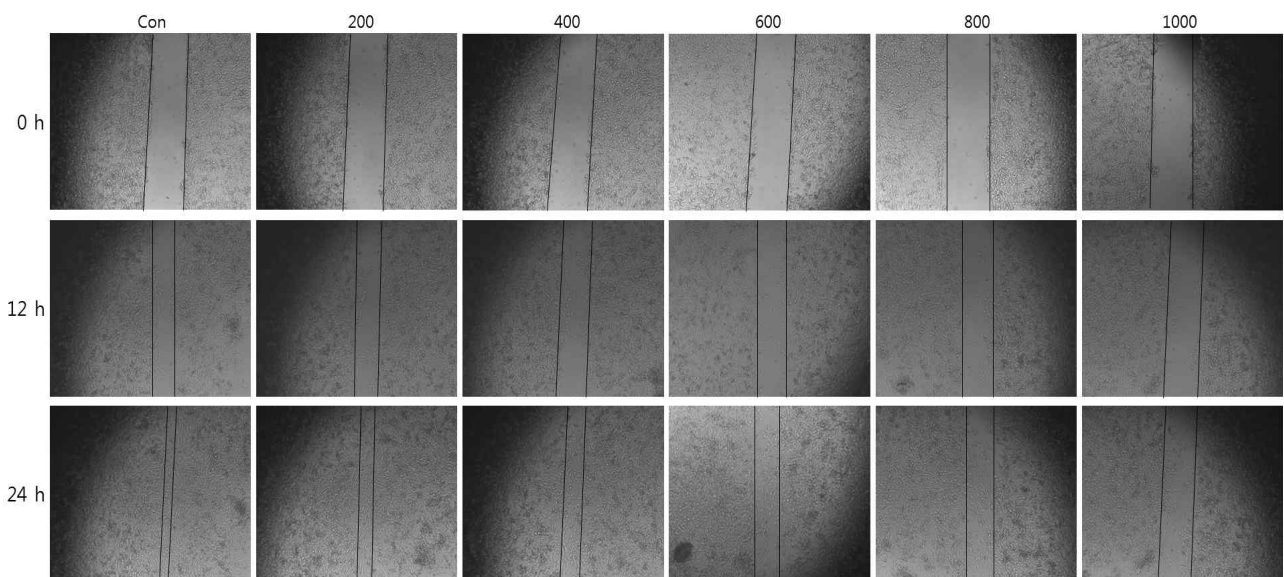
(라) 땅콩새싹 추출물의 전립선 간질세포 및 상피세포의 세포 이동성 억제에 대한 효과관찰

① 연구방법

- ㉠ 세포 이동 분석 : 전립선 간질세포 (WPMY-1)와 상피세포(RWPE-1)를 6-well plate에 1×10^5 /well로 seeding 하고 90% 까지 배양한 뒤, yellow tip을 이용하여 반듯하게 세포를 걷어내고 사진을 찍음 (0 시간). 땅콩새싹추출물 (0, 200, 400, 600, 800, 1000 $\mu\text{g/ml}$)을 24시간 동안 처리한 뒤, 현미경으로 같은 부위를 다시 사진 찍어 24 시간 동안 세포가 이동한 거리를 측정함.
- ㉡ 세포 침윤 분석 : Transwell insert의 upper chamber를 ECM matrix 성분인 젤라틴으로 코팅 한 후 3.5×10^4 /well 의 세포를 media + 땅콩새싹 추출물 (0, 200, 400, 600, 800, 1000 $\mu\text{g/ml}$) 에 희석하여 seeding 한 뒤 24시간 배양함. ECM matrix 성분을 통과한 세포를 4% PFA로 고정한 뒤 crystal violet으로 염색하여 이동능력을 측정함.
- ㉢ 세포 이동 관련인자 (MMP-2, MMP-9) 발현 분석 : 전립선 간질세포 (WPMY-1)와 상피세포(RWPE-1)를 땅콩새싹 추출물을 처리하고 24시간 뒤, 배양액을 취하여 gelatin zymography를 수행함. incubation 용액에서 37°C에서 20시간 배양한 다음, 0.1% coomassie brilliant blue로 염색시킨 후 탈색하여 MMP-2, -9의 활성을 측정함.
- ㉣ 전사인자 활성 분석 : MMP-2, -9 promoter 지역 내 cis-element영역 중 NF- κ B와 Ap-1 등의 전사인자를 활성화시키는지 24시간 처리된 , 전사조절인자의 binding activity를 조사하기 위해 DNA-protein complex를 형성시켜 Electrophoretic mobility shift assay을 수행함.

② 결과

- ㉠ 땅콩새싹 추출물이 전립선 간질세포 및 상피세포의 이동에 어떤 영향을 미치는지 세포에 스크래치를 낸 후 세포의 이동능력을 보는 wound healing migration assay (12, 24 h)와 기질을 뚫고나가는 세포의 침윤을 측정하는 invasion assay (24 h)를 통해 관찰한 결과, 땅콩새싹 추출물 (0, 200, 400, 600, 800, 1000 $\mu\text{g/ml}$) 농도-의존적으로 세포 이동 및 침윤이 억제되는 것을 관찰하였음 (그림 101, 102).



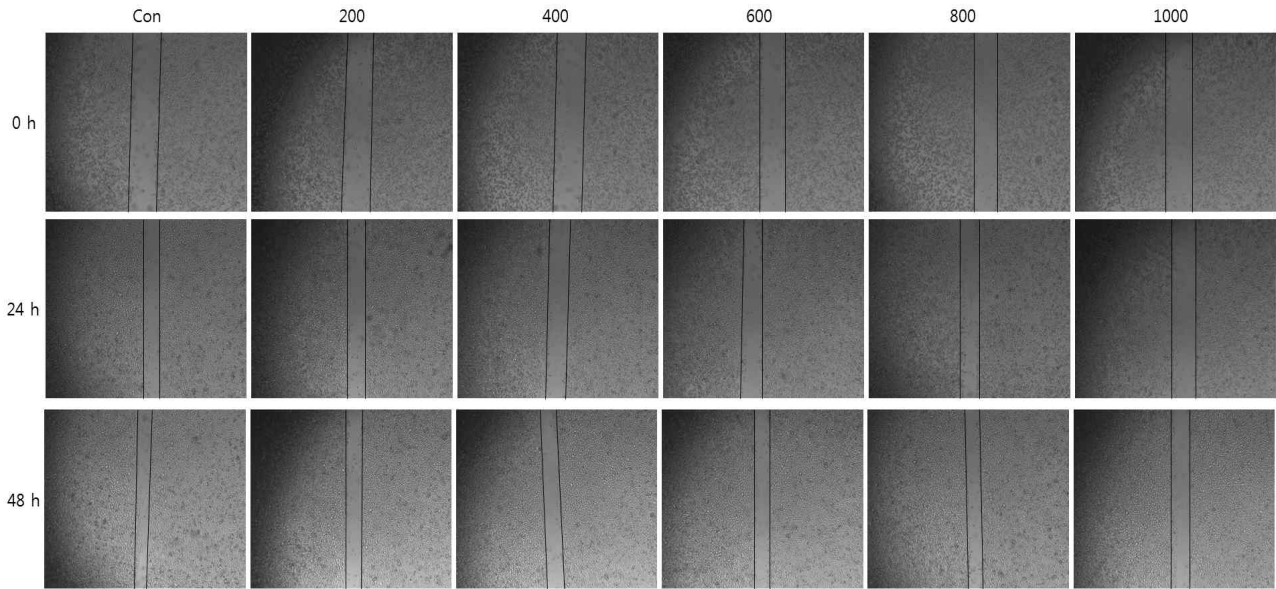


그림 101. 전립선 간질세포 (WPMY-1; 위)와 상피세포(RWPE-1; 아래)에서 땅콩새싹 추출물의 세포이동(migration) 억제

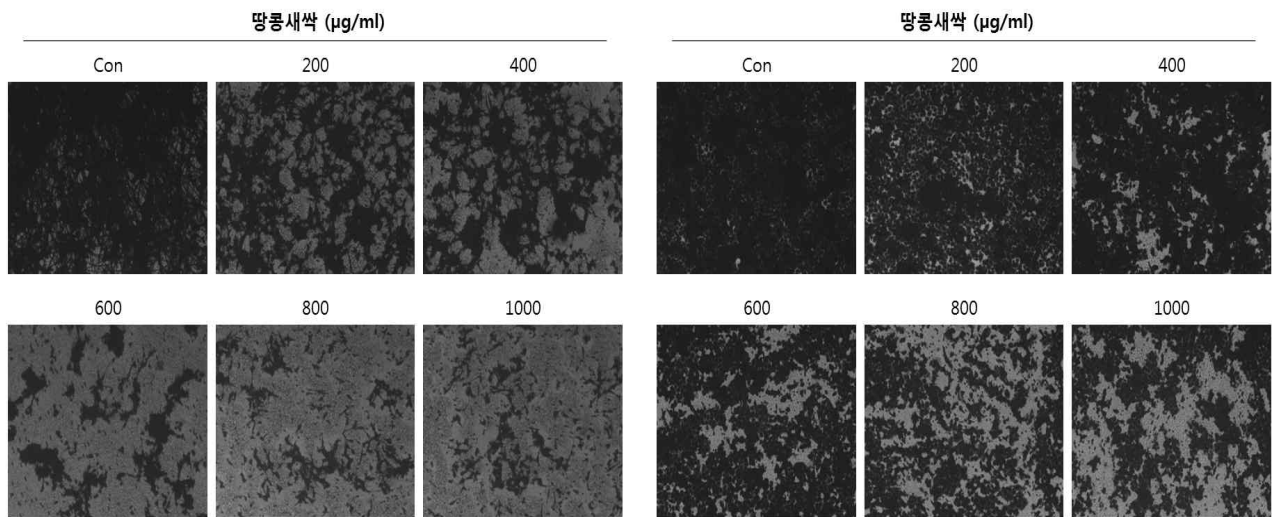


그림 102. 전립선 간질세포 (WPMY-1; 위)와 상피세포(RWPE-1; 아래)에서 땅콩새싹 추출물의 세포침윤(invasion) 억제

- ㊤ 땅콩새싹 추출물이 전립선 간질세포와 상피세포의 이동성과 관련된 MMP-2와 MMP-9을 gelatin zymography를 통해 관찰한 결과, 땅콩새싹 추출물 처리에 의해 MMP-2와 MMP-9의 활성이 억제되는 것을 관찰하였음 (그림 103).

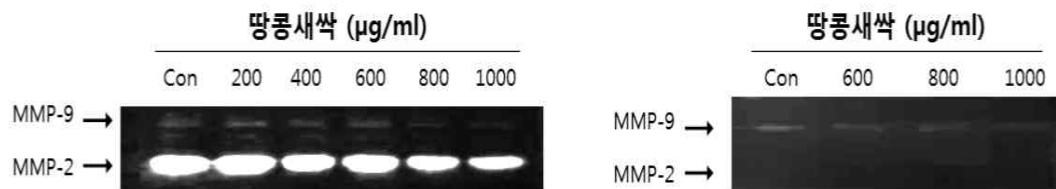


그림 103. 전립선 간질세포 (WPMY-1; 좌)와 상피세포(RWPE-1; 우)에서 땅콩새싹 추출물의 MMP-2와 MMP-9 발현 억제

- ㊤ MMPs의 단백질 전사에 기여하는 transcription factor (AP-1, SP-1, NF- κ B) binding activity에 대한 효과를 관찰하였음. 땅콩새싹 추출물을 (400, 600, 800 μ g/ml) 24시간 처리 후 EMSA를 통해 관찰한 결과, 전립선 간질세포와 상피세포에서 transcription factor의 binding activity가 억제되었음(그림 104).

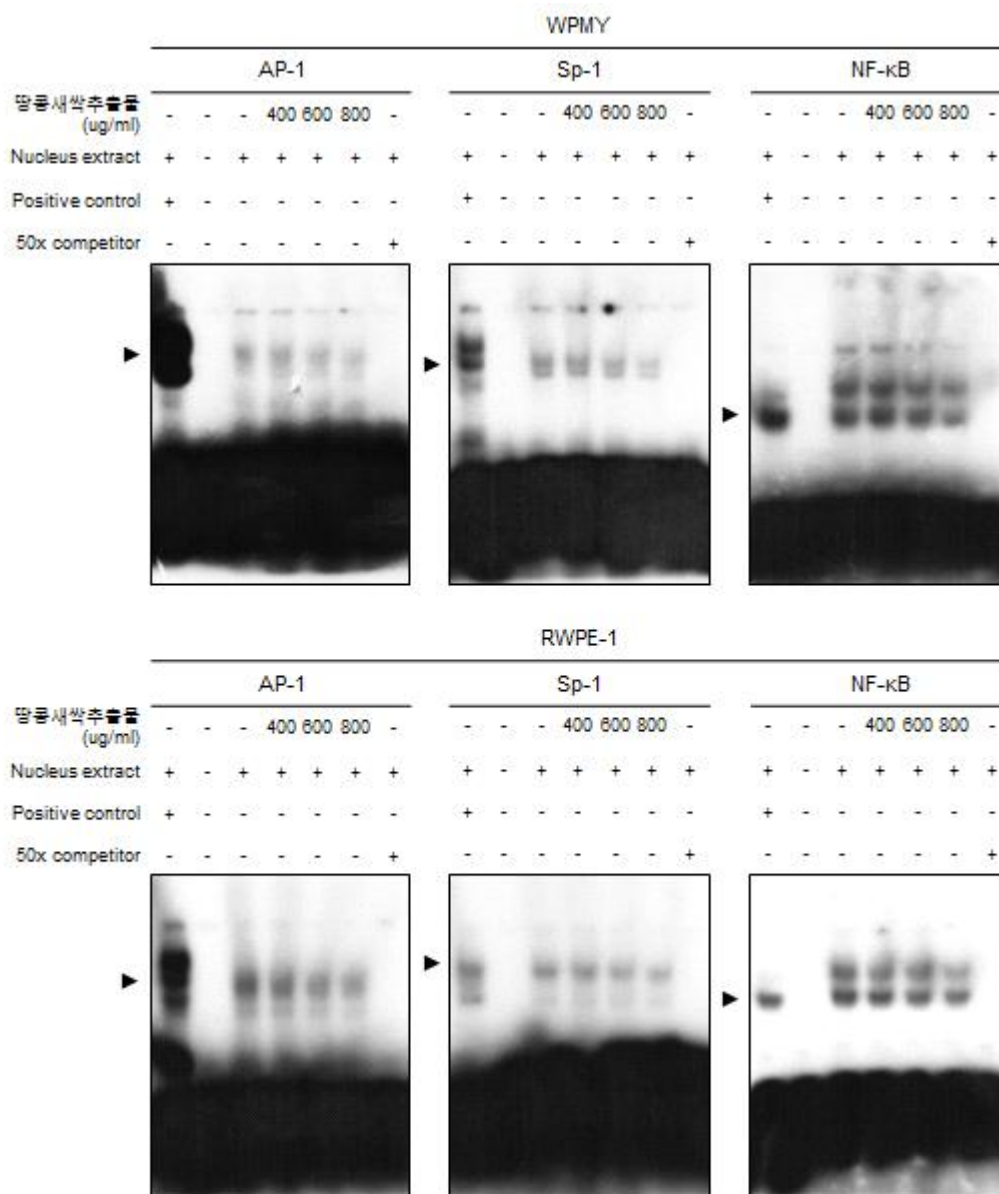


그림 104. 전립선 간질세포 (WPMY-1 : 위)와 상피세포(RWPE-1 : 아래)에서 땅콩새싹 추출물의 transcription factor의 결합 활성에 대한 효과를 관찰하였음.

(마) 전립선 간질세포 및 상피세포에 대한 땅콩새싹 추출물의 전립선비대증 관련 biomarker에 대한 효과 관찰

① 연구방법

㉞ 전립선 간질세포 (WPMY-1)와 상피세포(RWPE-1)를 6-well plate에 1×10^5 /well로 seeding 하고 24시간 배양한 뒤, 땅콩새싹추출물 (0, 400, 600, 800 $\mu\text{g/ml}$)을 24시간 동안 처리하였음. cell lysis buffer를 이용해 세포를 분해한 후, Western blot으로 전립선비대증 관련 biomarker (5 α -reductase(santa cruz, sc-293232), AR(santa cruz, sc-7305), FGF-2(santa cruz, sc-1360), Bcl-2(santa cruz, sc-7382), Bax(santa cruz, sc-20067)의 발현을 확인하였음.

② 결과

㉞ 전립선비대증 발병에 관여하는 biomarker에 대하여 땅콩새싹 추출물의 효과를 western blot을 통해 관찰하였음. 실험 결과, 5 α -reductase, AR, FGF-2, Bcl-2의 발현 감소 및 BAX의 발현증가를 확인하였음(그림 105).

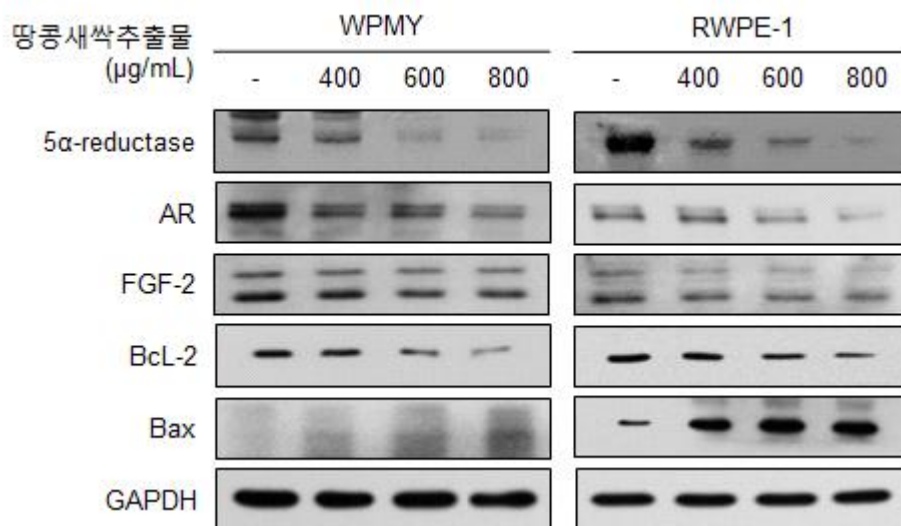


그림 105. 전립선 간질세포 (WPMY-1)와 상피세포(RWPE-1)에서 땅콩새싹 추출물의 전립선 비대증 발병 관련 biomarker 에 대한 효과를 관찰하였음.

(10) 전립선 비대증 예방 동물모델에서 땅콩새싹 추출물의 효과에 따른 바이오마커 발현 validation

(가) 연구방법

① 전립선비대증 동물모델 : 내재성 테스토스테론의 영향을 배제하기 위하여 6주령 수컷 rat 의 고환 및 부고환을 제거하였음. 3주 후, 전립선비대증 유도를 위해 corn oil에 희석된 testosterone (25mg/kg/3days)을 4주간 피하주사 하였음. 최초 testosterone 투여 일주일 후, 땅콩새싹 추출물(0, 50, 100 mg/kg/day) 및 Finasteride(6mg/kg)는 물에 희석하여 각 농도별로 3주간 경구투여 하였음(그림 106).

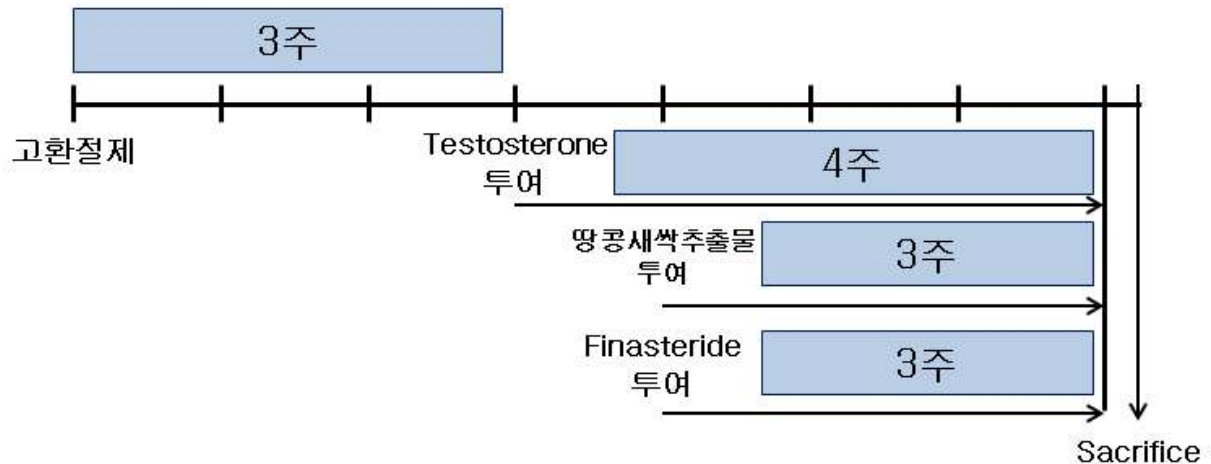


그림 106. 전립선 비대증 동물모델 약물 투여 설계

- ② 전립선 조직 적출 : 실험동물을 흡입마취(N₂O(아산화질소)+ O₂(산소)+isoflurane(아이소플루레인) 혼합 사용)하여 안락사 진행한 뒤 전립선 조직을 적출하여 부피 및 질량 측정 하였음. 적출된 조직은 실험목적에 따라 동결 또는 formalin 고정하여 보관하였음.
- ③ 전립선 조직 내 Dihydrotestosterone(DHT) 발현 분석 : 적출된 조직을 lysis buffer를 이용해 용해한 후 Enzyme-Linked Immunosorbent Assay(ELISA)를 수행하였음.
- ④ 전립선 조직 염색 : formalin 고정된 전립선 조직을 paraffin embedding하여 H&E staining 및 Immunohistochemistry(IHC)를 수행하였음.
- ⑤ 전립선 조직을 이용한 전립선비대증 관련 biomarker 분석 : 동결된 전립선 조직을 lysis buffer를 이용해 용해과정을 거친 후, Western blot으로 전립선비대증 관련 biomarker (5 α -reductase, AR, FGF-2, Bcl-2, Bax)의 발현을 확인하였음.

(나) 결과

- ① 각 군마다 전립선 조직의 크기를 비교하기 위해 Prostate Weight/Body Weight 비율을 이용하여 측정하였음. 테스토스테론군에서 전립선 조직이 가장 컸으며, 땡콩새싹 추출물 처리군에서 무게가 감소한것을 확인하였음. Finasteride 군은 양성 대조군으로 사용하였음 (그림 107).



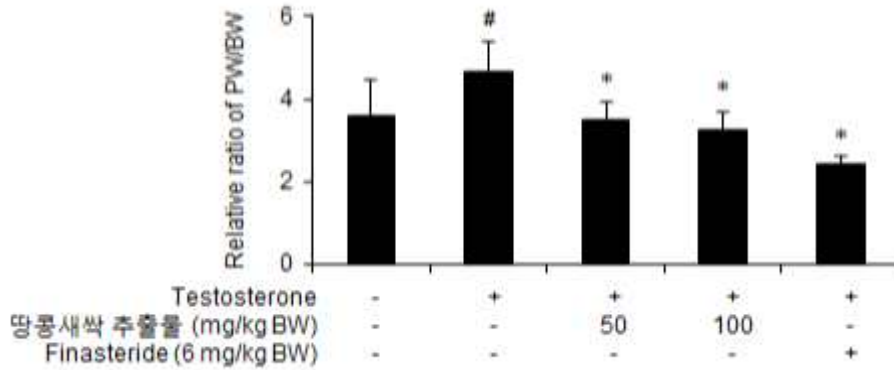


그림 107. 전립선 동물 모델에서 땅콩새싹 추출물 처리에 따른 전립선 조직 무게가 감소함.

② DHT는 전립선 비대증 발병의 주요 원인중 하나로 알려져 있음. 전립선비대증 동물모델에서 땅콩새싹 추출물 투여에 따른 DHT 발현 변화를 확인하기 위해 ELISA를 수행하였음. 실험 결과, Testosterone 군에서 DHT의 발현이 상승하였으며, 땅콩새싹 추출물 처리군에서 DHT 발현 감소를 확인하였음 (그림 108).

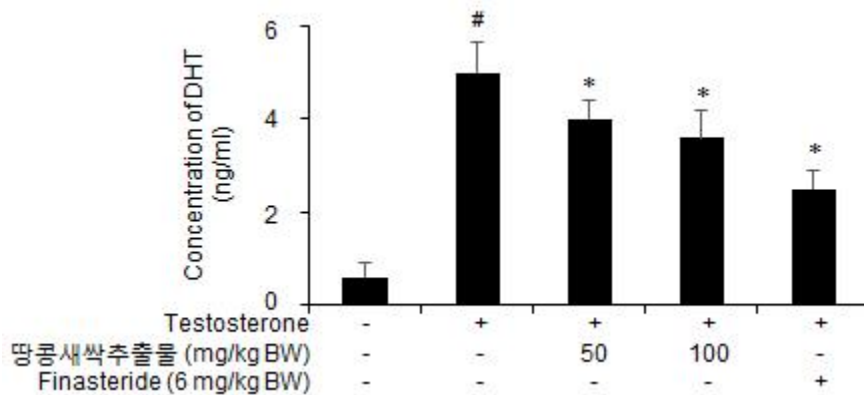


그림 108. 땅콩새싹 추출물 투여에 의한 전립선 조직 내 DTH 발현 감소를 확인하였음.

③ 땅콩새싹 추출물 투여에 따른 전립선 조직의 변화를 관찰하기 위해 H&E staining과 IHC를 수행하였음. Testosterone 투여군에서 전립선 상피조직이 두꺼워졌으며, 땅콩새싹 추출물 투여군에서 전립선 상피조직의 두께가 감소되는 것을 확인하였음. 또한 세포증식 marker로 알려져 있는 ki-67을 IHC를 통해 확인해본 결과, Testosterone 군에서 발현이 증가되었으며, 땅콩새싹 추출물 처리군에서 발현이 감소되는 것을 확인하였음(그림 109).

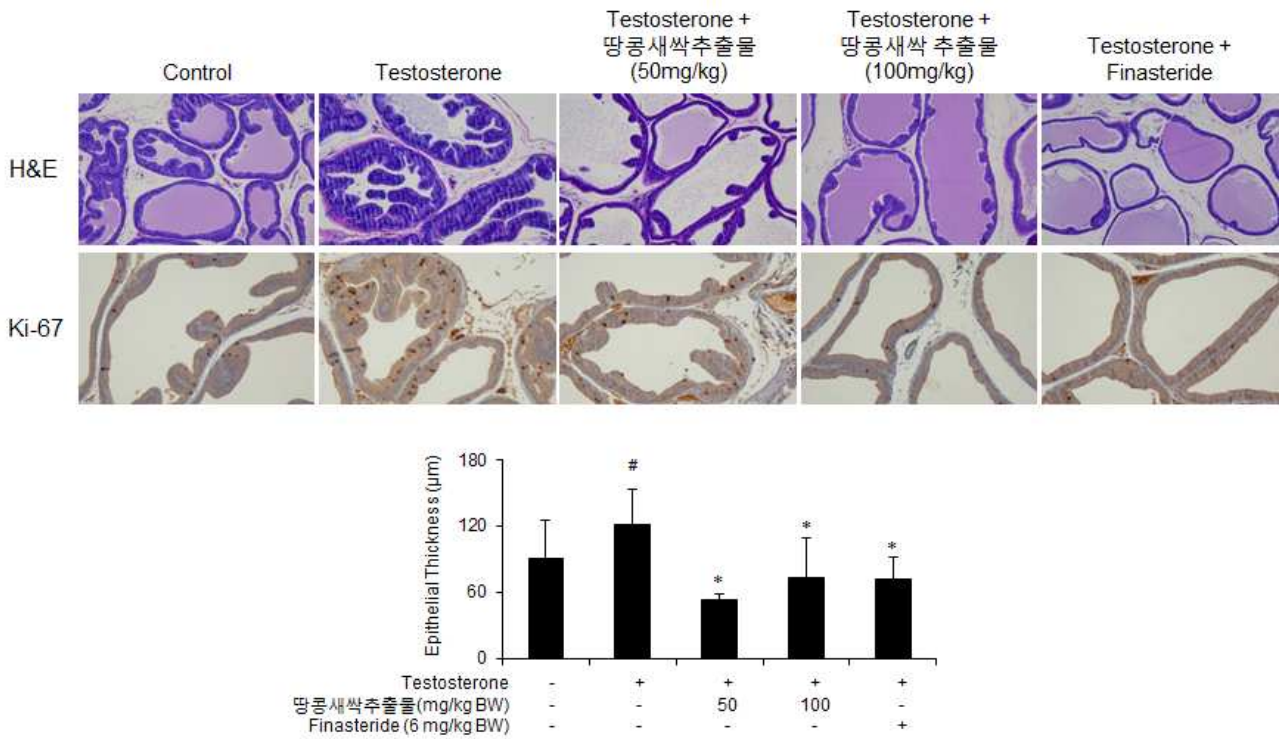


그림 109. 전립선 조직에서 땅콩새싹 추출물 투여에 따른 전립선 상피조직의 두께 및 ki-67 발현 변화를 확인하였음.

④ *in vitro* 연구에서 전립선비대증 발병에 관여하는 biomarker에 대하여 땅콩새싹 추출물의 효과를 western blot을 통해 확인하였으며, *in vivo* 연구에서 유사한 결과가 나타나는지 확인하기 위해 동물모델에서 적출한 전립선 조직을 이용하여 western blot을 진행하였음. 실험결과, Testosterone 군에서 5 α -reductase, AR, FGF-2, Bcl-2의 발현이 증가하였으며, 땅콩새싹 추출물 투여군에서 감소하는 경향을 보였음. 또한 Testosterone 군에서 BAX의 발현감소를 보였으며, 땅콩새싹 추출물 투여군에서 발현증가를 확인하였음. *in vitro* 결과와 *in vivo* 유사한 경향을 보이고 있음(그림 120).

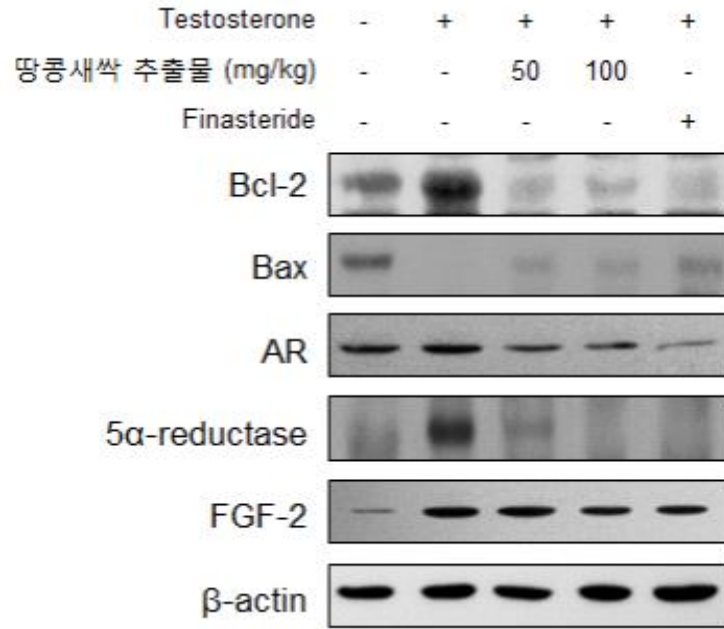


그림 120. 전립선 동물 모델에서 땅콩새싹 추출물의 전립선비대증 발병 관련 biomarker 에 대한 효과를 관찰하였음.

라. 위탁연구기관 (네오뉴트라(주)) :

(1) 인체적용시험 계획서(프로토콜) 개발

(가) 프로토콜 요약

인체적용시험 제목	전립선 건강에 대한 PSE의 유효성 및 안전성을 평가하기 위한 12주, 무작위배정, 이중눈가림, 위약대조 인체적용시험
인체적용시험 의뢰자	(주)레스베라 충북 청주시 서원구 남이면 양촌1길 34-13
인체적용시험 책임자	명순철 교수 (중앙대학교병원 비뇨의학과)
인체적용시험 실시기관	중앙대학교병원 비뇨의학과 (서울특별시 동작구 흑석로 102)
인체적용시험 기간	생명윤리위원회(IRB)의 인체적용시험 승인일로부터 12개월
인체적용시험 대상	전립선 증상을 가진 남성
인체적용시험 목적	전립선 증상을 가진 남성을 대상으로 PSE(땅콩새싹추출물)을 섭취했을 때 대조식품(placebo)과 비교하여 전립선 기능 개선에 미치는 유효성 및 안전성을 평가하기 위함.
시험 단계 및 디자인	단 계: 기타 (건강기능식품) 디자인: 12주, 무작위배정, 이중눈가림, 위약대조

인체적용시험용 식품	시험식품: PSE(땅콩새싹추출물) 대조식품: Placebo												
인체적용시험용 식품 섭취방법	시험군(PSE): 1일 2회, 1회 1정을 물과 함께 섭취(땅콩새싹추출물로서 1g/day) 대조군(Placebo) : 시험군과 동일한 방법으로 섭취												
인체적용시험용 식품 섭취기간	12주												
인체적용시험 방법	<div style="border: 1px solid black; padding: 10px; text-align: center;"> <p>방문1 (Screening, -2주) 방문2 (D-0) 방문3 (D+42(±7), 6주) 방문4 (D+84(±7), 12주)</p> <p>Randomization 인체적용시험 종료</p> </div> <p>인체적용시험대상자(또는 법정대리인)는 자의로 인체적용시험 동의서에 서명 후, 방문평가를 통해 선정/제외기준 적합 여부를 판정한 뒤, 적합한 인체적용시험대상자에 한하여 등록된 순서에 따라 시험군 또는 대조군 중 한 군으로 무작위배정 함. 배정된 인체적용시험대상자는 12주간 인체적용시험용 식품(시험식품 또는 대조식품)을 섭취</p>												
인체적용시험 대상자 수	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; text-align: center;"> <thead> <tr> <th style="width: 40%;"></th> <th style="width: 15%;">시험군</th> <th style="width: 15%;">대조군</th> <th style="width: 30%;">총 시험대상자 수</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>최종 평가 레수(PP Set)</td> <td>36</td> <td>36</td> <td>72</td> </tr> <tr> <td>Drop-out(21%)고려 레수</td> <td>46</td> <td>46</td> <td>92</td> </tr> </tbody> </table>		시험군	대조군	총 시험대상자 수	최종 평가 레수(PP Set)	36	36	72	Drop-out(21%)고려 레수	46	46	92
	시험군	대조군	총 시험대상자 수										
최종 평가 레수(PP Set)	36	36	72										
Drop-out(21%)고려 레수	46	46	92										
선정기준	<ol style="list-style-type: none"> 1) 만 40세 이상, 만 75세 이하의 남성 2) IPSS(International Prostate Symptom Score)가 8~19 범위에 해당하는 자 3) 인체적용시험이 시작되기 전에 본 인체적용시험의 참여를 동의하고, 서면 동의서(Informed consent)를 작성한 자 												
제외기준	<ol style="list-style-type: none"> 1) 임상적으로 유의한 급성 또는 만성 심뇌혈관계, 면역계, 호흡기계, 간담도계, 신장 및 비뇨기계, 신경계, 근골격계 질환, 정신성, 감염성 및 혈액·종양성 질환 등으로 현재 치료 중인 자(단, 인체적용시험 대상자의 상태를 고려하여 시험자의 판단에 따라 시험에 참여 가능하며, 단순 요로감염은 치료 2주 후 참여 가능). 												

	<ol style="list-style-type: none"> 2) 최대 배뇨속도가 5ml/초 미만인 자 3) 잔뇨량이 150ml 초과인 자 4) 전립선 수술을 포함한 비뇨생식기 관련 수술, 기타 전립선 치료를 위한 침습성 시술을 받은 자(경요도 침소작술, 전립선레이저치료 등) 5) 전립선 용적이 40g 이상인 자 6) 전립선암으로 진단받은 자 7) 조절되지 않는 고혈압 환자(160/100mmHg 이상, 시험대상자 10분 안정 후 측정기준) 8) 조절되지 않는 당뇨병 환자(공복 혈당 180mg/dl 이상 또는 3개월 이내에 당뇨로 인해 약제를 새로 시작하는 경우 또는 변경한 경우) 9) 갑상선 질환이 있는 자 10) Creatinine이 시험기관 정상 상한치의 2배 이상인 자 11) AST(GOT) 또는 ALT(GPT)가 시험기관 정상 상한치의 3배 이상인 자 12) 시험 시작 4주 이내에 전립선 비대증 치료제 및 건강기능식품을 복용한 자 13) 본 인체적용시험 전 3개월 이내 다른 임상시험에 참여했거나 본 인체적용시험 기간 중에 다른 임상시험에 참가할 계획이 있는 자 14) 땅콩새싹 관련 식품에 민감하거나 알레르기가 있는 자 15) 항문질환 등으로 초음파검사를 시행하지 못 하는 자 16) 시험자가 본 인체적용시험에 부적절하다고 판단하는 자
<p style="text-align: center;">유효성 평가</p>	<ul style="list-style-type: none"> • 1차 유효성 평가 변수 <ol style="list-style-type: none"> 1) IPSS 총점 • 2차 유효성 평가 변수 <ol style="list-style-type: none"> 1) Testosterone, DHEA-S 2) 최대 배뇨속도 3) 잔뇨량 4) OABSS 5) NIH-CPSI 6) AMS 7) ADAM 8) IGF-1, Estradiol 9) hs-CRP, IL-6, IL-1b, TNF-a 10) urine NGF, urine PGE, urine ATP 11) 혈압, 체중, 허리둘레
<p style="text-align: center;">안전성 평가</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1) 이상반응 2) 임상병리검사 (혈액학적/혈액화학적검사, 뇨검사) 3) 활력징후 (맥박) 4) 혈중 PSA

통계분석	<p>1. 유효성</p> <p>1) 1차 유효성 평가변수 1차 유효성 평가변수인 IPSS 총점의 섭취 전후 변화의 정도는 정규성 만족 여부에 따라 Paired t-test 또는 Wilcoxon signed rank test를 실시하고, 각 시점에서의 시험군과 대조군 간의 변화 정도는 ANCOVA와 정규성 만족 여부에 따라 Two sample t-test 또는 Wilcoxon rank sum test를 실시하여 통계적으로 유의한 차이가 있는지 평가</p> <p>2) 2차 유효성 평가변수 2차 유효성 평가변수인 Total testosterone, Free testosterone, DHEA-S, 최대 배뇨속도, 잔뇨량, OABSS, NIH-CPSI, AMS, ADAM, IGF-1, Estradiol, hs-CRP, IL-6, IL-1b, TNF-a, urine NGF, urine PGE, urine ATP, 혈압, 체중, 허리둘레의 섭취 전후 변화의 정도는 정규성 만족 여부에 따라 Paired t-test 또는 Wilcoxon signed rank test를 실시하고, 각 시점에서의 시험군과 대조군 간의 변화 정도는 ANCOVA와 정규성 만족 여부에 따라 Two sample t-test 또는 Wilcoxon rank sum test를 실시하여 통계적으로 유의한 차이가 있는지 평가</p> <p>2. 안전성</p> <p>1) 이상반응 인체적용시험용 식품 섭취 후 발생한 모든 이상반응은 MedDRA에 따라 Coding 하며, 도표화한 후 발생률을 산출하여 평가함. 각 군간 이상반응이 발생한 인체적용시험대상자의 비율을 계산하고 카이제곱검정 (Chi-square test) 또는 피셔의 정확검정(Fisher's exact test)을 이용하여 비교 분석</p> <p>2) 임상병리검사(혈액학적/혈액화학적검사, 뇨검사), 혈중 PSA 혈액학적 및 혈액화학적 검사치, 혈중 PSA와 같이 연속형(Continuous type)자료의 군내 비교는 정규성 만족 여부에 따라 Paired t-test 또는 Wilcoxon signed rank test를 실시하고, 각 시점에서의 시험군과 대조군 간의 변화 정도는 정규성 만족 여부에 따라 Two sample t-test 또는 Wilcoxon rank sum test를 실시하여 통계적으로 유의한 차이가 있는지 평가함. 뇨검사는 정상과 비정상으로 나누어 McNemar test를 실시하여 군내 차이를 비교</p> <p>3) 활력징후(맥박) 활력징후(맥박) 검사치의 섭취 전과 후의 차이에 대한 군내 비교는 정규성 만족 여부에 따라 Paired t-test 또는 Wilcoxon signed rank test</p>
------	---

	를 실시하고, 각 시점에서 시험군과 대조군 간의 변화 정도는 정규성 만족 여부에 따라 Two sample t-test 또는 Wilcoxon rank sum test를 실시하여 통계적으로 유의한 차이가 있는지 평가
--	--

인체적용시험계획서

**전립선 건강에 대한 PSE의 유효성 및 안전성을
평가하기 위한 12주, 무작위배정, 이중눈가림,
위약대조 인체적용시험**

Protocol No. : RES-HC-PSE
Version No. : 1.2
Version Date : 2019년 07월 24일

위레스베라 소유

Confidential

본 인체적용시험계획서에 포함되어 있는 모든 정보는 인체적용시험책임자, 인체적용시험 공동연구자, 인체적용시험담당자, 생명윤리위원회(IRB), 식품의약품안전처를 위해 제공된 것으로 인체적용시험에 사용되는 식품을 섭취하는 사람에게 시험용가에 대한 서면 등의를 받기 위한 경우를 제외하고는 위레스베라의 사전 서면동의 없이 제3자에게 공개될 수 없습니다.

NeoVetra co., Ltd. www.NeoVetra.com

Confidential

위레스베라
Clinical Study Protocol
Protocol No.: RES-HC-PSE
Version No.: 1.2(2019.07.24)

2/70

시험책임자의 인체적용시험계획서 동의

인체적용시험계획서 제목: 전립선 건강에 대한 PSE의 유효성 및 안전성을 평가하기 위한 12주, 무작위배정, 이중눈가림, 위약대조 인체적용시험

인체적용시험계획서 번호: RES-HC-PSE(Version 1.2)

본인은 본 인체적용시험계획서를 검토하였으며, 인체적용시험의 수행에 필요한 모든 정보가 포함되어 있음을 확인하였습니다. 본인은 본 인체적용시험계획서에 따라 시험을 수행할 것에 동의합니다.

본인은 본 인체적용시험에 위임된 연구자들에게 본 시험계획서 및 모든 관련 정보의 사본을 제공합니다. 그들이 인체적용시험을 식용, 인체적용시험의 수행 및 기밀 유지 의무와 관련하여 완전히 이해할 수 있도록 그들과 함께 이 자료에 대해 논의합니다.

본인은 본 인체적용시험을 수행함에 있어 시험을 종리적이고 과학적인 원칙에 따라 관리하기 위한 국내 의약품 임상시험관리기준 및 합성키엔연과 소속병원 SOP 총칙, 세칙 & guideline에 따라 수행할 것에 동의합니다.

본인은 모니타링, 점검자, 생명윤리위원회(IRB) 또는 허가기관에서 요구하는 대로 근거문서와 의무기록을 포함한 모든 시험관련 기록을 적절 열람할 수 있도록 하는데 동의합니다.

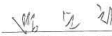
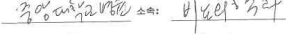
본인은 중대한 이상반응(SAE)의 정확한 보고를 위한 일단 요건에 대해 알고 있으며, 중대한 이상반응이 발생한 경우 요구되는 사항에 대해 보고하고 문서화할 책임이 있다는 것에 동의합니다.

시험책임자

성명(경주도 기입):

인체적용시험 실시기관:

서명:


 소속: 
 날짜: 08-Aug-2019
 (DD-MMM-YYYY)

NeoVetra co., Ltd. www.NeoVetra.com

Confidential

위레스베라
Clinical Study Protocol
Protocol No.: RES-HC-PSE
Version No.: 1.2(2019.07.24)

12/70

목 차

○ 인체적용시험계획서 요약	4
○ 인체적용시험 진행 일명표	9
○ 약어	11
1. 인체적용시험의 명칭 및 단계	16
1.1. 명칭	16
1.2. 단계	16
2. 시험자 및 실시기관 지원 조직	16
2.1. 인체적용시험실시기관	16
2.2. 인체적용시험책임자	16
2.3. 인체적용시험의뢰자	16
2.4. 인체적용시험수탁기관 (CONTRACT RESEARCH ORGANIZATION, CRO)	17
3. 인체적용시험의 목적 및 배경	17
3.1. 인체적용시험의 목적	17
3.2. 인체적용시험의 배경	17
4. 인체적용시험용 식품	19
4.1. 인체적용시험용 식품의 개요	19
4.1.1. 시험식품 (PSE)	19
4.1.2. 대조식품 (Placebo)	20
4.2. 인체적용시험용 식품의 생산/포장 및 라벨링	20
4.3. 인체적용시험용 식품의 교부	21
4.4. 인체적용시험용 식품의 관리기록	22
4.5. 인체적용시험용 식품의 회수 및 회기	22
4.6. 이중눈가림의 유지	22
5. 인체적용시험 기간	23
6. 인체적용시험대상자의 선정기준, 제외기준 및 목표 인체적용시험대상자의 수	23
6.1. 인체적용시험대상자	23
6.1.1. 선정기준	23
6.1.2. 제외기준	23

NeoVetra co., Ltd. www.NeoVetra.com

Confidential

위레스베라
Clinical Study Protocol
Protocol No.: RES-HC-PSE
Version No.: 1.2(2019.07.24)

13/70

6.2. 목표한 인체적용시험대상자의 수 및 선정기준	24
6.2.1. 인체적용시험대상자 수	24
6.2.2. 선정기준	25
7. 인체적용시험 방법	26
7.1. 인체적용시험의 설계	26
7.2. 인체적용시험용 식품의 섭취량, 섭취방법 및 섭취기간	27
7.2.1. 1일 섭취량 및 섭취방법	27
7.2.2. 섭취기간	27
7.2.3. 섭취량 설정 사유	27
7.3. 병용요법	28
7.3.1. 병용가능약품 및 식품	28
7.3.2. 병용금지 약물(또는 식품) 및 시술	28
7.4. 무작위배정	29
7.5. 인체적용시험대상자 모집 방법	30
8. 인체적용시험 진행일명, 관할 및 임상검사 항목과 방법	30
8.1. 인체적용시험 진행일명표	30
8.2. 관할 및 임상검사항목	32
8.2.1. 인체적용시험대상자 동의 및 연구학적 조사	32
8.2.2. 병역 및 약물부여력 조사, 병용약품 및 병용요법 확인	32
8.2.3. 이학적검사	33
8.2.4. 신장계측 (신장, 체중, 허리둘레)	33
8.2.5. 활력징후 (혈압, 맥박)	33
8.2.6. 임상평가검사	33
8.2.7. 경직장전립선초음파 (TRUS)	34
8.2.8. 사지신도 및 사지소사	34
8.2.9. 국제 전립선 증상점수 (IPSS)	35
8.2.10. 남성 호르몬 (Testosterone, DHEA-S) 검사	36
8.2.11. 오목관사 (Peak flow rate)	37
8.2.12. 잔뇨량 (Residual Urine)	37
8.2.13. 과민성항응 응상점수 (OABSS)	37
8.2.14. 남성성염증 증상점수 (NIH-CPSI)	38
8.2.15. 남성염염기 증상 (AMS)	39
8.2.16. 남성염염기 자가 설문 (ADAM)	39
8.2.17. IGF-1, Estradiol	39
8.2.18. hs-CRP, IL-6, IL-1b, TNF- α , urine NGF, urine PGE, urine ATP	40

NeoVetra co., Ltd. www.NeoVetra.com

Confidential

<p>중앙대학교병원 생명윤리위원회 </p> <p>연구계획서의 의뢰서</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 15%;">심의의뢰종류</td> <td colspan="3"> <input type="checkbox"/> 심의의뢰서 <input type="checkbox"/> 심의면제의뢰서 <input type="checkbox"/> 의대 <input type="checkbox"/> 병원 <input type="checkbox"/> 타기관 <input type="checkbox"/> 공동심의 <input type="checkbox"/> 병원 <input type="checkbox"/> 의대 <input type="checkbox"/> 타기관 </td> </tr> <tr> <td>연구 과제명</td> <td colspan="3"> (국문) 전립선 건강에 대한 PSE의 유효성 및 안전성을 평가하기 위한 12주, 무작위배정, 이중눈 가림, 위약대조 인체적용시험 (영문) Efficacy and Safety of PSE on prostate gland health: A 12week, Randomized, Double-blind, Placebo-Controlled Clinical Trial Protocol No. PSEs+IC-PSE Version No. 1.0 </td> </tr> <tr> <td>연구자</td> <td> 책임연구자 <input type="checkbox"/> 성영 <input type="checkbox"/> 송순철 <input type="checkbox"/> 소숙(교) <input type="checkbox"/> 직역 <input type="checkbox"/> GDP 교착이수일 공동연구자 <input type="checkbox"/> 김관복 <input type="checkbox"/> 비노의학과 <input type="checkbox"/> 교수 2017-06-27 공동연구자 <input type="checkbox"/> 지명훈 <input type="checkbox"/> 비노의과 <input type="checkbox"/> 임상조교수대우 4호 2017-08-02 </td> </tr> <tr> <td>생명윤리범</td> <td colspan="3"> <input type="checkbox"/> 인간대상연구 <input type="checkbox"/> 인체유체물연구 <input type="checkbox"/> 배아줄기세포주이용연구 <input type="checkbox"/> 배어연구 <input type="checkbox"/> 체세포복제배아연구 <input type="checkbox"/> 단생생식배아연구 <input type="checkbox"/> 배아생명의료기관 <input type="checkbox"/> 인체유체물은행 </td> </tr> <tr> <td>다른 분류</td> <td colspan="3"> <input type="checkbox"/> 인간 (<input type="checkbox"/> 건강인 <input type="checkbox"/> 환자 <input type="checkbox"/> 취약한 연구대상자) * 취약한 연구대상자 범주 <input type="checkbox"/> 영/소아 <input type="checkbox"/> 임신부 <input type="checkbox"/> 태아 <input type="checkbox"/> 신생아 <input type="checkbox"/> 장애인 <input type="checkbox"/> 교육제 <input type="checkbox"/> 인지력 <input type="checkbox"/> 정신적 <input type="checkbox"/> 손상된 동의능력 가진 성인 또는 동의 능력이 제한된 사람 <input type="checkbox"/> 연구 기관, 병원, 기관, 의료자 등의 피고용자 <input type="checkbox"/> 연구자의 연구원이나 학생 <input type="checkbox"/> 군인 또는 군인 조직에 의한 연구대상자 모집 <input type="checkbox"/> 열거 환자 <input type="checkbox"/> 집단시설에 수용 중인 자 <small>(목적사업/의도/기법에서 용량으로 정한 집단 시설로 [의약품 등의 안전에 관한 규칙] 및 [의료기기법 시행규칙]에 따른 집단 시설을 말한다)</small> </td> </tr> <tr> <td>연구 대상</td> <td colspan="3"> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 15%;"></td> <td style="width: 15%;">수량</td> <td style="width: 30%;">인체유체물 수량 : 2 종 (분원전체 : 200 개)</td> <td style="width: 40%;"></td> </tr> <tr> <td rowspan="2">인체 유체물</td> <td>종류</td> <td><input type="checkbox"/> 혈액 <input type="checkbox"/> 조직 <input type="checkbox"/> 체액 <input type="checkbox"/> 기타</td> <td></td> </tr> <tr> <td>수집 방법</td> <td><input type="checkbox"/> 전향적 인체유체물 수집 <input type="checkbox"/> 보관된 인체유체물 <input type="checkbox"/> 기타</td> <td></td> </tr> <tr> <td></td> <td>의명칭 여부</td> <td><input type="checkbox"/> 의명하면 인체유체물 <input type="checkbox"/> 의명회기 필요함</td> <td></td> </tr> <tr> <td></td> <td>유전학적 정보</td> <td>유전학적 정보수집 여부 <input type="checkbox"/> 예 / <input type="checkbox"/> 아니요</td> <td></td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td>유전학적 정보보관 여부 <input type="checkbox"/> 예 / <input type="checkbox"/> 아니요</td> <td></td> </tr> </table> </td> </tr> <tr> <td></td> <td colspan="3"> <input type="checkbox"/> 후행적 의무기록 <input type="checkbox"/> 기타 <input type="checkbox"/> 인체유체물 이용된 동물 연구 <input type="checkbox"/> 기타 </td> </tr> </table> <p style="text-align: center;">1 / 7</p>	심의의뢰종류	<input type="checkbox"/> 심의의뢰서 <input type="checkbox"/> 심의면제의뢰서 <input type="checkbox"/> 의대 <input type="checkbox"/> 병원 <input type="checkbox"/> 타기관 <input type="checkbox"/> 공동심의 <input type="checkbox"/> 병원 <input type="checkbox"/> 의대 <input type="checkbox"/> 타기관			연구 과제명	(국문) 전립선 건강에 대한 PSE의 유효성 및 안전성을 평가하기 위한 12주, 무작위배정, 이중눈 가림, 위약대조 인체적용시험 (영문) Efficacy and Safety of PSE on prostate gland health: A 12week, Randomized, Double-blind, Placebo-Controlled Clinical Trial Protocol No. PSEs+IC-PSE Version No. 1.0			연구자	책임연구자 <input type="checkbox"/> 성영 <input type="checkbox"/> 송순철 <input type="checkbox"/> 소숙(교) <input type="checkbox"/> 직역 <input type="checkbox"/> GDP 교착이수일 공동연구자 <input type="checkbox"/> 김관복 <input type="checkbox"/> 비노의학과 <input type="checkbox"/> 교수 2017-06-27 공동연구자 <input type="checkbox"/> 지명훈 <input type="checkbox"/> 비노의과 <input type="checkbox"/> 임상조교수대우 4호 2017-08-02	생명윤리범	<input type="checkbox"/> 인간대상연구 <input type="checkbox"/> 인체유체물연구 <input type="checkbox"/> 배아줄기세포주이용연구 <input type="checkbox"/> 배어연구 <input type="checkbox"/> 체세포복제배아연구 <input type="checkbox"/> 단생생식배아연구 <input type="checkbox"/> 배아생명의료기관 <input type="checkbox"/> 인체유체물은행			다른 분류	<input type="checkbox"/> 인간 (<input type="checkbox"/> 건강인 <input type="checkbox"/> 환자 <input type="checkbox"/> 취약한 연구대상자) * 취약한 연구대상자 범주 <input type="checkbox"/> 영/소아 <input type="checkbox"/> 임신부 <input type="checkbox"/> 태아 <input type="checkbox"/> 신생아 <input type="checkbox"/> 장애인 <input type="checkbox"/> 교육제 <input type="checkbox"/> 인지력 <input type="checkbox"/> 정신적 <input type="checkbox"/> 손상된 동의능력 가진 성인 또는 동의 능력이 제한된 사람 <input type="checkbox"/> 연구 기관, 병원, 기관, 의료자 등의 피고용자 <input type="checkbox"/> 연구자의 연구원이나 학생 <input type="checkbox"/> 군인 또는 군인 조직에 의한 연구대상자 모집 <input type="checkbox"/> 열거 환자 <input type="checkbox"/> 집단시설에 수용 중인 자 <small>(목적사업/의도/기법에서 용량으로 정한 집단 시설로 [의약품 등의 안전에 관한 규칙] 및 [의료기기법 시행규칙]에 따른 집단 시설을 말한다)</small>			연구 대상	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 15%;"></td> <td style="width: 15%;">수량</td> <td style="width: 30%;">인체유체물 수량 : 2 종 (분원전체 : 200 개)</td> <td style="width: 40%;"></td> </tr> <tr> <td rowspan="2">인체 유체물</td> <td>종류</td> <td><input type="checkbox"/> 혈액 <input type="checkbox"/> 조직 <input type="checkbox"/> 체액 <input type="checkbox"/> 기타</td> <td></td> </tr> <tr> <td>수집 방법</td> <td><input type="checkbox"/> 전향적 인체유체물 수집 <input type="checkbox"/> 보관된 인체유체물 <input type="checkbox"/> 기타</td> <td></td> </tr> <tr> <td></td> <td>의명칭 여부</td> <td><input type="checkbox"/> 의명하면 인체유체물 <input type="checkbox"/> 의명회기 필요함</td> <td></td> </tr> <tr> <td></td> <td>유전학적 정보</td> <td>유전학적 정보수집 여부 <input type="checkbox"/> 예 / <input type="checkbox"/> 아니요</td> <td></td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td>유전학적 정보보관 여부 <input type="checkbox"/> 예 / <input type="checkbox"/> 아니요</td> <td></td> </tr> </table>				수량	인체유체물 수량 : 2 종 (분원전체 : 200 개)		인체 유체물	종류	<input type="checkbox"/> 혈액 <input type="checkbox"/> 조직 <input type="checkbox"/> 체액 <input type="checkbox"/> 기타		수집 방법	<input type="checkbox"/> 전향적 인체유체물 수집 <input type="checkbox"/> 보관된 인체유체물 <input type="checkbox"/> 기타			의명칭 여부	<input type="checkbox"/> 의명하면 인체유체물 <input type="checkbox"/> 의명회기 필요함			유전학적 정보	유전학적 정보수집 여부 <input type="checkbox"/> 예 / <input type="checkbox"/> 아니요				유전학적 정보보관 여부 <input type="checkbox"/> 예 / <input type="checkbox"/> 아니요			<input type="checkbox"/> 후행적 의무기록 <input type="checkbox"/> 기타 <input type="checkbox"/> 인체유체물 이용된 동물 연구 <input type="checkbox"/> 기타			<p>중앙대학교병원 생명윤리위원회 </p> <p>수신자 연구담당자 (참 조) 주식회사 레스베라 제 목 연구계획서의 의뢰서(수정후승인에 대한 답변) 의뢰건(1892-002-344)</p> <hr/> <p>1. 귀사의 번영을 기원합니다. 2. 아래의 연구계획서의 의뢰서(수정후승인에 대한 답변) 의뢰 건이 본원 생명윤리위원회에서 "승인" 판정되었음을 알려드립니다.(‘첨의 결과 통보서’ 참조) - 아 결 - 가. 연구 표정명 : 전립선 건강에 대한 PSE의 유효성 및 안전성을 평가하기 위한 12주, 무작위 배정, 이중눈가림, 위약대조 인체적용시험 나. 연구 의뢰기관 : 주식회사 레스베라 다. 연구책임자 : 비노의학과 영순철 교수</p> <div style="text-align: right; margin-top: 20px;"> 중앙대학교병원 </div> <hr/> <p>시행: 중앙대학교병원 1809-014-003(2018.11.22) 주소: 서울특별시 중구 옥석로 102(옥석동 224-1) (우) 06973 전화: 02-6299-2738, 2740 / FAX: 02-6299-2739 / e-Mail: lib@caumc.or.kr e-IRB 시스템 https://elib.cauhs.or.kr/</p> <p style="text-align: center;">1 / 4</p>
심의의뢰종류	<input type="checkbox"/> 심의의뢰서 <input type="checkbox"/> 심의면제의뢰서 <input type="checkbox"/> 의대 <input type="checkbox"/> 병원 <input type="checkbox"/> 타기관 <input type="checkbox"/> 공동심의 <input type="checkbox"/> 병원 <input type="checkbox"/> 의대 <input type="checkbox"/> 타기관																																																	
연구 과제명	(국문) 전립선 건강에 대한 PSE의 유효성 및 안전성을 평가하기 위한 12주, 무작위배정, 이중눈 가림, 위약대조 인체적용시험 (영문) Efficacy and Safety of PSE on prostate gland health: A 12week, Randomized, Double-blind, Placebo-Controlled Clinical Trial Protocol No. PSEs+IC-PSE Version No. 1.0																																																	
연구자	책임연구자 <input type="checkbox"/> 성영 <input type="checkbox"/> 송순철 <input type="checkbox"/> 소숙(교) <input type="checkbox"/> 직역 <input type="checkbox"/> GDP 교착이수일 공동연구자 <input type="checkbox"/> 김관복 <input type="checkbox"/> 비노의학과 <input type="checkbox"/> 교수 2017-06-27 공동연구자 <input type="checkbox"/> 지명훈 <input type="checkbox"/> 비노의과 <input type="checkbox"/> 임상조교수대우 4호 2017-08-02																																																	
생명윤리범	<input type="checkbox"/> 인간대상연구 <input type="checkbox"/> 인체유체물연구 <input type="checkbox"/> 배아줄기세포주이용연구 <input type="checkbox"/> 배어연구 <input type="checkbox"/> 체세포복제배아연구 <input type="checkbox"/> 단생생식배아연구 <input type="checkbox"/> 배아생명의료기관 <input type="checkbox"/> 인체유체물은행																																																	
다른 분류	<input type="checkbox"/> 인간 (<input type="checkbox"/> 건강인 <input type="checkbox"/> 환자 <input type="checkbox"/> 취약한 연구대상자) * 취약한 연구대상자 범주 <input type="checkbox"/> 영/소아 <input type="checkbox"/> 임신부 <input type="checkbox"/> 태아 <input type="checkbox"/> 신생아 <input type="checkbox"/> 장애인 <input type="checkbox"/> 교육제 <input type="checkbox"/> 인지력 <input type="checkbox"/> 정신적 <input type="checkbox"/> 손상된 동의능력 가진 성인 또는 동의 능력이 제한된 사람 <input type="checkbox"/> 연구 기관, 병원, 기관, 의료자 등의 피고용자 <input type="checkbox"/> 연구자의 연구원이나 학생 <input type="checkbox"/> 군인 또는 군인 조직에 의한 연구대상자 모집 <input type="checkbox"/> 열거 환자 <input type="checkbox"/> 집단시설에 수용 중인 자 <small>(목적사업/의도/기법에서 용량으로 정한 집단 시설로 [의약품 등의 안전에 관한 규칙] 및 [의료기기법 시행규칙]에 따른 집단 시설을 말한다)</small>																																																	
연구 대상	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 15%;"></td> <td style="width: 15%;">수량</td> <td style="width: 30%;">인체유체물 수량 : 2 종 (분원전체 : 200 개)</td> <td style="width: 40%;"></td> </tr> <tr> <td rowspan="2">인체 유체물</td> <td>종류</td> <td><input type="checkbox"/> 혈액 <input type="checkbox"/> 조직 <input type="checkbox"/> 체액 <input type="checkbox"/> 기타</td> <td></td> </tr> <tr> <td>수집 방법</td> <td><input type="checkbox"/> 전향적 인체유체물 수집 <input type="checkbox"/> 보관된 인체유체물 <input type="checkbox"/> 기타</td> <td></td> </tr> <tr> <td></td> <td>의명칭 여부</td> <td><input type="checkbox"/> 의명하면 인체유체물 <input type="checkbox"/> 의명회기 필요함</td> <td></td> </tr> <tr> <td></td> <td>유전학적 정보</td> <td>유전학적 정보수집 여부 <input type="checkbox"/> 예 / <input type="checkbox"/> 아니요</td> <td></td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td>유전학적 정보보관 여부 <input type="checkbox"/> 예 / <input type="checkbox"/> 아니요</td> <td></td> </tr> </table>				수량	인체유체물 수량 : 2 종 (분원전체 : 200 개)		인체 유체물	종류	<input type="checkbox"/> 혈액 <input type="checkbox"/> 조직 <input type="checkbox"/> 체액 <input type="checkbox"/> 기타		수집 방법	<input type="checkbox"/> 전향적 인체유체물 수집 <input type="checkbox"/> 보관된 인체유체물 <input type="checkbox"/> 기타			의명칭 여부	<input type="checkbox"/> 의명하면 인체유체물 <input type="checkbox"/> 의명회기 필요함			유전학적 정보	유전학적 정보수집 여부 <input type="checkbox"/> 예 / <input type="checkbox"/> 아니요				유전학적 정보보관 여부 <input type="checkbox"/> 예 / <input type="checkbox"/> 아니요																									
	수량	인체유체물 수량 : 2 종 (분원전체 : 200 개)																																																
인체 유체물	종류	<input type="checkbox"/> 혈액 <input type="checkbox"/> 조직 <input type="checkbox"/> 체액 <input type="checkbox"/> 기타																																																
	수집 방법	<input type="checkbox"/> 전향적 인체유체물 수집 <input type="checkbox"/> 보관된 인체유체물 <input type="checkbox"/> 기타																																																
	의명칭 여부	<input type="checkbox"/> 의명하면 인체유체물 <input type="checkbox"/> 의명회기 필요함																																																
	유전학적 정보	유전학적 정보수집 여부 <input type="checkbox"/> 예 / <input type="checkbox"/> 아니요																																																
		유전학적 정보보관 여부 <input type="checkbox"/> 예 / <input type="checkbox"/> 아니요																																																
	<input type="checkbox"/> 후행적 의무기록 <input type="checkbox"/> 기타 <input type="checkbox"/> 인체유체물 이용된 동물 연구 <input type="checkbox"/> 기타																																																	
<p>심의 신청서</p>	<p>승인 통지서</p>																																																	

(3) 개시모임(Initiation Meeting) 실시

- (가) 연구 시작 전 인체적용시험 계획서 및 연구진행에 대한 발표 및 질의응답의 시간을 가지기 위한 연구 모임 실시
- (나) 개시모임 수행 업무

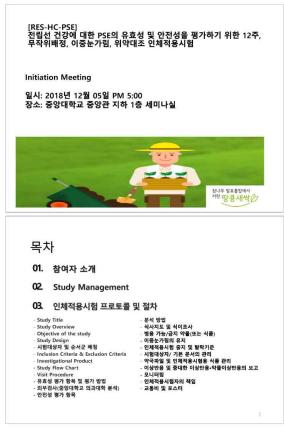
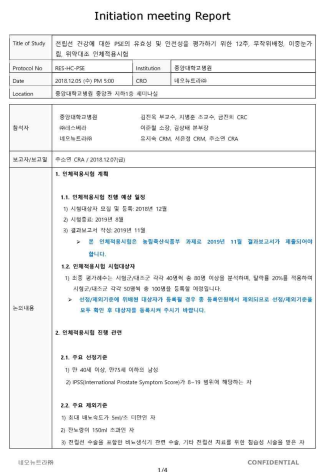
- ① 인체적용시험 계획서의 전반적 검토(선정/제외기준, 시험진행 절차, 시험식품 섭취, 무작위 배정 및 맹검법, 1차 유효성 평가변수 및 기타 자세한 사항들) 및 설명, 논의, 준수사항(GCP설명)
- ② 시험 관련 문서 및 물품 등 필요한 자료 제공
- ③ 영상진단의학실 검사(임상병리실) 및 특수 컴퓨터 프로그램과 같은 전문적인 절차에 대한 지침 검토
- ④ Protocol, ICF, CRF, 복용일지 등에 대한 모든 질문사항 및 의문점들에 대한 논의
- ⑤ IRB승인 및 변경 사항 문서화
- ⑥ 시험 담당자의 역할과 책임
- ⑦ 향후 모니터링 SDV업무계획 소개 및 근거문서(Source Document)정의(모니터링 방문 간격, 모니터링 방문 시 CRC준비사항 등)
- ⑧ 이상반응 및 중대한 이상반응 등에 대한 보고 및 보고 절차
- ⑨ 의뢰자에게 관련 연구에 관한 최신 정보를 제공
- ⑩ 시험기관 내에서의 절차 및 이슈사항
- ⑪ 연구문서의 종류, 보관 및 사용방법 등에 대한 소개(동의서, 시험대상자 로그, 워크

- 시트, 증례기록서, 수불대장, 처방전, 온도기록지 등의 작성법)
- ⑫ 시험에 사용되는 식품의 수불 일치 확인
 - ⑬ 모든 연구 관련 교육 후의 교육기록 문서화
 - ⑭ 시험 실시 전 확보되어야 할 기본 문서들 확인, Investigator Site File(ISF) 검토(기록의 보관) 및 ISF보관 기본문서 설명
 - ⑮ 연구자파일 및 약국파일 업데이트(추후 발송되는 뉴스레터 와 IRB 관련 변경 및 승인사항, Material 인수증 등)

(다) 실시일자 및 장소 : 2018. 12. 05. / 중앙대학교 중앙관 지하 1층 세미나실

(라) 참석자 : 참여연구진 및 실시기관 담당자 8명

(마) 개시모임 PPT 및 개시모임 보고서

	
개시모임 PPT	개시모임 보고서

(4) 인체적용시험 진행일정표

Period		Screening	Active Treatment		
Visit ¹⁾		1	2	3	4
Week		-2	0	6	12
Window period ²⁾				+/- 7	+/- 7
서면동의서		○			
인구학적 조사 ³⁾		○			
병력 및 약물투여력 조사 ⁴⁾		○	○		
이학적검사		○		○	○
신체계측	신장	○			
	체중, 허리둘레	○		○	○
활력징후(혈압, 맥박)		○		○	○
임상병리검사 ⁵⁾		○			○

경직장전립선초음파 ⁶⁾		○			
식사지도 및 식이조사 ⁷⁾			○	○	○
유 효 성 평 가	IPSS	○		○	○
	Testosterone ⁸⁾ , DHEA-S		○		○
	요속검사(최대 배뇨속도)	○			○
	잔뇨량	○			○
	OABSS, NIH-CPSI, AMS, ADAM		○		○
	IGF-1, Estradiol		○		○
	hs-CRP, IL-6, IL-1b, TNF-a		○		○
	urine NGF, urine PGE, urine ATP		○		○
혈중 PSA ⁹⁾		○			○
시험대상자 적합성 평가		○	○		
무작위배정			○		
시험식품 및 대조식품 처방			○	○	
이상반응 확인				○	○
순응도 확인 ¹⁰⁾				○	○
병용약물 및 병용요법 변화 확인				○	○
<p>1) 스크리닝 방문 후 2주 이내 방문2가 시행되어야 한다. 방문1의 모든 검사 결과를 당일 확인할 수 있는 경우, 방문1과 방문2를 동일한 날에 실시할 수 있다.</p> <p>2) 방문3, 방문4의 방문일은 지정된 날짜 전·후 7일을 허용할 수 있다.</p> <p>3) 방문1에 인체적용시험대상자의 이니셜, 성별, 생년월일, 연령, 결혼상태, 운동여부, 흡연여부, 카페인 음료(커피, 녹차 등)의 섭취 습관을 조사하여 기록한다.</p> <p>4) 방문1, 2에 스크리닝 시점을 기준으로 6개월 이내의 외과적 수술력을 포함한 병력과 1개월 이내의 약물 투여력을 조사하여 기록한다.</p> <p>5) 인체적용시험대상자는 채혈하기 전 8시간 금식상태로 내원하여 다음의 항목을 검사한다. 시험자의 판단에 따라 비정상적인 결과에 대한 재검사를 시행할 수 있다. 단, 방문1의 임상병리검사는 스크리닝 방문 기준으로 4주 이내의 검사 결과가 있을 경우 대체 가능하며, 시험자의 판단에 따라 비정상적인 결과에 대한 임상병리검사를 재 실시할 수 있다.</p> <ul style="list-style-type: none"> • 혈액학적 검사: RBC, WBC, Hb, Hct, Platelet • 혈액화학적 검사: AST(GOT), ALT(GPT), γ-GTP, Total Protein, Albumin, Glucose, Total bilirubin, Creatinine, BUN, Uric acid, Total cholesterol, Triglyceride, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, Na, K, Cl 					

- 소변검사: SG, pH, Nitrite, Protein, Glucose, Ketone, Urobilinogen, Bilirubin, RBC (Erythrocyte), WBC(Leukocyte), Creatinine
- 6) 방문1 기준 12개월 이내 경직장전립선초음파 또는 복부골반 CT 검사결과가 있을 시 추가 검사 없이 적용 가능하다(단, 검사 이후 5ARI 제제를 3개월 이상 사용한 경우는 제외한다.).
- 7) 방문2에서는 하루 전날 섭취한 식사를 24시간 회상법으로 시험담당자가 기록하며, 방문2, 3에 인체적용시험대상자에게 식이 조사지를 배부하여 방문3, 4에 회수하여 확인한다. 방문2, 3, 4 당일 카페인 함유 식품을 섭취하지 않고 방문하도록 인체적용시험대상자를 교육한다.
- 8) 혈중 Testosterone 농도: Total testosterone, Free testosterone(오전 9시~12시 사이에 채혈하여 검사한다.)
- 9) 방문1 기준 4주 이내의 검사 결과가 있을 경우 대체 가능하다.
- 10) 방문3, 4에 인체적용시험대상자가 지참하고 온 인체적용시험용 식품의 잔량을 비교하여 시험담당자가 점검 및 기록한다('인체적용시험용 식품 처방 날~다음 방문 전날' 섭취)

(5) 인체적용시험 모니터링

- (가) 시험대상자의 권리와 복지를 보호하기 위한 인체적용시험 모니터링 실시
- (나) 보고된 인체적용시험 관련 자료가 근거문서(Source Documents)와 대조하여 정확하고 (accurate) 완전하며(complete) 검증이 가능한지(verifiable) 확인
- (다) 모니터링 주요 내용

- ① 시험책임자가 시험기간 동안 안전하고 적절하게 인체적용시험을 수행할 자격이 있고 자원을 확보하고 있는지 여부 확인
- ② 인체적용시험에 사용되는 시험물질에 대한 다음 사항의 확인
 - 저장조건의 적절성, 섭취기간의 준수 여부 및 이들 시험 물질이 인체적용시험을 실시하기에 충분한지의 여부
 - 선정기준을 만족하는 대상자에게만 시험계획서에 명시된 섭취기간, 섭취방법대로 사용되고 있는지의 여부
 - 대상자가 인체적용시험에 사용되는 시험물질의 적절한 섭취·보관·반납에 관한 정보를 제공받는지의 여부
 - 시험기관에서 인체적용시험에 사용되는 시험물질의 인수 또는 섭취, 의뢰자로의 회수 등이 적절히 관리되고 문서화되는지의 여부
- ③ 시험자가 승인된 시험계획서 또는 시험변경계획서를 준수하고 있는지 여부 확인
- ④ 대상자가 인체적용시험에 참여하기 이전에 동의서가 얻어 졌는지의 여부 확인
- ⑤ 시험자가 인체적용시험을 적절히 실시하고 이 기준에서 정한 사항을 준수하기 위하여 필요한 최신의 인체적용시험자 자료집 및 문서, 인체적용시험에 사용되는 시험물질을 포함한 그 밖의 공급품을 수령하였는지의 여부 확인
- ⑥ 시험자가 인체적용시험의 제반 사항을 충분히 숙지하고 있는지의 여부 확인
- ⑦ 시험자가 특정한 인체적용시험관련 기능을 시험계획서 및 의뢰자와 시험기관의 장 또

는 시험책임자와 합의한 문서에 따라 수행하고 있으며, 권한이 없는 자에게 이러한 기능이 위임되지 않았다는 사실의 확인

- ⑧ 시험책임자가 선정기준에 적합한 대상자만을 인체적용시험에 참여시키고 있는지의 여부 확인
- ⑨ 대상자 모집 현황에 대한 보고
- ⑩ 근거문서 및 그 밖의 인체적용시험관련 기록이 정확하고 완전하며 최신 사항이 반영되도록 유지되고 있는지의 여부 확인
- ⑪ 시험책임자가 인체적용시험에 필요한 모든 보고서, 통지서, 신청서 등을 적절히 제공하고 있으며, 이러한 문서들을 통해 해당 인체적용시험을 확인할 수 있고 또한 그 기록이 정확하고 적절하며, 읽기 쉽고, 날짜가 기재되어 있는지 여부 확인
- ⑫ 증례기록서상의 기재 내용, 근거문서 및 그 밖의 인체적용시험 관련 문서의 정확성과 완전성에 대한 검토와 이들의 상호대조로부터 서로 일치하는지의 여부 및 다음 각 사항에 대한 확인
 - 인체적용시험계획서에서 요구한 자료가 증례기록서에 정확히 기재되었거나 보고되고 있으며, 근거문서와 일치하는지 여부
 - 섭취기간이나 섭취방법 등의 변동사항이 각 대상자별로 적절히 문서화되고 있는지의 여부
 - 대상자가 지키지 못한 방문검사, 실시하지 않은 실험실 검사 등에 대하여 증례기록서상에 사실대로 명확하게 기재되었거나 보고되고 있는지의 여부
 - 인체적용시험으로부터 대상자가 탈락하거나 탈퇴한 모든 사실이 증례기록서 상에 기재되었거나 보고되고 그 이유가 설명되었는지의 여부
 - 증례기록서의 기재오류, 누락사항과 판독하기 어려운 부분에 대하여 시험책임자에게 알리고, 이러한 사항에 대한 정정·첨가·삭제 등이 적절하게 이루어졌는지, 날짜와 그 사유(필요한 경우)가 기재되어 있는지, 시험책임자 또는 시험책임자를 대신하여 증례기록서상의 기재사항에 대한 변경권한을 가진 시험담당자가 서명을 하였는지 등의 확인
 - 모든 이상반응이 동 제안서, 인체적용시험계획서, 심사위원회, 의뢰자 및 관련규정에 명시된 기간 내에 적절하게 보고되었는지의 여부 확인
 - 시험책임자가 기본문서를 보존하고 있는지의 여부 확인
 - 인체적용시험계획서, 표준작업지침서 및 동 제안서에서 정한 사항을 준수하지 않은 것에 대해 시험책임자에게 알리고, 이러한 미 준수 사항이 재발되지 않도록 하는 적절한 조치

(라) KGCP 규정에 의거한 모니터링 보고서 작성

- ① 모니터링을 실시한 날짜 및 장소
- ② 모니터요원의 이름 및 시험자 또는 접촉한 사람의 이름
- ③ 모니터요원이 확인한 사항의 요약
- ④ 임상적으로 의미있는 발견 또는 사건
- ⑤ 인체적용시험 계획서, 의뢰자 표준작업지침서, 실시기관 표준작업지침서 및 이 기준을

위반한 사항 또는 임상시험의 문제점

⑥ 결론

⑦ 인체적용시험 계획서, 의뢰자 표준작업지침서, 실시기관 표준작업지침서 및 이 기준을 위반한 사항이 재발되지 않도록 조치한 사항 및 조치가 필요한 사항

(마) 모니터링 실시 내역

모니터링 기관(병원)	차수	일 자	실시결과
중앙대학교병원	1	2019.01.04	• 모니터링 보고서 작성
	2	2019.01.30	• 모니터링 보고서 작성
	3	2019.03.08	• 모니터링 보고서 작성
	4	2019.03.29	• 모니터링 보고서 작성
	5	2019.03.29	• 모니터링 보고서 작성
	6	2019.04.13	• 모니터링 보고서 작성
	7	2019.04.13	• 모니터링 보고서 작성
	8	2019.05.16	• 모니터링 보고서 작성
	9	2019.06.11	• 모니터링 보고서 작성
	10	2019.06.19	• 모니터링 보고서 작성
	11	2019.07.09	• 모니터링 보고서 작성
	12	2019.08.12	• 모니터링 보고서 작성
	13	2019.08.21	• 모니터링 보고서 작성
	14	2019.08.21	• 모니터링 보고서 작성
	15	2019.08.30	• 모니터링 보고서 작성
	16	2019.09.03	• 모니터링 보고서 작성
	17	2019.09.06	• 모니터링 보고서 작성
	18	2019.09.17	• 모니터링 보고서 작성
	19	2019.09.20	• 모니터링 보고서 작성

(바) 모니터링 보고서

CR-E04_001/V1.3
Effective Date: 2019.08.28

Site Monitoring Visit Report

Protocol No	RES-HCPSE
Site Name / Site No.	중앙대학교병원
Principal Investigator	이노르핵과 영준필 교수

Visit Summary

Monitoring visit date	2019년 08월 20일 금요일 (15차)
모니터링 장소	중앙대학교병원 본관 2층 핵자기영상 내 CRC Room
발문 시 참여 연구자	의원님 CRC 원 조교사님 영준 시 PI meeting은 관행하지 않음
발문 모니터링	근본질 CRA, 보완지 CRA

Routine Monitoring Visit Checklist

A. IIR	Yes	No	N/A								
A-1 중증연구자 및 인체적용시험 관련 담당자가 병행되었는지 (Study Specific Training 기록)	✓										
A-2 지난 방문 기록 연구계획서 변경 및 procedure 변경 사항이 있었는지											
A-3 4차 임상성적(시험대상자의 수, 인원, CRC 현황)	✓										
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th>Submission detail</th> <th>submission date</th> <th>approval date</th> <th>result</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>ICP V1.3, 임상영단(20190823)</td> <td>2019.08.08</td> <td>2019.08.23</td> <td>승인</td> </tr> </tbody> </table>				Submission detail	submission date	approval date	result	ICP V1.3, 임상영단(20190823)	2019.08.08	2019.08.23	승인
Submission detail	submission date	approval date	result								
ICP V1.3, 임상영단(20190823)	2019.08.08	2019.08.23	승인								
A-3 IIR 및 Regulatory Authority 승인은 적절한 update 되었는지	✓										
A-308 승인 종료기간: 2019.11.29-2019.10.31											
A-4 4차 임상성적 홍보서 update 예정											
B. Investigator											
B-1 책임연구자는 responsibilities/ delegation을 적절히 설명하고, 연구물 수행되고 있는가? (Site Signature & Responsibilities Form)	✓										
B-2 책임연구자 소집기간에 따른 대상자가 모집되었는지											
- 목표 100명/4차 6개월(2019.12.29-2019.06.30)	✓										
- 방문 (Random) 10명, Randomized 10명에게 7개월(2019.06.19 포함 종료)											
- 목표율 50%이상으로 달성											
B-3 대상자 동의서에는 대상자의 서명/과 날짜를 기입한 후, 연구자의 서명/날짜를											

Confidential Page 1 / 8

CR-E04_001/V1.3
Effective Date: 2019.08.28

Site Monitoring Visit Report

기록하여 문서화하였는지 (승인 받은 형태/서체 인체적용시험의 의뢰한 제지를 실시하지 않는 사항)

- 2019.09.17 15차 모니터링 시 용리서 60W 조우 완료됨

B-4 연구자: Personal Laboratory 및/또는 Commercial을 적절하게 검토하였는지?

- 대상자 동의서에 대한 장성의 적절성을 평가하여 기록하여 제공을 확인함

B-5 이상용 혹은 잘못된 이상용이 발생하였는지

- CA-008: Diabetes Mellitus

B-6 지난 방문에서의 Unblinding이 발생하였는지

B-7 Investigator Study File 기록의 보존 및 관리되고 있는가?

- 보존 장소: 중앙대학교병원 본관 2층 핵자기영상 내 CRC Room
- 보존 파일: ICF binder 1ea, ICF binder 2ea, Inverse documents binder 1ea, PF binder 1ea, CRF binder 2ea (Total 5ea)

C. Investigational Product

C-1 인체적용시험용 시용을 보관하는 장소는 안전한가?

- 보존 장소: 중앙대학교병원 본관 2층 핵자기영상 내 CRC Room
- 보존 파일: PF binder 1ea

C-2 인체적용시험용 시용을 사용한 보존된 온도 기록, Temperature log를 관리하였는지 (e.g. Temperature monitor)

- 2019.07.30 모든 임상자의 시용을 적절 보관함

C-3 임상시험용 인체적용시험용 시용의 일회용/재사용 시용을 식별의 방법이 인정되었는지

C-4 인체적용시험용 시용의 재고가 충분했는지

- 2019.07.30 모든 임상자의 시용을 식별 보관함

C-5 대상자로부터 시용의 공급과 반환이 정확하게 되었는지?

- 2019.09.17 15차 모니터링 시 모든 대상자에게 시용을 사용의 공급 및 반환이 정확하여

약품의 질을 확인함

C-6 인체적용시험용 시용의 유효기간이 6개월 이상 남았는지?

- 유효기간: 2020.10.31

D. Data Verification

D-1 스크린 대상자, 인체적용시험 진행중인 대상자, 조기종료 및 중단대상자 대상자

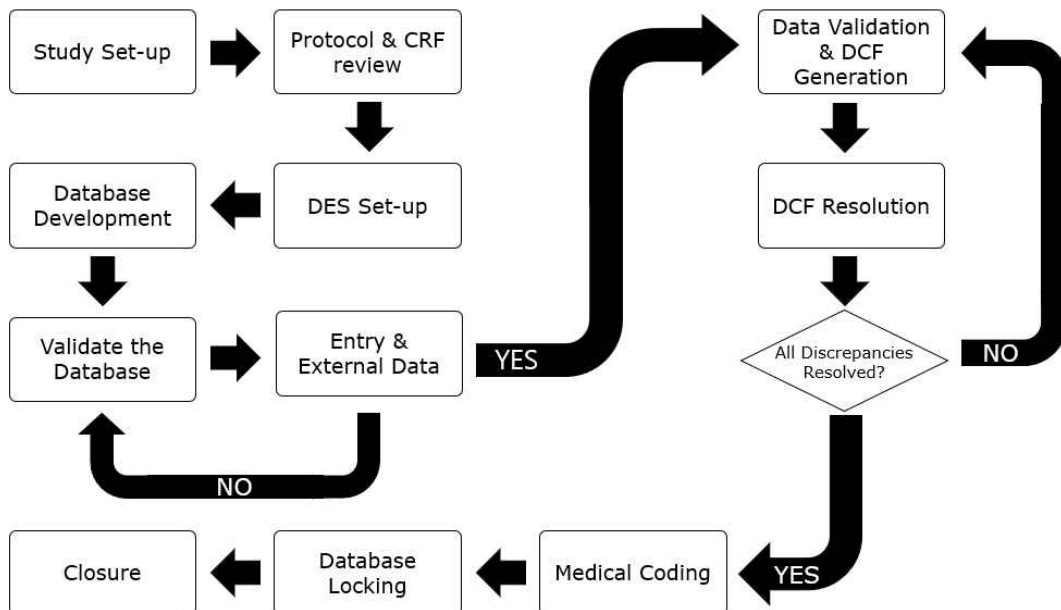
Confidential Page 2 / 8

(5) 인체적용시험 종료 및 대상자 등록 결과

- (가) 본 인체적용시험은 2018년 12월 18일 첫 인체적용시험 대상자가 스크리닝 되었고, 2019년 09월 16일 마지막 인체적용시험 대상자의 시험이 완료됨.
- (나) 적합한 인체적용시험 대상자를 선정하기 위해 총 106명의 인체적용시험 대상자에 대해서 Screening 평가를 실시하였으며, 스크리닝 탈락 13명으로 총 93명(시험군 46명, 대조군 47명)이 무작위배정됨.
- (다) 이 중 시험군에서 동의철회 6명, 대조군에서 동의철회 1명으로 총 7명이 중도탈락하여 인체적용시험을 완료한 인체적용시험 대상자는 총 86명이었음(시험군 40명, 대조군 46명).

(6) Data Management 및 통계분석

(가) Data Management 절차



(나) Database Development

- ① Annotated CRF : Final version CRF를 바탕으로 Data Dictionary에서 명시하는 변수에 대한 정의를 기술한 Blank CRF
- ② Data Dictionary : Annotated CRF의 자료를 DB에 입력하기 위한 Database Structure로 변수명, 레이블, 속성 등이 정의된 문서

(다) Data Validation Specification(DVS)

- ① 쿼리(Query, 질의) : CRF로 수집해야 하는 자료 중 계획서·CRF 작성 지침에 위반되거나 수집되어야 할 자료의 누락 또는 수집된 자료 간의 일치하지 않는 항목
- ② DVS는 쿼리항목을 사전정의 및 목록화하는 과정으로서, Data의 무결성을 최대화하고, 높은 수준의 Data Quality를 이끌어내기 위하여 실시함.
- ③ Missing Values, Range Checks, Logical Inconsistencies, Protocol Violations 및 적절하지 못한 데이터의 확인 작업 실시

④ DVS Test : 작성된 DVS의 정확성을 확인하기 위해 DVS Test를 수행하며, Dummy Data(질의가 각 항목별에 해당하는 자료가 입력되었을 때는 검출되고, 그렇지 않은 자료가 입력되었을 때는 검출되지 않음을 확인하기 위하여 임의로 만드는 자료)를 작성 및 DVS에 적용하여 제대로 실행되는지 검증함. Dummy Data와 출력된 결과와의 불일치를 발견할 경우 이를 해결하여 Retest를 시행하고, Discrepancy가 없을 때까지 반복

(라) DMP(Data Management Plan) 작성

- ① 질 높은 데이터를 제공하고, Project의 분석 목적을 달성하기 위해 시행되는 일련의 Data Management 과정을 계획하여 문서화
- ② DMP의 구성

- ① Signature Page
- ② Modification List
- ③ Abbreviation
- ④ Protocol Summary
- ⑤ Project Team Members and Their Roles
- ⑥ Data Flow
- ⑦ Data Management System
- ⑧ Data Validation
- ⑨ Medical Coding
- ⑩ Database Quality Check(DBQC)
- ⑪ Database Locking/Unlocking
- ⑫ Management of Clinical Study data (Transfer, backup 등)
- ⑬ Archiving

③ DMP

DM-C01_001/W/1.0
Effective Date: 2019.09.02

**Data Management Plan
(Paper CRF)**

전립선 건강에 대한 PSE의 유효성 및 안전성을
평가하기 위한 12주, 무작위배정, 이중눈가림,
위약대조 인체적용시험

Protocol No. : RES-HC-PSE
DMP Ver. No. : 2.0
Version Date : 2019년 09월 23일

Confidential NeoNutrin Page 1 / 24

DM-C01_001/W/1.0
Effective Date: 2019.09.02

원문(초록)
Protocol: RES-HC-PSE Ver. 1.2
DMP Ver. 2.0

Table of Contents

SIGNATURE PAGE..... 2
MODIFICATION LIST..... 3
ABBREVIATION..... 6
1. INTRODUCTION..... 7
1.1. PURPOSE..... 7
1.2. Protocol Summary..... 7
2. PROJECT TEAM MEMBERS AND THEIR ROLES..... 9
3. DATA FLOW..... 11
3.1. MANAGEMENT OF LABORATORY REFERENCE RANGE..... 11
3.2. DATA MANAGEMENT PROCEDURES..... 11
3.3. RECEIPT AND TRACKING OF CRFs..... 12
3.4. RECEIPT AND MANAGEMENT OF Non-CRF Data..... 13
4. DATABASE DESIGN..... 13
4.1. OVERVIEW OF CRFs AND DATA SET DESCRIPTION..... 14
4.2. DEVELOPMENT OF DATA ENTRY SCREENS (DES)..... 14
4.3. EXTERNAL DATA..... 15
5. DATA ENTRY..... 15
5.1. SCHEDULE OF DATA ENTRY..... 15
5.2. Methods of Data Entry..... 15
6. DATA VALIDATION..... 16
6.1. DATA VALIDATION SPECIFICATION (DVS)..... 16
6.2. SELF-ENTRY CORRECTION (SEC)..... 16
6.3. ICF GENERATION/RESOLUTION..... 17
6.4. EXTERNAL DATA RECONCILIATION..... 18
7. MEDICAL CODING..... 18
8. SAE RECONCILIATION..... 19
9. DATABASE QUALITY CHECK (DBQC)..... 20
9.1. VARIABLE FOR DBQC..... 20

Confidential NeoNutrin Page 4 / 24

(마) Medical Coding

- ① 시험과정에서 수집된 이상반응, 병력, 약물에 대한 자료를 표준용어체계를 이용하여 일괄된 용어로 선택함으로써 자료저장, 검색, 분석, 표현을 용이하게 할 뿐만 아니라 자료의 활용도를 높이고, 신속하고 정확한 정보교환을 가능케 함.
- ② Coding dictionary
 - ㉠ 이상반응, 동반질환 및 병력, 수술력 : MedDRA ver.22.1 이상
 - ㉡ 투여력(선행약물) : WHO drug reference 2019(ATC code)

(바) DB(Database) Locking

- ① Data Cleaning을 확인하고 사전에 정해진 절차에 따라 DB를 잠그는 과정
- ② 실시목적 : 관련자들의 접근 권한을 제한하여 분석이 가능한 자료로 생성하고, 완료된 자료를 저장, 보관하며, 시험 자료의 결과도출, 분석, 제출과정의 데이터 무결성(Data Integrity)을 확보하기 위함.
- ③ DB Locking 시 점검내용

- 모든 Data가 입력되었는가?
- Medical Coding이 종료되었는가?
- CRF에 기록된 자료들에 대한 임상적 검토가 종료되었는가?
- 모든 Query가 해결되었는가? (Query Resolution)

(사) 통계분석 실시

- ① 통계분석 방법
 - ㉠ 통계분석은 SAS[®](Version 9.4, SAS Institute, Cary, North Carolina, USA)를 이용하여 분석
 - ㉡ 인구학적 평가 분석, 유효성 평가 분석, 안전성 평가 분석은 유의수준 0.05로 설정하여 양측검정을 실시하였음. 모든 분석의 p-value에 대해서는 소수점 4자리까지 제시하였으며, 모든 분석의 p-value가 <0.05이면 유의한 것으로 간주함.
 - ㉢ 평균, 표준편차, 백분율 등 소수점 이하의 값을 가지는 수치에 대해서는 소수점 2자리까지 제시

(아) 분석의 일반적 원칙

- ① 본 인체적용시험의 인체적용시험 대상자로부터 얻어진 자료는 크게 Safety Set 분석, FA Set(Full Analysis Set) 분석과 PP Set(Per Protocol Set) 분석의 세 가지 형태로 이루어짐.
- ② Safety Set 분석은 안전성 평가 변수 분석 시 적용되는 분석법으로, 무작위배정 후 인체적용시험용 식품을 한번이라도 섭취한 인체적용시험 대상자 집단을 대상으로 분
- ③ 본 인체적용시험에 무작위배정을 받은 모든 인체적용시험 대상자를 분석 대상으로 하는 원칙(ITT)에 따라, FA Set 분석은 인체적용시험용 식품을 1회 이상 섭취한 후 유효성 평가를 1회 이상 시행한 인체적용시험 대상자이며 주요 선정기준 위반에 해당되지 않는 집단을 대상으로 분석
- ④ PP Set 분석은 FA Set 중에서 인체적용시험을 종료하고, 인체적용시험 결과에 영향을

미치는 중대한 위반사항(선정/제외기준 위반 등)이 없는 인체적용시험 대상자 집단을 대상으로 분석

- ⑤ 유효성에 대한 자료는 PP Set 분석을 주 분석법으로 하였고, FA Set 분석을 추가적으로 실시하였음. 인구학적 및 영양분석에 대한 자료는 PP Set 분석을 주 분석법으로 하였고, 안전성에 대한 자료는 Safety Set 분석을 주 분석법으로 실시
- ⑥ 결측치가 발생한 경우, 결측치가 발생한 시점을 기준으로 가장 최근에 얻어진 자료를 이용하여 보정(LOCF)하여 분석함.
- ⑦ 본 인체적용시험에서 얻은 자료는 적당한 기술 통계량으로 평균(Mean)과 표준편차(Standard deviation)를 산출하여 제시하였으며, 차이(Difference)에 대한 유의성은 양측검정으로 $p < 0.05$ 수준에서 검증
- ⑧ 유효성 평가 변수에 대한 분석방법으로 평가 변수와 연관이 있는 인체적용시험 대상자의 기저특성(공변량, 인체적용시험 대상자가 인체적용시험용 식품을 복용하기 전에 관찰되거나 측정된 일차 유효성 평가 변수에 영향을 미칠 것으로 예상되는 변수)을 고려하여 분석하는 ANCOVA를 실시

(자) 평가 변수

① 인구통계학적 평가 변수

평가 변수	세부항목 및 정의	기타 사항
인구통계학적 자료	연령, 흡연량, 흡연기간, 운동량, 카페인 섭취량(잔), 전립선 관련 증상 발생 시기, 신장	연속형 자료
	성별, 운동여부, 흡연여부, 음주여부, 현재 결혼 상태	범주형 자료
이학적 검사	심혈관계, 폐 및 호흡기계, 위장관/간 및 담도계, 대사/내분비계, 신장/요로계, 생식기계, 근골격계, 피부 및 결합조직, 신경계, 정신계, 기타 신체기관	범주형 자료 *신체기관별 정상여부 '정상', '비정상'으로 구분
병력, 수술력	스크리닝 시점을 기준으로 6개월 이내의 외과적 수술력을 포함한 병력	최신 버전의 MedDRA에 따라 SOC(System Organ Class), PT(Preferred Term)로 요약제시
약물투여력 (선행약물)	스크리닝 시점을 기준으로 1개월 이내의 투여 또는 복용한 약물 및 건강기능식품 (시험용 식품 처방 이후 투여 또는 복용한 약물 및 건강기능식품은 병용약물로 분류함)	최신 버전의 ATC code에 따라 1st level(Anatomical main group), 2nd level(Therapeutic subgroup)로 요약제시

② 유효성 평가 변수

구분	평가 변수	임상적	Baseline	비교
----	-------	-----	----------	----

		유효성 방향		
1차 유효성 평가	IPSS 총점	섭취 후 낮아져야 유의	방문1	방문3,4
2차 유효성 평가	Testosterone, DHEA-S	섭취 후 낮아져야 유의	방문2	방문4
	최대 배뇨속도	섭취 후 높아져야 유의	방문1	방문4
	잔뇨량	섭취 후 낮아져야 유의	방문1	방문4
	OABSS	섭취 후 낮아져야 유의	방문2	방문4
	NIH-CPSI	섭취 후 낮아져야 유의	방문2	방문4
	AMS	섭취 후 낮아져야 유의	방문2	방문4
	ADAM	섭취 후 낮아져야 유의	방문2	방문4
	IGF-1, Estradiol	섭취 후 낮아져야 유의	방문2	방문4
	hs-CRP, IL-6, IL-1b, TNF-a	섭취 후 낮아져야 유의	방문2	방문4
	urine NGF, urine PGE, urine ATP	섭취 후 낮아져야 유의	방문2	방문4
	혈압, 체중, 허리둘레	섭취 후 낮아져야 유의	방문1	방문3,4

③ 보조 유효성 평가 변수

평가 변수	평가 시점	기타 사항
순응도	방문3,4	<p>‘인체적용시험용 식품 처방 날~다음방문 전날’ 섭취 함을 원칙, 순응도 확인 시 섭취율(%)은 반올림하여 소수점 1자리까지 표기</p> $\text{섭취 순응도}(\%) = \frac{\text{실제 섭취한 식품 수}^a}{\text{섭취해야 하는 식품 수}^b} \times 100$ <p>a: 배포된 시험용 식품 수 - 반납한 식품 수 - 분실된 식품 수 b: {순응도 검사 방문일 - (시험용 식품 처방된 방문일)} x 1</p>
관련식품 섭취빈도 조사	방문2,3,4	땅콩새싹 관련식품 섭취 횟수
병용약물	방문2 이후	시험용식품 처방 이후 투여 또는 복용한 약물 및 건강기능식품으로 최신 버전의 ATC code에 따라 1st level(Anatomical main group), 2nd level(Therapeutic subgroup)로 요약제시

④ 안전성 평가 변수

평가 변수	세부항목	Baseline	비교	기타 사항
이상반응			방문2 이후	최신 버전의 MedDRA에 따라 SOC(System Organ Class), PT(Preferred Term)로 요약제시
임상병리검사	혈액학적, 혈액화학적, 뇨	방문1	방문4	뇨 검사: 정상, 비정상(NCS/CS)로 구분
활력징후	맥박	방문1	방문3,4	단위 : 회/min
혈중 PSA		방문1	방문4	

⑤ 기타 평가 변수

평가 변수	평가 시점	기타 사항
영양분석	방문2,3,4	한국영양학회 Can pro program을 이용하여 영양소 섭취량 분석

(차) 유효성 평가 변수에 대한 분석

1차 유효성 변수	<ul style="list-style-type: none"> ○ IPSS 총점의 섭취 전후 변화의 정도는 정규성 만족 여부에 따라 Paired t-test 또는 Wilcoxon signed rank test를 실시 ○ 각 시점에서의 시험군과 대조군 간의 변화 정도는 ANCOVA와 정규성 만족 여부에 따라 Two sample t-test 또는 Wilcoxon rank sum test를 실시하여 통계적으로 유의한 차이가 있는지 평가
2차 유효성 변수	<ul style="list-style-type: none"> ○ Total testosterone, Free testosterone, DHEA-S, 최대 배뇨속도, 잔뇨량, OABSS, NIH-CPSI, AMS, ADAM, IGF-1, Estradiol, hs-CRP, IL-6, IL-1b, TNF-a, urine NGF, urine PGE, urine ATP, 혈압, 체중, 허리둘레의 섭취 전후 변화의 정도는 정규성 만족 여부에 따라 Paired t-test 또는 Wilcoxon signed rank test를 실시 ○ 각 시점에서의 시험군과 대조군 간의 변화 정도는 ANCOVA와 정규성 만족 여부에 따라 Two sample t-test 또는 Wilcoxon rank sum test를 실시하여 통계적으로 유의한 차이가 있는지 평가

(타) 안전성 평가 변수에 대한 분석

이상반응	○ 인체적용시험용 식품 섭취 후 발생한 모든 이상반응은 MedDRA에 따라 Coding 하였으며, 인체적용시험용 식품 섭취
------	--

	<p>후 발생한 모든 이상반응을 도표화한 후 발생률을 산출하여 평가</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 각 구간 이상반응이 발생한 인체적용시험 대상자의 비율을 계산하였고 카이제곱검정(Chi-square test) 또는 피셔의 정확검정(Fisher's exact test)을 이용하여 비교 분석
<p>임상병리검사(혈액학적/혈액화학적검사, 뇨검사), 혈중 PSA</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 혈액학적 및 혈액화학적 검사치, 혈중 PSA와 같이 연속형(Continuous type)자료의 군내 비교는 정규성 만족 여부에 따라 Paired t-test 또는 Wilcoxon signed rank test를 실시 ○ 각 시점에서의 시험군과 대조군 간의 변화 정도는 정규성 만족 여부에 따라 Two sample t-test 또는 Wilcoxon rank sum test를 실시하여 통계적으로 유의한 차이가 있는지 평가 ○ 뇨검사는 정상과 비정상으로 나누어 McNemar test를 실시하여 군내 차이를 비교
<p>활력징후(맥박)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 활력징후(맥박) 검사치의 섭취 전과 후의 차이에 대한 군내 비교는 정규성 만족 여부에 따라 Paired t-test 또는 Wilcoxon signed rank test를 실시 ○ 각 시점에서의 시험군과 대조군 간의 변화 정도는 정규성 만족 여부에 따라 Two sample t-test 또는 Wilcoxon rank sum test를 실시하여 통계적으로 유의한 차이가 있는지 평가

(7) 결과보고서 작성

- (가) 인체적용시험 종료 결과 및 통계분석에 따른 결과를 바탕으로 결과보고서 작성
- (나) 유효성 및 안전성 평가자료에 근거하여 해당 약물의 유용성을 유익성-위험성 차원에서 최종적으로 평가하며, 기준 자료에 비추어 임상적으로 어떤 의미를 갖는지 고찰
- (다) 수록문서

- | |
|--|
| <ul style="list-style-type: none"> ① 최종 승인된 인체적용시험 계획서 ② 최종 승인된 시험자 자료집(Investigator's Brochure) ③ 시험 대상자 동의서 및 설명문 ④ 증례기록서 사본 ⑤ 인체적용시험 심의에 대한 IRB status ⑥ 인체적용시험계획 변경 및 종료 심의의뢰서, 승인통지서 ⑦ 무작위배정표 ⑧ 인체적용시험 책임자 서명 ⑨ 시험대상자 일람표(인구학적 정보, 복용전 특성, 복용 순응도, 병용약물, 유효성 평가 결과, 안전성 평가 결과) |
|--|

- (라) 결과보고서

<p>Phase 1 Clinical Study Report (Version 1.0) Protocol No.: RES-HC-PSE(Version 1.2)</p> <p>17126</p> <p>인체적용시험 결과보고서</p> <p>전립선 건강에 대한 PSE의 유효성 및 안전성을 평가하기 위한 12주, 무작위배정, 이중눈가림, 위약대조 인체적용시험</p> <hr/> <p>시험시험 PSE(당용제적용시험)</p> <p>인체적용시험 의뢰자 한국스레다 실험 용두서 시험군 나이범 양용1일 34-13</p> <p>인체적용시험 시작일 2018.12.18 (본 인체적용시험 대상자 스크리닝일)</p> <p>인체적용시험 종료일 2019.09.18 (최종 인체적용시험 대상자 시험완료일)</p> <p>인체적용시험 책임자 양순철 교수 (충남대학교병원 비뇨의학과)</p> <p>인체적용시험 실시기관 중앙대학교병원 비뇨의학과 (서울특별시 용역구 용역로 102)</p> <p>인체적용시험 결과보고서 작성일 2019.12.10</p> <hr/> <p>본 인체적용시험은 국제 임상시험관리기준(GCP)에 준하여 시험되었습니다. 본 보고서에 포함된 모든 정보는 한국스레다의 시험 책임자가 승인할 수 있습니다.</p> <p>Novartis co., Ltd. www.novartis.com Confidential</p>	<p>Phase 1 Clinical Study Report (Version 1.0) Protocol No.: RES-HC-PSE(Version 1.2)</p> <p>17126</p> <p>2. 목차</p> <p>1. 인체적용시험 결과보고서 요약 17</p> <p>2. 요약 17</p> <p>3. 연구 목적에 대한 기술 25</p> <p>3.1. 인체적용시험 관리기준 25</p> <p>3.2. 인체적용시험 목적에 대한 설명 25</p> <p>3.3. 인체적용시험 대상자 선정 26</p> <p>3.4. 비임상시험 27</p> <p>4. 시험과 및 실시기관 조직 27</p> <p>4.1. 인체적용시험 실시기관 27</p> <p>4.2. 인체적용시험 시험과 및 담당자 27</p> <p>4.2.1. 인체적용시험 책임자 28</p> <p>4.2.2. 인체적용시험 실험관료 28</p> <p>4.2.3. 인체적용시험 담당자 28</p> <p>4.3. 인체적용시험 위약 28</p> <p>4.4. 인체적용시험 수탁기관(Contract Research Organization, CRO) 28</p> <p>5. 인체적용시험의 목적 및 범위 28</p> <p>5.1. 인체적용시험의 목적 28</p> <p>5.2. 인체적용시험의 범위 29</p> <p>6. 인체적용시험을 위한 31</p> <p>6.1. 인체적용시험을 위한 31</p> <p>6.1.1. 시험대상자(PSE) 31</p> <p>6.1.2. 디조시(Placebo) 31</p> <p>7. 무작위배정 32</p> <p>7.1. 인체적용시험 32</p> <p>8. 인체적용시험 33</p> <p>8.1. 인체적용시험의 33</p> <p>8.1.1. 시험기간 34</p> <p>8.1.2. 인체적용시험 종료 및 실험과, 시험과 34</p> <p>8.1.2.1. 인체적용시험 종료 및 실험과 34</p> <p>8.1.2.2. 인체적용시험시험과 35</p> <p>8.2. 실험과, 임상시험 시험과 36</p> <p>8.2.1. 실험과 36</p> <p>8.2.1.1. 인체적용시험 대상자 36</p> <hr/> <p>Novartis co., Ltd. www.novartis.com Confidential</p>
--	--

(마) 인체적용시험 결과 및 결론

① 유효성 평가 결과

IPSS 총점의 변화량	<p>○ PP Set으로 분석한 결과에서 섭취 12주 후 시험군은 3.41 ± 5.49점 감소하였고($p=0.0006$), 대조군은 3.87 ± 5.61점 감소하였으나($p=0.0001$) 섭취 구간 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않음.</p> <p>○ FA Set 분석도 PP Set 분석과 유사한 결과를 보임.</p> <p>○ 만 60세 이상의 IPSS 총점 변화량을 PP Set으로 분석한 결과에서 섭취 12주 후 시험군은 2.67 ± 5.92점 감소하였고($p=0.0730$), 대조군은 2.14 ± 5.69점 감소하였으나($p=0.0929$) 섭취 구간 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않음.</p> <p>○ 만 60세 이상의 IPSS storage symptom 점수 변화량을 PP Set으로 분석한 결과에서 섭취 12주 후 시험군은 0.89 ± 1.94점 감소하였고($p=0.0682$), 대조군은 0.18 ± 2.92점 감소하였으나($p=0.7732$) 섭취 구간 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않음.</p>
Total testosterone 변화량	<p>○ PP Set으로 분석한 결과에서 섭취 12주 후 시험군은 0.05 ± 1.23ng/mL 감소하였고($p=0.8086$), 대조군은 0.08 ± 0.83ng/mL 증가하였으나($p=0.5450$) 섭취 구간 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않음.</p> <p>○ FA Set으로 분석한 결과에서 섭취 12주 후 시험군은 0.12 ± 1.21ng/mL 감소하였고($p=0.5218$), 대조군은 0.02 ± 0.88ng/mL 감소하였으나($p=0.8687$) 섭취 구간 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않음.</p>
Free testosterone 변화량	<p>○ PP Set으로 분석한 결과에서 섭취 12주 후 시험군은 0.68 ± 1.94pg/mL 감소하였고($p=0.0404$), 대조군은 0.35 ± 2.61pg/mL 감소하였으나($p=0.4092$) 섭취 구간 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않음.</p> <p>○ FA Set 분석도 PP Set 분석과 유사한 결과를 보임.</p>
DHEA-S 변화량	<p>○ PP Set으로 분석한 결과에서 섭취 12주 후 시험군은 $2.89 \pm 48.29 \mu$g/dL 증가하였고($p=0.7180$), 대조군은 $5.81 \pm 33.32 \mu$g/dL 증가하였으나</p>

	<p>(p=0.1333) 섭취 구간 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않음.</p> <p>○ FA Set 분석도 PP Set 분석과 유사한 결과를 보임.</p>
최대 배뇨속도 변화량	<p>○ PP Set으로 분석한 결과에서 섭취 12주 후 시험군은 $1.13 \pm 5.98 \text{ml/sec}$ 감소하였고(p=0.2594), 대조군은 $1.43 \pm 6.78 \text{ml/sec}$ 증가하였으나(p=0.2027) 섭취 구간 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않음.</p> <p>○ FA Set 분석도 PP Set 분석과 유사한 결과를 보임.</p>
잔뇨량 변화량	<p>○ PP Set으로 분석한 결과에서 섭취 12주 후 시험군은 $6.78 \pm 22.88 \text{ml}$ 감소하였고(p=0.0797), 대조군은 $7.82 \pm 47.29 \text{ml}$ 증가하였으나(p=0.5142) 섭취 구간 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않음.</p> <p>○ FA Set 분석도 PP Set 분석과 유사한 결과를 보임.</p>
OABSS의 빈뇨 점수 변화량	<p>○ PP Set으로 분석한 결과에서 섭취 12주 후 시험군은 0.11 ± 0.52점 감소하였고(p=0.3438), 대조군은 0.11 ± 0.61점 감소하였으나(p=0.4240) 섭취 구간 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않음.</p>
OABSS의 야간뇨 점수 변화량	<p>○ PP Set으로 분석한 결과에서 섭취 12주 후 시험군은 0.22 ± 0.75점 감소하였고(p=0.1125), 대조군은 0.21 ± 0.58점 감소하였으나(p=0.0557) 섭취 구간 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않음.</p>
OABSS의 요절박 점수 변화량	<p>○ PP Set으로 분석한 결과에서 섭취 12주 후 시험군은 0.35 ± 0.95점 감소하였고(p=0.0459), 대조군은 0.34 ± 1.02점 감소하였으나(p=0.0438) 섭취 구간 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않음.</p>
OABSS의 요실금 점수 변화량	<p>○ PP Set으로 분석한 결과에서 섭취 12주 후 시험군은 0.27 ± 0.77점 감소하였고(p=0.0629), 대조군은 0.34 ± 0.78점 감소하였으나(p=0.0148) 섭취 구간 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않음.</p> <p>○ FA Set 분석도 PP Set 분석과 유사한 결과를 보임.</p>
NIH-CPSI의 통증 점수 변화량	<p>○ PP Set으로 분석한 결과에서 섭취 12주 후 시험군은 1.41 ± 3.35점 감소하였고(p=0.0163), 대조군은 1.24 ± 2.82점 감소하였으나(p=0.0106) 섭취 구간 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않음.</p>
NIH-CPSI의 배뇨증상 점수 변화량	<p>○ PP Set으로 분석한 결과에서 섭취 12주 후 시험군은 1.51 ± 2.56점 감소하였고(p=0.0009), 대조군은 1.32 ± 2.07점 감소하였으나(p=0.0004) 섭취 구간 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않음.</p>
NIH-CPSI의 삶의 질에 대한 점수 변화량	<p>○ PP Set으로 분석한 결과에서 섭취 12주 후 시험군은 1.84 ± 2.88점 감소하였고(p=0.0004), 대조군은 1.84 ± 2.26점 감소하였으나(p<0.0001) 섭취 구간 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않음.</p> <p>○ FA Set 분석도 PP Set 분석과 유사한 결과를 보임.</p>
AMS의 총점 변화량	<p>○ PP Set으로 분석한 결과에서 섭취 12주 후 시험군은 4.73 ± 13.80점 감소하였고(p=0.0443), 대조군은 7.03 ± 9.81점 감소하였으나(p<0.0001) 섭취 구간 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않음.</p>
AMS의 정신적 증상 점수 변화량	<p>○ PP Set으로 분석한 결과에서 섭취 12주 후 시험군은 1.35 ± 4.55점 감소하였고(p=0.0794), 대조군은 1.79 ± 3.24점 감소하였으나(p=0.0016) 섭취 구간 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않음.</p>
AMS의 신체적 증상 점수 변화량	<p>○ PP Set으로 분석한 결과에서 섭취 12주 후 시험군은 1.78 ± 5.73점 감소하였고(p=0.0664), 대조군은 3.00 ± 4.24점 감소하였으나(p<0.0001) 섭취 구간 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않음.</p>

AMS의 성적 증상 점수 변화량	<ul style="list-style-type: none"> ○ PP Set으로 분석한 결과에서 섭취 12주 후 시험군은 1.59 ± 4.86점 감소하였고($p=0.0534$), 대조군은 2.24 ± 4.12점 감소하였으나($p=0.0019$) 섭취 구간 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않음. ○ FA Set 분석도 PP Set 분석과 유사한 결과를 보임.
ADAM의 전체 문항 중 '예' 라고 응답한 비율의 변화량	<ul style="list-style-type: none"> ○ PP Set으로 분석한 결과에서 섭취 12주 후 시험군은 $0.07 \pm 0.24\%$ 감소하였고($p=0.0975$), 대조군은 $0.10 \pm 0.30\%$ 감소하였으나($p=0.0988$) 섭취 구간 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않음.
ADAM의 전체 문항 중 '아니오' 라고 응답한 비율의 변화량	<ul style="list-style-type: none"> ○ PP Set으로 분석한 결과에서 섭취 12주 후 시험군은 0.07 ± 0.24점 증가하였고($p=0.0975$), 대조군은 0.10 ± 0.30점 증가하였으나($p=0.0490$) 섭취 구간 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않음. ○ FA Set 분석도 PP Set 분석과 유사한 결과를 보임.
IGF-1 변화량	<ul style="list-style-type: none"> ○ PP Set으로 분석한 결과에서 섭취 12주 후 시험군은 6.27 ± 28.30ng/mL 감소하였고($p=0.1863$), 대조군은 1.05 ± 21.31ng/mL 감소하였으나($p=0.7638$) 섭취 구간 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않음. ○ FA Set으로 분석한 결과에서 섭취 12주 후 시험군은 3.89 ± 32.06ng/mL 감소하였고($p=0.4470$), 대조군은 0.21 ± 23.93ng/mL 증가하였으나($p=0.9520$) 섭취 구간 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않음.
Estradiol 변화량	<ul style="list-style-type: none"> ○ PP Set으로 분석한 결과에서 섭취 12주 후 시험군은 0.66 ± 11.96pg/mL 감소하였고($p=0.8883$), 대조군은 2.39 ± 10.92pg/mL 증가하였으나($p=0.1854$) 섭취 구간 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않음. ○ FA Set 분석도 PP Set 분석과 유사한 결과를 보임.
hs-CRP 변화량	<ul style="list-style-type: none"> ○ PP Set으로 분석한 결과에서 섭취 12주 후 시험군은 0.04 ± 3.20mg/L 증가하였고($p=0.8899$), 대조군은 0.16 ± 1.92mg/L 감소하였으나($p=0.6385$) 섭취 구간 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않음. ○ FA Set 분석도 PP Set 분석과 유사한 결과를 보임.
TNF-a 변화량	<ul style="list-style-type: none"> ○ PP Set으로 분석한 결과에서 섭취 12주 후 시험군은 17.66 ± 23.70pg/mL 감소하였고($p=0.1709$), 대조군은 2.59 ± 8.60pg/mL 감소하였으나($p=0.5893$) 섭취 구간 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않음. ○ FA Set 분석도 PP Set 분석과 유사한 결과를 보임.
urine NGF 변화량	<ul style="list-style-type: none"> ○ PP Set으로 분석한 결과에서 섭취 12주 후 시험군은 3.99 ± 14.98 감소하였고($p=0.0614$), 대조군은 2.47 ± 9.80 감소하였으나($p=0.2859$) 섭취 구간 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않음. ○ FA Set 분석도 PP Set 분석과 유사한 결과를 보임.
urine PGE 변화량	<ul style="list-style-type: none"> ○ PP Set으로 분석한 결과에서 섭취 12주 후 시험군은 5.87 ± 8.96 감소하였고($p<0.0001$), 대조군은 5.26 ± 17.57 감소하였으나($p<0.0001$) 섭취 구간 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않음.

	○ FA Set 분석도 PP Set 분석과 유사한 결과를 보임.
urine ATP 변화량	○ PP Set으로 분석한 결과에서 섭취 12주 후 시험군은 0.05 ± 0.06 증가하였고($p < 0.0001$), 대조군은 0.04 ± 0.09 증가하였으나($p = 0.0104$) 섭취 구간 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않음. ○ FA Set 분석도 PP Set 분석과 유사한 결과를 보임.
수축기혈압 변화량	○ PP Set으로 분석한 결과에서 섭취 6주 후 시험군은 4.89 ± 11.33 mmHg 감소하였고($p = 0.0126$), 대조군은 0.76 ± 14.05 mmHg 증가하여($p = 0.7397$) 섭취 구간 통계적으로 유의한 차이가 나타남($p = 0.0466^S$). 섭취 12주 후 시험군은 1.76 ± 13.73 mmHg 감소하였고($p = 0.4414$), 대조군은 2.05 ± 14.41 mmHg 감소하였으나($p = 0.3855$) 섭취 구간 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않음. ○ FA Set으로 분석한 결과에서 섭취 6주 후 시험군은 5.07 ± 10.75 mmHg 감소하였고($p = 0.0039$), 대조군은 0.74 ± 13.87 mmHg 감소하였으나($p = 0.7194$) 섭취 구간 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않음. 섭취 12주 후 시험군은 1.12 ± 13.82 mmHg 감소하였고($p = 0.6026$), 대조군은 2.65 ± 14.20 mmHg 감소하였으나($p = 0.2119$) 섭취 구간 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않음.
이완기혈압 변화량	○ PP Set으로 분석한 결과에서 섭취 6주 후 시험군은 2.05 ± 10.42 mmHg 감소하였고($p = 0.2385$), 대조군은 0.97 ± 10.56 mmHg 증가하였으나($p = 0.5732$) 섭취 구간 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않음. 섭취 12주 후 시험군은 0.19 ± 9.30 mmHg 감소하였고($p = 0.6702$), 대조군은 3.00 ± 9.08 mmHg 감소하였으나($p = 0.0488$) 섭취 구간 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않음. 섭취 12주 후 시험군은 0.19 ± 9.30 mmHg 감소하였고($p = 0.6702$), 대조군은 3.00 ± 9.08 mmHg 감소하였으나($p = 0.0488$) 섭취 구간 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않음. ○ FA Set으로 분석한 결과에서 섭취 6주 후 시험군은 1.95 ± 10.50 mmHg 감소하였고($p = 0.2352$), 대조군은 0.57 ± 10.28 mmHg 감소하였으나($p = 0.7108$) 섭취 구간 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않음. 섭취 12주 후 시험군은 0.02 ± 9.32 mmHg 증가하였고($p = 0.9869$), 대조군은 2.98 ± 8.89 mmHg 감소하였으나($p = 0.0280$) 섭취 구간 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않음.
체중 변화량	○ PP Set으로 분석한 결과에서 섭취 6주 후 시험군은 0.14 ± 1.27 kg 증가하였고($p = 0.5118$), 대조군은 0.48 ± 1.27 kg 증가하였으나($p = 0.0238$) 섭취 구간 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않음. 섭취 12주 후 시험군은 0.22 ± 1.74 kg 감소하였고($p = 0.4447$), 대조군은 0.24 ± 1.51 kg 증가하였으나($p = 0.3227$) 섭취 구간 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않음. ○ FA Set으로 분석한 결과에서 섭취 6주 후 시험군은 0.06 ± 1.39 kg 감소하였고($p = 0.7822$), 대조군은 0.50 ± 1.22 kg 증가하여($p = 0.0080$) 섭취 구간 통계적으로 유의한 차이가 나타남($p = 0.0477^*$). 섭취 12주 후 시험군은 0.33 ± 1.76 kg 감소하였고($p = 0.2257$), 대조군은 0.28 ± 1.48 kg 증가하였으

	나(p=0.2095) 섭취 군간 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않음.
허리둘레 변화량	○ PP Set으로 분석한 결과에서 섭취 12주 후 시험군은 1.78±3.49cm 감소하였고(p=0.0036), 대조군은 1.07±2.58cm 감소하였으나(p=0.0144) 섭취 군간 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않음. ○ FA Set 분석도 PP Set 분석과 유사한 결과를 보임.

② 안전성 평가 결과

이상반응	○ 본 인체적용시험 기간 동안 시험군에서는 총 8명의 인체적용시험 대상자에게서 8건, 대조군에서는 총 4명의 인체적용시험 대상자에게서 4건의 이상반응이 있었으나 섭취 군간 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않음(p=0.2314). 이 중 중대한 이상반응은 발생하지 않았으며, 이상반응으로 인한 중도탈락자는 없었음. ○ 본 시험 기간 동안에 발생한 이상반응의 증상정도 조사에서 시험군은 경도(mild) 8 건이었고, 대조군은 경도(mild) 4건이었음. ○ 인체적용시험용 식품과의 관련성에서 시험군은 ‘관련 있을 가능성 있음’ 이 1건, ‘관련이 없다고 생각됨’ 이 1건, ‘명확히 관련이 없다고 생각됨’ 이 6건이었고, 대조군은 ‘명확히 관련이 없다고 생각됨’ 이 4건으로 시험자에 의해 판단되었으며, 섭취 군간 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않음(p=1.0000).
혈액학적검사, 혈액화학적검사, 뇨검사	○ 혈액학적검사, 혈액화학적검사에서 섭취 12주 후 섭취 군간 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않음. ○ 뇨검사 중 섭취 12주 후 S.G에서 시험군과 대조군 모두 통계적으로 유의한 차이가 나타났으나(p=0.0001, p=0.0253), 정상에서 비정상으로의 변화는 임상적 의미가 없다고 시험자에 의해 판단되었음.
맥박, 혈중 PSA	○ 맥박, 혈중 PSA에서 섭취 12주 후 섭취 군간 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않음.

③ 종합 결론

<ul style="list-style-type: none"> ○ 본 인체적용시험은 IPSS(International Prostate Symptom Score)가 8~19 범위에 해당하는 만 40세 이상, 만 75세 이하의 남성을 대상으로 땅콩새싹추출물을 투여했을 때 대조식품과 비교하여 전립선 건강 개선에 미치는 유효성 및 안전성을 평가하기 위하여 실시되었음. ○ 1차 유효성 평가변수인 IPSS 총점은 투여 6주 후, 12주 후 시험군, 대조군 모두 유의하게 감소하였으나, 통계적으로 유의한 감소를 보이지는 못함. ○ 2차 유효성 평가변수인 Free testosterone, IGF-1은 투여 12주 후 통계적으로 유의한 감소를 보이지는 못하였으나, 시험군에서 더 감소하는 경향을 보임. Total testosterone, Estradiol은 투여 12주 후 통계적으로 유의한 감소를 보이지는 못하였으나, 시험군에서는 감소하였고, 대조군에서는 증가하였음. ○ 그 외 DHEA-S, 최대 배뇨속도, OABSS, NIH-CPSI, AMS, ADAM, hs-CRP, IL-6, IL-1b, TNF-a, urine NGF, urine PGE, urine ATP, 혈압, 체중, 허리둘레의 투여 12주 후 변

- 화량은 시험군과 대조군간 통계적으로 유의한 차이는 보이지 않음.
- 땅콩새싹추출물의 안전성 평가를 위해 실시한 혈액학적 및 혈액화학적 검사, 뇨검사, PSA(전립선 특이 항원) 검사 및 맥박 측정결과에서 인체적용시험 전후 의미있는 변화는 없었으며, 12주간의 시험기간 동안 대상자들에게 의미있는 이상반응은 나타나지 않아 땅콩새싹추출물이 안전한 소재임을 확인할 수 있었음.
 - 이번 인체적용시험에서 땅콩새싹추출물의 전립선 건강 개선 효과는 IPSS 총점에서 섭취 전후 통계적으로 유의하게 효과를 나타냈으나, 대조군과의 통계적 유의한 차이를 보이지 못함으로 통계적으로 입증하지는 못하였지만, 가능성을 확인할 수 있었고, 동시에 땅콩새싹추출물이 안전한 식품이라는 것을 확인할 수 있었음.
 - 단회의 인체적용시험으로 땅콩새싹추출물의 전립선 건강 개선효과를 판단하는 데에는 한계가 있으므로 향후 적절한 섭취용량, 연구기간, 시험대상자 수를 고려한 추가 인체적용시험을 진행함으로써 땅콩새싹추출물의 전립선 건강 개선 효과를 확인할 것을 제안함.

(8) 개별인정형 건강기능식품 기능성원료 신청

(가) 식품의약품안전처 개별인정형 건강기능식품 기능성원료 신청서 작성 및 신청

(나) 제출문서

- ① 제출자료 전체의 총괄 요약본
- ② 기원, 개발경위, 국내/외 인정 및 사용현황 등에 관한 자료
- ③ 제조방법 및 그에 관한 자료
- ④ 원료의 특성에 관한 자료
- ⑤ 기능성분(또는 지표성분)에 대한 규격 및 시험방법에 관한 자료
- ⑥ 유해물질에 대한 규격 및 시험방법에 관한 자료
- ⑦ 안전성에 관한 자료
- ⑧ 기능성내용 및 그에 관한 자료
- ⑨ 섭취량, 섭취시 주의사항 및 그 설정에 관한 자료
- ⑩ 의약품과 같거나 유사하지 않음을 확인하는 자료

마. 위탁연구기관 ((사)한국건강기능식품협회) : 제 2 협동연구 결과에 포함하였음.

2. 연구개발성과

가. 연구개발 성과 및 평가방법

(1) 주관 및 협동 연구팀 당 년 간 1건 이상의 특허와 논문 발표를 목표로 하고 있으며 연구개발 성과를 아래의 지표에 따라 평가하고자 함

성과목표	사업화지표										연구기반지표								
	지식 재산권			기술 실시 (이전)		사업화					기술인증	학술성과			교육지도	인력양성	정책 활용·홍보		기타 (타 연구 활용 등)
	특허출원	특허등록	품종등록	건수	기술료	제품화	매출액	수출액	고용창출	투자유치		논문		학술발표			정책 활용	홍보진시	
												SCI	비SCI						
단위	건	건	건	건	백만원	백만원	백만원	백만원	명	백만원	건	건	건	건	명	건	건		
1차연도	목표 1					1	10억	1억	2명	5억		1							
2차연도	목표 1					1	20억	10억	5명	10억		1							
3차연도	목표	1				2	40억	20억	10명	30억		2							
합계	2	1				4	70억	31억	17명	45억		4							

나. 연구성과

(1) 국내외 논문 게재

No	논문명	학술지명	주저자명	호	국명	발행기관	SCI여부 (SCI/비SCI)	게재일
1	Peanut sprout extracts cultivated with fermented sawdust medium inhibits benign prostatic hyperplasia in vitro and in vivo	the world journal of men's health	Jun-Hui Song				SCIE	submission 중
2	Trans-resveratrol extraction from peanut sprouts cultivated using fermented sawdust medium and its antioxidant activity	Journal of Food Science	Tong Li				SCI	accepted
3	Effect of oak tree sawdust fermentation period on peanut seed germination, seedling biomass, and morphology	Horticultural science and technology	Jun-Sik Ahn				SCIE	submission 중

(2) 국내외 학술회의 발표

No	회의명칭	발표자	발표일시	장소	국명
1	32nd EFFoST International Conference 2018	문보경	2018.11.06-11.08	Nantes	France
2	한국식품영양과학회	황병두	2018.11.02	부산	대한민국
3	한국식품영양과학회	송준휘	2018.11.02	부산	대한민국
4	한국식품영양과학회	고유정	2018.11.02	부산	대한민국

(3) 지식재산권(특허, 실용신안, 의장, 디자인, 상표, 규격, 신품종, 프로그램)

No	지식재산권 등 명칭 (건별 각각 기재)	국명	출원			등록			기여율
			출원인	출원일	출원번호	등록인	등록일	등록번호	
1	상표	대한민국	농업회사 법인(주) 레스베라	2018.03.16	40-2018- 0034560				
2	상표	대한민국	농업회사 법인(주) 레스베라	2018.03.16	40-2018- 0034575				
3	쌀겨 추출물을 포함하는 남성 갱년기 증후군 예방 또는 치료용 조성물	대한민국	명순철	2019.01.04	10-2019- 0001336				
4	레드클로버 추출물을 포함하는 남성 갱년기 증후군 예방 또는 치료용 조성물	대한민국	명순철	2019.01.04	10-2019- 0001342				
5	땅콩 나물 재배방법	대한민국	농업회사 법인(주) 레스베라	2020.01.17	10-2020- 0006549				

(4) 저작권(소프트웨어, 서적 등)

No	저작권명	창작일	저작자명	등록일	등록번호	저작권자명	기여율

(5) 기술요약정보

연도	기술명	요약내용	기술완성도	등록번호

(6) 보고서 원문

연도	보고서 구분	발간일	등록번호

(7) 생명자원(생물자원)/화합물

No	생명자원(생물자원)/화합물명	등록/기탁번호	등록/기탁기관	발생년도

(8) 전문 연구 인력 양성

No	분류	기준 년도	현 황											
			학위별				성별		지역별					
			박사	석사	학사	기타	남	여	수도권	충청권	영남권	호남권	기타	
1	학위취득	2020		6		1	2	5	6	1				

※ 2020년 2월 석사 학위수여 예정

(9) 산업기술 인력양성

No	프로그램명	프로그램 내용	교육기관	교육 개회회수	총 교육시간	총 교육인원

(10) 기술거래(이전) 등

No	기술이전 유형	기술실시계약명	기술실시 대상기관	기술실시 발생일자	기술료 (당해연도 발생액)	누적 징수현황

(11) 사업화 투자실적

No	추가 R&D 투자	설비 투자	기타 투자	합계	투자자금 성격
1	콜레스테롤개선 인체적용 시험실시 6천만원		제품개발 5종 2억 브랜드 마케팅 투자 5천만원	3억1천만원	1) 내부자금 ✓ 2) 신용대출 3) 담보대출 4) 투자유치 5) 기타

(12) 사업화 현황

(단위 : 명, 년)

No	사업화 방식	사업화 형태	지역	사업화명	내용	업체명	매출액		매출 발생년도	기술 수명
							국내	국외		
1	기술이전 자기실시	신제품개발 기존제품개선 신공정개발 기존공정개선 기타	국내 국외							

(13) 표준화

No	수행기관명	표준화 주제	표준화 기구	표준화 단계	관련번호	제출(채택)일	국가
						yyyy.mm.dd	

제 3 장. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도

1절. 정량적 연구성과목표

성과 목표	사업화지표										연구기반지표									
	지식 재산권			기술 실시 (이전)		사업화					기술 인증	학술성과				교육 지도	인력 양성	정책 활용·홍보		기 타 (타 연 구 활 용 등)
	특 허 출 원	특 허 등 록	품 종 등 록	건 수	기 술 료	제 품 화	매 출 액	수 출 액	고 용 창 출	투 자 유 치		논 문		논 문 평 균 IF	학 술 발 표			정 책 활 용	홍 보 전 시	
												SC I	비 SC I							
단위	건	건	건	건	백 만 원	건	원	원	명	원	건	건	건	건	명	건	건			
1차 년도	목표 1					1	10 억	1 억	2 명	5 억		1								
	실적 1					1	5억	1억	4명	3억										
2차 년도	목표 1					1	20 억	10 억	5 명	10 억		1								
	실적					3	5억	0.2 억	2명	-										
3차 년도	목표	1				2	40 억	20 억	10 명	30 억		2								
	실적	2				1	2 억	0.2 억	3 명	-		3								
소 계	목표	2	1			4	70 억	31 억	17 명	45 억		4								
	실적	3				5	12 억	1.4 억	7 명	3 억										

2절. 연차별 정성적 연구목표 및 달성도

1. 1차 년도

세부연구목표	연구개발 수행내용	연구결과	목표 달성도 (%)
툽밥재배 땅콩새싹 추출물의 표준화 과정 주관	- 표준화 계획서 작성/배포/조율 - 표준화 성분분석 계획서 작성/배포/조율 - 공정단계별 시료제작 및 지표물질 분석 - 툽밥재배 땅콩새싹 추출물의 공정 단계별	- 표준화 계획서에 따라 공정별 성분분석을 하였고, 추출법을 다양하게 적용하여 분석한 결과, 주정추출분말이 가장 효과적인 원료임을 밝혔음	100

	표준화 수행		
땅콩새싹 추출물의 전립선비대증 예방에 관한 in vitro 효능검증	<ul style="list-style-type: none"> - 전립선 세포주들을 배양, 땅콩새싹주정추출물을 처리하고, 세포증식 (MTT)실험 실시. - DEFB1의 mRNA 발현양상: qRT-PCR 실시 - DEFB1 단백질 발현양상: confocal microscopy를 이용해서 세포내의 DEFB1 단백질 발현양상을 확인. 	<ul style="list-style-type: none"> - 전립선 암세포주에서는 땅콩새싹주정추출물에 의해서 세포증식의 억제 효과를 확인함 - DEFB1의 mRNA 발현이 5ug/ml을 처리하였을 때, 약 35배정도 증가함을 확인하였음 - DEFB1 단백질 발현양상이 증가함으로써 땅콩새싹주정추출물에 의한 항(균)생 효과의 가능성을 확인함 - DEFB1이 전립선암 바이오마커 중 하나이므로 전립선 항암효과의 가능성이 있음 	100
발효 톱밥 땅콩새싹의 기능성 성분 최적화 유기농 재배 기술 개발	<ul style="list-style-type: none"> - 유기농업자재 (국립 농산물품질관리원 인증) 처리에 따른 새싹의 생육 변화 규명 	<ul style="list-style-type: none"> - 유기농 참나무 발효톱밥을 이용한 땅콩의 파종방향에 따른 새싹 발아율과 뿌리 생장률을 비교한 결과, 씨눈 방향이 아래로 향할 경우 뿌리와 줄기생장률이 높음을 확인 하였음 - 참나무 발효톱밥의 발효기간에 따른 땅콩새싹의 발아율과 생장률을 비교한 결과, 약 45일간 발효한 톱밥에서 땅콩새싹의 생장률이 대체적으로 높았음 - 유기농 참나무 톱밥의 발효기간에 따른 미생물 (박테리아) 분포를 확인 하였음 	100
기능성 자료 축적을 위한 전립선 건강 효능/기전 규명	<ul style="list-style-type: none"> - 실험실 기반 표준화 소재 활용 in vivo 효능 기전 연구 	<p>발효톱밥 재배 땅콩새싹 추출물이 pan nexin-1, connexin-43 발현에 미치는 영향</p> <ul style="list-style-type: none"> - 방광암세포주인 TCCSUP 세포에 땅콩새싹 추출물을 농도별로 처리 후 간극결합단백질 유전자인 PANX 1과 GJA1의 발현을 확인한 결과 10 ug/ml과 24ug/ml에서 발현이 감소하는 것을 확인하였음. 따라서 땅콩새싹 추출물이 방광의 예민도를 떨어뜨리는 효과가 있을 수 있음. 	100
(위탁) 땅콩새싹 추출물의 전립선 건강에 대한 인체적용시험 계획서(프로토콜) 개발	<ul style="list-style-type: none"> - 인체적용시험 자료 검색 및 정리, 인체적용시험 계획서 (프로토콜) 개발 	<ul style="list-style-type: none"> - 인체적용시험 계획서(Draft Ver.) 개발 	100
재배 조건에 따른 땅콩새싹 추출물의 유효성분 분석 및 표준화	<ul style="list-style-type: none"> - 재배 조건을 달리한 땅콩새싹 추출물의 유효 성분 분석 및 표준화 - 기능성 원료의 규격 	<ul style="list-style-type: none"> - 재배조건에 따른 땅콩새싹 추출물의 유효성분인 레스베라트롤, 사포닌, 엽산 및 아미노산(구성아미노산 18종 및 유리아미노산 18종) 함량을 분석하였음. 톱밥재배 땅콩새싹 	100

	<p>관리를 위하여 기능/지표성분 설정, 분석법 확립 및 시험법 검증</p>	<p>동결건조 시료의 경우 톱밥 발효 기간이 경과함에 따라 레스베라트롤의 함량이 증가하는 것으로 나타났음</p> <ul style="list-style-type: none"> - 땅콩새싹 가공제품(다류, 농축액, 분 말제품) 중 농축액 제품 보다 분말 제품이 높은 레스베라트롤 함량을 나타내었음 - 땅콩새싹 기능성 원료의 규격 관리 를 위하여, 기능성 성분으로 레스베 라트롤, 사포닌, 엽산 및 아미노산을 선정하고, 지표성분으로서 레스베라 트롤을 선정하고 분석 하였음 - 선정된 땅콩새싹의 기능성 성분과 지표성분을 추출용매(50%, 80%, 100% 메탄올) 및 필터종류(Nylon, PTFE)를 달리하여 최적 추출 용매 로 50% 메탄올을, 필터는 PTFE로 결정하고 HPLC 분석조건을 확립하 였음 - (주)한국기능식품연구원과 함께 교차 검증을 실시하여 HPLC를 이용한 레 스베라트롤의 HPLC 최적 분석조건 을 확립하였음 	
<p>추출 방법에 따른 이화학적 특성 연구</p>	<p>- 땅콩새싹 추출물의 전립선 간질세포의 생장·전이 및 세포신호전달에 대한 효과 관찰</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 땅콩새싹 열수추출물 보다 주정추 출물에서 레스베라트롤 함량이 많 게 측정됨에 따라 전립선 간질세포 효과관찰에 땅콩새싹 주정추출물을 사용하였음 - 땅콩새싹 주정추출물 처리에 의해 전립선 간질세포(WPMY-1)와 상 피세포(RWPE-1)의 생장이 농도- 의존적으로 억제되었음 - 땅콩새싹 주정추출물 처리에 의해 전립선 간질세포와 상피세포의 전 이능력 (migr- ation, invasion)이 농도-의존적으 로 억제되었음 - 땅콩새싹 주정추출물 처리에 의해 전립선 간질세포와 상피세포 내 전 이관련 효소인 MMP-2, -9의 활성 이 억제되었음 - 땅콩새싹 주정추출물 처리에 의해 전립선 간질세포 내 전이관련 transcription factor (NF-kB, AP-1, SP-1)의 활성이 억제되는 경향을 보임 - 땅콩새싹 주정추출물에 의해 간질 	<p>100</p>

		세포와 상피세포 내 신호전달단백질인 AKT의 활성은 증가되었으나, MAPKs (ERK1/2, JNK, p38)의 활성은 변화 없었음	
(위탁) 기능성 원료의 표준화를 위하여 설정된 기능/지표성분 분석법에 대한 교차검증	- 2세부 협동기관과의 교차 검증 실시	- 설정된 분석방법에 대하여 특이성, 직선성, 반복성과 재현성을 확인하였으며, 2세부 협동기관과의 함량 편차가 없음을 확인	100
(위탁) 땅콩새싹(원재료), 땅콩새싹 추출물(기능성 원료)의 안전성 확보를 위하여 위해 성분인 곰팡이 독소(아플라톡신 B ₁ , B ₂ , G ₁ 및 G ₂ 합)등 확인	- 곰팡이 독소인 총 아플라톡신(B ₁ , B ₂ , G ₁ 및 G ₂), 푸모니신, 오크라톡신 A, 데옥시니발레놀, 제랄레논 식품공전 시험방법으로 확인.	- 땅콩새싹(생채, 건채), 땅콩새싹 추출물에서 곰팡이 독소인 총 아플라톡신(B ₁ , B ₂ , G ₁ 및 G ₂), 푸모니신, 오크라톡신 A, 데옥시니발레놀, 제랄레논 분석결과 모두 불검출로 확인.	100
(위탁)표준화 작업 시 각 공정 단계별 기능/지표성분 함량 확인(공인분석기관 성적서 발행)	- 원물(생채, 건채), 추출액, 땅콩새싹 추출물에서 resveratrol 함량 확인	- 땅콩새싹(생채, 건채), 추출액, 땅콩새싹 추출물(분말, 기능성 원료)에서 Resveratrol 함량 확인 및 공인기관 성적서 발행.	100

2. 2차 년도

세부연구목표	연구개발 수행내용	연구결과	목표 달성도 (%)
톱밥재배 땅콩새싹 추출물의 유용물질 공인화 작업 및 기능성평가 추진 재배법 개선 연구 결과를 생산현장 적용 연구결과에 따른 기술들의 사업화 추진	- 재배법 연구 결과 생산현장 적용 - 톱밥재배 땅콩새싹 추출물의 유용물질 공인화 작업 - 톱밥재배 땅콩새싹 추출 방법변경 - 톱밥재배 땅콩새싹 추출물의 표준화 및 규격화	- 45일 - 60일 발효톱밥의 경우 총수율 10% 이상 상승 - 1일 2시간 환기시스템을 1일 4시간으로 확대한 결과 곰팡이 발생율이 20% 이상 감소. - 톱밥재배 땅콩새싹 추출물의 레스베라트롤, 소야사포닌, 아스파라긴산, 엽산 등의 유용성분 공인성적서 발행 - 주정을 용매로 사용한 경우가 일반 정제수만을 사용한 경우보다 레스베	100

	<ul style="list-style-type: none"> - 인체 적용 시험용 제품 생산 - 연관 기술들을 활용한 제품개발 	<p>라트롤은 2배이상, 기타 유용성분은 10%이상 함유된 결과를 바탕으로 기존 열수추출에서 주정추출로 추출 방법 변경</p> <ul style="list-style-type: none"> - 톱밥재배땅콩새싹 추출물의 기본공정 확정 - 최종 농축과 sd분말의 덱스트린 종류등은 계속 테스트 중임 - 톱밥재배땅콩새싹 추출물의 지표물질 규격설정 (한국기능식품연구원) - 기능성 인증을 위해서 GMP시설을 갖춘 에스엔디에서 땅콩새싹추출분말 원료 생산. 인체적용시험용 제품 생산 (한국콜마비엔에이치) - 톱밥재배 땅콩새싹주정추출분말을 이용한 정제제품과 기능성소재와 콜라보레이션한 제품들을 개발하여 기능식품인증에 대비한 마켓테스트용 제품출시 	
<p>땅콩새싹 추출물의 전립선비대증 예방에 관한 <i>in vitro/in vivo</i> 작용기작</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 발효 참나무톱밥 땅콩 새싹의 기능성 성분 최적화 유기농 재배 개술 개발 - 기능성/안전성 자료 축적을 위한 전립선 건강 효능/기전 규명 - 임상시험을 통한 안정성 및 전립선 건강 효능 검증 	<ul style="list-style-type: none"> • 땅콩 재배 밀도가 높아질수록 수확한 땅콩새싹의 무게 및 길이가 줄어들었음. 따라서 적절한 땅콩재배 밀도를 유지해야 할 것임 • 박테리아와 곰팡이균들의 구성이 미발효와 30, 45, 60 일 발효톱밥에서 서로 다를 수 있었음. 발효톱밥에서의 박테리아 및 곰팡이 균들의 변화가 땅콩새싹의 발아와 생장에 주요한 영향을 끼친다는 것을 확인함. • <i>in vitro</i> 효능 시험 <ul style="list-style-type: none"> - IL-6에 의한 전립선선세포 및 전립선 기질세포 증식을 추출물이 억제함 - IL-6에 의한 전립선선세포의 기질세포화(EMT)를 추출물이 억제함 (cadherin발현 감소 억제, vimentin 발현 증가 억제) • <i>in vivo</i> 동물실험 <ul style="list-style-type: none"> - 요도 LPS 주입으로 전립선염/전립선비대증 동물실험 모델 유도 생쥐에서 염증과 기질 및 기질세포 증식 억제 • organ bath실험: 땅콩새싹 추출물의 	<p>100</p>

		<p>방광질편 이완효과 검증</p> <ul style="list-style-type: none"> - 추출물이 acetylcholine(ACh)에 의한 이완 효과 관찰(도 4); ACh 10^{-8}~10^{-4}M 농도 의존적 평활근의 수축이, 추출물 1, 10, 50 ug/ml, 20분 전처치 후 수축 이완 변화를 관찰함. - 위 결과, 땅콩추출물은 농도 의존적으로 ACh에 의한 수축을 약간 억제함. 처리농도를 세포시험 농도에 맞추어 이완 반응이 적은 것으로 추정함 	
<p>땅콩새싹 추출물의 전립선 건강에 대한 인체적용시험 수행</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 인체적용시험 계획서(프로토콜) IRB 승인 - 인체적용시험 수행 	<ul style="list-style-type: none"> - 인체적용시험 계획서(프로토콜) 개발 완료 - IRB 신청 완료 및 승인 2018 12 - 인체적용시험 수행(개시모임, 모니터링 등) - 인체적용시험 12월 18일 시작 - IRB 승인 완료 후 대상자 모집 실시 및 인체적용시험 수행 	<p>100</p>
<p>추출용매 및 추출 조건을 달리하여 추출한 땅콩새싹 추출물에서 유효 성분 함량 분석 및 이를 통한 최적 추출 조건 설정</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 땅콩새싹 추출물 제조 공정별 유효 성분 함량 분석 및 표준화 - 기능성 원료의 규격 관리를 위하여 기능/지표성분 설정, 분석법 확립 및 시험법 검증 	<ul style="list-style-type: none"> • 추출 용매 및 추출 조건에 따른 땅콩새싹 추출물 샘플 SG 4540 및 SND ((각) 실험실, 양산 No. 1, 2, 3)의 유효성분 으로 레스베라트롤, 소야사포닌, 엽산 함량을 분석하였음. 양산한 제품의 레스베라트롤 함량이 실험실에서 제조한 시료보다 더 낮은 것으로 분석되었음. • 제조 공정별 1차 및 2차 추출분, 농축액, 추출분말에 대한 유효성분 (레스베라트롤, 소야사포닌, 엽산)을 분석하였으며 추출 분말 Lot 1, 2, 3의 레스베라트롤 함량은 각각 $13.23 \pm 0.18 \mu\text{g/g}$, $13.35 \pm 0.48 \mu\text{g/g}$, $22.78 \pm 0.54 \mu\text{g/g}$가 검출되었음 • 기능성 원료의 표준화를 위하여, 성장, 기능/지표성분, 중금속(납, 카드뮴, 총비소, 총수은, 미생물(대장균군) 및 잔류농약 등의 분석을 진행하고 규격 설정을 제안하였음. 	<p>100</p>

추출 방법에 따른 이화학적 특성 연구	<ul style="list-style-type: none"> - 땅콩새싹 추출물의 전립선 간질세포 및 상피세포의 성장·전이 및 세포 신호전달에 대한 효과 관찰 	<ul style="list-style-type: none"> - 땅콩새싹 열수추출물 보다 주정추출물에서 레스베라트롤 함량이 많게 측정됨에 따라 전립선 간질세포 효과관찰에 땅콩새싹 주정추출물을 사용하였음 - 땅콩새싹 주정추출물 처리에 의해 전립선 간질세포 내 전이관련 transcription factor (NF-κB, AP-1, SP-1)의 활성이 억제되는 경향을 보임 - 땅콩새싹 주정추출물에 의해 간질세포와 상피세포 내 신호전달단백질인 AKT의 활성은 증가되었으나, MAPKs (ERK1/2, JNK, p38)의 활성은 변화 없었음 - 땅콩새싹 주정추출물에 의해 간질세포와 상피세포 내 전립선 비대증에 관여하는 인자인 5α-reductase의 발현이 감소되었음. 	100
땅콩새싹 추출물의 전립선 건강에 대한 인체적용시험 수행	<ul style="list-style-type: none"> - 인체적용시험 계획서(프로토콜) IRB 승인 - 인체적용시험 수행 	<ul style="list-style-type: none"> - 인체적용시험 계획서(프로토콜) 개발 완료 - IRB 신청 완료 및 승인 2018 12 - 인체적용시험 수행(개시모임, 모니터링 등) - IRB 승인 완료 후 대상자 모집 실시 및 인체적용시험 수행 	100

3. 3차 년도

세부연구목표	연구개발 수행내용	연구결과	목표 달성도 (%)
전립선 건강 인체 효능 및 안전성 검증	<ul style="list-style-type: none"> - 전립선 건강 인체 효능 및 안전성 연구 	<p>인체 실험 내용 및 결과: 1협동 및 위탁과제 CRO(네오뉴트라) 협력</p> <p>1) 인체 적용시험의 목적: 전립선 증상을 가진 남성을 대상으로 PSE(땅콩새싹추출물)을 섭취했을 때 대조식품(Placebo)과 비교하여 전립선 기능개선에 미치는 유효성 및 안전성을 평가하기 위하여 계획됨</p> <p>2) 인체적용시험 책임자: 명순철</p> <p>3) 인체적용시험 공동 연구자: 김진욱, 지병훈 비뇨의학과 교수</p>	100

		<p>4) 실험 디자인: 디자인: 12주, 무작위 배정, 이중눈가림, 위약대조</p> <p>5) 실험 대상; 중등도 이하의 전립선 비대증 증상이 있는 남성</p> <p>6) 식품섭취 방법:</p> <ul style="list-style-type: none"> • 시험군(PSE): 1일2회, 1회1정을 물과 함께 섭취(땅콩새싹추출물로서 1g/day) 대조군(Placebo): 시험군과 동일한 방법으로 섭취 <p>7) 인체적용시험시작일: 2018.12.18(첫 인체적용 시험대상자 스크리닝일)</p> <p>8) 인체적용시험종료일: 2019.09.16 (마지막 인체적용시험 대상자 시험 완료일)</p> <p>9) 결과분석에 포함된 인체적용시험 대상자 수; 93명(계획 초과)</p>	
<p>식약처 인증을 위한 기능성/안전성 자료 축적</p>	<p>- 식약처 인증 자료 보완 데이터 생성 및 사업화 활성을 위한 기능성 연구 및 기능성 안전성 자료 축적 정리</p>	<p>- 땅콩새싹 추출물의 rat 전립선 조직의 IL-6에 의한 증식을 감소하는지 확인하고자 SD rat을 이용해서 IHC (immunohistochemistry) 방법을 사용하여 IL-6, IL-6R 의 발현양상을 확인함. 그룹은 normal, testosterone, 땅콩새싹 50mg/kg, 100mg/kg, Finasteride (positive control)</p> <p>- 추출물 처리로 IL-6, IL-6R 발현 감소 경향을 보인다</p> <p>- 배뇨증상이 있는 사람 Urine을 발효톱밥 재배 땅콩새싹 투여 전후 채취한 후, 원심분리 하여 거대 단백질을 분리하고 위의 상등액을 취해서 ELISA(enzyme-linked immunosorbent assay) 기법을 이용해서 실험을 수행함. 각각 urine에 대해서 NGF (Nerve growth factor), PGE2(Prostaglandin E2), ATP (Adenosine triphosphate) activity를 측정하였음. 투여 후에 감소 경향이</p>	<p>100</p>

		<p>확연 하지만 요creatinine으로 보정하고 placebo 투여 군과 비교하면 통계적 유의성은 없었음.(p >0.05)</p>	
<p>발효 톱밥 재배 유기농 땅콩새싹 상품성/인지도 강화 활용 지식 개발</p>	<p>- 표준화 소재와 유기농 개발 소재의 기능성 비교연구: 땅콩새싹추출물의 전립선건강 예방 nutrionic 프로파일링</p>	<p>- 땅콩 재배 밀도가 높아질수록 수확한 땅콩새싹의 무게 및 길이가 줄어 들었음. 따라서 적절한 땅콩재배 밀도를 유지해야 할 것임.</p> <p>- 참나무 발효톱밥내의 박테리아와 곰팡이균들의 구성이 미발효와 30, 45, 60 일 발효톱밥에서 서로 다를 수 있었음. 땅콩새싹의 vigor index의 차이도 미발효 톱밥보다 발효 톱밥에서 더 높은 결과를 얻었음. 이 결과들을 분석해보면 발효톱밥에서의 박테리아 및 곰팡이균들의 변화가 땅콩새싹의 발아와 성장에 주요한 영향을 끼친다는 것을 확인함.</p> <p>- 각종 전립선비대증 발생 기전 및 동물 모델 자료 및 식품 소재들을 검토한 결과 염증에 의한 전립선비대증 발생기전과 전립선 증상의 염증에 의한 악화 관련 연구가 본 소재의 연구 및 활용에 가장 적절한 것으로 판단함</p> <p>- proinflammatory cytokines들 중 IL-6가 선정되었고 증식 및 EMT기전을 위주로 연구에 적용됨</p>	100
<p>땅콩새싹 추출물의 저장 및 보관기간에 따른 유효성분의 안정성 분석</p>	<p>- 건강기능식품 소재로서 땅콩새싹 추출물을 일반적인 유통온도(실제유통)와 남용온도(극단의 환경)에 보관하면서 일정기간마다 유효성분 함량의 변화 분석</p> <p>- 저장 및 보관기간에 따른 땅콩새싹 추출물의 미생물 변화 측정</p> <p>- 수분 함량 변화 측정</p> <p>- 관능 평가</p>	<p>- 건강기능식품 소재로서 땅콩새싹 추출물을 25℃, 35℃, 40℃에 6개월 동안 보관하면서 30일 간격으로 7회에 걸쳐 레스베라트롤 함량을 분석함. 25℃에서 저장한 땅콩새싹 추출물은 초기 함량 25.56±0.05 μg/g에서 6개월 후 25.00±0.45 μg/g으로 감소하였으며 40℃에서 저장한 땅콩새싹 추출물의 경우 14.74±0.42 μg/g으로 감소하였음</p> <p>- 저장 및 보관기간에 따른 땅콩새싹 추출물의 세균수 측정과 대장균군 정성분석을 진행하였으며 대장균군은 저장 기간동안 전 온도범위에서 음성을 나타내었음.</p> <p>- 저장온도 및 저장기간에 따른 땅콩새싹추출물의 수분함량을 수분함량</p>	100

		<p>측정기로 측정하였으며 25℃ 저장 시 유의적인 변화가 없음을 확인하였음</p> <p>- 저장온도 및 저장기간에 따른 땅콩새싹 추출물의 관능평가를 측정한 결과 25℃에 보관한 땅콩새싹추출물의 경우 색깔 및 냄새에 대한 큰 변화가 없었으나 40℃에서 저장한 땅콩새싹추출물의 색깔 및 냄새에 대한 선호도 점수는 유의적으로 감소하는 것으로 나타남.</p>	
<p>전립선비대증 예방 동물모델에서 땅콩새싹 추출물의 효과에 따른 바이오마커 발현 validation</p>	<p>- 전립선비대증 예방 동물 모델에서 땅콩새싹 추출물의 처리 후 바이오마커의 발현 분석 및 그 프로파일 작성</p>	<p>- 전립선비대증 동물모델에서 땅콩새싹 주정추출물 경구투여에 의한 전립선 크기 감소 확인</p> <p>- 전립선비대증 동물모델에서 땅콩새싹 주정추출물 경구투여에 의한 전립선 조직 내 DHT 농도 감소 확인</p> <p>- 전립선비대증 동물모델에서 땅콩새싹 주정추출물 경구투여에 의한 전립선 조직 상피 두께 감소 확인</p> <p>- 전립선비대증 동물모델에서 땅콩새싹 주정추출물 경구투여에 의한 전립선 조직 내 전립선비대증 관련 인자 (5α-reductase, AR, FGF-2, Bcl-2, Bax) 발현변화 확인</p>	100

3절 목표 미달성 시 원인(사유) 및 차후대책(후속연구의 필요성 등)

※ 추가 연구 논문 등을 완성하기 위해 필요한 세부 데이터 등을 보완하여 소재의 가치를 증명하는 객관적 자료를 성실히 완성하겠습니다.

4절 관련분야 기여도

세부연구목표 (연구계획서 상의 목표)	달성도 (%)	개발 내용	관련 분야 기여 및 파급 효과
<p>땅콩새싹추출물의 전립선비대증 예방에 관한 <i>in vitro/vivo</i> 작용기작 규명 및 효능 검증</p>	100	<ul style="list-style-type: none"> - 땅콩 새싹 추출물이 전립선의 자연면역 인자인 HBD-1 항균펩티드의 발현을 증가시킬 가능성 확인. - 전립선 비대증과 밀접한 연관이 있는 전립선 암, 방광질환 관련 실험을 통해 암 및 염증 예방효과 가능성이 있음을 확인함. - 발효톱밥 재배 땅콩새싹 추출물이 방광질환 이완효과와 pannexin-1, connexin-43 발현에 미치는 영향에 대한 실험 결과를 얻어, 식약처 인증을 위한 기능성/안전성 자료로 사용될 수 있는 기초연구결과를 축적하였음. - 쥐방광 organ bath study 로 방광 수축억제 확인 - IL-6처리된 인간 전립선 세포 및 전립선 간질세포 실험과 LPS 요도주입 동물모델 실험 결과를 통해 땅콩새싹 추출물 소재가 전립선 건강 및 전립선 비대증에 효능이 있을 가능성을 확인함. - Testosterone의존성 전립선비대증 동물모델에서 IL-6, IL-6R의 발현이 추출물 투여에 의해 감소되는 경향을 면역화학염색으로 확인함 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 전립선 건강 식품소재에 supplement로 활용 가능성: 전립선 비대증은 약 30-50%에서 염증이 동반되고 증상을 악화시키는 요인임. 또한 50세 미만의 남성 15%가 전립선염을 앓고 있음. 따라서 전립선의 염증이 소재를 활용할 수 있을 가능성이 있음. ○ 전립선암세포 증식억제: 전립선암환자를 위한 nutritional supplement 개발 활용 모색 가능. ○ 본 과제에서 수립한 요도 LPS 주입에 의한 전립선 염증유발 모델은 염증에 의한 전립선비대증 모델로 활용 가능성이 높음. ○ 과활동성 방광에 적용 가능성이 있음. 과활동성방광은 남성 및 여성 모두에서 유병율이 30%이므로 시장성이 더 높은 것으로 파악됨 ○ 염증에 의한 전립선의 증식이나 악화에 전략적으로 활용할 수 있을 가능성이 있음. ○ 소재가 전립선의 자연면역 기능을 증강시킬 가능성이 있어 전립선염이나 요로 감염의 예방 소재로서의 가능성을 확인한바 전립선염이나 요로 감염의 예방 소재로의 활용 가능성이 있음
<p>발효 톱밥 재배 유기농 땅콩새싹 상품성/인지도 강화 활용 지식 개발</p>	100	<p>레스베라트롤 함량이 가장 높은 파종 방법 및 재배기간, 땅콩새싹 생장에 가장 적합한 참나무 톱밥의 발효기간을 확인함.</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 참나무 발효톱밥을 이용한 땅콩 새싹 재배법을 수립하여, 땅콩새싹의 biomass의 증가 방법 및 유효물질 증가 방법 개발에 기여 ○ 참나무 발효톱밥내의 박테리아, 곰팡이 분포도 분석 결과를 통해 땅콩새싹 맞춤형 재배용 톱밥 제작에 활용할 수 있을 것임.

전립선 건강 인체 효능 및 안전성 검증	100	<ul style="list-style-type: none"> - 식품의 전립선비대증에 대한 효능 검증 인체 시험 프로토콜 개발 - 타깃 추출물의 인체시험 완료 - 인체시험 종료보고 및 종료 승인 완료 - 인체 시험 종료 보고서 승인 완료 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 발효 통밥 땅콩새싹 추출물의 안전성을 확인하였으므로 다른 효과를 목표로 하는 연구개발에서 안전성에 대한 연구 필요 없이 사업화 가능 ○ 전립선건강 기능식품 개별인정 신청 가능
식약처 인증을 위한 기능성/안전성 자료 축적	100	<ul style="list-style-type: none"> - 쥐 전립선비대증 모델에서 IL-6, IL-6R 확인 - 요중 ATP, NGF, PG E2 측정 - 인체 시험을 통한 안전성 확인 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 기능성 자료로 활용 ○ 수립한 요중 ATP, NGF, PG E2 측정법은 과민성방광의 바이오마커로 활용가능성 있음.
재배 조건에 따른 땅콩새싹 추출물의 유효성분 분석 및 표준화 땅콩새싹 추출물 제조공정별 유효성분 함량분석 및 표준화 땅콩새싹 추출물의 저장 및 보관기간에 따른 유효성분의 안정성 분석	100	<p>재배 조건 및 제조 공정 별 땅콩새싹 추출물의 유효성분 함량 분석 및 레스베라트롤 분석 표준화 확립</p> <p>땅콩새싹 추출물 저장 및 보관기간에 따른 유효성분의 안정성 분석 및 유통기한 설정함</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 조건에 따른 resveratrol 등의 함량 측정법 수립으로 이를 지표물질이나 활성물질로 활용할 수 있는 식품소재 개발에 용이함. ○ 콩류의 새싹을 활용한 식품 개발에서 소재의 안전성에 대한 검사 방법을 수립하여 다른 제품 개발 시 활용성이 있음 ○ 저장기간이나 환경에 따른 품질 유지 기간을 특정함으로써 향후 이 소재를 활용한 식품 개발에 용이성응근 확보함

추출 방법에 따른 이화학적 특성 연구	100	세포실험을 통해 땅콩새싹 추출물의 전립선 건강 효능 확인	○ 주장추출물이 지표물질이면서 활성물질일 가능성이 높은 resveratrol 함량이 높음이 확인되어 resveratrol을 활성물질로 정하는 식품 개발시 추출방법에 대한 기초 데이터가 될 수 있음. ○
전립선비대증 예방 동물모델에서 땅콩새싹 추출물의 효과에 따른 바이오마커 발현 validation	100	전립선비대증 동물모델에서 땅콩새싹 추출물의 효능 확인	○ 고환적출 및 testosterone 투여 쥐 전립선비대증 모델에서 testosterone undecanoate를 이용하여 매일 투여하지 않는 간단한 protocol을 확립하여 전립선 비대증 동물 효능 연구에 접근성을 높일 수 있음.
합계	100		

제 4 장. 연구결과의 활용 계획 등

1절. 연구개발 결과의 활용방안

1. 실용화 산업화 계획: 개별인정형 건강기능식품 개발

가. 본 연구를 통하여 가능성 있는 분야를 확인하였음. 따라서 간건강, 체지방감소, 혈중 콜레스테롤 개선, 혈행개선 등의 분야에 적용 가능성을 확인함.

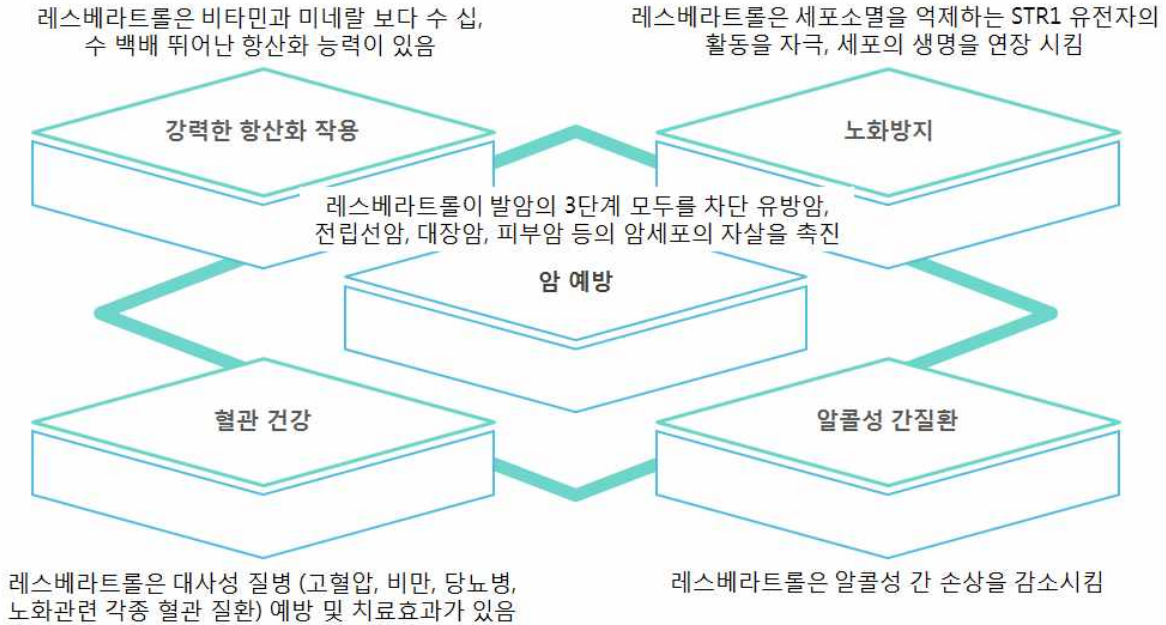


그림 36. 톱밥재배 유래 땅콩새싹 추출물 사업화를 통한 다양한 기대효과

2. 교육 지도 홍보 등 기술확산 계획

가. 톱밥재배 땅콩 새싹을 이용하여 제품화 및 사업화된 다양한 채소 및 건강보조식품, 건강기능식품 개발을 통해 대사증후군 관련 질환 또는 비뇨기 질환 개선에 이바지 하고 다양한 기능성 식품의 소재로서의 가치 증대.

나. 최근 중국을 비롯한 외국 땅콩수입으로 우리나라 땅콩 재배면적 및 생산량이 감소하고 있음. 본 연구결과를 통해 국내산 땅콩의 부가가치를 높이고, 톱밥재배 땅콩새싹을 이용한 건강식품 신소재 개발 확대 및 확산.

다. 소재의 기능성과 시장에서의 존재 가치를 높이기 위한 지속적 홍보 .

라. 전 세계 유일의 톱밥재배 새싹땅콩소재의 우수성 입증을 통해 국내의 농산업이 보다 더 육성 발전되고, 글로벌 시장 진출 등 세계적 건강식품 소재로 자리매김 할 것으로 기대됨.

3. 특허, 품종, 논문 등 지식재산권 확보계획

가. 톱밥재배 기술을 이용한 생산 시스템 다각화를 통해 신개념 땅콩새싹 소재 추가 개발 및 지식 재산권 가치 증대.

나. 땅콩새싹의 기존 특허분야를 전문적으로 분석하여 새로운 기능성 분야 개발을 통한 지적 재산권 확보. 비뇨생식기 분야의 가능성에 주목하고 있음.

4. 추가연구, 타연구에 활용 계획

가. 개별인정형 건강기능식품 인정에 대비한 in vitro 기전 추가 연구

나. 본 연구를 통해 진행된 동물 모델이 많은 질환을 통합하는 모델이므로 좀 더 특화된 모델을 활용하여 개별인정형 건강기능식품 인정에 대비. 예> 비알콜성 지방간 모델, 각종 당뇨 모델, 이상지질혈증 모델, 비뇨기 질환 모델 등.

다. 현재 2형 당뇨 모델을 활용한 추가 연구 진행 중.

라. 제형 선택 개발.

마. 인체 적용시험의 계획 및 진행.

바. 땅콩 새싹 추출물에 포함된 생리활성 물질의 후성유전 효능 연구.

5. 기타 기대효과

가. 톱밥재배 기술을 이용한 생산 시스템 구축을 통해 신개념 땅콩새싹 재배의 우수성 확보 및 지식 재산권 가치 증대

나. 톱밥재배 땅콩 새싹의 항대사증후군 및 비뇨기 질환 효능 검증을 통해 관련 질환 연구의 다양한 응용 가능

다. 톱밥재배 땅콩 새싹을 이용하여 제품화 및 사업화된 다양한 채소 및 건강보조식품, 건강기능식품 개발을 통해 대사증후군 또는 비뇨기 질환 개선에 이바지 함으로써 국민건강보건 증진에 큰 도움이 될 것으로 기대됨

라. 최근 중국을 비롯한 외국 땅콩수입으로 우리나라 땅콩 재배면적 및 생산량이 감소하고 있음. 본 연구결과를 통해 국내산 땅콩의 부가가치를 높이고, 톱밥재배 땅콩새싹을 이용한 건강식품 신소재 개발 확대 기대

마. 톱밥을 활용한 친환경 재배법은 산림자원의 재활용 뿐만아니라 수경재배에 비해 신선하고 맛 좋은 신채소 농산업으로서의 가치가 높아질 것으로 기대 됨

바. 전 세계 유일의 톱밥재배 새싹땅콩소재의 우수성 입증을 통해 국내의 농산업을 보다 더 육성 발전되고, 글로벌 시장 진출 등 세계적 건강식품 소재로 자리매김 할 것으로 기대됨

[별첨 1]

연구개발보고서 초록

과 제 명	(국문) 레스베라트롤 고함유 톱밥재배 땅콩새싹 추출물을 통한 전립선 건강 개별인정형 기능식품 개발 (영문)Development of functional food product for prostate health to utilize high resveratrol containing fermented-sawdust peanut sprout extract				
주관연구기관	농업회사법인(주)레스베라		주 관 연 구 자	(소속) 연구소	
참여기관	중앙대학교, 네오뉴트라, (사) 한국건강기능식품협회		책 임 자	(성명) 김배환	
총연구개발비 (888,000천원)	계	888,000	총 연구 기간	2017.05.30~ 2019.12.31 (2년 8개월)	
	정부출연 연구개발비	709,000	총 참 연 구 원 수	총 인원	81
	기업부담금	179,000		내부인원	81
	연구기관부담금	888,000		외부인원	0
<p>○ 연구개발 목표 및 성과</p> <ul style="list-style-type: none"> - 톱밥재배 땅콩새싹 추출물의 표준화 - 땅콩새싹 추출물의 규격 설정 및 영양성분 확인 - 땅콩새싹 추출물의 전립선 비대증 예방에 관한 <i>in vitro</i>, <i>in vivo</i> 효능 검증 - 땅콩새싹 추출물의 전립선 건강에 대한 인체적용시험 수행 - 개별인정형 건강기능식품 기능성원료 신청 <p>○ 연구내용 및 결과</p> <ul style="list-style-type: none"> - 톱밥재배 땅콩새싹 추출물의 표준화를 위한 기능/지표성분 설정 및 함량, 안정성 분석, 영양성분 확인 - 세포 및 동물실험을 통한 전립선 비대증 관련 효능 검증 실험에서 땅콩새싹 추출물이 전립선 비대증 개선에 효능이 있음을 확인 - 인체적용시험 프로토콜 개발 및 인체적용시험을 통한 인체 효능 및 안전성 검증 <p>○ 연구성과 활용실적 및 계획</p> <ul style="list-style-type: none"> - 본 기획연구를 통해 사업화 가능성을 확인하고, 연장 연구 사업으로 연계하여 3년간의 사업화 개발 완료 후 5년간 연평균 250억원 이상의 가치창출 기대 (기술가치 평가서 근거) - 비뇨기 건강식품 분야의 기능성이 매우 뛰어난 신소재 특허등록 /제품화 및 사업화 실시. - 세계 유일의 참나무 발효톱밥재배 땅콩새싹소재의 우수성 입증을 통해 국내의 농산업의 육성 발전과 고급화를 통한 글로벌 시장 진출 등 세계적 건강식품 소재로 자리매김 할 것으로 기대됨. 					

자체평가의견서

1. 과제현황

		과제번호			
사업구분	기술사업화지원사업				
연구분야	식품		과제구분	단위	
사업명	기술사업화지원사업			주관	
총괄과제	기재하지 않음		총괄책임자	기재하지 않음	
과제명	레스베라트롤 고함유 톱밥재배 땅콩새싹 추출물을 통한 전립선 건강 개별인정형 기능식품 개발		과제유형	개발	
연구기관	농업회사법인 (주)레스베라		연구책임자	김배환	
연구기간 연구비 (천원)	연차	기간	정부	민간	계
	1차연도	2017.05.30 ~2019.12.31	177,000	45,000	222,000
	2차연도	2018.01.01 ~2018.12.31	266,000	67,000	333,000
	3차연도	2019.01.01 ~2019.12.31	266,000	67,000	333,000
	계		709,000	179,000	888,000
참여기관	중앙대학교 의과대학, 중앙대학교 식품영양학과, 네오뉴트라(주), (사)한국건강기능식품협회				
상대국		상대국연구기관			

※ 총 연구기간이 5차연도 이상인 경우 셀을 추가하여 작성 요망

2. 평가일 : 2020. 01. 23

3. 평가자(연구책임자) :

소속	직위	성명
농업회사법인(주)레스베라	연구소장	김배환

4. 평가자(연구책임자) 확인 :

본인은 평가대상 과제에 대한 연구결과에 대하여 객관적으로 기술하였으며, 공정하게 평가하였음을 확약하며, 본 자료가 전문가 및 전문기관 평가 시에 기초자료로 활용되기를 바랍니다.

확약	
-----------	--

I. 연구개발실적 : 각자 파트별 코멘트 달아주세요.

※ 다음 각 평가항목에 따라 자체평가한 등급 및 실적을 간략하게 기술(200자 이내)

1. 연구개발결과의 우수성/창의성

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

- 참나무 발효톱밥 재배기술을 이용한 땅콩새싹은 기존의 수경재배 땅콩새싹이 가진 영양적 효능을 더욱 개선하였으며, 특히 주요 영양인자인 레스베라트롤의 함량이 월등히 높은 것으로 확인되었음.
- 전립선 세포 및 동물실험을 통해 전립선 건강 개선에 대한 땅콩새싹 추출물의 효능을 검증하였음. 특히 남성호르몬 의존 기전과 염증에 의한 전립선 증식기전을 동시에 이원적으로 검증하여 새로운 검증방법의 토대를 수립함.
- 건강상의 다양한 효능이 있는 레스베라트롤을 고농도로 함유하는 세계 유일의 특허를 활용하여 땅콩새싹을 재배하고, 그 추출물을 활용하여 건강기능식품을 개발, 제조하여 기반 연구인 시험관시험과 동물시험에서 농도의존적인 전립선 개선 효과를 얻었음.
- 적절한 인체 적용시험 프로토콜 개발함.
- 인체적용시험을 통하여 저장증상에 더 좋은 경향을 확인함.
- 특허로서 레스베라트롤의 초고농도 재배 방법을 개발, 특허를 출원하여 이를 활용한 다양한 건강 분야 식품 개발에 활용할 수 있는 진보된 재배법을 개발함. 또한 비뇨 증상을 다양하게 일으키는 남성갱년기 효능 소재 특허를 2개 출원함.
- 땅콩새싹추출물의 지표물질로 레스베라트롤을 선정하고 이의 최적 분석방법을 확립하였으며 (주)한국기능식품연구원과 함께 교차검증을 통하여 분석방법의 신뢰도를 확인하였음.

2. 연구개발결과의 파급효과

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

- 참나무 발효톱밥을 이용한 땅콩새싹 재배기술은 세계에서 사례가 없는 독자적인 기술임.
- 변화하는 식품산업에서 식품을 통한 전립선 건강 개선 효능이라는 강점을 가지고 관련 제품군을 이끌어 나갈 소재로 발전할 수 있음.
- 참나무 발효톱밥 재배기술은 땅콩새싹 제품의 품질 향상을 통한 소비를 촉진시키고, 나아가 관련 제품 시장 확대.
- 현재 보유 특허의 기술 수출은 물론, 초고농도 레스베라트롤 함유 재배법을 개발함으로써 건강기능식품을 넘어 의약품까지의 기술 개발이 기대됨.
- HPLC 피크의 단일성과 분리도 확인을 통한 레스베라트롤 분석 방법의 표준화에 기여.

3. 연구개발결과에 대한 활용가능성

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

- 참나무 발효톱밥 땅콩새싹 소재를 고기능성 제품으로 생산할 수 있는 기반 기술로서의 응용 가능함.
- 참나무 발효톱밥 새싹 재배기술을 다양한 건강 기능성 새싹채소 소재 개발에 활용 가능함.
- 표준화된 생산 공정 적용으로 Food drug 실현 기반기술 개발이 가능함.
- 건강기능식품 개별인정을 취득하여 매출 향상을 기대할 수 있으며, 재배 방법에 대한 기술 수출을 통하여 외화 획득도 기대된다. 다만, 개별인정 취득에 자원과 시일이 소요됨을 고려하였음.
- 참나무 발효톱밥 재배를 통한 고레스베라트룰 땅콩새싹 소재 및 가공품 생산의 기초 자료로 활용 가능.
- 추출물이 전립선의 자연면역 인자인 HBD-1 항균펩티드의 발현을 증가시킬 가능성 확인: 전립선 비대증은 약 30-50%에서염증이 동반되고 증상을 악화시키는 요인이다. 또한 50세 미만의 남성 15%가 전립선염을 앓는다. 따라서 전립선의 염증에 이 소재를 활용할 가능성이 있음.
- 전립선암세포 증식억제: 전립선암환자를 위한 nutritional supplement 개발활용 모색 가능
- 방광상피세포에서 connexin 및 pannexin-1 발현 억제 확인: 과활동성 방광에 적용 가능성
- 추출물이 전립선의 선세포주나 간질세포의 IL-6에 의한 증식 및 상피세포 EMT 억제 확인:염증에 의한 전립선의 증식이나 악화에 소재를 전략적으로 활용할 수 있을 가능성이 있음. 또한 EMT기전은 전립선암의 악화에서도 매우 중요한 기전임.
- 남성 갱년기 특허(레드클로버 추출물의 효과): 남성갱년기는 35세 이후 남성호르몬 감소에 의하여 비만, 뼈의 약화, 근육 감소, 성욕저하, 발기 저하, 우울증, 피로감, 무력감기억력 장애 등을 호소하는 증후로 심혈관질환, 만성 신경질환, 전립선비대증 증상 악화와 관련이 있다. 따라서 이 소재와 발효톱밥재배 땅콩 새싹을 비롯한 다른 소재와의 간단한 병합으로 전략적인 식품 소재를 만들어낼 수 있음.
- 남성 갱년기 특허(쌀겨 추출물의 효과): 이 소재와 발효톱밥재배 땅콩 새싹을 비롯한 다른 소재와의 간단한 병합으로 전략적인 식품 소재를 만들어낼 수 있음. 또한 쌀겨를 활용하므로 벼농사에서 생성되는 부산물을 활용하므로 농촌 경제에 도움이 될 가능성이 있음.

4. 연구개발 수행노력의 성실도

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

- 과제 기술자문을 위해 협동기관인 중앙대학교 교수진을 포함한 여러 전문가들과 미팅을 주기적으로 진행하며 과제 수행을 성실이 하였음. 특히 전임상 결과를 효과적으로 도출하기 위하여 적극적인 협조 하에 관련 자료 프로파일링을 통하여 서로 다른 기전을 타깃으로 하는 전임상시험을 진행하여 효과적으로 확인함.
- 주관기관은 경영 운영과 더불어 꾸준히 과제를 추진하였으며, 수행 결과를 고려할 때, 각 협동기관도 전문성을 발휘하여 연구개발 목표를 달성할 수 있도록 성실히 수행하였음.

5. 공개발표된 연구개발성과(논문, 지적소유권, 발표회 개최 등)

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

- SCI(E) 논문 3편
- 국제 및 국내 학술대회 발표 4건
- 특허출원 3 건

II. 연구목표 달성도

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중 (%)	달성도 (%)	자체평가
땅콩새싹추출물의 전립선비대증 예방에 관한 <i>in vitro/vivo</i> 작용기작 규명 및 효능 검증	10	100	<ul style="list-style-type: none"> - 전립선 다양한 세포에서 증식억제효과 확인 - 땅콩 새싹 추출물이 전립선의 자연면역 인자인 HBD-1 항균펩티드의 발현을 증가시킬 가능성 확인. - 전립선 비대증과 밀접한 연관이 있는 전립선 암, 방광 질환 관련 실험을 통해 암 및 염증 예방효과 가능성이 있음을 확인함. - IL-6처리된 인간 전립선 세포 및 전립선 간질 세포 실험과 LPS 요도주입 동물모델 실험 결과를 통해 땅콩새싹 추출물 소재가 전립선 건강 및 전립선 비대증에 효능이 있을 가능성을 확인함. - Testosterone의존성 전립선비대증 동물모델에서 IL-6, IL-6R의 발현이 추출물 투여에 의해 감소되는 경향을 면역화학염색으로 확인함 - 발효톱밥 재배 땅콩새싹 추출물이 방광절편 이완효과와 pannexin-1, connexin-43 발현에 미치는 영향에 대한 실험 결과를 얻어, 식약처 인증을 위한 기능성/안전성 자료로 사용될 수 있는 기초연구결과를 축적하였음. - 쥐 방광 organ bath study를 통한 방광 근육 수축 억제 효과 확인
발효 톱밥 재배 유기농 땅콩새싹 상품성/인지도 강화 활용 지식 개발	5	100	<ul style="list-style-type: none"> - 레스페라트롤 함량이 가장 높은 과중 방법 및 재배기간, 땅콩새싹 생장에 가장 적합한 참나무 톱밥의 발효기간을 확인함. - 발효 톱밥의 microbiota 특성을 파악하여 톱밥의 표준화 기반 구축
전립선 건강 인체 효능 및 안전성 검증	20	100	<ul style="list-style-type: none"> - 식품의 전립선비대증에 대한 효능 검증 인체 시험 프로토콜 개발 - 타깃 추출물의 인체시험 완료 - 인체시험 종료보고 및 종료 승인 완료 - 인체 시험 종료 보고서 작성 승인예정.
식약처 인증을 위한 기능성/안전성 자료 축적	5	100	<ul style="list-style-type: none"> - 인체 시험을 통한 안전성 확인; 간독성, 신장 독성, 일반 독성 - testosterone 쥐전립선 비대증 모델에서 IL-6, IL-6R 발현 확인 - 요중 ATP, NGF, PG E2 측정

재배 조건에 따른 땅콩새싹 추출물의 유효성분 분석 및 표준화 땅콩새싹 추출물 제조공정별 유효성분 함량분석 및 표준화 땅콩새싹 추출물의 저장 및 보관기간에 따른 유효성분의 안정성 분석	5	100	- 재배 조건 및 제조 공정 별 땅콩새싹 추출물 의 유효성분 함량 분석 및 레스베라트롤 분 석 표준화 확립 - 땅콩새싹 추출물 저장 및 보관기간에 따른 유효 성분의 안정성 분석 및 유통기한 설정함
추출 방법에 따른 이화학적 특성 연구	5	100	- 세포실험을 통해 땅콩새싹 추출물의 전립선 건강 효능 확인
전립선비대증 예방 동물모델에서 땅콩새싹 추출물의 효과에 따른 바이오마커 발현 validation	10	100	- 전립선비대증 동물모델에서 땅콩새싹 추출물 의 효능 확인
발효톱밥 땅콩새싹 농축액의 지표물질 성분 분석 및 표준화 기반 구축	5	100	- 성분별 분석 방법 확립 및 벨리데이션 완료
참나무 발효톱밥 재배 땅콩새싹 농축액의 유기농 재배법 확립	5	100	- 초고농도 레스베라트롤을 함유하는 땅콩새싹 재배법 개발
지표물질 성분의 표준화 및 안전성 검증	5	100	- 지표물질 및 기능성분 분석 방법 개발하여 표 준화 완료, 안전성 수행
발효톱밥 땅콩새싹 농축액의 전립선 건강 효능 검증 (전임상, 임상시험)	10	100	- 기반연구인 시험관시험과 동물시험에서 농도 의존적인 전립선 개선 효과를 얻었고, 인체적 용시험을 통하여 대조군 대비 통계적 유의차 는 없으나 효과가 우수한 경향을 확인.
최종적으로, 레스베라트롤 고함유 톱밥재배 땅콩새싹 농축액을 통한 비노기건강 개별인정형 기능식품 식품의약품안전처 신청	15	100	- 국내 건강기능식품 CRO 중 최고 기관인 네오 뉴트라에 위탁하여 개별인정 신청서 작성, 검 증 후 식약처에 개별인정 신청
합계	100%	100%	

III. 종합의견

1. 연구개발결과에 대한 종합의견

본 연구를 통하여 소정의 목표들은 대부분 달성된 것으로 평가되며, 개발된 전입상 실험 연구들은 향후 전립선 건강 식의약 기술개발에 도움을 줄 것으로 기대되며, 최초 목표로 선정하지 않았던 초고농도 레스베라트롤 함유 땅콩새싹 재배 방법도 개발함으로써 건강기능식품은 물론 의약품 원료로서의 소재 개발의 가능성을 열었다고 평가됨. 또한 개발된 남성갱년기 특허는 발효톱밥 재배 땅콩새싹 추출물을 개량하는 데에도 좋은 의미가 있을 것으로 예측됨.

2. 평가시 고려할 사항 또는 요구사항

- 향후 추가 연구 개발을 통한 다양한 분야에 적용가능성
- 접근성이 용이하거나 새로운 전입상 연구 접근법으로 활용될 가능성
- 연구 성과를 통한 제품의 신뢰도 향상으로 매출 향상 및 기술 수출 가능성
- 개발된 특허를 통한 제품의 업그레이드 개발 가능성

3. 연구결과의 활용방안 및 향후조치에 대한 의견

- 건강기능식품 개별인정 진행
- 개발된 특허 소재와의 기능성 강화 또는 다변화를 통하여 효능이 강화된 제품 개발 시도
- 재배 방법에 대한 기술 수출을 통한 외화 획득
- 초고농도 레스베라트롤을 함유하는 땅콩새싹의 의약품 소재로의 개발 가능성 제고

IV. 보안성 검토

특허 취득 이전까지는 초고농도 레스베라트롤을 함유하는 땅콩새싹 기술에 대한 보안 유지 필요

※ 보안성이 필요하다고 판단되는 경우 작성함.

1. 연구책임자의 의견

보안 유지 희망

2. 연구기관 자체의 검토결과

보안 유지

연구성과 활용계획서

1. 연구과제 개요

사업추진형태	<input type="checkbox"/> 자유응모과제 <input checked="" type="checkbox"/> 지정공모과제	분 야	농식품 분야	
연구과제명	레스베라트롤 고함유 톱밥재배 땅콩새싹 농축액을 통한 전립선 건강 개별인정형 기능식품 개발			
주관연구기관	농업회사법인(주)레스베라	주관연구책임자	김배환	
연구개발비	정부출연 연구개발비	기업부담금	연구기관부담금	총연구개발비
	709,000	179,000	-	888,000
연구개발기간	2017.05.30 ~ 2019.12.31			
주요활용유형	<input checked="" type="checkbox"/> 산업체이전 <input checked="" type="checkbox"/> 교육 및 지도 <input type="checkbox"/> 정책자료 <input type="checkbox"/> 기타() <input type="checkbox"/> 미활용 (사유:)			

2. 연구목표 대비 결과

당초목표	당초연구목표 대비 연구결과
<p>땅콩새싹 추출물의 전립선비대증 예방에 관한 <i>in vitro/vivo</i> 작용기작</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 전립선 세포주들을 배양, 땅콩새싹주정추출물을 처리하고, 세포증식 (MTT)실험 실시. - DEFB1의 mRNA 발현양상: qRT-PCR 실시. - DEFB1 단백질 발현양상: confocal microscopy를 이용해서 세포내의 DEFB1 단백질 발현양상을 확인. - DEFB1의 mRNA 발현이 5ug/ml을 처리하였을 때, 약 35배정도 증가함을 확인하였음. - DEFB1 단백질 발현양상이 증가함으로써 땅콩새싹 주정 추출물에 의한 항(균)생/항암 효과의 가능성을 확인함. - 땅콩새싹 추출물의 방광절편 이완효과 검증 추출물이 acetylcholine(ACh)에 의한 이완 효과 확인 - 발효톱밥 재배 땅콩새싹 추출물이 pannexin-1, connexin-43 발현에 미치는 영향 방광암세포주인 TCCSUP 세포에 땅콩새싹 추출물을 농도별로 처리 후 간극결합단백질 유전자인 PANX1과 GJA1의 발현을 확인한 결과 10ug/ml과 24ug/ml에서 발현이 감소하는 것을 확인하였음. 따라서 땅콩새싹 추출물이 방광의 예민도를 떨어뜨리는 효과가 있을 수 있음.

	<ul style="list-style-type: none"> - IL-6에 의한 전립선선세포 및 전립선 기질 세포 증식을 추출물이 억제함 - IL-6에 의한 전립선선세포의 기질세포화(EMT)를 추출물이 억제함(cadherin발현 감소 억제, vimentin 발현 증가 억제) - <i>in vivo</i> 동물실험: 요도 LPS 주입으로 전립선염/전립선비대증 동물실험 모델 유도 생쥐에서 염증과 기질 및 기질세포 증식 억제
<p>발효 톱밥 재배 유기농 땅콩새싹 상품성/인지도 강화 활용 지식 개발</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 땅콩 재배 밀도가 높아질수록 수확한 땅콩 새싹의 무게 및 길이가 줄어들었음. 따라서 적절한 땅콩재배 밀도를 유지해야 할 것임. - 참나무 발효톱밥내의 박테리아와 곰팡이균들의 구성이 미발효와 30, 45, 60 일 발효톱밥에서 서로 다름을 알 수 있었음. 땅콩새싹의 vigor index의 차이도 미발효 톱밥보다 발효 톱밥에서 더 높은 결과를 얻었음. 이 결과들을 분석해보면 발효톱밥에서의 박테리아 및 곰팡이 균들의 변화가 땅콩새싹의 발아와 성장에 주요한 영향을 끼친다는 것을 확인함.
<p>전립선 건강 인체 효능 및 안전성 검증</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 인체 실험 내용 및 결과: 1협동 및 위탁과제 CRO(네오뉴트라) 협력 1) 인체 적용시험의 목적: 전립선 증상을 가진 남성을 대상으로 PSE(땅콩새싹추출물)을 섭취했을 때 대조식품(Placebo)과 비교하여 전립선 기능개선에 미치는 유효성 및 안전성을 평가하기 위하여 계획됨 2) 인체적용시험 책임자: 명순철 3) 인체적용시험 공동 연구자: 김진욱, 지병훈 비뇨의학과 교수 4) 실험 디자인: 디자인: 12주, 무작위배정, 이중눈가림, 위약대조 5) 실험 대상; 중등도 이하의 전립선 비대증 증상이 있는 남성 6) 식품섭취 방법: <ul style="list-style-type: none"> • 시험군(PSE): 1일2회, 1회1정을 물과 함께 섭취(땅콩새싹추출물로서1g/day) 대조군(Placebo): 시험군과 동일한 방법으로 섭취 7) 인체적용시험시작일: 2018.12.18(첫 인체적용 시험대상자 스크리닝일) 8) 인체적용시험종료일: 2019.09.16 (마지막 인체적용시험 대상자 시험 완료일)

	<p>9) 결과분석에 포함된 인체적용시험 대상자 수; 93명(계획 초과)</p> <ul style="list-style-type: none"> - 국내 건강기능식품 CRO 중 최고 기관인 네오뉴트라에 위탁하여 개별인정 신청서 작성, 검증 후 식약처에 개별인정 신청
<p>식약처 인증을 위한 기능성/안전성 자료 축적</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 인체실험에서 전립선, 신장, 간기능 등에 대한 안전성을 확인함 - testosterone의존성 전립선비대증 쥐 모델에서 IL-6 및 IL-6R의 발현 증가 경향 확인 - urine NGF, PGE, ATP 측정함
<p>재배 조건에 따른 땅콩새싹 추출물의 유효성분 분석 및 표준화</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 재배조건에 따른 땅콩새싹 추출물의 유효성분인 레스베라트롤, 사포닌, 엽산 및 아미노산(구성아미노산 18종 및 유리아미노산 18종) 함량을 분석하였음. 톱밥재배 땅콩새싹 동결건조 시료의 경우 톱밥 발효 기간이 경과함에 따라 레스베라트롤의 함량이 증가하는 것으로 나타났음 - 땅콩새싹 가공제품(다류, 농축액, 분말제품) 중 농축액 제품 보다 분말제품이 높은 레스베라트롤 함량을 나타내었음 - 땅콩새싹 기능성 원료의 규격 관리를 위하여, 기능성 성분으로 레스베라트롤, 사포닌, 엽산 및 아미노산을 선정하고, 지표성분으로서 레스베라트롤을 선정하고 분석 하였음 - 선정된 땅콩새싹의 기능성 성분과 지표성분을 추출용매(50%, 80%, 100% 메탄올) 및 필터종류(Nylon, PTFE)를 달리하여 최적 추출 용매 로 50% 메탄올을, 필터는 PTFE로 결정하고 HPLC 분석조건을 확립하였음 - (주)한국기능식품연구원과 함께 교차검증을 실시하여 HPLC를 이용한 레스베라트롤의 HPLC 최적 분석조건을 확립하였음
<p>추출용매 및 추출 조건을 달리하여 추출한 땅콩새싹 추출물에서 유효 성분 함량 분석 및 이를 통한 최적 추출 조건 설정</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 추출 용매 및 추출 조건에 따른 땅콩새싹 추출물 샘플 SG 4540 및 SND ((각) 실험실, 양산 No. 1, 2, 3)의 유효성분 으로 레스베라트롤, 소야사포닌, 엽산 함량을 분석하였음. 양산한 제품의 레스베라트롤 함량이 실험실에서 제조한 시료보다 더 낮은 것으로 분석되었음.

	<ul style="list-style-type: none"> - 제조 공정별 1차 및 2차 추출분, 농축액, 추출분말에 대한 유효성분 (레스베라트롤, 소야사포닌, 엽산)을 분석하였으며 추출 분말 Lot 1, 2, 3의 라스베라트롤 함량은 각각 $13.23 \pm 0.18 \mu\text{g/g}$, $13.35 \pm 0.48 \mu\text{g/g}$, $22.78 \pm 0.54 \mu\text{g/g}$가 검출되었음 - 표준화 작업 시 각 공정 단계별 기능/지표 성분 함량 확인(공인분석기관 성적서 발행) - 기능성 원료의 표준화를 위하여, 성상, 기능/지표성분, 중금속(납, 카드뮴, 총비소, 총수은, 미생물(대장균군) 및 잔류농약 등의 분석을 진행하고 규격 설정을 제안하였음. - 땅콩새싹(원재료), 땅콩새싹 추출물(기능성 원료)의 안전성 확보를 위하여 위해 성분인 곰팡이 독소 (총 아플라톡신(B1, B2, G1 및 G2), 푸모니신, 오크라톡신 A, 테옥시니발레놀, 제랄레논) 확인하였으며 모두 불검출로 확인하였음. - 기준규격 외 기능성 원료의 안전성 확인을 위한 잔류농약 58종 확인 및 원료 특성을 확인을 위한 영양성분(열량, 탄수화물, 조지방, 조단백질, 수분, 회분, 나트륨) 확인
<p>땅콩새싹 추출분의 저장 및 보관기간에 따른 유효성분의 안정성 분석</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 건강기능식품 소재로서 땅콩새싹 추출물을 25℃, 35℃, 40℃에 6개월 동안 보관하면서 30일 간격으로 7회에 걸쳐 레스베라트롤 함량을 분석함. 25℃에서 저장한 땅콩새싹 추출물은 초기 함량 $25.56 \pm 0.05 \mu\text{g/g}$에서 6개월 후 $25.00 \pm 0.45 \mu\text{g/g}$으로 감소하였으며 40℃에서 저장한 땅콩새싹 추출물의 경우 $14.74 \pm 0.42 \mu\text{g/g}$으로 감소하였음 - 저장 및 보관기간에 따른 땅콩새싹 추출물의 세균수 측정과 대장균군 정성분석을 진행하였으며 대장균군은 저장 기간동안 전 온도범위에서 음성을 나타내었음. - 저장온도 및 저장기간에 따른 땅콩새싹추출물의 수분함량을 수분함량측정기로 측정하였으며 25℃ 저장 시 유의적인 변화가 없음을 확인하였음

	<ul style="list-style-type: none"> - 저장온도 및 저장기간에 따른 땅콩새싹 추출물의 관능평가를 측정한 결과 25℃에 보 관한 땅콩새싹추출물의 경우 색깔 및 냄새에 대한 큰 변화가 없었으나 40℃에서 저장한 땅콩새싹추출물의 색깔 및 냄새에 대한 선호도 점수는 유의적으로 감소하는 것으로 나타남.
<p style="text-align: center;">추출 방법에 따른 이화학적 특성 연구</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 땅콩새싹 열수추출물 보다 주정추출물에서 레스베라트롤 함량이 많게 측정됨에 따라 전립선 간질세포 효과관찰에 땅콩새싹 추출물을 사용하였음 - 땅콩새싹 추출물 처리에 의해 전립선 간질세포(WPMY-1)와 상피세포(RWPE-1)의 증식이 농도-의존적으로 억제되었음 - 땅콩새싹 추출물 처리에 의해 전립선 간질세포와 상피세포의 세포주기가 G0/G1기에서 arrest 되었음 - 땅콩새싹 추출물 처리에 의해 전립선 간질세포와 상피세포 내 세포주기 조절인자의 발현변화 확인 - 땅콩새싹 추출물에 의해 간질세포와 상피세포 내 신호전달단백질인 JNK의 활성화는 증가되었으나, ERK의 활성화는 감소되었음 - 땅콩새싹 추출물 처리에 의해 전립선 간질세포와 상피세포의 전이능력 (migration, invasion)이 농도-의존적으로 억제되었음 - 땅콩새싹 추출물 처리에 의해 전립선 간질세포와 상피세포 내 전이관련 효소인 MMP-2, -9의 활성화 억제 확인 - 땅콩새싹 추출물 처리에 의해 전립선 간질세포 내 전이관련 transcription factor (NF-kB, AP-1, SP-1)의 활성화가 억제되는 경향을 보임 - 땅콩새싹 추출물 처리에 의한 전립선 간질세포 내 전립선비대증 관련 인자 (5α-reductase, AR, FGF-2, Bcl-2, Bax) 발현변화 확인
<p>전립선비대증 예방 동물모델에서 땅콩새싹</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 전립선비대증 동물모델에서 땅콩새싹 추출

추출물의 효과에 따른 바이오마커 발현 validation	<ul style="list-style-type: none"> - 물 경구투여에 의한 전립선 크기 감소 확인 - 전립선비대증 동물모델에서 땅콩새싹 추출물 경구투여에 의한 전립선 조직 내 DHT 농도 감소 확인 - 전립선비대증 동물모델에서 땅콩새싹 추출물 경구투여에 의한 전립선 조직 상피 두께 감소 확인 - 전립선비대증 동물모델에서 땅콩새싹 추출물 경구투여에 의한 전립선 조직 내 전립선비대증 관련 인자 (5α-reductase, AR, FGF-2, Bcl-2, Bax) 발현변화 확인
기능성 원료의 표준화를 위하여 설정된 기능/지표성분 분석법에 대한 교차검증	- 2세부 협동기관과의 교차 검증 실시
땅콩새싹(원재료), 땅콩새싹 추출물(기능성 원료)의 안전성 확보를 위하여 위해 성분인 곰팡이 독소 (아플라톡신 B ₁ , B ₂ , G ₁ 및 G ₂ 합) 등 확인	- 곰팡이 독소인 총 아플라톡신(B ₁ , B ₂ , G ₁ 및 G ₂), 푸모니신, 오크라톡신 A, 데옥시노발레놀, 제랄레논 식품공전 시험방법으로 확인.
표준화 작업 시 각 공정 단계별 기능/지표성분 함량 확인(공인분석기관 성적서 발행)	- 원물(생채, 건채), 추출액, 땅콩새싹 추출물에서 resveratrol 함량 확인
최종적으로, 레스베라트롤 고함유 톱밥재배 땅콩새싹 농축액을 통한 비노기건강 개별인정형 기능식품 식품의약품안전처 신청	국내 건강기능식품 CRO 중 최고 기관인 네오뉴트라에 위탁하여 개별인정 신청서 작성, 검증 후 식약처에 개별인정 신청

3. 연구목표 대비 성과

성과 목표	사업화지표										연구기반지표									
	지식 재산권			기술 실시 (이전)		사업화					기술 인증	학술성과				교육 지도	인력 양성	정책 활용-홍보		기타 (타 연구 활용 등)
	특허 출원	특허 등록	품종 등록	건수	기술료	제품화	매출액	수출액	고용 창출	투자유치		논문		논문 평균 IF	학술 발표			정책 활용	홍보 전시	
												SCI	비SCI							
단위	건	건	건	건	백만원	백만원	백만원	백만원	명	백만원	건	건	건	건	명	건	건			
가중치	20	10				30	15	5	5	5				5	5					
최종목표	2	1				4	70억	31억	17명	45억		4								
연구기간내	3					5	12	1.4	7	3		3		4	7					

달성실적						억	억	명	억									
달성율(%)	150	0				130	20	0.5	40	0.8		80			100		100	

4. 핵심기술

구분	핵심기술명
①	(주관기관) 초고농도 레스베라트롤을 함유하는 땅콩 나물 재배방법
②	(제1협동) 요중 ATP, NGF, PG E2 측정법 수립
③	(제1협동) 요도 LPS 주입에 의한 전립선 염증유발 모델 수립
④	(제1협동) 참나무 발효 톱밥을 이용한 땅콩 새싹 재배법 최적화 수립
⑤	(제1협동) 남성 갱년기 특허(레드클로버 추출물의 효과)
⑥	(제1협동) 남성 갱년기 특허(쌀겨 추출물의 효과)
⑦	(제2협동) 전립선비대증 관련 바이오마커 발현 측정
⑧	(제2협동) 지속성 testosterone을 이용한 편리한 쥐 전립선비대증 유발 방법

5. 연구결과별 기술적 수준

구분	핵심기술 수준					기술의 활용유형(복수표기 가능)				
	세계 최초	국내 최초	외국기술 복제	외국기술 소화·흡수	외국기술 개선·개량	특허 출원	산업체이전 (상품화)	현장애로 해결	정책 자료	기타
①의 기술	V					V				
②의 기술					V			V		
③의 기술					V			V		
④의 기술	V					V		V		
⑤의 기술	V					V	V			
⑥의 기술	V					V	V			
⑦의 기술				V						V
⑧의 기술					V			V		

* 각 해당란에 v 표시

6. 각 연구결과별 구체적 활용계획

핵심기술명	핵심기술별 연구결과활용계획 및 기대효과
①의 기술	- 건강기능식품은 물론 의약품 원료로서의 소재 개발이 가능하여 매출 증대와 기술 수출도 기대됨.
②의 기술	- 과민성방광의 바이오마커로 활용가능성 있음.
③의 기술	- 염증에 의한 전립선비대증 모델로 활용 가능성이 높음.
④의 기술	- 땅콩새싹의 biomass의 증가 방법 및 유효물질 증가 방법 개발에 기여.
⑤의 기술	- 남성갱년기는 35세 이후 남성호르몬 감소에 의하여 비만, 뼈의 약화, 근육 감소, 성욕저하, 발기 저하, 우울증, 피로감, 무력감기억력 장애 등을 호소하는 증후로 심혈관질환, 만성 신경질환, 전립선비대증 증상 악화와 관련이 있다. 따라서 이 소재와 발효톱밥재배 땅콩 새싹을 비롯한 다른 소재와의 간단한 병합으로 전략적인 식품 소재를 만들어낼 수 있음.
⑥의 기술	- 남성갱년기는 35세 이후 남성호르몬 감소에 의하여 비만, 뼈의 - 약화, 근육 감소, 성욕저하, 발기 저하, 우울증, 피로감, 무력감기억력 장애 등을 호소하는 증후로 심혈관질환, 만성 신경질환, 전립선비대증 증상 악화와 관련이 있다. 따라서 이 소재와 발효톱밥재배 땅콩 새싹을 비롯한 다른 소재와의 간단한 병합으로 전략적인 식품 소재를 만들어낼 수 있음. - 쌀겨를 활용하므로 벼농사에서 생성되는 부산물을 활용하므로 농촌 경제에 도움이 될 가능성이 있음.
⑦의 기술	- 전립선 건강 개선 관련 연구 및 기능성 시료 효능평가에 활용 가능하며 전임상 기초자료로 사용 될 수 있음.
⑧의 기술	- testosterone 의존 쥐전립선비대증 모델에 대한 전임상 실험 접근성 강화.

7. 연구종료 후 성과창출 계획

성과목표	사업화지표										연구기반지표									
	지식 재산권			기술실시 (이전)		사업화					기술인증	학술성과				교육지도	인력양성	정책 활용-홍보		기타 (타 연구활용등)
	특허출원	특허등록	품종등록	건수	기술료	제품화	매출액	수출액	고용창출	투자유치		논문		학술발표	정책 활용			홍보 전시		
												SCI	비SCI						논문 평균 IF	
단위	건	건	건	건	백만원	건	백만원	백만원	명	백만원	건	건	건	건	명					
가중치																				
최종목표																				
연구기간내 달성실적																				
연구종료 후 성과창출 계획																				

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 기술사업화 지원사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 기술사업화지원사업의 연구 결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.