

119072-01

보안 과제(), 일반 과제(O) / 공개(O), 비공개()발간등록번호(O)

농축산물안전유통소비기술개발사업 2020년도 최종보고서

발간등록번호

11-1543000-003284-01

혈당상승 억제용 쌀눈 유래
유산균 발효소재 및 기능성 식품 개발

2020.10.30.

주관연구기관
/ 청원생명농협쌀조합공동사업법인
협동연구기관
/ 서울과학기술대학교 산학협력단

농 립 축 산 식 품 부
(전문기관)농림식품기술기획평가원

혈당상승억제용 쌀눈 유래 유산균 발효소재 및 기능성 식품 개발

2020

농림식품기술기획평가원
농 립 축 산 식 품 부

<제출문>

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “혈당상승 억제용 쌀눈 유래 유산균 발효소재 및 기능성 식품 개발”(개발
기간 : 2019. 6. 20. ~ 2020. 6. 19.)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2020 . 10 . 30 .

주관연구기관명 : 청원생명농협쌀조합공동사업법인 (대표자) 이범로 (인)

협동연구기관명 : 서울과학기술대학교 산학협력단 (대표자) 김지연 (인)

주관연구책임자 : 손한수

협동연구책임자 : 김지연

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

<보고서 요약서>

보고서 요약서

과제고유번호	119072-01	해 당 단 계 연 구 기 간		단 계 구 분	(해당단계)/ (총 단 계)
연구사업명	단 위 사 업	농식품기술개발사업			
	사 업 명	농축산물안전유통소비기술개발사업			
연구과제명	대 과 제 명	(해당 없음)			
	세부 과제명	혈당상승 억제용 쌀눈 유래 유산균 발효소재 및 기능성 식품 개발			
연구책임자	해당단계 참여연구원 수	총: 5 명 내부: 5 명 외부: 명	해당단계 연구개발비	정부:120,000천원 민간:120,000천원 계:240,000천원	
	총 연구기간 참여연구원 수	총: 5 명 내부: 5 명 외부: 명	총 연구개발비	정부:120,000천원 민간:120,000천원 계:240,000천원	
연구기관명 및 소속부서명	주관 : 청원생명농협쌀조합공동사업법인 협동 : 서울과학기술대학교 산학협력단			참여기업명	
국제공동연구	상대국명:			상대국 연구기관명:	
위탁연구	연구기관명:			연구책임자:	

※ 국내외의 기술개발 현황은 연구개발계획서에 기재한 내용으로 같음

연구개발성과의 보안등급 및 사유	일반
-------------------------	----

9대 성과 등록·기탁번호

구분	논문	특허	보고서 원문	연구시설 ·장비	기술요약 정보	소프트 웨어	화합물	생명자원		신품중	
								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(연구개발성과를 중심으로 개조식으로 작성하되, 500자 이내로 작성합니다)

1. 쌀눈으로부터 항산화소재 쌀눈발효추출농축액 개발 완료

 - 쌀눈을 유산균 *Lactobacillus plantarum*으로 발효한 다음, 주정과 1:1로 혼합하여 추출농축함으로써 항산화효과가 있는 쌀눈발효추출농축액을 개발 완료함
 - 개발한 쌀눈발효추출농축액은 총 폴리페놀 함량 최대 $30.7 \pm 1.34(\text{mg}\%)$ 으로, DPPH 프리라디칼 소거능이 $68.4 \pm 0.52 \%$ 로서 항산화효과가 우수한 것으로 분석되었음.
 - 개발된 소재는 페룰산을 지표성분으로 설정하여 혈당억제효능을 확인함.
 - 품목제조보고 및 표준제조공정 설정을 완료하여 양산준비를 완료함.
2. 쌀눈발효추출농축액을 원료로한 기능성 식품 3종 개발 완료

 - 항산화능과 쌀고유의맛을 살린 플레인맛 쌀눈유산균발효즙
 - 홍삼추출물을 첨가하여 면역력을 강화한 홍삼 쌀눈유산균발효즙
 - 과일맛으로 어린이를 위한 기능성 식품으로 제작한 과일 쌀눈유산균발효즙
 - 품목제조보고 및 영양성분분석, 관능분석을 통한 맛품질 평가 등 출시를 위한 시제품 규격설정을 완료함.
3. 쌀눈발효추출농축액의 혈당억제효능을 동물실험을 통해 확인완료.

 - 쌀눈발효추출농축액 내 지표성분 페룰산 분석을 완료함(RG1 457.38mg/100g, RG2 381.35mg/100g)
 - 세포모델을 통한 쌀눈발효추출농축액의 혈당상승억제 기능성 확인시험 결과 세포내 glucose uptake를 저해함으로써 혈당상승 억제 기능이 있다고 확인됨.
 - 동물모델에서 쌀눈발효추출농축액의 혈당상승억제 기능성 확인시험 결과, 테스트한 쌀눈발효추출농축액 RG1시료에서 혈당억제효능이 유의하게 확인되었음.
 - 동물실험결과 쌀눈발효추출농축액은 테스트한 2종 시료 모두 당대사과정에 영향을 주어 당흡수를 저해하고, 또한 당 신생과정과 관련된 유전자발현을 억제함으로써 혈당 상승을 억제하는 것으로 보임.

보고서 면수

87

<요약문>

<p>연구의 목적 및 내용</p>	<p>○ 기능성 쌀눈발효소재의 생산 및 응용상품 개발을 목표로 함. - 쌀눈유래 기능성 발효소재 개발 : 쌀눈을 유산균 등 유익균들의 액상 발효를 통해 기능성 쌀눈발효농축액을 생산. (1건 개발 목표) - 혈당강하효능을 갖는 쌀눈발효소재를 활용한 기능성식품 개발 : 총 3종 (각 제품별 식품품목제조보고 완료목표) ○ 동물실험모델을 통한 쌀눈 발효농축액 소재의 혈당상승 억제 기능성 검증 - in vivo, in vitro 실험 및 바이오마커 확인을 통한 혈당상승 억제 기능성 확인 : 논문 게재 신청 1건</p>				
<p>연구개발성과</p>	<p>○ 쌀눈으로부터 향산화소재 쌀눈발효추출농축액 개발 완료 - 쌀눈을 유산균 <i>Lactobacillus plantarum</i>으로 발효한 다음, 주정과 1:1로 혼합하여 추출농축함으로써 향산화효과가 있는 쌀눈발효추출농축액을 개발 완료함 - 개발한 쌀눈발효추출농축액은 총 폴리페놀 함량 최대 30.7 ± 1.34(mg%)으로, DPPH 프리라디칼 소거능이 68.4 ± 0.52 % 로서 향산화효과가 우수한 것으로 분석되었음. - 품목제조보고 및 표준제조공정 설정을 완료하여 양산준비를 완료함. ○ 쌀눈발효추출농축액을 원료로한 기능성 식품 3종 개발 완료 - 향산화능과 쌀고유의맛을 살린 플레인맛 쌀눈유산균발효즙 - 홍삼추출물을 첨가하여 면역력을 강화한 홍삼 쌀눈유산균발효즙 - 어린이를 위한 기능성 식품으로 제작한 과일 쌀눈유산균발효즙 - 품목제조보고 및 영양성분분석, 관능분석을 통한 맛품질 평가 등 출시를 위한 시제품 규격설정을 완료함. ○ 쌀눈발효추출농축액의 혈당억제효능을 동물실험을 통해 확인완료. - 쌀눈발효추출농축액 내 지표성분 페롤산 분석을 완료함(RG1 457.38mg/100g, RG2 381.35mg/100g) - 세포모델을 통한 쌀눈발효추출농축액의 혈당상승억제 기능성 확인시험 결과 세포내 glucose uptake를 저해함으로써 혈당상승 억제 기능이 있다고 확인됨. - 동물모델에서 쌀눈발효추출농축액의 혈당상승억제 기능성 확인시험 결과, 테스트한 쌀눈발효추출농축액 RG1시료에서 혈당억제효능이 유의하게 확인되었음. - 동물실험결과 쌀눈발효추출농축액은 테스트한 2종 시료 모두 당대사과정에 영향을 주어 당흡수를 저해하고, 또한 당 신생과정과 관련된 유전자 발현을 억제함으로써 혈당 상승을 억제하는 것으로 보임.</p>				
<p>연구개발성과의 활용계획 (기대효과)</p>	<p>○ 쌀부산물인 쌀눈을 이용하여 건강기능성 소재를 양산할 수 있는 기술을 확보하고 소재의 혈당억제효능을 확인함으로써, 개별인정형 건강기능식품소재와 식품을 상품화할 수 있는 길이 열림. ○ 쌀눈을 고부가 기능성식품 및 바이오소재로서 개발가능.</p>				
<p>국문핵심어 (5개 이내)</p>	<p>쌀눈</p>	<p>쌀소재</p>	<p>혈당상승억제</p>	<p>쌀눈발효</p>	<p>기능성식품</p>
<p>영문핵심어 (5개 이내)</p>	<p>Rice Germ</p>	<p>Rice Ingredient</p>	<p>Anti-hyperglycemic activity</p>	<p>Rice Germ Fermentation</p>	<p>Functional Food</p>

* 국문으로 작성(영문 핵심어 제외)

<본문목차>

< 목 차 >

1. 연구개발과제의 개요	6
2. 연구수행 내용 및 결과	17
3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도	62
4. 연구결과의 활용 계획 등	74
붙임. 참고 문헌	78

<별첨> 주관연구기관의 자체평가의견서

1. 연구개발과제의 개요

1-1. 연구개발 목적

○ 항산화 물질이 풍부한 쌀눈으로부터 혈당상승 억제 효능을 갖는 기능성 소재를 만들고 이 소재의 효능을 in vitro와 in vivo 동물실험모델로 평가 확인함과 동시에 이를 활용한 기능성 식품을 만드는 것이 목표이다. 구체적으로는 쌀눈을 유산균 등의 미생물을 이용한 액상발효 후 주정혼합용액으로 추출함으로써 혈당 억제용 조성을 갖는 기능성 소재를 만들고, Ferulic acid를 지표성분으로 한 제2형 당뇨병 동물모델(db/db mouse)를 이용한 in vivo 혈당 상승 억제 효과 및 α -glucosidase 효소 및 세포 등을 활용한 in vitro 혈당 상승 억제 실험을 통해 개발한 추출물이 구체적인 혈당 상승 억제효능을 갖고 있음을 확인하는 것이 목적이다. 또한, 개발한 쌀눈발효추출소재를 활용하여 페이스트 타입의 기능성 제품 3종을 개발하여 시제품 생산 기술 까지 개발하는 것이 최종 목표이다. 쌀 영양의 99 % 이상이 농축되어 있는 것으로 알려진 쌀눈은 그동안 섬유질이 많은 관계로 건강에 좋은 성분이 풍부함에도 불구하고 소화가 어려워 좋은 성분들을 제대로 활용하기가 어려웠다. 쌀눈을 발효과정을 통해 건강에 유용한 성분들을 더 쉽게 소화할 수 있도록 가공하고 특히 노인이나 유아 등 소화능력이 성인에 비해 떨어지는 영양취약계층도 쉽게 소화할 수 있도록 식품을 제조하는 것이 필요하다. 하지만 아직까지 쌀눈만을 순수 분리하여 식품 소재화하여 상품으로 개발된 사례는 아직 없으며, 쌀눈가공을 통한 건강기능식품 소재 개발은 국내에서 최초로 시도되는 것이다.

1-2. 연구개발의 필요성

- 당뇨병은 인슐린 부족에 의하여 고혈당증이 만성적으로 유지되면서 대사이상을 나타냄. 이러한 당뇨병은 만성적인 고혈당으로 인하여 탄수화물을 포함한 모든 체내의 영양소들이 대사 이상을 받게 되어 대사성 질환의 주원인이 되고 합병증이 유발됨.
- 제 2형 당뇨병 치료 약물 기전으로는 소장 내에 존재하는 disaccharidase의 활성을 저해하여 전분이나 sucrose와 같은 이당류의 가수분해를 억제함으로써 식후 혈당 상승을 막는 것으로 알려짐. 최근 acabose 등을 사용하여 α -glucosidase 효소를 억제하여 식후 혈당 상승을 막고 인슐린 분비를 감소시키지만, 그 화학 약물의 부작용 때문에 안전한 저혈당 효능을 나타내는 천연물이 주목받고 있음.
- 본 연구는 쌀눈유산균발효추출물을 이용하여 혈당상승억제를 타깃으로 건강기능식품 기능성 원료의 기반자료 마련을 목적으로 함
- 따라서 세포 및 동물모델에서 쌀눈유산균발효추출물의 혈당상승억제 기능을 확인하고자 함



- ✓ In vitro와 세포실험을 통해 혈당 억제 활성이 높은 발효물 선별
 - α-glucosidase activity 측정으로 α-glucosidase 억제 활성이 높은 발효물 선정
 - Caco-2 세포주를 이용하여 소장세포로의 혈당 흡수 억제 활성 확인
 - 3T3-L1 세포에서의 포도당 흡수 증가율 확인

- ✓ 동물모델에서 glucose 흡수 저해 효과와 용량 의존적 기능성 확인 및 쌀누유산균발효추출물의 혈당상승억제 기능성 기전 연구
 - In vitro와 세포실험으로 선정된 쌀누유산균발효추출물의 동물의 혈중 glucose 흡수 저해 효과 확인
 - 제 2형 당뇨 동물모델에서의 혈당상승억제 기능성 작용기전 확인

1-2. 연구개발 대상의 국내·외 현황

가. 국내 기술 수준 및 시장 현황

○ 기술현황

쌀겨(미강)를 발효하여 유용성분을 생산하는 기술은 이미 그 메커니즘과 생산방법이 다양한 연구결과에 의해 알려져 있음. 유산균은 식이섬유 및 불용성 섬유질 등 인체 내 소화효소로는 분해되지 않는 영양소를 분해하여 우리몸에 유용한 단쇄유리지방산(short free fatty acid)를 생산하는 것으로 널리 알려져 있으며, 이런 작용을 통해 인체내 소장 및 대장등에서 불용성 영양소의 소화이용 및 장운동등을 촉진하는 것으로도 알려져 있음. 미강은 식이섬유가 약 40~50%정도가 포함되어 있는 고식이섬유 공급원으로서 미강에 유산균을 접종하여 배양할 경우 식이섬유 및 불용성 섬유질 성분이 분해되는 pre-digestion 작용을 하게 됨. 이때 섬유질과 결합한 각종 폴리페놀이 분리됨으로써 미강 발효물은 높은 항산화활성을 갖는다는 점이 특징적인 결과로 나타나고 있음.

○ 시장현황

1) 쌀눈 시장

국내 쌀눈 시장은 1990년대 일본에서 미배아라는 이름으로 수입되어 판매되기 시작함. 2002년 국내 건강기능식품법이 정식 발효되었을 때 쌀눈도 건강기능식품으로 포함되어 판매되어 있으나, 일본에서 수입하는 고가의 식품이라는 단점 때문에 판매가 활성화 되지 못했음. 2006년 건강기능식품 공전 개정과 함께 쌀눈은 건강기능식품에서 제외되었으며, 2012년에 쌀눈 대량분리장치를 활용한 국산 쌀눈이 출시될때까지 국내 쌀눈 시장은 제대로 형성되어 있지 못했음.

2015년 GS홈쇼핑에서 월매출 5억원 가량의 판매고를 올리면서 국내 쌀눈 시장이 형성되기 시작했는데, 2017년 부터는 이마트, 롯데마트, 코스트코 등 국내 대형 유통마트에 입점되며 쌀눈 시장이 보편적으로 형성되기 시작하여 약 200억원 규모로 성장함.

쌀눈은 원래 스테미너 강화 효능으로 건강기능식품에 포함되어 있었으나, 2012년 이후 판매되는 쌀눈은 주로 혈당상승을 억제하는 데에 효과적인 것으로 알려져 있음. 이는 쌀눈을 구매섭취한 소비자들 사이에서 알려져 있는 것으로서, 실제로 효과를 본 소비자들이 다수 존재함. 그러나, 쌀눈을 생산하는 업체들이 영세한 관계로 과학적으로 구체적인 메커니즘이나 객관적인 효능실험 자료를 확보하여 판매하는 경우는 없고, 이로 인해 건강기능식품이 아닌 일반 농산물로 판매하여 소비자들에게 직접적인 효능관련 커뮤니케이션을 하지 못하고 있는 상황임.

2) 쌀눈가공품 시장

쌀눈은 주로 농산물의 형태로 판매되며, 유통중 산패등 품질변화를 막기 위해 증숙, 로스팅의 공정을 거쳐 가공 판매되는 경우가 많음. 유산균 발효제품을 생산하는 업체에서 쌀눈을 원료로 이용하여 제품을 만드는 경우도 있으나, 인터넷 등 일반적인 검색을 통해 검색되지 않는 것으로 보면 시장규모는 미미한 것으로 보여짐. 현재는 주로 GABA 등 기능성 성분을 코팅한 기능성 쌀눈가공품 또는 쌀눈을 청국장 균(*B. subtilis*) 등으로 배양하여 항산화 기능을 높인 건강기능식품 등이 판매되고 있으나, 국내시장은 5억원 미만의 소규모에 그치고 있음.

○ 경쟁기관현황

1) 쌀눈판매 업체

국내에서 쌀눈을 본격적으로 상품으로서 사업화하기 시작된 것은 2012년경 부터이며, 현재 국내에서 쌀눈을 생산하고 있는 업체는 에이원이쌀눈, 쌀눈속아라 등 민간 업체들과 소규모 쌀도정업체들, 그리고 당 조합법인 등이 있음. 당 조합법인은 2015년부터 쌀눈을 직접 생산하고 있으며, 쌀생산라인과 직결되어 대규모로 생산하는 설비를 갖추고 있는 유일한 쌀눈 생산업체이다. 당 조합법인 외 국내 다른 업체는 도정설비에서 소량 분리하여 생산하거나, 미강을 대량수집하여 쌀눈을 분리생산하는데 이런 방식으로 생산되는 쌀눈은 도정후 산패가 급속으로 진행되기 때문에 이취 및 산패증가등 품질이 저하되는 이슈가 있어 품질과 생산량을 고려할 때 당 조합법인이 가장 우수한 쌀눈 품질을 가지고 있는 것으로 평가 받고 있음.

2) 기능성쌀눈가공품 판매 업체

쌀눈 가공품을 생산하는 업체는 아직 많지 않으며, 건강기능식품 업체에서 발효용으로 소량 원료를 사용하는 수준임. 그 외 기능성 성분 코팅을 코팅한 코팅쌀눈 시장이 소규모 존재하는데, 국내 업체 바비조아에서 쌀눈에 GABA성분과 홍국, 강황, 솔잎 추출물을 코팅한 기능성 쌀눈코팅제품을 출시하고 판매중임. 쌀눈원료가 고가이고, 코팅한 기능성성분들 역시 고가격이므로 소비자들이 쉽게 구매결정을 할 수 없어 판매량은 소량이며, 매출역시 1억 미만의 소규모인 것으로 파악됨.



쌀눈가바조아 홍국 쌀눈가바조아 강황 쌀눈가바조아 솔잎

한편, 건강기능식품업체 수내추럴은 유산균 혼합 배양액을 쌀눈에 접종, 60시간 동안 배양하여 생산하는 제품인 발효 쌀눈을 개발 출시하고 있음.



○ 지식재산권현황

- 쌀눈 또는 미강으로부터 천연 향산화물질을 이용하여 기능성소재를 생산하는 방법에 관한 국내 특허는 1건 출원되어 있음.

특허출원명	특허출원인	출원국/등록번호
① 미강유래 비검화물을 포함하는 항비만용 조성물	대한민국(농촌진흥청장), 충북대학교 산학협력단	대한민국 /10-1580219
② 쌀눈과 미강을 활용한 혈당개선용 조성물 제조방법	이기영	대한민국 /10-2016-0154543

상기특허를 분석해보면 미강에서 특정 성분을 추출하거나, 단순하게 농산물인 쌀눈과 미강을 혼합하여 혈당개선용 식품을 개발한 것으로 특허출원을 하였음.

- 미강유래 비검화물을 포함하는 항비만용 조성물 특허는 일반적인 식품용 제조약품을 사용한 것이 아닌 화학실험실용 시약을 사용해 제조한 것으로서 식품으로 생산하려면 식품용 기

준규격에 맞는 원료를 사용해야함. 당사가 개발하려는 방법은 식품으로 안심하고 사용할 수 있는 발효공정을 사용하여 쌀눈 내 페룰산을 대량생산하려는 기술로서, 추출도 아니고 단순 혼합을 통해 생산되는 것도 아닌 특정 기술이 사용된 고 항산화 천연발효소재임. 공정의 차이가 확실하므로 기존 출원 특허와는 공통점이 거의 없고, 기술의 회피가 가능함.

○ 표준화현황

미강 또는 쌀눈의 발효기술은 국내에서는 아직 표준화된 기술이 존재하지 않으며, 선행연구결과를 참고로 하여 필요시 발효공정을 자체적으로 준비하여 실행하고 있음.

○ 기타현황

2019년 2월 일반 식품에 대한 기능성 효능 표시에 대한 규제가 완화되어 객관적 근거가 확보된 식품의 경우 효능표시가 가능하도록 관련 법 개정이 추진되고 있음. 이에 따라 국산 농산물을 활용한 가공식품에 기능성 표시를 한 식품 시장이 커질 것으로 예상됨.

나. 국외 기술 수준 및 시장 현황

○ 기술현황

1) 미강/쌀눈 관련 일본 기술 개발현황

미강은 일본에서 발효하여 비료용도로 많이 사용되고 있으며, 식품용도로는 누카즈케(ぬか漬け)라고 하는 야채를 미강속에 넣어 발효하여 제조하는 발효식품으로 사용하거나, 건강을 생각하는 사람들이 후리가케 형태로 밥에 뿌려 먹는 등의 여러 가지 용도로 사용되고 있음. 미강을 유산균 발효하여 분말형태의 건강식품으로 제조한 사례는 있지만, 발효유 형태로 제조출시한 사례는 아직까지 없음.



미강 유산균 발효 분말



장운동 증진용 미강유산균 발효분말

2) 미강/쌀눈 관련 미국 기술 개발현황

미국이나 유럽 등에서는 식물성 발효유가 시장에 조금씩 출시되고 있다. 주로 두유나 아몬드밀크 등 식물성 대체 우유를 발효하여 만드는데, 쌀요구르트는 "RICERA"라고 하는 제품이 출시되어 있다. 미강을 활용한 제품은 아니고 라이스밀크를 발효베이스로 한 제품으로서, 라이스밀크에 *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum* 등의 유산균 복합물을 배양하여 만든 발효베이스에 증점제와 검등을 첨가하여 만든 non-dairy yogurt이다.

○ 시장현황



전 세계적으로 Non-dairy 제품이 인기를 끌고 있으며 글로벌 식음료 조사기관인 MarketsandMarket에서 2015년에 발표한 자료에 따르면 2015년 기준 미국시장만 2조 5천억원 규모이며, 2015년까지 175.8억 유로(23조2천억원)으로서 연평균 15.5%씩 성장이 예상되는 유망한 시장임. 국내에는 채식주의자들을 위한 Vegan Food시장이 별도로 형성되어 있지 않지만, 미국 및 EU에서는 그 시장규모가 위와 같이 상당히 크게 형성되어 있는바 식물성 non-dairy 제품의 포텐셜이 더 강할 것으로 파악 된다.

○ 경쟁기관현황

미강 또는 쌀눈의 발효는 주로 일본업체에서 상품화적용하고 있으며, 주로 이취저감 또는 맛의 상승 등을 위해 미강과 유산균을 넣어 제조하는 것이 일반적임. 미강에 유산균을 접종하여 발효한 제품의 경우 정장효과가 있어 이 효능을 이용하여 상품화하는 사례가 소규모로 존재함. 일본의 주식회사 마츠카메(松龜)에서는 미강에 유산균을 넣어 발효숙성시킨 된장을 상품화하여 판매중이며, 쌀겨 특유의 이취를 저감하고 부드러운 맛을 가지고 있는 것이 특징임.



쌀눈(미배아)을 발효하여 생산되는 기능성 소재는 일본의 기능성소재 전문생산업체들이 개발 생산중인데, 대표적으로 오리자유화 와 Toyo hakko 사에서 개발하여 시판중임. 두회사의 쌀눈발효소재의 특징은 다음과 같음.

제품명	제조사	발효균주	기능성 및 효과
미배아발효액기스	오리자유화	Aspergillus 속 곰팡이	면역기능 활성화
미배아대두발효추출물	Toyo hakko	Bacillus subtilis	땀냄새, 구취 억제

두 제품 모두 높은 항산화활성을 가지고 있는 것이 특징임. 이는 쌀눈에 있는 폴리페놀 성분이 발효를 통해 bio conversion 되어 활성화되기 때문인 것으로 생각됨.

○ 지식재산권현황

특허출원명	특허출원인	출원국/등록번호
① Rice Bran Oil antioxidant	Nabisco, Inc.	US /5,552,167
② Oil and fat composition containing unsaponifiable material derived from rice bran	J-Oil Mills Inc, 株式会社 J-オイルミルズ	JP2011120543A
③Rice bran oil deodorizer distillate unsaponifiable concentrate preparation	築野食品工業株式会社	JP4913330B2
④Functional concentrate of non-saponifiable material of rice bran oil	築野食品工業株式会社	JP2005255563A

- 1996년 등록된 미국특허 5,552,167호에 따르면 미강유는 대두유나 카놀라오일 같은 high linolenic oil의 산화를 막기위해 미강을 혼합하는데, 이때 사용되는 미강유는 비검화물을 포함하고 있고 항산화효과가 있어서 산패에 의한 품질 변화를 안정화시켜줄 수 있는데 미강유를 혼합하는 조성비가 출원등록되었음.

- 2011년 일본에서 등록된 일본특허 제 2011120543A 호에 따르면 미강 비검화물을 0.01~5%

의 중량비로 식용유에 첨가하여 얻을 수 있는 식용유 조성물은 산패로 인한 식용유의 나쁜 냄새를 줄여줄 수 있는 효능을 갖는 것으로 특허등록 되었음.

- 2005년, 2012년 일본에서 등록된 일본특허 제JP2005255563A와 JP4913330B2호에 따르면 역시 미강비검화물은 식용유의 주로 산가상승에 의한 안 좋은 냄새를 탈취해주는 효과를 갖고 있어 이에 대한 응용특허로 등록되었음.

- 해외 특허출원 사항을 검토한 결과 쌀눈보다는 미강을 활용하여 항산화효능이 강화된 소재를 생산하는 방법에 관한 특허가 많았음. 특히, 혈당상승 억제등의 건강기능성보다는 산패방지 효능과 관련된 기술특허의 출원이 많으므로, 발효를 통한 쌀눈 유래 항산화소재를 개발생산한다면 무난하게 지적재산권을 확보할 수 있을 것으로 생각됨.

○ 표준화현황

미강 또는 쌀눈의 발효와 관련하여 표준화된 기술규격은 존재하지 않으며, 각 발효소재를 생산하는 회사에서 자체 규격으로 지표성분을 관리하고 있음.

예를 들면, Toyo hakko사의 미배아대두발효추출물을 생산하는 inositol이 지표성분으로서 설정되어 관리되고 있으며, 오리자유화의 미배아발효엑기스는 에르고스테롤 퍼옥사이드가 지표성분으로서 관리되고 있음.

○ 기타현황

쌀눈 또는 미강의 발효소재는 주로 일본에서 상품화진행되는 것이 많으며, 미배아발효추출물은 항산화효과가 높아 간에서 알콜분해를 촉진하는 효능이 있는 것으로 알려져 있음.

1-3. 연구개발 범위

- 주관연구기관(청원생명농협쌀공동사업법인) : 유산균을 이용한 쌀눈발효소재 및 이를 이용한 기능성 식품 개발 상품화

1) 유산균을 이용한 쌀눈 발효소재 제조기술 및 소재화 기술 개발

- 유산균 Bio-conversion 기술 이용하여 유용성분이 최적화된 발효생산공정 개발

① 유산균별 발효적성 시험 : 대량생산용 MRS배지를 사용한 쌀눈 적용 발효시험

가) 적용균주 : Lactobacillus casei, Lactobacillus plantarum, Lactobacillus acidophilus등

나) 균주별 발효시간, 쌀눈첨가량등의 조건을 변경하여 발효후 항산화지표, 페룰산 분석

② 항산화 지표분석 : 총 폴리페놀, DPPH 프리라디칼 소거능 등

③ 페룰산 함량 분석 : 쌀눈 열수추출물 대비 함량 비교분석

④ 항산화 지표 및 페룰산 함량 분석 후 최적 균주 선발 및 배양조건 결정

- Bacillus subtilis을 이용한 발효배양 공정 시험 및 시너지 효과 분석

: TSB(Tryptic Soy Broth) 배지를 사용한 쌀눈 배양 실험

: 발효시간, 쌀눈첨가등의 조건을 변경하여 발효후 항산화지표, 페룰산 분석

- 쌀눈 발효 소재 제조공정 표준화 : 배지, 지표성분 설정 및 함량분석

① 대량배양용 유산균 배양액 조성 최적화 : 현재 사용중인 상업용 유산균 배지에서 배양

② 쌀눈 유산균발효소재의 최종 생산공정 도출

: 유산균 외 다른 유익균과 비교 발효 시험(Bacillus subtilis 등)

: 상기 2종의 유산균 발효액과 Bacillus 발효액의 혼합을 통해 시너지 효과 확인

: 여과 및 농축을 통한 지표성분 함량 상승효과 시험

③ 항산화 지표 및 페룰산 함량 분석

지표성분 결정

2) 쌀눈발효농축액을 이용한 기능성 식품 상품화

- 청원생명쌀을 이용한 농축 라이스밀크인 쌀페이스트 개발(쌀함량 5% 이상)

: 쌀눈발효농축액 최적 첨가량 설정

- 쌀눈발효소재가 적용된 제품의 시장 조사 및 상품화 컨셉 개발

: 제품 제형 및 포장 조사

- 쌀페이스트 상품화 레시피 개발(스틱형 3종)

1) 짜먹는 쌀눈유산균발효액 : 쌀눈의 기능성 성분이 강화된 발효 기능성 쌀눈식품

2) 짜먹는 쌀눈홍삼유산균발효액 : 홍삼을 혼합하여 면역력 효능을 강화한 기능성 쌀눈 식품

3) 맛있는 쌀눈유산균발효액 : 맛있게 먹을 수 있고 어린이에게 유익한 발효 기능성 쌀눈 식품

- 개발 상품의 시생산 실시 : 양산 공정 적용 테스트

- 개발 상품의 품질 분석

: 관능분석 실시 (일반인 패널 35명 대상, 기호도 조사 및 맛속성도출 및 QDA분석)

: 영양성분 분석(9대 영양성분, 지표성분)

- 협동연구기관(서울과학기술대학교 산학협력단)

: 쌀눈 유산균배양농축액의 동물 및 세포모델에서 혈당상승억제 효과 확인

1) 지표성분 분석

• 쌀눈추출물의 지표물질(GABA, ferulic acid 등)의 정성 및 정량 분석

: 기능성 원료가 항상 일정한 기능성을 나타낼 수 있도록 생산되는지 확인할 수 있는 마커가 있어야 함. 건강기능식품에서는 그 마커를 기능성분 또는 지표성분이라고 부르며 제품의 표준화를 확인하기 위해 반드시 설정하여 관리해야 함.

2) 세포 및 동물모델에서 췌장유산균 추출물의 혈당상승억제 기능성 확인

• In vitro와 세포모델

① α -glucosidase activity 측정

: α -Glucosidase는 소장의 brush-border membrane에 존재하는 소화 효소임. 이들은 이당류나 다당류가 탄수화물이 소화 흡수되기 위한 상태인 단당류로 가수분해하는 역할을 함. 소장 내 α -glucosidase들에 의한 탄수화물의 흡수는 대개 소장 상부에서 신속하게 이루어지게 되어 식후 혈당치의 급격한 상승을 초래함. 정상인의 경우 소장 내에 maltase나 sucrase 같은 α -glucosidase를 적절히 억제함으로써 식후에 급격한 혈당상승을 억제하는 것으로 알려져 있음. 따라서 α -glucosidase를 저해되면 이당류인 maltase 분해를 억제하여 탄수화물의 소화와 흡수를 지연시켜 혈당이 감소됨에 따라 항당뇨 효과가 있음을 알 수 있음.

② Caco-2 세포주 이용 소장세포로의 혈당 흡수 억제 활성 확인

: 섭취된 탄수화물은 효소에 의해 소화되어 포도당으로 분해된 후 소장 상피세포에서 흡수 및 수송됨. 따라서 소장에서 혈액으로 포도당 흡수를 저해함으로써 당뇨를 예방의 방안이 됨. 인간 소장 상피세포주인 Caco-2에서 혈당 흡수 억제 활성을 확인하여 당뇨 예방 효과를 확인하고자 함.

③ 3T3-L1 세포에서의 포도당 흡수 증가율 확인

: 말초조직인 지방조직은 인슐린 자극에 의한 포도당 수송체를 통해 혈중의 포도당을 지방세포내로 이용하여 혈중의 혈당을 낮추므로 인슐린 저항성을 개선함. 지방세포주인 3T3-L1에서의 포도당 이용률을 측정하여 인슐린 저항 개선을 알아보고자 함.

• In vivo

① In vitro와 세포실험 결과로 선정된 췌장발효물의 동물 혈중 glucose 흡수 저해 효과 확인

: 혈중 포도당은 췌장의 인슐린의 작용에 의해 대사되는데 당뇨유발시 정상적인 당대사 경로와는 달리 간에서 포도당 배출의 양이 증가되고 말초조직에서의 소비가 감소함으로 비정상적으로 혈중 포도당 농도가 높아질 수 있음.

② 제 2형 당뇨 동물모델에서의 혈당상승억제 기능성 작용기전 확인

: Streptozotocin을 실험동물에 반복 투여시 선택적으로 췌장 β 세포를 파괴시키며 세포독성 및 국소 면역반응을 유발함. 또한, streptozotocin은 췌장 β 세포의 파괴와 동시에 free radical을 형성하여, oxidative stress에 의해 간과 신장 손상을 동시에 초래하여 당뇨 및 다양한 당뇨 합병증을 일으킨다고 보고됨.

- 바이오마커 분석

: 혈중 포도당 농도가 올라가면 췌장의 베타세포에서 인슐린이 분비되고 인슐린의 도움으로 포도당은 근육 내에 들어가서는 근육의 에너지원으로 쓰이거나 글리코겐 형태로 저장하게 됨. 또한, 포도당이 간으로 들어가면 글리코겐, 지방, 단백질로 합성이 되는데 이렇게 인슐린의 도움으로 근육과 간으로 포도당이 이동하면 혈중 포도당 레벨은 떨어지게 되고 인

슐린의 분비는 감소하게 됨. 반대로 혈당이 떨어지게 되면 췌장의 알파세포에서 글루카곤을 분비해서 간에 글리코겐 형태로 저장되어 있던 glucose가 다시 혈액으로 분비되고 이렇게 해서 혈당 수치를 올리게 됨. 따라서, 췌장에서 정상적인 인슐린 분비가 일어나지 못하게 되면 체내의 혈당을 조절하지 못하게 됨. 또한 췌장에서는 인슐린 분비가 정상적으로 이루어지나 말초조직에서의 인슐린저항성이 일어나 당을 대사하지 못하게 되어 혈중에 인슐린이 높아지는 고인슐린혈증(hyperinsulinemia)이 나타나게 된다. 따라서, 아래의 바이오마커를 측정하여 당뇨조절에 관한 지표로 활용할 예정임.

- Oral glucose tolerance test(OGTT)
- 혈중 insulin 및 free fatty acid(FFA) 측정
- 간과 근육에서의 glycogen 합성 측정
- 간에서의 산화스트레스 biomarker인 MDA, SOD 확인

2. 연구수행 내용 및 결과

1절. 연구개발의 추진전략·방법 및 추진체계

1. 추진 전략

본 연구는 쌀눈발효추출물을 이용하여 혈당상승억제 기능을 갖는 기능성 소재 및 기능성 식품을 개발하는 과제로서, 타깃 소재 개발을 통해 건강기능식품 개별인정형 원료 등록을 고려한 동물시험을 진행함으로써 효능에 대한 객관적 근거를 확보하고자 한다. 쌀눈발효추출물 소재와 응용제품 개발은 주관기관인 청원생명농협쌀공동사업법인에서 진행하고, 혈당상승억제 활성 등의 동물모델에서 기능성 평가와 작용기전 규명은 서울과학기술대학교에서 수행할 예정이다.

2. 추진 방법

가. 주관연구기관(청원생명농협쌀공동사업법인) : 유산균을 이용한 쌀눈발효소재 및 이를 이용한 기능성 식품 개발 상품화

(1) 유산균을 이용한 쌀눈 발효소재 제조기술 및 소재화 기술 개발

(가) 유산균 Bio-conversion 기술 이용하여 유용성분이 최적화된 발효생산공정 개발

① 유산균별 발효적성 시험 : 대량생산용 MRS배지를 사용한 쌀눈 적용 발효시험

- 적용균주 : Lactobacillus casei, Lactobacillus plantarum, Lactobacillus acidophilus 등

- 균주별 발효시간, 쌀눈첨가량등의 조건을 변경, 발효후 향산화지표, 페룰산 분석

② 향산화 지표분석 : 총 폴리페놀, DPPH 프리라디칼 소거능 등

③ 페룰산 함량 분석 : 쌀눈 열수추출물 대비 함량 비교분석

④ 향산화 지표 및 페룰산 함량 분석 후 최적 균주 선발 및 배양조건 결정

(나) Bacillus subtilis을 이용한 발효배양 공정 시험 및 시너지 효과 분석

: TSB(Tryptic Soy Broth) 배지를 사용한 쌀눈 배양 실험

: 발효시간, 쌀눈첨가등의 조건을 변경하여 발효후 향산화지표, 페룰산 분석

(다) 쌀눈 발효 소재 제조공정 표준화 : 배지, 지표성분 설정 및 함량분석

① 대량배양용 유산균 배양액 조성 최적화 : 현재 사용중인 상업용 유산균 배지에서 배양

② 쌀눈 유산균발효소재의 최종 생산공정 도출

: 유산균 외 다른 유익균과 비교 발효 시험(Bacillus subtilis 등)

: 상기 2종의 유산균 발효액과 Bacillus 발효액의 혼합을 통해 시너지 효과 확인

: 여과 및 농축을 통한 지표성분 함량 상승효과 시험

③ 항산화 지표 및 페룰산 함량 분석 : 지표성분 결정

(2) 쌀눈발효농축액을 이용한 기능성 식품 상품화

(가) 청원생명쌀을 이용한 농축 라이스밀크인 쌀페이스트 개발(쌀함량 5% 이상)
: 쌀눈발효농축액 최적 첨가량 설정

(나) 쌀눈발효소재가 적용된 제품의 시장 조사 및 상품화 컨셉 개발
: 제품 제형 및 포장 조사

(다) 쌀페이스트 상품화 레시피 개발(스틱형 3종)

1) 짜먹는 쌀눈유산균발효액 : 쌀눈의 기능성 성분이 강화된 발효 기능성 쌀눈식품

2) 짜먹는 쌀눈홍삼유산균발효액 : 홍삼을 혼합하여 면역력 효능을 강화한 기능성 쌀
눈 식품

3) 맛있는 쌀눈유산균발효액 : 맛있게 먹을 수 있고 어린이에게 유익한 발효 기능성
쌀눈 식품

- 개발 상품의 시생산 실시 : 양산 공정 적용 테스트

- 개발 상품의 품질 분석

: 관능분석 실시 (일반인 패널 35명 대상, 기호도 조사 및 맛속성도출 및 QDA분석)

: 영양성분 분석(9대 영양성분, 지표성분)

나. 협동연구기관(서울과학기술대학교 산학협력단) : 쌀눈 유산균배양농축액의 동물실험을 통
한 혈당상승억제 효능 규명

(1) 지표성분 분석

• High-performance liquid chromatography(HPLC)를 이용하여 쌀눈추출물의 지표
물질(GABA, ferulic acid 등)의 정성 및 정량 분석

- 표준물질 제조

⊙ GABA 또는 Ferulic acid 등의 표준물질을 취하여 메탄올에 완전히 용해시킴

⊙ 표준물질을 다양한 농도로 희석하여 제조

⊙ Syringe filter로 여과 후 사용

- 시험방법

⊙ 이동상을 분당 0.5 mL 씩 충분한 시간동안 흘려주어 기기와 컬럼을 안정화시킴

⊙ 표준물질 및 sample이 20 μL씩 주입되도록 설정

⊙ 피크 면적값을 측정함

⊙ 농도별로 분석한 표준물질의 피크 면적값으로 검량곡선을 작성함

(2) 동물 및 세포모델에서 썬눈유산균 추출물의 혈당상승억제 기능성 확인

• **In vitro**와 세포모델

① α -glucosidase activity

: 소장에서 유래한 α -glucosidase 억제 활성이 높은 발효물 선별

- α -glucoamylase를 sodium acetate 용액(pH5.0)으로 희석시킴
- 기질인 maltose를 증류수에 녹인 후 두 용액을 1:1의 비율로 혼합함
- 썬눈 발효물을 DMSO에 녹이고 이것을 PBS로 희석하여 사용함
- 이 반응 용액을 37°C에서 1시간 동안 배양시킴.
- 1시간 후에 NaOH로 반응을 종결시키고, NaOH와 동량의 acetic acid 용액을 넣어 중화시킴
- 반응 후 생성되는 유리 포도당 양을 포도당 정량 kit로 측정하여 α -glucoamylase의 활성을 결정함

② Caco-2 세포주 이용 소장세포로의 혈당 흡수 억제 활성 확인

- 세포는 1 mg/ml glucose, 10% FBS, 100 U/ml penicillin, streptomycin이 포함된 DME M 배지를 이용하여 T75 plate에서 배양한 후 6-well plate에 4×10^5 cells/ml로 분주한 후 24시간 동안 세포 배양기에서 배양
- 24시간 배양 후 10% FBS, 1% sodium pyruvate, antibiotics가 포함된 glucose-free DM EM 배지로 바꿔준 후 sample을 처리하지 않는 세포에는 glucose 0 또는 1 mg/ml, sample을 처리하는 세포에는 glucose 1 mg/ml과 함께 48시간 배양
- 48시간 세포를 배양한 배양액은 측정 전까지 -80°C에 보관 후 glucose 측정 kit 이용

③ 3T3-L1 세포에서의 포도당 흡수 증가율 확인

- 3T3-L1 fibroblast 세포를 10% bovine serum을 포함하는 DMEM 배지 (증식용 배지)를 사용하여 배양한 후 6well plate에 3×10^5 cells/well seeding 한 후 3~5일 배양
- 세포를 분화 유도 물질인 (MDI)인 insulin (10 μ g/mL), dexamethasone (1 μ M), 3-Isobutyl-1-methylxanthine (0.5 mM)을 포함한 10% FBS DMEM배지로 교환한 후 2-4일간 배양
- 세포를 insulin (10 μ g/mL)만 포함한 10% FBS DMEM배지로 교환하여 2일간 배양 시킨 후 안정화를 시키기 위해 10% FBS DMEM 배지로 교환하여 2일 간 더 배양
- 배양 후 10% FBS, 1% sodium pyruvate, antibiotics가 포함된 glucose-free DMEM 배지로 바꿔준 후 sample을 처리하지 않는 세포에는 glucose 0 또는 1 mg/ml, sample을 처리하는 세포에는 glucose 1 mg/ml과 함께 48시간 배양
- 48시간 세포를 배양한 배양액은 측정 전까지 -80°C에 보관 후 glucose 측정 kit를 이용

• **In vivo**

① 실험동물에서의 혈중 glucose 흡수 저해 효과 확인

- 흰 쥐에게 glucose, maltose, sucrose를 각각 투여한 후 동시에 썬눈발효물을 섭취시킴
- 2시간 동안 꼬리정맥에서 채취한 혈액을 이용하여 혈중 glucose, insulin의 농도를 측정
- 썬눈발효물 투여군에서 glucose 및 insulin의 곡선하면적 등을 비교함으로써 glucose의

흡수 저해 효과 확인

② 제2형 당뇨병유발 모델

- 흰쥐에게 2주 동안 high fat diet(HFD)를 섭취시킨 후 복강 내에 streptozotocin(STZ)를 주입하여 당뇨병 상태를 유발함.

- STZ 주입 일주일 후 공복혈당 126 mg/dL 이상의 쥐들을 무작위로 4개의 군으로 다음과 같이 분류하여 8주 동안 섭취시킴.

(1) HFD (diabetic control group)

(2) HFD + high dose sample

(3) HFD + low dose sample

(4) HFD + 지표성분

(3) 바이오마커 분석

▪ Oral glucose tolerance test(OGTT)

:마지막 주에 glucose를 증류수에 용해하여 제공하고 꼬리 정맥으로부터 혈액을 채취 후 plasma를 이용하여 혈중 glucose 농도를 확인함.

▪ 혈중 insulin 및 free fatty acid(FFA) 측정

: Enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) kit를 이용하여 plasma 내의 insulin 농도와 FFA 함량을 확인함

- 분석 시약, 분석 시료, blank, standard를 준비

- Microplate의 각 well을 washing 함

- 각 well에 Biotin conjugated anti-Insulin을 첨가한 후, 상온에서 2시간 반응시킴

- HRP-conjugated streptavidin solution을 첨가한 후, 상온에서 30분간 반응시킴

- Washing 함

- Substrate chromogen reagent를 첨가한 후, 상온에서 30분간 반응시킴

- Stop solution를 첨가하여 반응을 정지시킴

- 450nm에서 흡광도를 측정

▪ 간과 근육에서의 glycogen 합성 측정

- 간 조직과 근육을 lysis buffer에 넣고 homogenizer로 분쇄한 후 원심분리하여 깨끗한 상층액을 취함

- Bovine liver glycogen을 standard로 하여 glycogen 합성량을 확인함

▪ 간에서의 산화스트레스 biomarker 확인

:Enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) kit를 이용하여 간 조직의 malondialdehyde (MDA)와 superoxide dismutase(SOD)를 확인함

- 간 조직을 lysis buffer에 넣고 homogenizer로 분쇄한 후 원심분리하여 깨끗한 상층액을 취함

- 분석 시약, 분석 시료, blank, standard를 준비

- Microplate의 각 well을 washing 함

- 각 well에 Biotin conjugated anti-Insulin을 첨가한 후, 상온에서 2시간 반응시킴
- HRP-conjugated streptavidin solution을 첨가한 후, 상온에서 30분간 반응시킴
- Washing 함
- Substrate chromogen reagent를 첨가한 후, 상온에서 30분간 반응시킴
- Stop solution를 첨가하여 반응을 정지시킴
- 450nm에서 흡광도를 측정

3. 추진체계

본 연구 수행을 위한 기관별 연구추진체계는 다음과 같음.



가. 과제개발내용(주관연구기관): 청원생명농협쌀공동사업법인

□쌀눈을 이용하여 쌀눈발효농축액 소재 및 응용제품 상품화

- 유산균 등을 쌀눈과 함께 액체배양하고, 항산화기능을 갖는 쌀눈발효농축액 소재 개발
- 쌀눈발효농축액을 이용한 기능성 쌀페이스트 식품 개발(3종)
- 개발제품의 영양성분분석, 관능분석 실시

나. 과제개발내용(공동개발연구기관): 서울과학기술대학교 산학협력단(김지연 교수)

□ 동물실험을 통한 쌀눈발효농축액 소재의 혈당상승억제 효능 평가

- HPLC를 활용한 쌀눈발효농축액 소재의 기능성 성분 함량 확인
- In vitro로서 α -glucosidase activity 억제 효능 시험평가
- In vivo로서 흰쥐에게 쌀눈발효농축액을 투여하고 혈당상승억제 효능 시험평가

○ 일정 계획표

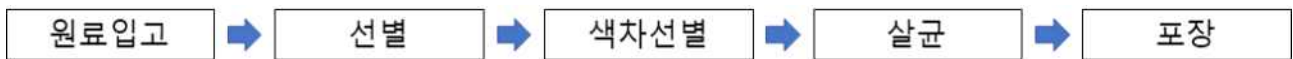
1차년도																
일련 번호	연구내용	월별 추진 일정												연구 개발비 (단위: 천원)	책임자 (소속 기관)	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12			
1	계획수립 및 자료조사	■													0	공동
2	쌀눈 유산균 발효배양액 개발시험		■	■	■										30,000	청원생명능협
3	발효농축액 시너지효과 시험				■	■									20,000	청원생명능협
4	쌀눈 발효농축액 제품 규격설정					■	■								20,000	청원생명능협
5	쌀눈 발효농축액 시생 산 및 공정확정						■	■							18,000	청원생명능협
6	쌀눈 발효농축액 상품 화 컨셉 개발							■	■	■					10,000	청원생명능협
7	유 산 균 발 효 농 축 액 Dosage 설정					■	■								-	서울과학기술 대
8	동물적용시험						■	■	■	■	■				70,000	서울과학기술 대
9	제형별 레시피 개발									■	■	■			30,000	청원생명능협
10	제품 시생산											■	■		10,000	청원생명능협
11	보고서 완성 및 특허출원												■		2,000	공동

제 2 절 쌀눈에서 쌀눈발효추출농축액의 표준생산기술개발

1. 쌀눈에서 쌀눈발효물 생산 조건 최적화

가. 쌀눈 원료 준비

쌀눈발효추출물 생산은 주관기관의 쌀눈생산공정에서 생산되는 쌀눈을 사용하여 진행하였다. 추출에 사용한 쌀눈은 가격 및 생산량을 감안하여 서로 다른 공정에서 생산되는 3종류의 중간 생산품을 사용하였다. 추출에 사용한 쌀눈의 부위는 다음과 같다. 쌀눈은 원료인 미강이 입고되면 1차로 비중과 크기에 따른 선별을 진행하며, 이때 비중이 가벼운 쌀겨와 비중이 무거운 싸라기쌀, 분말형태의 쌀눈은 별도로 분리되어 각각의 회수백으로 떨어지고, 적당한 크기와 비중을 가진 쌀눈알갱이만 선별되어 다음 공정으로 이송된다. 이송된 쌀눈은 여러대의 색차선별기를 통과하여 색이 진해 상품화하기에 부적당한 쌀눈을 걸러내고 정선되는데, 정선된 쌀눈은 산패와 미생물 증식을 막기 위해 80℃에서 30분간 가열살균하여 가공한 다음 적당량 포장하여 완제품으로 생산된다.



< 쌀눈의 생산공정 >

나. 쌀눈발효물 제조 및 발효조건 설정

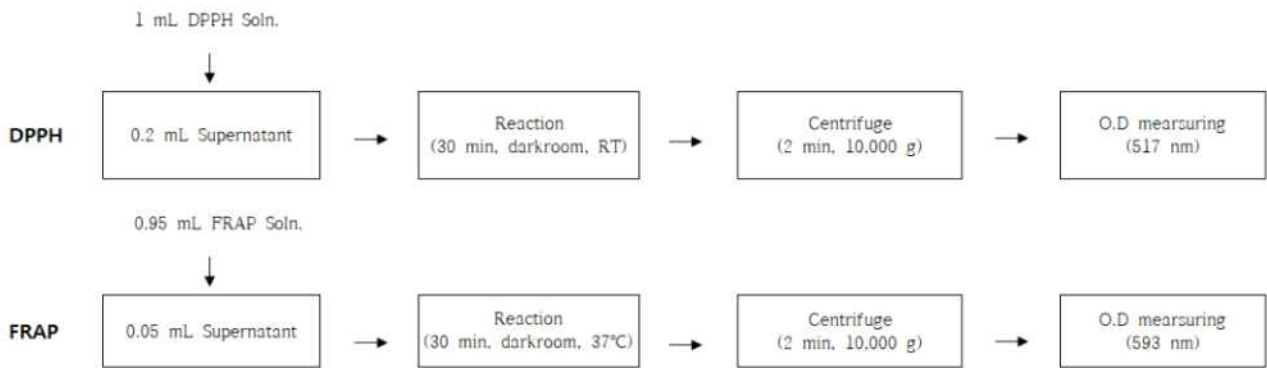
(1) 최적 발효 균주 선발

유산균 중 쌀눈발효에 적합한 균주를 선발하기 위해, 균주별로 배양후 향산화 실험을 진행하였다.

(가) 실험방법

원료는 위 방식대로 제조된 쌀눈을 사용하였으며, 발효균주는 KCTC에서 분양받은 *Lactobacillus plantarum* KACC 15357, *Lactobacillus acidophilus* KCTC 3145, KCTC에서 *Lactobacillus casei* KCTC 3109을 사용하였고, 발효 조건은 500ml 배양플라스크에 100ml 1XMRS Broth배지에 쌀눈 10%, starter 3%를 첨가하고 37℃ incubator에서 배양하였다. 12시간 간격으로 샘플을 채취하여 각 샘플별로 분석을 진행하였다.

항산화 실험은 다음과 같은 방식으로 진행하였다.



(나) 실험결과

균주별 배양 테스트 결과 다음과 같은 결과를 얻을 수 있었다.

표 1. *L.plantarum* 찐눈 발효물 상등액의 항산화능, 균수(CFU/mL), pH

시간	DPPH value (mg AAE/g)	FRAP value (mg AAE/g)	균수($10^7 \times$ CFU/mL)	pH
0	1.173	3.005	0.56	6.1
12	1.157	2.411	14	6.0
24	0.970	2.355	4.8	5.9
48	1.064	2.383	20	5.9
72	1.033	2.292	10 이하	5.9

표 2. *L.acidophilus* 찐눈 발효물 상등액의 항산화능, 균수(CFU/mL), pH

시간	DPPH value (mg AAE/g)	FRAP value (mg AAE/g)	균수($10^7 \times$ CFU/mL)	pH
0	1.173	3.005	3.3	6.1
12	1.001	2.390	12	5.9
24	1.017	2.265	10	5.7
48	0.908	2.279	170	5.55
72	0.947	2.286	-	5.46

표 3. *L.casei* 쌀눈 발효물 상등액의 항산화능, 균수(CFU/mL), pH

시간	DPPH value (mg AAE/g)	FRAP value (mg AAE/g)	균수 (10 ⁷ ×CFU/mL)	pH
0	1.168	3.208	1.6	6.41
12	1.120	2.330	13	5.13
24	1.103	2.283	23	4.24
48	1.034	2.285	150	3.46
72	1.022	2.289	94	3.22

그림 1. 쌀눈 발효물 상등액의 항산화능(DPPH Value)

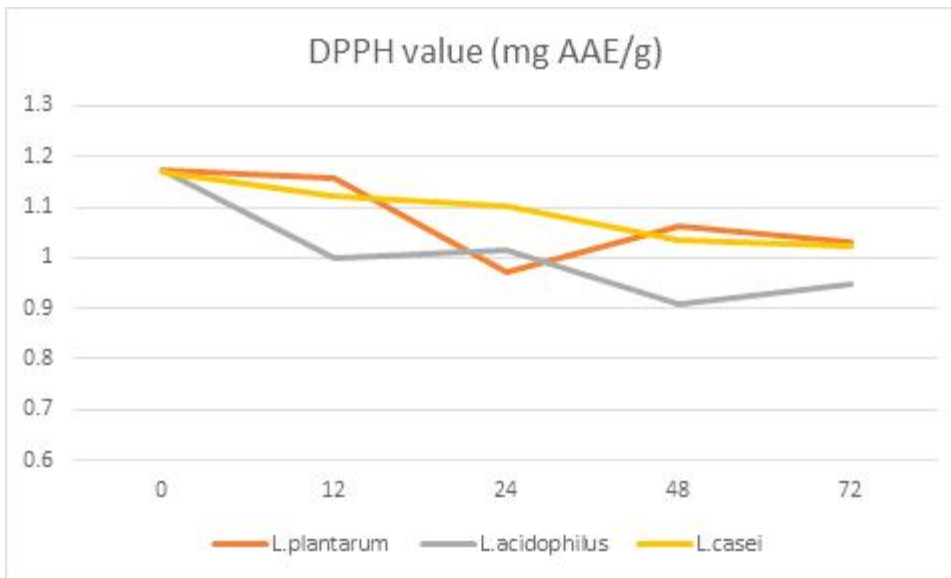
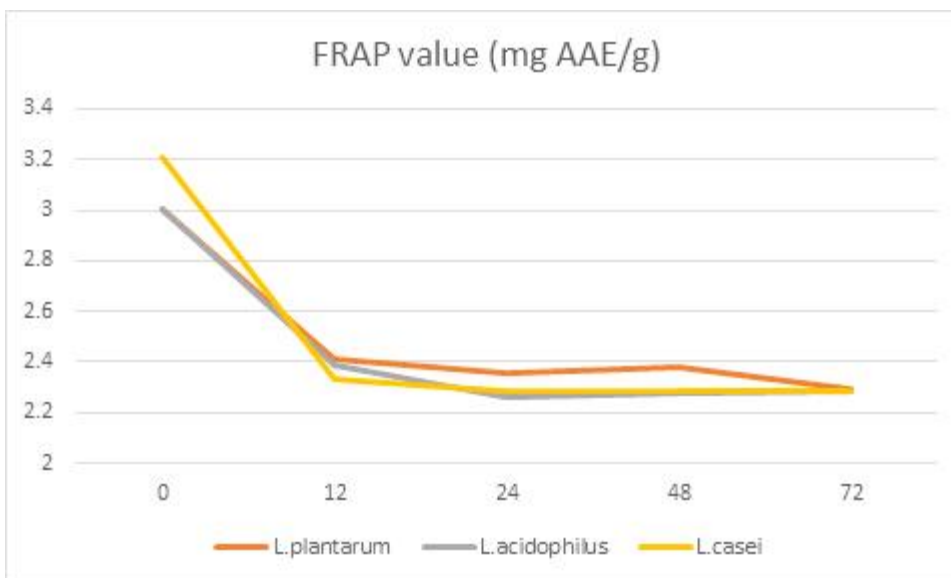


그림 2. 쌀눈 발효물 상등액의 항산화능(FRAP Value)



상기 실험결과 *L.plantarum* 이 다른 균주에 비해 발효물의 항산화 기능이 약간 더 나은 것으로 보인다. 전반적으로 발효 상등액의 항산화기능이 낮은 것이 문제이긴 하나, *L.plantarum* 이 일반적으로 식물에서 잘 자라는 유산균이기에 *L.plantarum*을 사용하여 쌀눈의 발효를 진행하기로 결정하였다.

(다) 최적 쌀눈 첨가량

선발된 균주를 사용하여 쌀눈 첨가량 별로 24시간 배양하여 최적의 쌀눈 배양첨가량을 정했다.

표 4. *L.plantarum* 쌀눈 발효물 상등액의 항산화능, 균수(CFU/mL), pH

쌀눈첨가량	DPPH value (mg AAE/g)	균수($10^7 \times$ CFU/mL)	pH
0	1.77	4.8 ± 0.6	6.49
5	1.66	15 ± 20.2	6.6
10	1.80	39 ± 15.2	6.37
15	2.38	40.0 ± 28.2	6.21
20	2.55	40.0 ± 12.7	6.14

상기 결과를 종합하면, 쌀눈발효물 상등액의 항산화 능력은 DPPH값을 볼 때 그리 높지 않았다. 당초 유산균 접종 배양목적은 발효에 의한 bioconversion 과정을 거침으로써 쌀눈으로부터 항산화물질 추출이 잘 일어날 수 있도록 하는 것이었으므로, 균주를 선발한 이후에는 쌀눈을 발효시킨 상등액보다는 쌀눈찌꺼기를 포함한 쌀눈발효액 전체를 추출함으로써 기능성 쌀눈 소재를 개발하는 전략으로 수정하였다.

2. 산업용 배지를 사용한 쌀눈발효추출농축액 제조

기존 MRS배지가 사용된 쌀눈배양배지는 가격과 수급문제로 산업용 제품 생산에서는 starter배양의 목적으로만 사용되는 편이다. 따라서 실제 제품 양산을 진행하기 위하여 산업용 생산 배지를 바탕으로 쌀눈발효액을 제작했으며, 이 쌀눈 발효액을 적당한 용매와 조건에서 추출농축함으로써 쌀눈발효추출액을 만들었다.

가. 실험방법

(1) 쌀눈발효물 생산

산업용 배지는 우선 배형철 등(2008)이 제안한 쌀발효 배지를 바탕으로 원료인 쌀눈은 15%(w/v), 포도당 역시 15%(w/v)의 조성으로 제작하였다. 유산균 starter culture는 앞서 선정된

Lactobacillus plantarum KACC 15357를 MRS 배지에 24시간 접종하여 생산하였고, 발효전에 교반기로 5000rpm에서 10분간 균질한 다음, 95°C에서 15분간 살균하였다. 이 후 40°C로 방냉한 다음, 여기에 MRS broth에서 활성화된 유산균 균주 배양액을 3%(w/v)의 비율로 접종하여 37°C 항온배양기에서 24시간동안 혐기발효시켜 쌀눈발효물을 생산하였다.

(2) 쌀눈발효추출농축액 제조

상기 방법으로 제작한 쌀눈발효물은 여과과정 없이 통째로 회수하여 진공추출농축설비를 이용하여 추출하였다. 이때 사용된 진공농축추출기는 경서산업에서 제조한 Cosmos 660을 사용하였으며, 사용한 주정은 덕산과학 프레타놀A(95% 에탄올)이었고, 준비한 주정과 쌀눈발효물을 각각 1 : 1, 1 : 2, 1 : 3의 비율로 혼합하여 추출용매를 준비하였다.

	시료 A	시료 B	시료 C
주정	100	100	100
쌀눈발효물	300	200	100

위와 같은 조건대로 혼합한 쌀눈발효물은 60°C에서 6시간 동안 추출하였고, 동일한 온도에서 최종당도 20 brix가 될 때까지 진공농축하였다. 이때 진공압력은 -0.5 ~ -0.6 bar 사이에서 균일하게 유지하며, 지속적으로 추출창을 통해 추출물이 끓어넘치는지 여부를 확인하고, 농축 중 거품이 농축관을 거쳐 농축액 수기로 들어가지 않도록 진공을 적절히 풀어가면서 농축을 조절하였다.

나. 생산된 쌀눈발효추출농축액의 항산화효능 시험

생산된 쌀눈발효추출농축액 시료의 효능을 검사하기 위하여, 총 폴리페놀 함량 및 DPPH 자유라디칼 소거능 분석을 실시하였다. 쌀눈발효추출농축액의 항산화 활성을 평가하기 위해 각 시료들을 원심분리 및 여과한 후 일정한 양으로 정량하여 분석용 시료로 사용하였다.

(1) Total polyphenol 함량분석

쌀눈발효추출농축액의 총 폴리페놀함량은 AOAC의 Folin-Denis 방법을 일부 변형하여 비색정량하였다. 일정한 농도로 제조한 시료 1 mL에 2% Na₂CO₃용액 2 mL를 혼합하여 실온에서 3분간 방치한 후, 1 N Folin reagent 1 mL를 혼합하여 실온에서 30분간 정치한 다음 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 폴리페놀함량은 catechine을 표준물질로 하여 시료와 동일한 방법으로 시험하고 얻은 표준검량곡선으로부터 환산하였고 희석배수를 고려하여 정량하였다.

실험결과, 종류가 다른 쌀눈발효추출농축액의 총 폴리페놀함량을 분석한 결과 시료중의 폴리페놀 함량은 25.3~30.7 mg% 의 폴리페놀 함량을 나타내었고, 시료 C(쌀눈발효물:주정 = 1:1)

의 폴리페놀 함량이 다른 시료에 비해 유의적으로 높았다.

표 5. 쌀눈발효추출농축액의 총 폴리페놀 함량

polyphenol 함량 (mg%)	
A	25.3 ± 0.70 ^b
B	25.7 ± 0.19 ^b
C	30.7 ± 1.34 ^a

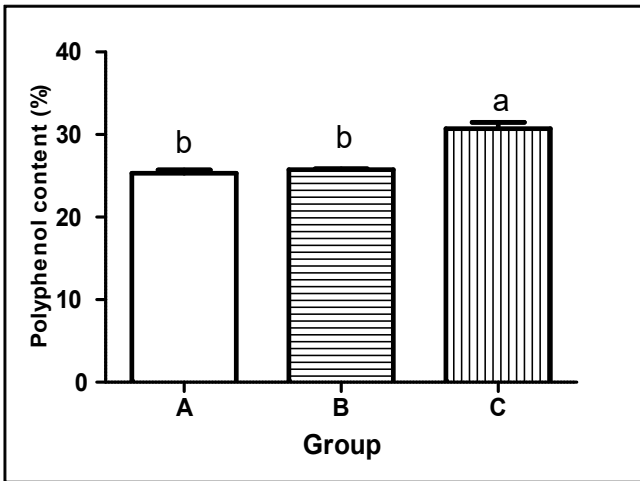


그림 4. 쌀눈발효추출농축액의 총 폴리페놀 함량

(2) DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 활성산소 소거능력 측정

쌀눈발효추출농축액의 DPPH 라디칼에 대한 소거활성은 Bios의 방법을 변형하여 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)에 대한 전자공여 효과로 그 활성을 측정하였다. 0.13mM DPPH(α, α -diphenyl- β -picrylhydrazyl) 용액을 제조하여 DPPH 용액 4ml에 시료 1ml를 가하여 10초간 혼합하고, 암소에서 30분간 방치하여 반응시킨 다음 525nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여 효과는 시료첨가구와 시료를 처리하지 않은 대조군의 흡광도를 비교하여 수소전자공여능(Electron donating ability)을 계산하여 백분율로 나타내었다.

$$\text{DPPH radical scavenging activity(\%)} = \left(1 - \frac{\text{sample첨가 흡광도}}{\text{sample미첨가(control) 흡광도}} \right) \times 100$$

종류가 다른 쌀눈발효추출농축액의 DPPH 라디칼 소거능을 측정한 결과 각 시료들은

28.9~68.4%의 DPPH 라디칼 소거능을 나타내었다. 그 중 시료 C(쌀눈발효물:주정 = 1:1)는 유의적으로 가장 높은 DPPH 라디칼 소거능을 갖는 것으로 나타났다.

표 6. 쌀눈발효추출농축액의 DPPH radical 소거능

DPPH radical scavenging activity (%)	
A	28.9 ±0.67 ^c
B	55.0 ±1.69 ^b
C	68.4 ±0.52 ^a

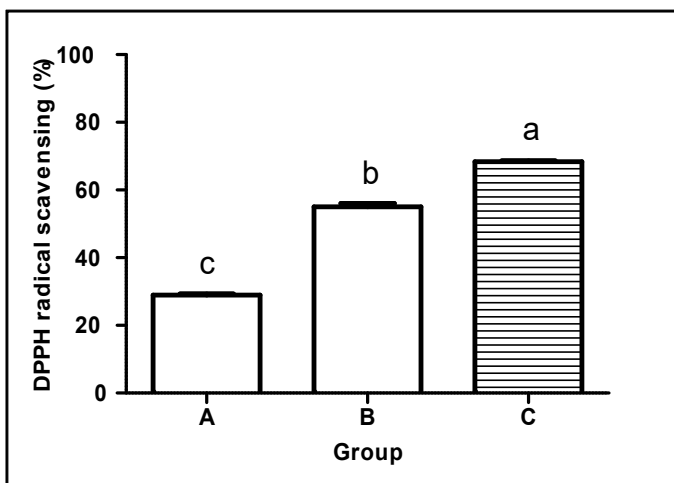


그림 5. 쌀눈발효추출농축액의 DPPH radical 소거능

종합하면, 주정비율을 달리하여 제조한 쌀눈발효추출농축액 중 주정함량이 가장 높은 1:1 비율로 혼합한 추출물이 가장 우수한 항산화효능을 갖는 것으로 나타났다. 결과에 따라 1:1 추출한 쌀눈발효추출농축액이 최종 생산할 제품으로 결정되었다.

쌀눈은 미강에서 분리정제하여 생산되며, 미강을 구성하는 일부분이다. 쌀눈발효추출물에 대한 구체적인 연구는 많이 진행되지 않아 유사한 미강추출조건을 검토하면 쌀눈의 발효추출 조건을 이론적으로 검토해볼 수 있다. 조인희 등(2010)이 발표한 논문에 따르면, 미강 내 페룰산은 지용성 물질로서 에탄올로 잘 추출되며, 추출온도는 78°C 근방, 추출시간은 10시간 가량 일 때 가장 추출이 잘 되는 것으로 보고되었는데 상기 조건은 이것과는 약간 차이가 있다. 그러나, 80°C 이상의 고온에서 주정으로 추출시 공장 화재의 위험이 있고, 추출시간이 6시간을 넘기면 생산성 저하로 인해 추출비용이 급상승하는 등 현실적인 어려움을 감안하여 비교적 최적의 조건을 설정하였다고 볼 수 있다. 김성란 등(2004)과 정은희 등(2010)이 발표한 자료에 따르면, 미강 추출물을 분석한 결과 미강 내 페놀산 물질 중 페룰산(ferulic acid)가 가장 많으며, 약

450 ~ 520 mg/100g 정도 포함되어 있다고 보고되었다. 페룰산은 보리, 밀, 옥수수과피 등의 식물에 존재하는 항산화물질로서 페룰산을 고지방과 고 fructose 급여로서 유발된 type 2형 당뇨병에 투여한 결과 항당뇨효과가 있다고 발표된 바 있다.(Akilavalli N, et al., 2005, Bao. L, et al., 2019) 이러한 사실을 토대로 혈당억제효능을 갖는 쌀눈발효추출농축액에서 지표성분으로 페룰산을 설정하였고, 페룰산을 지표로하여 기능성쌀눈 발효추출농축액을 제조하고, 이를 향후 상품화 및 동물실험용으로 사용할 시료로 결정하였다.

동물시험용도로는 주정 : 쌀눈발효물 = 1 :1 추출시료와 1:2 추출시료 2가지를 사용하였다.



< 개발한 쌀눈발효추출농축액 >

제품명	쌀눈발효추출농축액		
표준 생산공정	<div style="border: 1px solid black; padding: 2px; text-align: center;">공정명</div>	<div style="border: 1px solid black; padding: 2px; text-align: center;">제조방법 설명</div>	
	원료계량	쌀눈원료를 계량한다.	
	↓		
	분쇄	계량된 원료를 분쇄기로 분쇄한다.(40mesh pass)	
	↓		
	살균	정제수, 포도당을 가하고 80~90°C에서 살균한다.	
	↓		
	배양	살균액에 <i>L. plantarum</i> 을 접종하고 24시간 배양한다.	
	↓		
	추출	배양액에 동일 부피의 주정을 가하고 60°C에서 추출한다.	
	↓		
	여과	추출액을 60 ~ 100mesh 망으로 여과한다.	
↓			
농축	여과액을 20 Brix까지 감압 농축한다.		
↓			
살균	농축액을 85±5°C에서 30분간 살균한다.		
↓			
충진	제품을 용기에 정량충진한다.		
↓			
냉각	충진된 제품을 냉각한다.		
↓			
	: CCP		
검사항목	항목	기준	시험법
	1) 성상	연갈색 액체	식품공전 성상시험법
	2) 이물	불검출	식품공전 이물시험법
	3) 당도(bx)	20 ± 0.5	당도계
	4) pH	pH Meter 측정	식품공전 고형분함량 시험법
	5) 일반세균수	1,000이하	식품공전 미생물시험법
	6) 대장균군	불검출	식품공전 미생물시험법

다. 생산된 쌀눈발효추출농축액의 품질시험

쌀눈발효추출농축액은 식품공전에 규정된 식품유형중 기타가공품에 해당되며, 법적으로는 성상, 이물, 대장균군 등이 규정되어 있어 식품공전에 따라 다음과 같이 시험하였다.

- 성상 : 식품공전 제7. 일반시험법 1.1 성상에 따라 시험하며, 식품고유의 색깔, 풍미, 조직감 및 외관을 다음의 성상 채점기준에 따라 채점한 결과가 평균 3점이상이고 1점 항목이 없어야 한다.

항 목	채 점 기 준
색 갈	1. 색깔이 양호한 것은 5점으로 한다. 2. 색깔이 대체로 양호한 것은 그 정도에 따라 4점 또는 3점으로 한다. 3. 색깔이 나쁜 것은 2점으로 한다. 4. 색깔이 현저히 나쁜 것은 1점으로 한다.
풍 미	1. 풍미가 양호한 것은 5점으로 한다. 2. 풍미가 대체로 양호한 것은 그 정도에 따라 4점 또는 3점으로 한다. 3. 풍미가 나쁜 것은 2점으로 한다. 4. 풍미가 현저히 나쁘거나 이미·이취가 있는 것은 1점으로 한다.
조 직 감	1. 조직감이 양호한 것은 5점으로 한다. 2. 조직감이 대체로 양호한 것은 그 정도에 따라 4점 또는 3점으로 한다. 3. 조직감이 나쁜 것은 2점으로 한다. 4. 조직감이 현저히 나쁜 것은 1점으로 한다.
외 관	1. 병충해를 입은 흔적 및 불가식부분 제거, 제품의 균질 및 성형상태와 포장상태 등 외형이 양호한 것은 5점으로 한다. 2. 제품의 제조가공상태 및 외형이 비교적 양호한 것은 그 정도에 따라 4점 또는 3점으로 한다. 3. 제품의 제조가공상태 및 외형이 나쁜 것은 2점으로 한다. 4. 제품의 제조가공상태 및 외형이 현저히 나쁜 것은 1점으로 한다.

- 이물 : 식품공전 제7. 일반시험법 1.2 이물 시험법 중 나. 여과법을 응용하여 시험하였다. 생산된 제품 전량을 30mesh 체에 여과하여 체망에 걸러진 이물을 검사하였다.

- 대장균군 : 식품공전 제7. 일반시험법 4.7.2. 대장균군 정량시험법을 이용하여 시험하였다. 건조필름에 제작된 시료를 1/10로 희석한 시험용액 1ml와 각 10배 단계 희석액 1 mL를 2매 이상씩 대장균군 건조필름배지 I (3M® Petrifilm®)에 접종한 후, 35±1°C 에서 24±2시간 배양하였다. 대장균군 건조필름배지 I 에 형성된 붉은 집락 중 주위에 기포를 형성한 집락수를 계산하여 그 평균집락수에 희석배수를 곱하여 대장균군 수를 산출하였다.

- 일반세균수 : 건조필름에 제작된 시료를 1/10로 희석한 시험용액 1 mL와 각 10배 단계 희석액 1 mL를 세균수 건조필름배지(배지 53 또는 69)에 각 2매 이상씩 접종한 후 잘 흡수시키고 35±1°C 에서 48±2시간 배양한 후 생성된 붉은 집락수를 계산하고 그 평균집락수에 희석배수를 곱하여 일반세균수로 계산했다.

- 당도 : 추출물의 당도는 ATAGO(일본)사에서 판매하는 디지털당도계 PAL-1을 사용하여 측정하였다.

- pH 측정 : pH는 pH meter를 이용하여 측정하였다.

측정결과는 자체시험성적서에 기재하여 문서화 하였다.

2. 쌀눈발효추출농축액을 이용한 기능성 식품 상품화

가. 기능성 쌀눈페이스트 개발

기 개발한 쌀눈발효추출농축액을 이용하여 쌀이 중심이 된 페이스트 타입의 액상음료를 제조하였다. 레시피 개발을 위하여 사용된 원료는 알파미분(조은열매(주), 전남 고흥), 현미유(CJ제일제당, Korea), 결정과당(삼양사, Korea), 쌀겨추출분말(건우에프피, 충북 진천), 천일염(영진그린식품, 전남 신안), 사과산(ES식품원료, Korea), 홍삼농축액사과농축액(충북원예농협, Korea), 사과향, 홍삼향(삼정향료, Korea)을 사용하였으며, 이외의 원료는 시중에서 구입하여 사용하였다.

맛과 향, 물성등을 고려한 3종의 레시피를 개발하였는데, 구체적인 내용은 다음과 같다.

○ 쌀 고유의 풍미를 살린 쌀눈페이스트 : 플레인맛

쌀고유의 풍미를 살리기 위하여 알파미분과 현미유를 주원료로 하여 제작한 기능성 쌀눈페이스트 제품으로서, 쌀눈발효추출농축액이 6% 함유된 것이 특징이다. 혈당강하효능을 갖는 기능성 식품을 목표로 개발하였다.

원료명	배합비(%)	작업량(kg)
알파미분	9.00	40.50
현미유	3.30	14.85
쌀겨추출분말	1.10	4.95
쌀눈발효추출농축액	6.00	27.00
결정과당	1.50	6.75
천일염	0.08	0.36
안정제 용액	6.00	27.00
정제수	73.02	328.59
합계	100.00	450.00

* 안정제 용액

원료명	배합비(%)	작업량(kg)
로커스트빈검	0.10	0.45
카라기난검	0.20	0.90
이소말토올리고당	5.70	25.65
합계	6.00	27.00

○ 면역력 강화를 위한 쌀눈 페이스트 : 홍삼맛

쌀눈발효추출농축액이 가지고 있는 항산화효능을 이용하여 면역력 강화를 위한 솔루션으로 홍삼추출물과 혼합하여 개발하였다. 안정제 용액은 플레인맛과 동일한 레시피 사용하였다.

원료명	배합비(%)	작업량(kg)
알파미분	9.00	40.50
현미유	3.30	14.85
쌀겨추출분말	1.10	4.95
쌀눈발효추출농축액	5.00	22.50
결정과당	2.50	11.25
천일염	0.08	0.36
안정제 용액	6.00	27.00
홍삼농축액(70 bx)	0.25	1.13
홍삼향	0.24	1.08
정제수	72.53	326.39
합계	100.00	450.00

○ 어린이용 쌀눈 페이스트 : 사과맛

쌀눈은 알러지가 없고, 비타민, 미네랄 등 필수 영양소가 풍부하여 성장기 어린이에게 필요한 기능성 제품이 될 수 있다. 이를 목표로하여 사과 등 과일맛이 가미되어 맛 기호도에서 어린이에게 가장 높은 평가를 받을 수 있도록 설계 개발하였다. 안정제 용액은 플레인맛과 동일한 레시피를 사용하였다.

원료명	배합비(%)	작업량(kg)
알파미분	8.30	37.35
현미유	3.10	13.95
쌀겨추출분말	1.00	4.50
쌀눈발효추출농축액	5.00	22.50
결정과당	2.50	11.25
천일염	0.08	0.36
안정제 용액	6.00	27.00
사과농축액(72 bx)	5.00	22.50
사과산	0.09	0.41
사과향	0.60	2.70
정제수	68.33	307.49
합계	100.00	450.00

나. 시제품 및 양산용 제조공정 개발

시제품은 바이셀(충북 괴산 소재)에 의뢰하여 실제 제품 생산시설을 이용하여 제작하였다. 레시피 대로 원료를 계량 첨가 혼합후 60℃에서 1시간 교반하여 완전히 용해시켰다. 이때 안정제 용액은 원료를 미리 계량하고 검류 2가지를 이소말토올리고당에 넣고 완전히 용해되도록 30분간 교반하였다. 용해된 액은 고압균질기(APV 1000-TS, Denmark)로 200 bar에서 2회 균질하여 균질화를 실시한 후 500L 교반탱크에 투입, 85℃에서 30분간 살균한 후 포장지에 충전하여 제작하였다.



< 플레인맛 >



< 홍삼맛 >



< 과일맛/사과맛 >

다. 쌀눈 페이스트 제품의 관능검사를 통한 기호도 평가

1) 평가 방법

감각평가는 개인차가 작용하는 주관적인 평가로 같은 맛이라도 맛의 종류, 성별, 나이, 식습

관 등에 의해 다르게 느낄 수 있다. 쌀눈유산균발효즙 제품에 대해 30~49세 남녀 35명을 대상으로 감각평가를 실시하였고, 평가 시작 전 실험목적, 평가항목, 척도사용방법 등에 대해 설명한 후 기호도 평가를 실시하였다.

모든 시료는 냉장고에 보관 하면서, 18g 씩 포장된 각 제품을 제공하여 관능검사를 진행하였으며, 평가 시 온도가 4 °C를 유지하도록 하였다. 평가항목은 9 점으로 겉모양, 향, 맛, 조직감, 전체적 기호도 등을 평가지에 조사하였다(1 = 전혀 마음에 들지 않는다, 9 = 매우 마음에 든다). 감각평가를 하는 동안 같은 맛을 되풀이 맛보면 미각신경의 피로로 인해 혀의 감각이 둔해지거나 다른 맛으로 느껴지는 미각의 변조현상이 나타날 수 있는데 이러한 미각의 둔화를 억제하기 위해 입가심 물을 시료와 함께 제공하고 시료 사이에 충분히 입안을 헹구도록 하고, 각 특성에 대한 평가 사이에 일정한 시간 간격을 두고 각각의 특성을 평가하도록 하였다.

2) 통계처리

각 시료의 GABA 함량에 대한 결과는 통계 분석 SPSS 1.0을 이용하여 분산분석을 실시하였으며 각 군 간의 측정치 비교는 one-way analysis of variance (ANOVA)를 시행하였으며 유의성은 신뢰구간 $p < 0.05$ 에서 의미를 부여하였다.

3) 실험결과

쌀눈유산균발효즙의 겉모양은 플레인 제품에 대한 기호도가 가장 높게 나타났다.

쌀눈유산균발효즙의 향과 맛에 대한 기호도는 사과맛 제품이 다른 제품에 비해 높은 기호도를 나타내었고 전체적인 기호도 역시 사과맛 제품이 유의적으로 가장 높은 것으로 조사되었다. 플레인과와 홍삼맛 제품은 향, 전체적 기호도에서 유의적인 차이가 없는 것으로 평가되었다.

표 8. 쌀눈유산균발효즙의 기호도 평가

	겉모양	향	맛	조직감	전체적 기호도
플레인(P)	7.00±1.24 ^{a1)}	5.39±1.42 ^b	4.17±2.12 ^b	4.94±1.59 ^{ns2)}	4.94±1.83 ^b
사과맛(A)	6.06±1.16 ^a	7.00±1.46 ^a	6.33±2.22 ^a	5.83±1.89	6.50±1.58 ^a
홍삼맛(G)	4.89±1.32 ^b	4.72±1.90 ^b	4.67±1.94 ^{ab}	4.61±1.75	4.72±1.78 ^b

¹⁾Means with different letters within the same column are significantly different from each

other at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

²⁾n.s: not significant

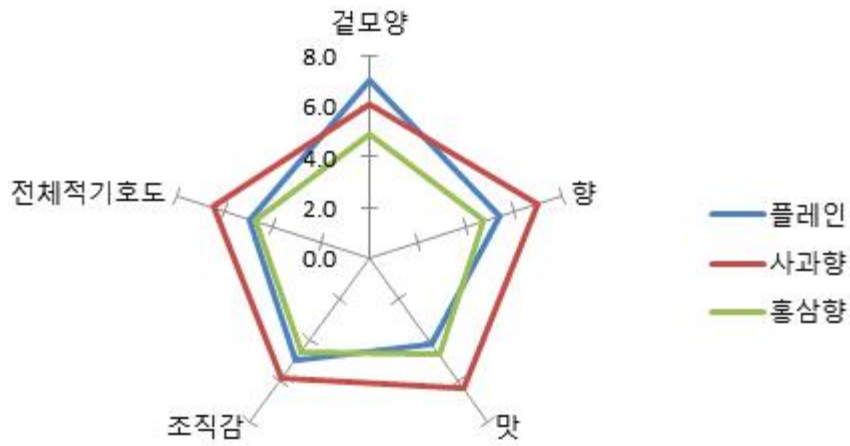


그림 6. 찐눈유산균발효즙의 기호도평가

개발된 각각의 찐눈유산균발효즙 제품은 의도한 대로 사과맛이 가장 기호도가 높았으며, 나머지는 성인 소비자들을 타겟으로 개발된 건강기능성 지향 식품이라서 기호도가 다소 낮았지만, 혈당 상승 억제 기능성 효과를 잘 홍보한다면 상품화되기에 크게 문제는 없을 것으로 생각된다.

쌀눈 유산균 발효즙의 감각 특성 평가

날짜 _____ 성별 _____ 나이 _____ 이름 _____

1	2	3	4	5	6	7	8	9
대단히 싫음	아주 싫음	보통 싫음	약간 싫음	좋지도 싫지도 않음	약간 좋음	보통 좋음	아주 좋음	대단히 좋음

※ 식품을 맛보고 해당하는 숫자를 적어주세요.

	겉모양(색)	향	맛	조직감(점도)	전체적 기호도
618					
235					
784					

2절. 혈당상승억제에 효과가 있는 쌀눈유산균발효추출물을 선별 후 세포 및 동물 모델에서 기전확인 (협력기관 : 서울과학기술대학교 산학협력단)

1. 실험방법 및 결과

가. 쌀눈유산균발효추출물의 지표물질(Ferulic acid) HPLC을 이용하여 정성 및 정량 분석

쌀눈에는 다양한 유형의 페놀 화합물이 존재함. 쌀눈에 존재하는 페놀 화합물은 췌장에서 인슐린 생산을 개선하고 혈당 수치를 감소하는데 도움이 되는 물질임. 이 중 ferulic acid(FA)는 쌀눈이나 다양한 과일, 채소에서 발견되는 주요 페놀 화합물임. 최근 FA를 이용한 당뇨병의 포도당 대사에 미치는 영향에 대한 연구가 진행중임.

기능성 원료가 항상 일정한 기능성을 나타낼 수 있도록 확인하는 마커가 존재해야 함. 이를 건강기능식품에서는 기능성분 또는 지표성분이라고 하며, 제품 표준화를 위해서는 반드시 일정한 지표성분의 함량을 설정하여 관리해야 함. 쌀눈 유산균 발효물을 주정/물의 비율을 1:1로 추출한 RG1 sample과 1:2로 추출한 RG2 sample을 High-performance liquid chromatography(HPLC)를 이용하여 지표성분인 FA를 정성 및 정량 분석함.

Li et al. (2008) 과 H. Y. Shin et al. (2019) 의 실험법을 이용하여 FA함량을 HPLC로 분석함. RG1과 RG2를 8:2 ethanol/water로 추출하여 상층액을 제거하고 1M의 NaOH로 4시간 동안 가수분해함. HCl를 이용하여 pH2로 적정하고, 이를 ethyl acetate로 추출하여 증발시킴. 잔류물을 50% methanol에 용해하여 HPLC분석에 이용함. 250×4.6mm, 5µm, C18칼럼을 이용하여 흡광도 280nm에서 FA를 정량화함. 이동상은 water/acetic acid (100:1) (A), methanol/acetonitrile/acetic acid (95:5:1, v/v) (B)를 다음 gradient 조건하에 분석함. 0-2min, 5% B; 2-10min, 5-25% B; 10-20min, 25-55% B; 20-30min, 55-50% B; 30-35min, 50-95% B; 35-40min, 95-95% B;

RG1은 457.38mg/100g, RG2는 381.35mg/100g로 쌀눈유산균발효물을 주정/물 1:1의 비율로 추출한 RG1이 RG2보다 FA함량이 약 1.2배 더 높음(Table 1).

표 9. Ferulic acid content of rice germ ^a

Group	sample	
	RG1	RG2
Ferulic acid (mg/100g)	457.38 ±4.29	381.35 ± 70.60

^a mg per 100g. The value is mean ± SE.

나. 세포모델에서 쌀눈유산균발효추출물의 혈당상승억제 기능성 확인(in vitro 시험)

(1) α -glucosidase activity 측정

α -glucosidase는 소장의 brush-border membrane에 존재하는 소화효소임. 이는 다당류나 이당류를 소화 흡수되는 형태인 단당류로 가수분해하여, 소장에서 탄수화물이 흡수되게 하는 역할을 하는 효소임. 따라서 α -glucosidase activity를 억제함으로써 maltose와 sucrose 같은 이당류의 가수분해를 억제하여 탄수화물의 소화 흡수를 지연시켜 식후 혈당이 감소됨에 따라 항당뇨 효과가 있음을 확인할 수 있음.

Acarbose는 α -glucosidase activity 저해제로, 현재 경구 혈당 저하제로 사용되고 있음. 이는 장기 복용할 경우 일부 환자에게는 복부팽만감, 구토 등의 부작용을 유발할 수 있어 사용이 제한되고 있음. 이러한 부작용을 줄이고 장기복용이 가능한 혈당조절 효능이 있는 천연물 α -glucosidase activity 저해제 탐색연구가 활발히 진행중임. 따라서 in vitro 실험을 통해 acarbose와 쌀눈유산균추출물의 α -glucosidase activity를 측정 및 비교하여 시료의 항당뇨 효능을 확인함.

Laoufi et al. (2017) 의 실험법을 기반으로 수정하여 실험을 진행함. α -glucosidase(0.2U/mL), RG1과 RG2 또는 acarbose, p-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside(5 mM, PNPG)는 모두 0.1M Phosphate buffer에 용해하여 사용했음. 먼저 효소액과 RG1과 RG2 또는 acarbose를 37 °C에 10분간 반응시킨 다음, PNPG(5mM)을 넣고 37 °C에서 30분간 더 반응시킴. 0.1M NaCO₃로 기질-효소반응 종결하고 400nm에서 흡광도를 측정함. α -glucosidase에 의한 substrate의 p-nitrophenol 생성능을 통해 α -glucosidase activity 저해능을 확인함.

RG1과 RG2 (100mg/mL)의 α -glucosidase activity 저해능은 18.39%와 18.13%로, Acarbose (8mg/mL)와 비교했을 때, α -glucosidase activity 저해효과가 낮음. (Table 2-1).

표 10. The effect of rice germ on α -glucosidase activity inhibition. ^a

Group	sample		
	RG1	RG2	Acarbose
Concentration (mg/mL)	100	100	8
α -glucosidase activity inhibition (%)	18.39 ± 1.55	18.13 ± 1.62	53.93 ± 0.45

^a %. The value is mean ± SE.

(2) Caco-2 cell을 이용하여 소장세포에서의 혈당 흡수 억제 활성 확인

탄수화물은 다양한 효소에 의해 포도당으로 분해되고, 소장의 상피세포에서 흡수되어 혈액을 통해 수송됨. 따라서 포도당이 소장에서 혈액으로 이동하는 경로를 저해하면 식후 혈당 상승 예방 효과를 기대할 수 있음. 인간의 소장세포주인 Caco-2 cell line을 이용하여 혈당 흡수 억제를 확인하여 항당뇨 효과를 확인하고자 함.

Caco-2 cell을 24 well plate에 2×10^5 CFU/well를 분주하여 48시간동안 배양함. 250 μ g/mL와 500 μ g/mL 농도의 쌀눈유산균발효추출물 RG1, RG2를 처리하고(RG1_250, RG1_500, RG2_250, RG2_500), 10mg/mL의 glucose(G10)를 처리하고 48시간 동안 배양함. Glucose(GO) assay kit (Sigma)를 이용하여 상층액에 남아있는 glucose의 양 (mg)을 측정함. 상층액에 glucose 양이 많을수록, Caco-2 cell에 의해 포도당이 흡수되지 않고 남아있는 포도당의 양이 많다는 것을 의미함. 즉 시료를 처리한 상층액에 존재하는 포도당의 양이 많을수록 시료가 소장세포에서 혈액으로의 포도당 흡수를 저해하여 식후 혈당 강하에 도움을 준다고 해석할 수 있음.

RG1_250을 제외하고 RG1_500은 0.043353mg, RG2_250은 0.044412mg, RG2_500은 0.048823mg으로, 이는 포도당 함량이 0.04053mg인 glucose 10mg/mL만 처리한 그룹(G10)에 비해 유의적으로 많은 양의 포도당이 존재하는 것을 확인함. 특히, RG2_500은 가장 많은 양의 glucose가 존재하므로 Caco-2 cell을 이용한 glucose uptake 저해에 가장 효과적임(Table 2-1).

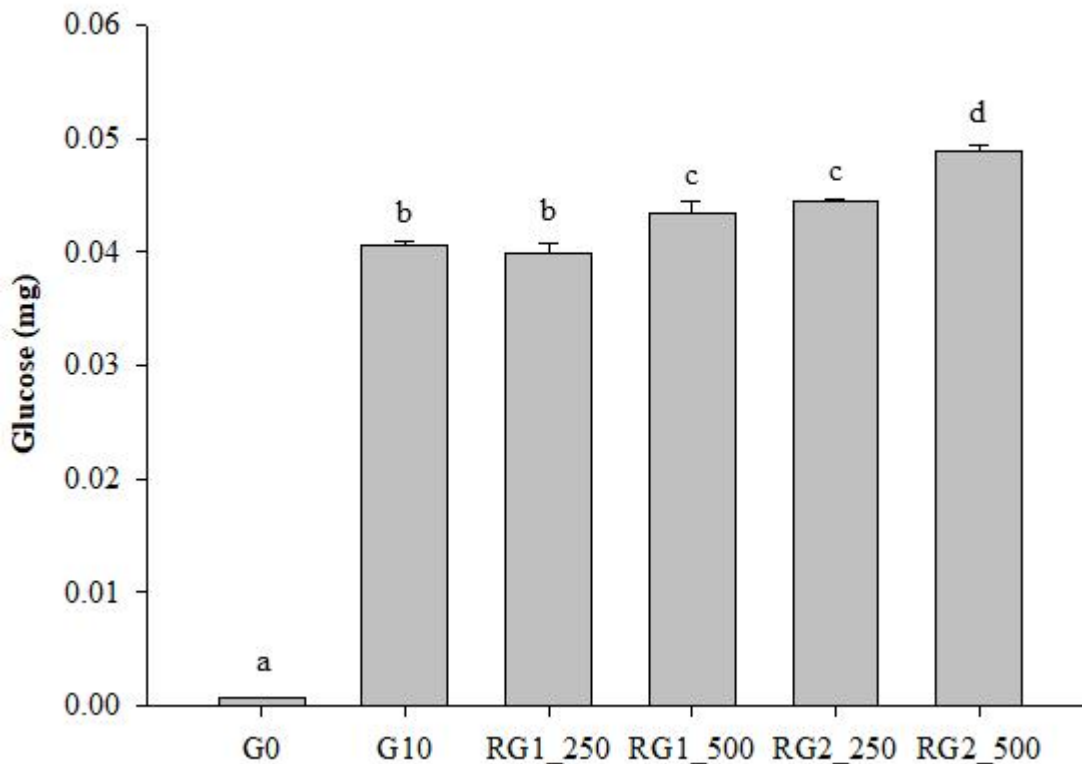


그림 7. Glucose uptake on Caco-2 cell. G0, glucose 0mg/mL; G10, glucose 10mg/mL; RG1_250, Treated RG1(250µg/mL) sample with Glucose 10mg/mL; RG1_500, Treated RG1(500µg/mL) sample with Glucose 10mg/mL; RG2_250, Treated RG2(250µg/mL) sample with Glucose 10mg/mL; RG2_500, Treated RG2(500µg/mL) sample with Glucose 10mg/mL. The values with different alphabets are significantly different at $P < 0.05$, as determined by Duncan's multiple range test.

(3) 3T3-L1을 이용한 glucose consumption 확인

지방조직은 인슐린 자극에 의한 포도당 수송체 (Glucose transporter 4)를 통해 혈액에 존재하는 포도당을 지방세포에서 이용하여 혈중 포도당 농도를 낮춤. 따라서 지방세포주인 마우스 유래 3T3-L1를 이용하여 지방세포의 포도당 이용률을 측정하여 인슐린 저항 개선을 알아보고자 함.

3T3-L1 cell을 6 well plate에 1×10^5 CFU/well을 분주하고 cell이 100% confluence한 상태가 될 때까지 배양함. 세포 분화를 유도하기 위해 insulin(10µg/mL), dexamethasone(1µM), 3-Isobutyl-1-methylxanthine(0.5mM)를 포함한 10% FBS DMEM 배지로 교환한 후, 6일동안 지방세포로 분화함. 지방세포를 insulin(10µg/mL)만 포함한 10% FBS DMEM 배지로 교환하여 4일동안 안정화 기간을 거침. 10% FBS, 1% sodium pyruvate, antibiotics가 포함된 glucose-free DMEM 배지로 바꿔준 후 쉐논유산균발효추출물(RG1_250, RG1_500, RG2_250, RG2_500)과 10mg/mL의 glucose(G10)를 처리하고 48시간 배양함. 상층액을 Glucose(GO) assay kit (Sigma)를 이용하여 포도당 함량(mg)을 측정하여 glucose consumption을 확인함. 상층액에 glucose가 적게 남아있을수록 3T3-L1에서 glucose의 이용률이 증가하여 지방세포에서의 당 대사에 효과적이라는 것을 확인할 수 있음.

RG1과 RG2 모두 3T3-L1 cell에서 glucose 이용률이 증가함. 특히 RG2_500은 G10에 비해 glucose가 15% 감소하여 가장 높은 glucose consumption을 보여줌. RG1과 RG2 모두 지방세포주인 3T3-L1 cell에서 glucose 이용률이 증가하여 인슐린 저항 효과가 있음을 확인함.

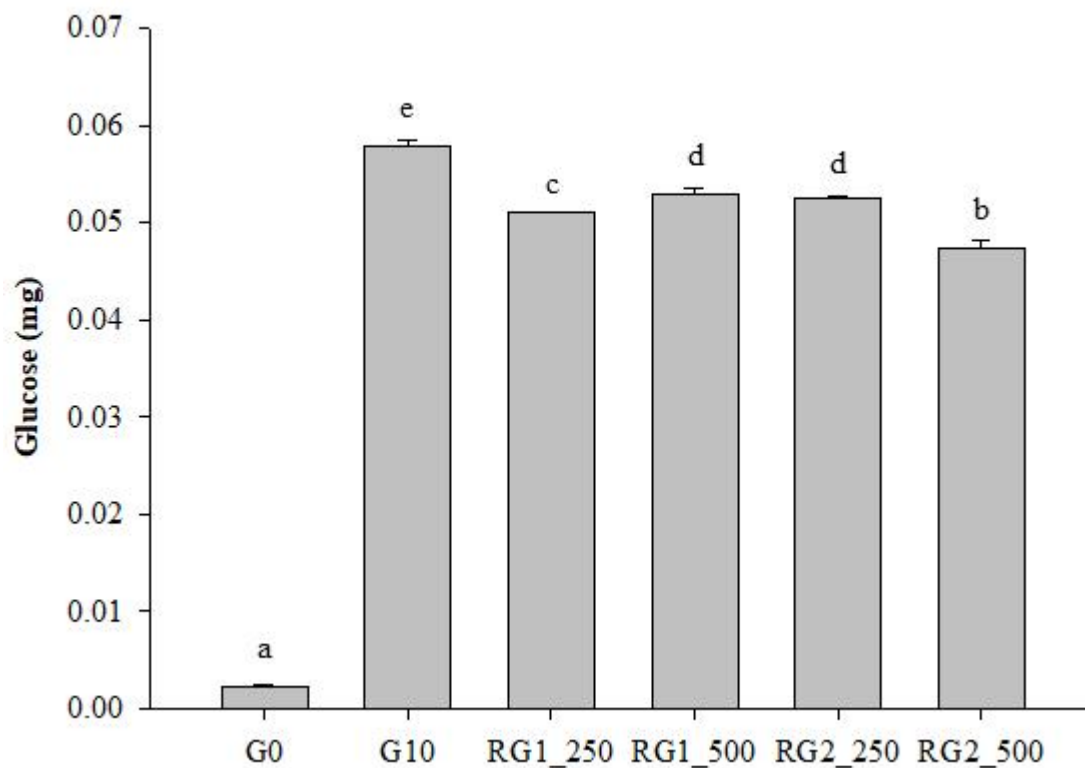


그림 8. Glucose uptake on 3T3-L1 cell. G0, glucose 0mg/mL; G10, glucose 10mg/mL; RG1_250, Treated RG1(250 μ g/mL) sample with Glucose 10mg/mL; RG1_500, Treated RG1(500 μ g/mL) sample with Glucose 10mg/mL; RG2_250, Treated RG2(250 μ g/mL) sample with Glucose 10mg/mL; RG2_500, Treated RG2(500 μ g/mL) sample with Glucose 10mg/mL. The values with different alphabets are significantly different at $P < 0.05$, as determined by Duncan's multiple range test.

다. 동물모델에서 쉘눈유산균발효추출물의 혈당상승억제 기능성 확인(in vivo 시험)

가. C57BL/6 동물모델을 이용한 단일투여 경구 당부하 실험

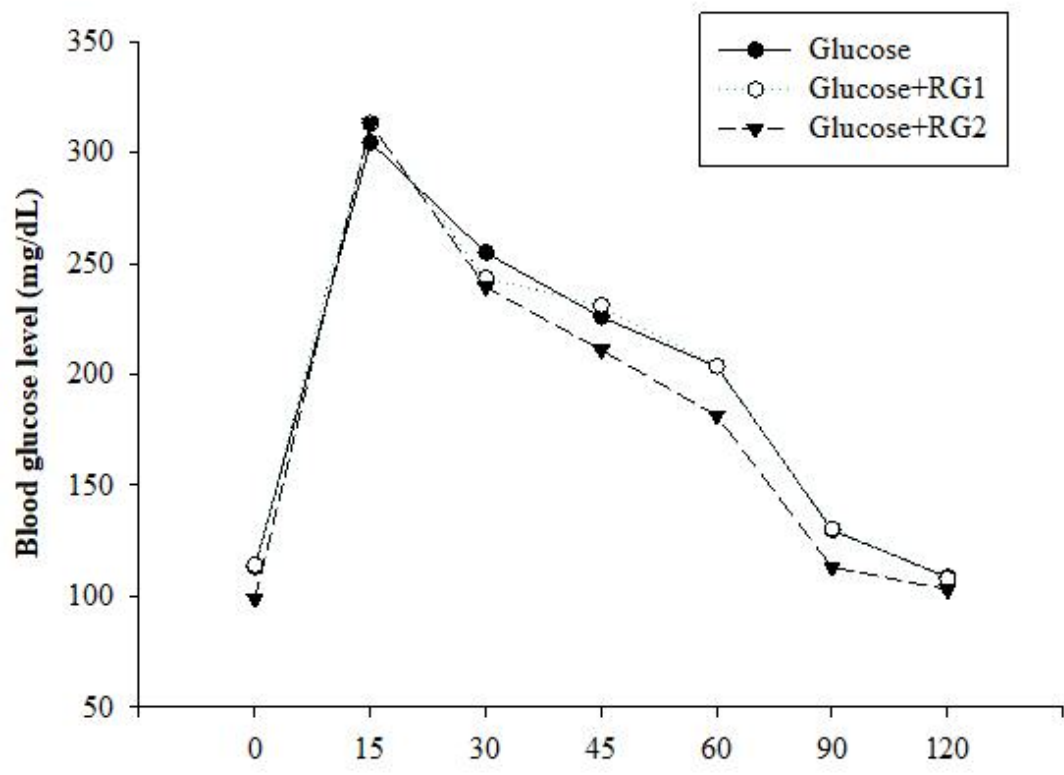
당뇨병으로 인해 나타나는 고혈당증은 포도당을 대사할 수 있는 능력이 저하되면서 나타남. 경구로 glucose를 투여한 후 시간별로 혈당을 측정하여 혈당 변화 수치를 그래프로 나타내어 혈당의 변화량을 확인함. AUC(area under curve)를 계산하여 시간별로 glucose에 의해 혈당이 증가했다가 감소하는 비율을 통해 내당능을 측정할 수 있음.

제2형 당뇨병 동물모델에서 쉘눈유산균추출물의 항당뇨 효과를 확인하기 전에, 같은 strain인 C57BL/6 mice를 이용하여 단일투여 경구 당부하 실험을 진행함. 이는 시료가 glucose, sucrose, maltose 중 어떤 시료가 어떤 형태의 당의 흡수에 작용하여 혈당 강하에 도움을 주는 지 확인하기 위해 실시함.

C57BL/6 mice를 각 군당 7마리씩 입수하여 일주일동안 순화과정을 거침. RG1과 RG2를 200mg/kg B.W.의 농도로 투여하고 2g/kg B.W. 농도의 glucose, sucrose, maltose를 각각 투여함. Group은 glucose, glucose+RG1, glucose+RG2, sucrose, sucrose+RG1, sucrose+RG2, maltose, maltose+RG1, maltose+RG2으로 분류했음. 시료를 먼저 경구 투여하고 당 투여 전, 당 투여 후 15min, 30min, 45min, 60min, 90min, 120min 동안 꼬리 정맥에서 채혈하여 혈당을 측정함.

모든 group은 15min에서 혈당이 가장 높았음. 15min 이후 혈당은 시간이 지남에 따라 감소하는 경향을 확인함. Glucose 투여군(Figure 3-1)을 비교하면, glucose+RG2군에서 다른 glucose를 투여한 군 보다 시간이 지남에 따라 혈당이 급격하게 낮아지는 것을 확인할 수 있음. AUC값에서도 glucose군에 비해 glucose+RG2군은 AUC 값이 유의적으로 6.68% 감소함. Sucrose 투여군(Figure 3-2)은 sucrose+RG1, sucrose+RG2군 모두 sucrose군 보다 AUC값이 감소하는 경향을 보였으나, sucrose+RG2군만이 sucrose군에 비해 유의적으로 AUC값이 7.53% 감소함. Maltose 투여군(Figure 3-3)은 (A)에서도 maltose를 투여한 다른 군에 비해 maltose+RG2군이 눈에 띄게 빠른 혈당 감소가 되었음을 확인할 수 있음. AUC값에서는 maltose군에 비해 maltose+RG1군은 AUC값이 증가했지만, maltose+RG2군은 감소했지만 유의차가 없음. 정상 mouse인 C57BL/6 mouse 모델에서 RG2 시료 투여로 인해 AUC값은 감소했고, 이는 당 (glucose) 흡수와 당(sucrose, maltose) 분해를 억제하여 혈당 강하 효과를 확인함.

(A)



(B)

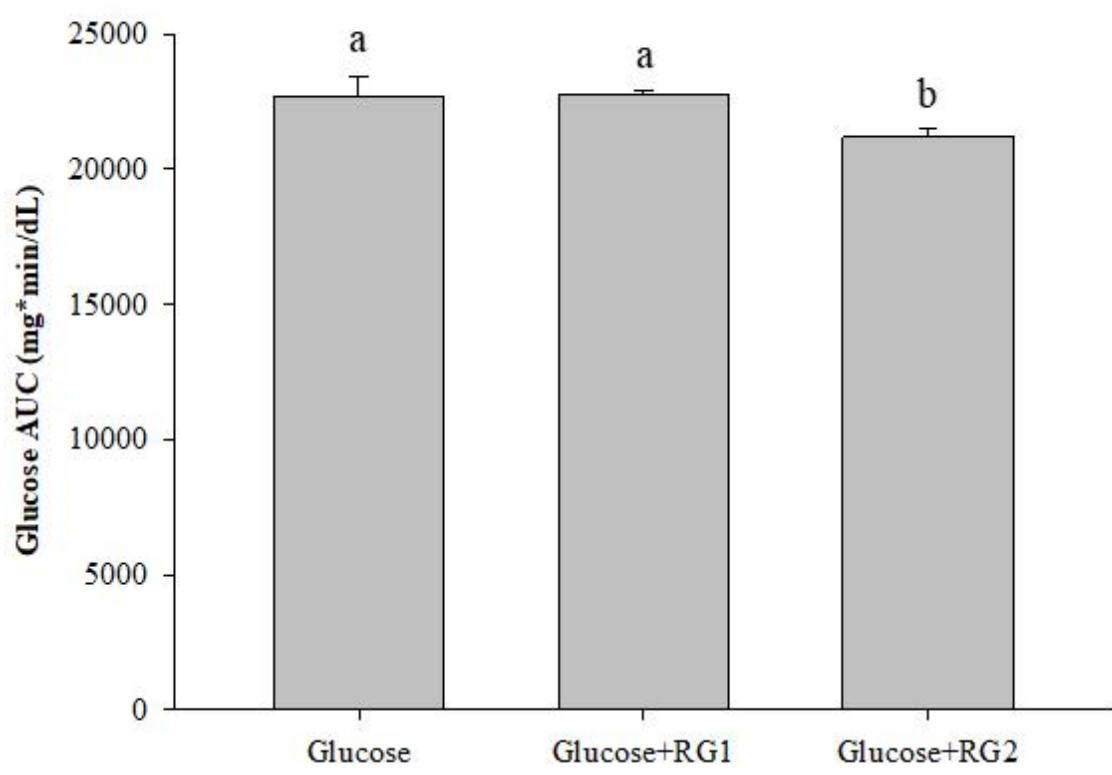
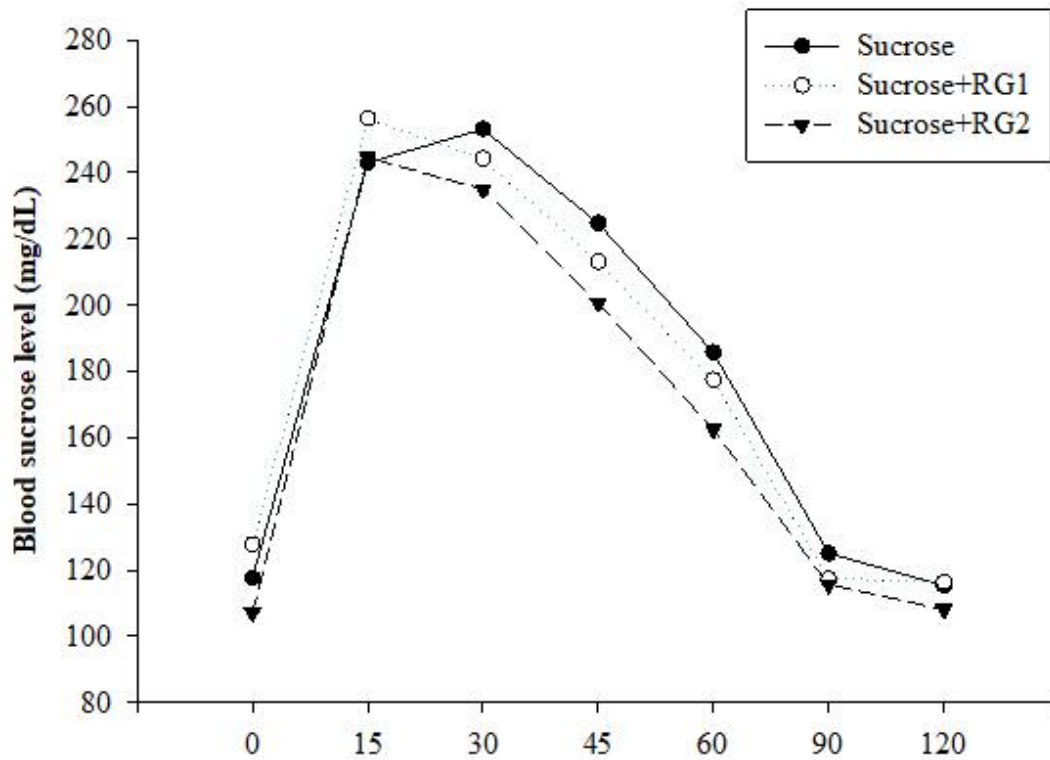


그림 9. Blood glucose level(A) and glucose AUC(B) after the oral glucose test(OGTT).
Glucose, glucose 2g/kg B.W.; Glucose+RG1, Treated RG1(200mg/kg B.W.) sample with
glucose 2g/kg B.W.; Glucose+RG2, Treated RG2(200mg/kg B.W.) sample with glucose
2g/kg B.W.

The values with different alphabets are significantly different at $P < 0.05$, as determined by
Duncan's multiple range test.

(A)



(B)

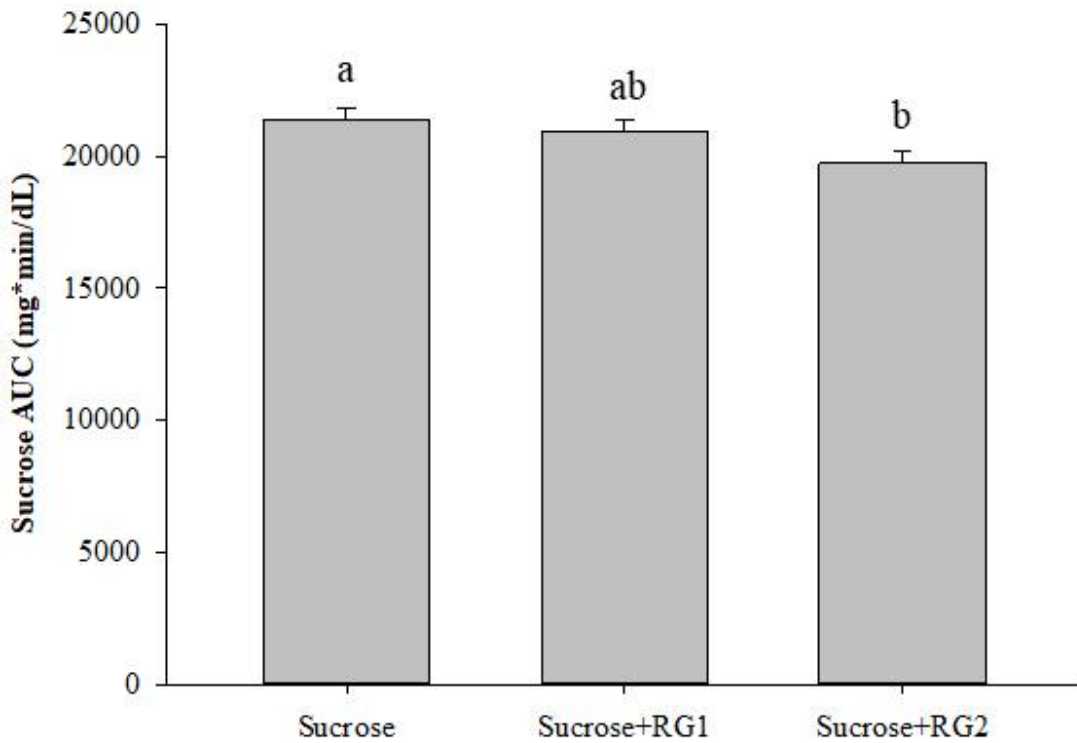
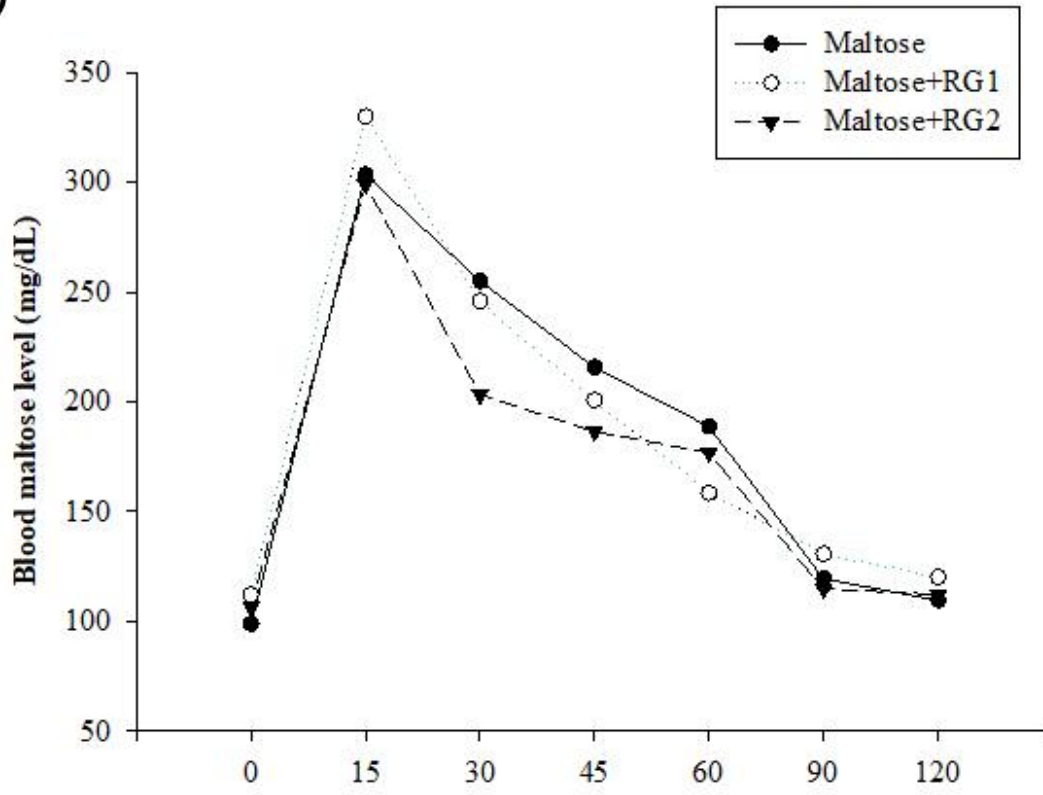


그림 10. Blood sucrose level(A) and sucrose AUC(B) after the oral sucrose test(OSTT). Sucrose, sucrose 2g/kg B.W.; Sucrose+RG1, Treated RG1(200mg/kg B.W.) sample with sucrose 2g/kg B.W.; Sucrose+RG2, Treated RG2(200mg/kg B.W.) sample with sucrose 2g/kg B.W.

The values with different alphabets are significantly different at $P < 0.05$, as determined by Duncan's multiple range test.

(A)



(B)

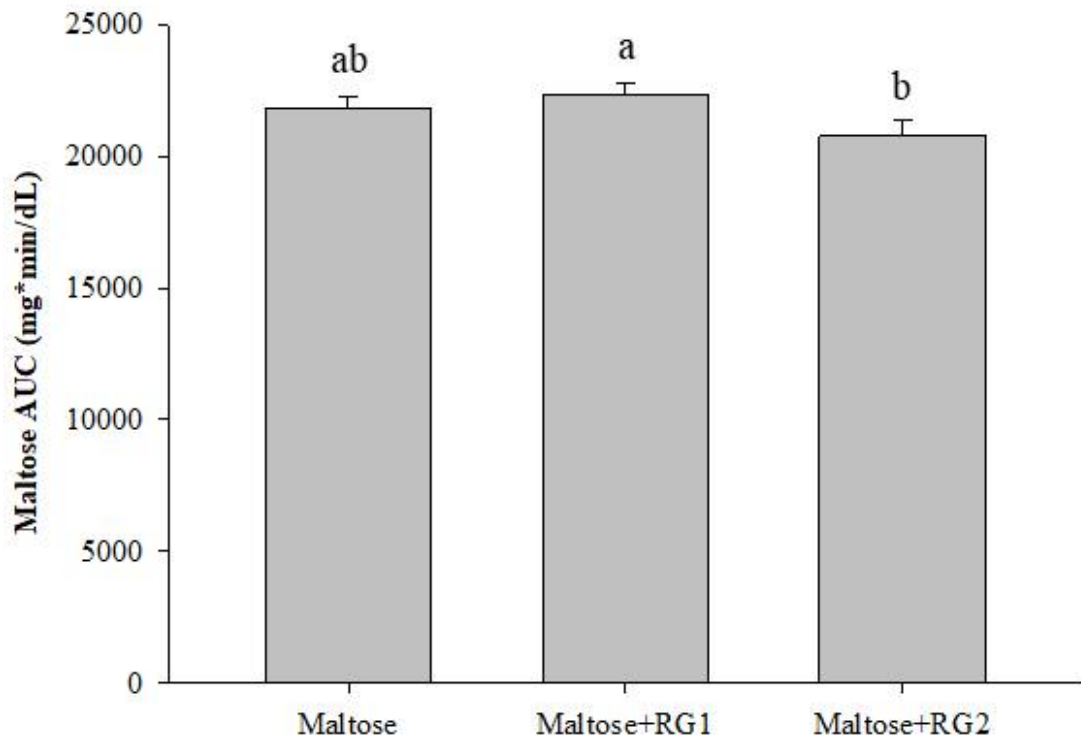


그림 11. Blood maltose level(A) and maltose AUC(B) after the oral maltose test(OMTT). Maltose, maltose 2g/kg B.W.; Maltose,+RG1, Treated RG1(200mg/kg B.W.) sample with maltose 2g/kg B.W.; Maltose,+RG2, Treated RG2(200mg/kg B.W.) sample with maltose 2g/kg B.W.

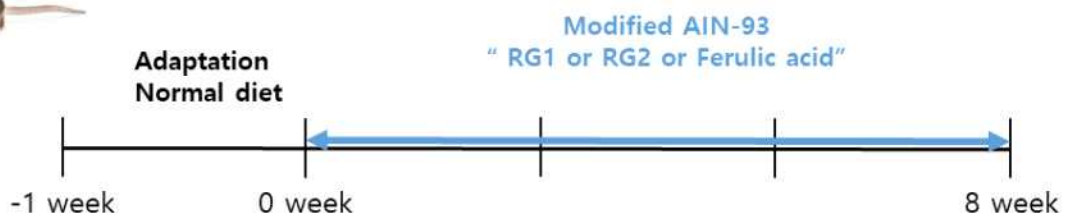
The values with different alphabets are significantly different at $P < 0.05$, as determined by Duncan's multiple range test.

(2) 제2형 당뇨병 동물모델(db/db mouse)을 이용한 in vivo 효능 평가

혈중 포도당은 췌장의 인슐린의 작용에 의해 대사됨. 그러나 당뇨병 유발시 정상적인 당대사 경로와는 달리 간에서 포도당 배출량이 증가되고 말초조직에서의 소비가 감소하면서 비정상적으로 혈중 포도당 농도가 높아질 수 있음. 혈중 포도당 농도가 올라가면 췌장의 베타세포에서 인슐린이 분비되고 인슐린의 도움으로 포도당은 근육 내에 들어가서 근육의 에너지원으로 쓰이거나 글리코젠 형태로 저장하게 됨. 또한 포도당이 간으로 들어가면 글리코젠, 지방, 단백질로 합성되는데 인슐린의 도움으로 근육과 간으로 포도당이 이동하면서 혈중 포도당 농도는 떨어지게 되고 인슐린의 분비는 감소하게 됨.

렙틴은 지방세포에서 분비되는 호르몬으로 식이섭취조절, 체중, 에너지소비와 신경내분비 기능을 조절함. 렙틴의 식욕억제 신호를 받아들이는 렙틴 수용체가 결핍되면 렙틴 수치가 증가함에도 불구하고 렙틴을 받아들이지 못해 식욕조절이 되지 않아 비만이 유도되고 당뇨병까지 연결됨. 렙틴 수용체 유전자를 형질전환된 db/db mouse 동물은 인슐린 저항성을 나타내며 현재 제2형 당뇨병 동물모델로 널리 사용되고 있음.

8주간 FA, RG1과 RG2를 섭취시키면서 2주에 한번 혈당을 측정하여 항당뇨 효과를 평가함. 식이는 기존의 AIN-93식이에 RG1, RG2는 250mg/kg, FA는 8.175mg/kg를 섞어 조제하여 시료를 매일 섭취하게 함. Group은 정상군인 db/+(db/+), 렙틴 수용체 유전자를 형질변환한 제2형 당뇨병 동물 모델인 db/db control군인(db/db), db/db+FA군(FA), db/db+RG1군(RG1), db/db+RG2군(RG2)으로 분류함.



(가) 체중변화에 대한 영향

- 0주에는 db/+군과 제2형 당뇨병 동물모델인 db/db, FA, RG1, RG2군간의 유의차만 보였음. 8주에는 db/db군에 비해 FA군에서만 4.82%의 체중이 감소함. RG1, RG2군에서는 db/db군과 비교하여 오히려 체중이 2.35%, 3.58% 증가함. 따라서 시료에 의한 체중감소 효과는 없음.

표 11. Change of body weight

Group	Body weight(g)	
	0 week	8 week
db/+	22.49 ± 0.76 ^b	27.66 ± 0.49 ^c
db/db	37.30 ± 0.33 ^a	50.78 ± 1.04 ^{ab}
FA	37.20 ± 0.70 ^a	48.34 ± 3.82 ^b
RG1	36.34 ± 1.77 ^a	51.98 ± 1.15 ^a
RG2	38.28 ± 1.15 ^a	52.60 ± 1.53 ^a

The values with different alphabets are significantly different at $P < 0.05$, as determined by Duncan's multiple range test.

(나) 조직무게에 대한 영향

mouse의 liver, Epididymal fat, kidney를 적출하여 무게를 측정함. db/db군의 liver 무게는 2.89g으로 db/+군에 비해 약 67.97% 증가함. FA군과 RG2군은 각각 2.58g, 2.69g으로 db/db군에 비해 liver 무게가 감소했으나 유의차는 없었음. RG1군은 2.4g으로 db/db군에 비해 유의적으로 liver 무게가 감소함. Epididymal fat은 db/+군에 비해 db/db군은 80.89% 증가했으나 FA군, RG1군, RG2군은 db/db군에 비해 감소했지만 유의적인 차이가 없었음. kidney는 모든 군에서 유의적인 차이가 나지 않음.

표 12. Organ weight

Group	liver (g)	Epididymal fat (g)	Kidney (g)
db/+	0.93 ± 0.03 ^c	0.54 ± 0.05 ^b	0.30 ± 0.00 ^a
db/db	2.89 ± 0.13 ^a	2.81 ± 0.09 ^a	0.35 ± 0.02 ^a
FA	2.58 ± 0.11 ^{ab}	2.70 ± 0.11 ^a	0.35 ± 0.02 ^a
RG1	2.40 ± 0.12 ^b	2.61 ± 0.23 ^a	0.30 ± 0.00 ^a
RG2	2.69 ± 0.16 ^{ab}	2.44 ± 0.07 ^a	0.33 ± 0.03 ^a

The values with different alphabets are significantly different at $P < 0.05$, as determined by Duncan's multiple range test.

(다) 혈당 (Blood Glucose level) 측정

쌀눈유산균발효추출물의 혈당 강하 효과를 확인하기 위해 2주에 한번 공복상태인 mouse의 꼬리정맥에서 채혈하여 혈당을 측정함. 1주차에는 모든 군이 유의적인 차이가 없었음. 3주차에는 db/db군에 비해 FA군, RG1군과 RG2군에서 모두 15.44%, 25.71%, 29.68% 감소함. 특히 RG1군과 RG2군은 db/db군에 대해 유의적으로 감소함. 5주차는 FA군, RG1군, RG2군이 388.5mg/dl, 340mg/dl, 372mg/dl으로 모두 db/db군에 비하여 유의적으로 감소함. 마지막 8주차에는 db/db군과 비교하여 혈당이 모두 감소했지만, RG1군만이 유의적으로 감소한 것을 확인함. 8주차에는 지표성분인 FA군보다 RG1, RG2군에서 더 높은 혈당 강하 효과가 있다고 판단할 수 있음.

표 13. Blood glucose level of mice

Group	Blood Glucose (mg/dL)			
	1 week	3 week	5 week	8 week
db/+	131.25 ± 10.65 ^a	132.25 ± 6.23 ^c	116.38 ± 7.23 ^a	158.75 ± 4.57 ^c
db/db	165.13 ± 13.26 ^a	371.50 ± 28.39 ^a	427.00 ± 35.04 ^b	547.63 ± 18.95 ^a
FA	169.63 ± 19.49 ^a	314.13 ± 28.72 ^{ab}	388.50 ± 33.59 ^a	535.25 ± 24.32 ^{ab}
RG1	165.88 ± 12.61 ^a	276.00 ± 29.74 ^b	340.00 ± 37.84 ^a	479.88 ± 29.51 ^b
RG2	168.00 ± 13.30 ^a	261.25 ± 25.64 ^b	372.00 ± 41.83 ^a	519.88 ± 20.71 ^{ab}

The values with different alphabets are significantly different at $P < 0.05$, as determined by Duncan's multiple range test.

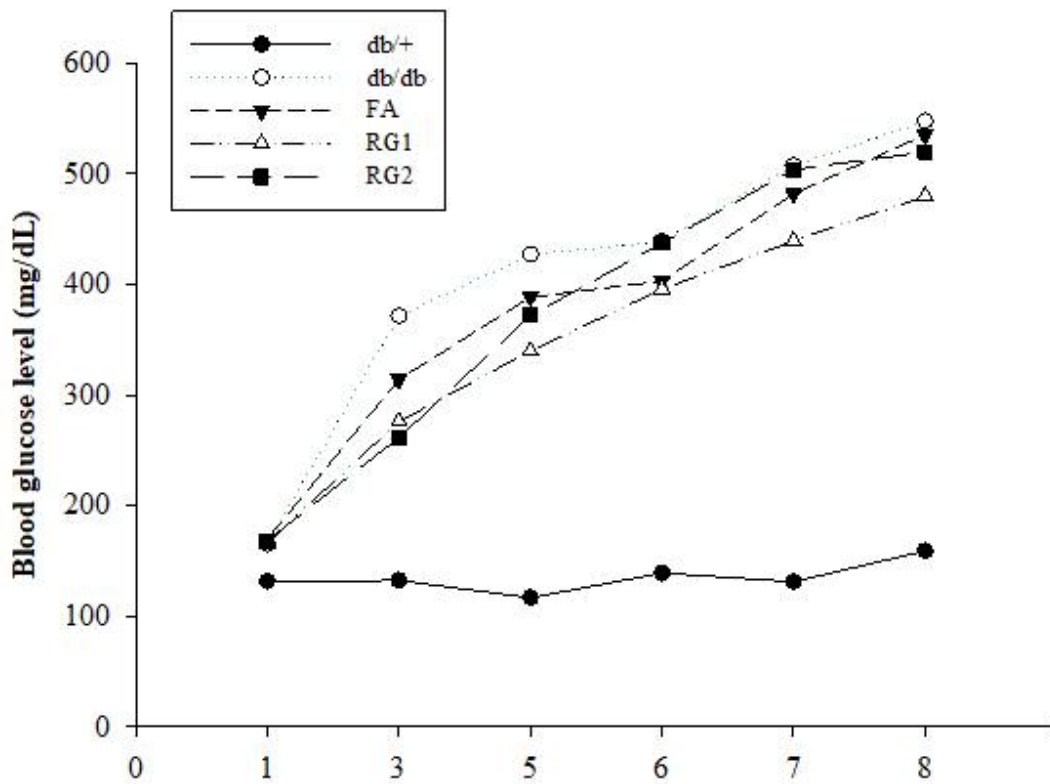


그림 12. Blood glucose level for 8 weeks.

(라) 경구 당부하 (OGTT) 측정

공복혈당을 측정하기 위해 14시간 절식하여, mouse에게 경구로 2g/kg B.W.의 glucose를 투여한 후, 시간별로 혈당 변화량을 확인함(OGTT). db/db군과 비교할 때, FA군에서 AUC값이 3.64% 감소했지만, 유의적인 차이는 없었음. 반면에 RG1군은 AUC값이 유의적으로 감소함. RG2군은 db/db군에 비해 OGTT에서는 AUC값이 증가하는 경향을 보임. 제2형 당뇨병 동물모델인 db/db mouse에서 RG1에 의해 AUC값이 유의적으로 감소했고, 이는 RG1이 당흡수를 저해하여 혈당 강하에 효과가 있음을 의미함.

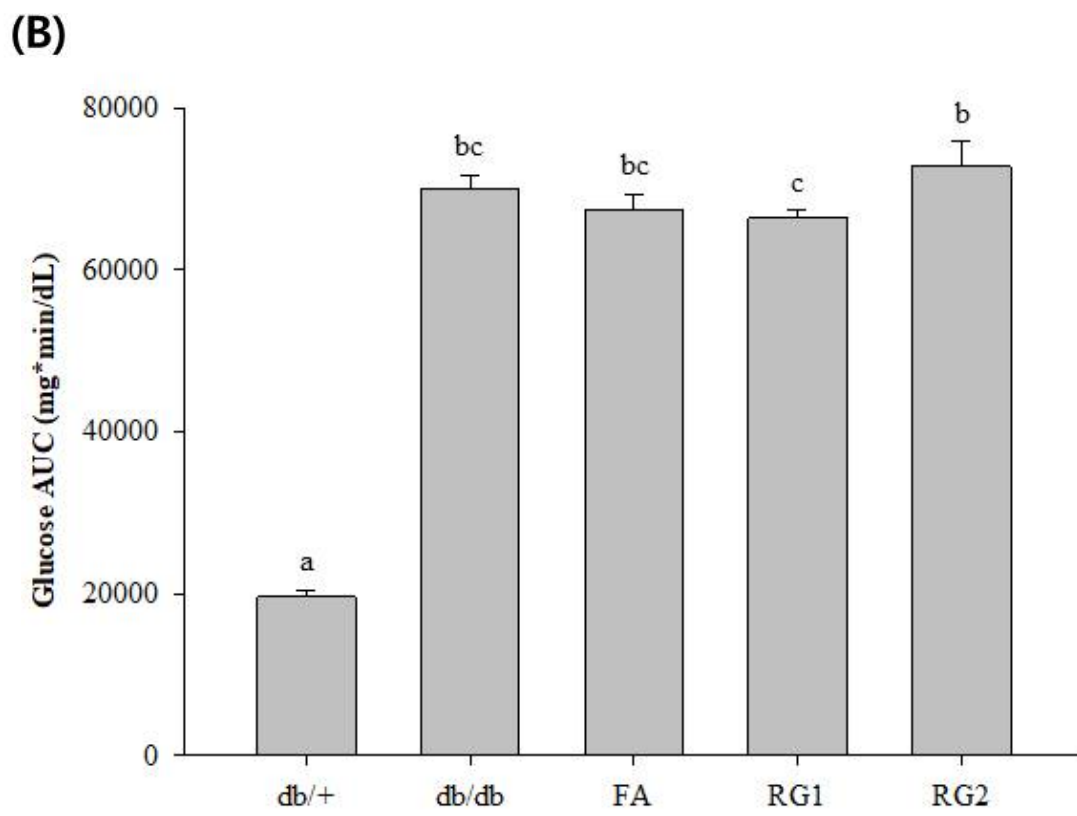
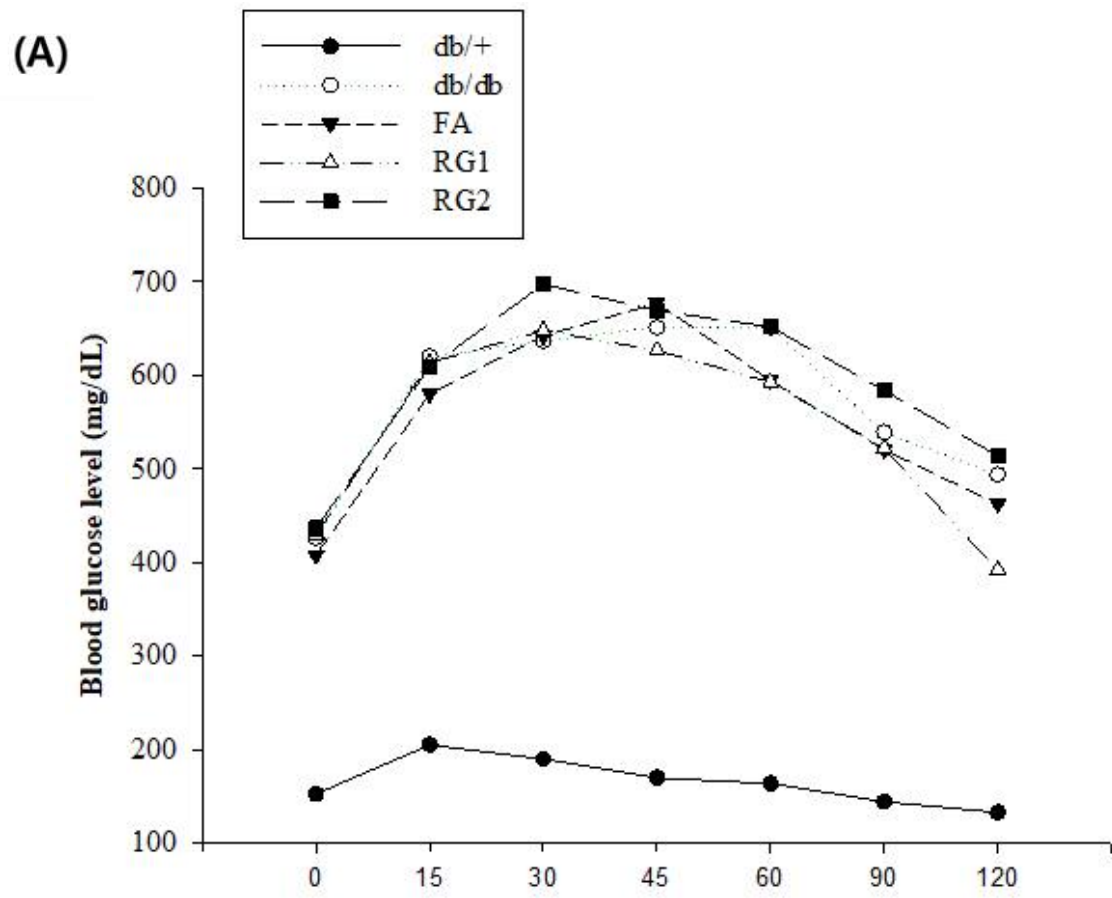


그림 13. Blood glucose level(A) and glucose AUC(B) after the oral glucose test(OGTT). Glucose, glucose 2g/kg B.W.; Glucose+RG1, Treated RG1(200mg/kg B.W.) sample with glucose 2g/kg B.W.; Glucose+RG2, Treated RG2(200mg/kg B.W.) sample with glucose 2g/kg B.W.

The values with different alphabets are significantly different at $P < 0.05$, as determined by Duncan's multiple range test.

(마) Plasma insulin level 측정

인슐린은 당 대사를 조절하는 호르몬으로, 혈중 포도당 농도가 높아지면 췌장의 베타세포에서 인슐린이 분비되고 인슐린의 도움으로 포도당은 근육으로 들어가거나 간에서 글리코겐 형태로 저장됨. 그 결과 혈중 포도당 농도는 떨어지게 되고 인슐린 분비는 감소하게 됨. 따라서 췌장에서 정상적인 인슐린 분비가 일어나지 못하게 되면 체내의 혈당을 조절하지 못하게 됨. 또한 췌장에서 인슐린 분비는 정상적으로 이루어지나, 말초조직에서의 인슐린저항성이 일어나 당을 대사하지 못하게 되면 혈중에 인슐린 농도가 높아지는 고인슐린혈증이 발생함.

Mouse 희생 시, 혈액을 EDTA tube에 수집 후, Plasma를 분리하여 LBIS mouse insulin ELISA Kit(FUJIFILM Wako Shibayagi)를 이용해 insulin농도를 측정함. 인슐린 저항성을 확인하기 위해 혈중 인슐린 농도를 측정하였으나, db/db군(0.86ng/dL)에 비해 FA, RG1, RG2군의 혈중 인슐린 농도는 1.07ng/dL, 3.04ng/dL, 3.79ng/dL으로 더 높게 측정됨.

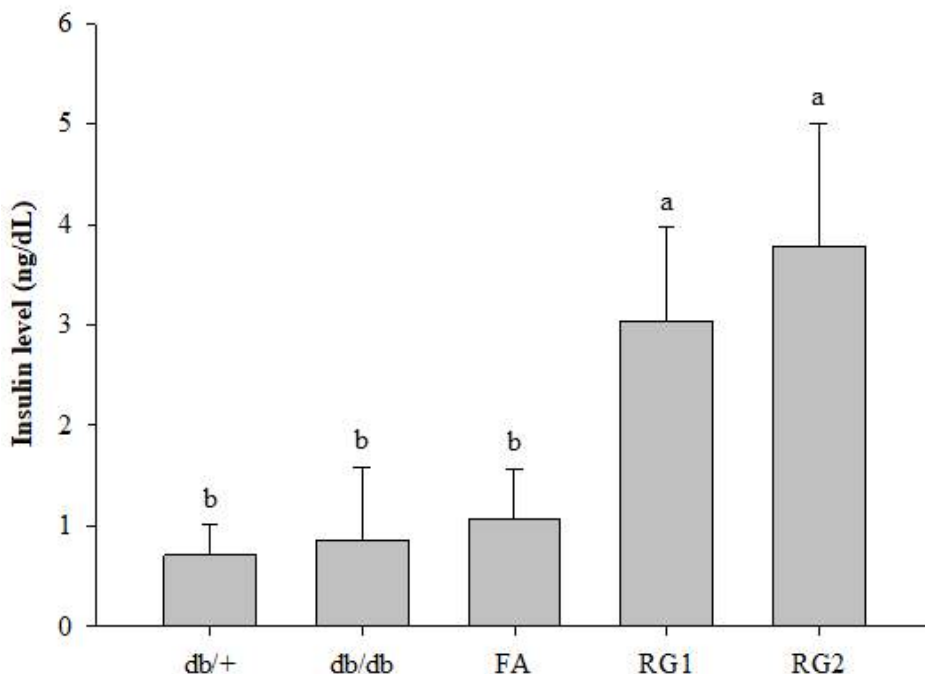


그림 14. Plasma insulin level.

The values with different alphabets are significantly different at $P < 0.05$, as determined by Duncan's multiple range test.

(바) 췌장조직에서 insulin level 측정

췌장에서 정상적인 인슐린 분비가 일어나지 못하면, 체내의 혈당을 조절하지 못하게 됨. 따라서 항당뇨 효과를 확인하기 위해 췌장 인슐린을 측정하여 췌장에서의 인슐린 분비능력을 확인할 수 있음. 췌장에서의 인슐린 농도가 높으면 인슐린 분비능이 개선되어 항당뇨 효과를 기대할 수 있음.

db/+군과 db/db군을 비교했을 때, db/+군이 췌장에 인슐린이 현저히 높은 농도로 존재함. db/db군은 27.07 $\mu\text{g/g}$ pancreas, FA군, RG1군, RG2군은 각각 31.29 $\mu\text{g/g}$ pancreas, 36.66 $\mu\text{g/g}$ pancreas, 24.05 $\mu\text{g/g}$ pancreas임. FA군, RG1군은 모두 db/db군에 비해 췌장에서의 인슐린은 증가했지만, 유의차는 없음.

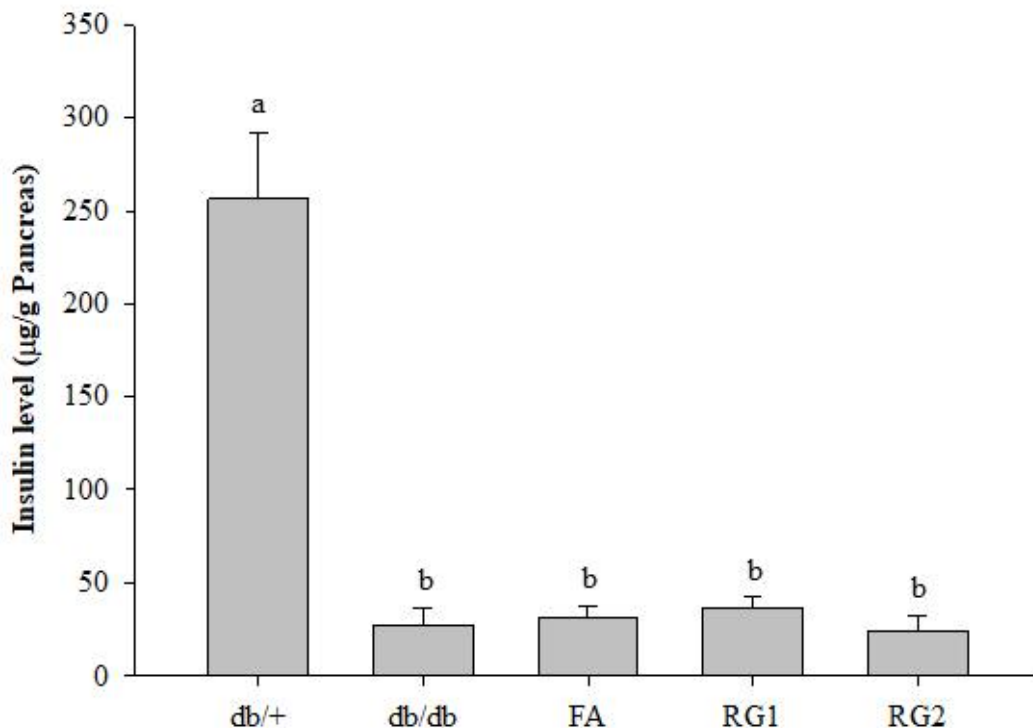


그림 15. Insulin level in pancreas.

The values with different alphabets are significantly different at $P < 0.05$, as determined by Duncan's multiple range test.

(사) Hepatic glycogen 측정

췌장에서 인슐린은 분비하여 혈액에서 간과 근육세포 내로 포도당을 흡수하여 글리코겐의 형태로 포도당을 저장하여 혈중 포도당 농도를 낮추는 역할을 함. 글리코겐은 스트레스를 많이 받거나 저혈당 상태, 또는 소화를 보조하기 위해 분해되어 포도당으로 사용됨.

제2형 당뇨병에서 포도당의 산화적 대사가 감소하면서 췌장에서 인슐린 분비를 감소시킴. 이로 인해 포도당은 계속 세포 내로 들어오게 되고, GK에 의해 포도당은 Glucose-6-phosphate로 전환됨. Glucose-6-phosphate가 증가하게 되면 글리코겐 축적이 증가하게 됨. 즉, 고혈당증은 글리코겐 합성에 관여하는 주요 유전자 발현을 증가시킴. 지속적인 글리코겐 축적은 세포사멸까지 이르러 세포의 기능을 저해함.

db/db군(72.30mg/g liver)에 비해 db/+군(2.33mg/g liver)이 간 조직의 글리코겐 양이 유의적으로 낮음. FA군은 70.97mg/g liver, RG1군은 72.01mg/g liver, RG2군은 56.07mg/g liver으로, FA군과 RG2군은 db/db군에 비해 글리코겐 양이 감소했고, RG1군은 글리코겐 양이 증가했으나, 모두 유의적인 차이는 없었음.

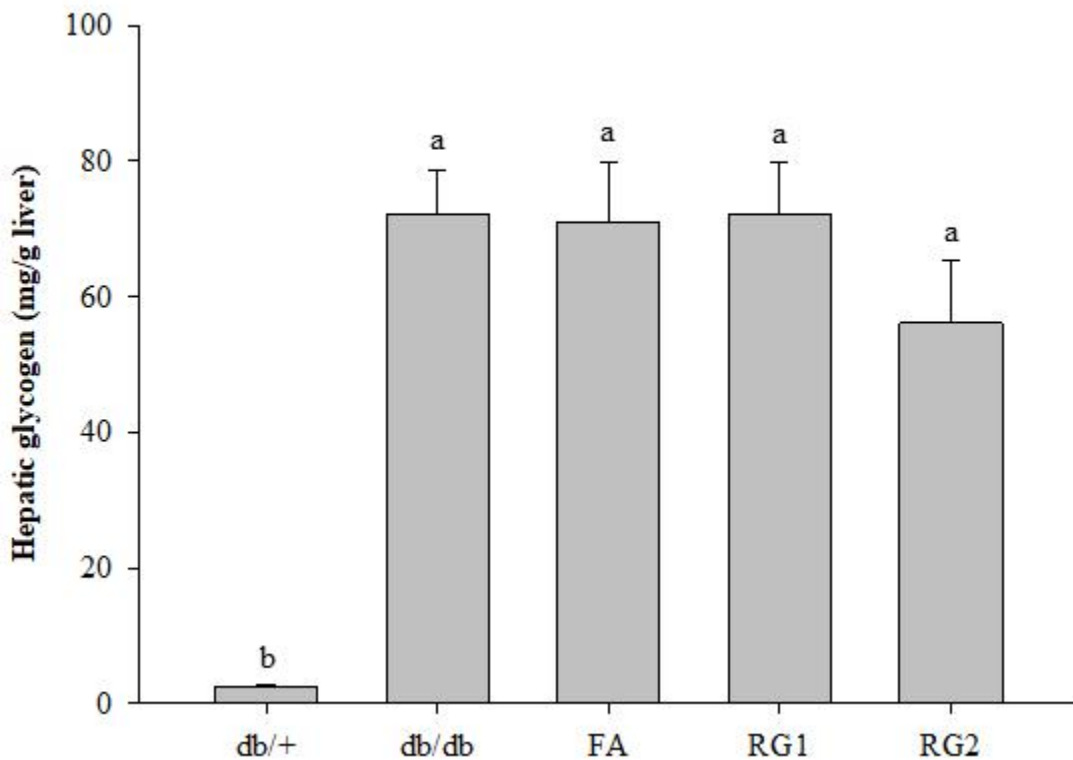


그림 16. Hepatic glycogen content.

The values with different alphabets are significantly different at $P < 0.05$, as determined by Duncan's multiple range test.

(아) 간 조직에서 당대사 관련 mRNA 유전자 발현 측정

혈중 포도당 수준의 의해 조직 내에서는 해당과정 또는 당 신생과정을 진행함. 조직 내 포도당이 부족할 때 간 조직에서 글리코겐 분해, 당 신생작용을 진행하게 됨. 당 신생 작용 시, Phosphoenolpyruvate carboxykinas(PEPCK), glucose-6-phosphatase(G-6Pase)가 핵심 기전요소로 작용함. 당을 에너지로 사용하기 위한 해당과정에서는 glucokinase(GK)가 핵심요소로 작용함.

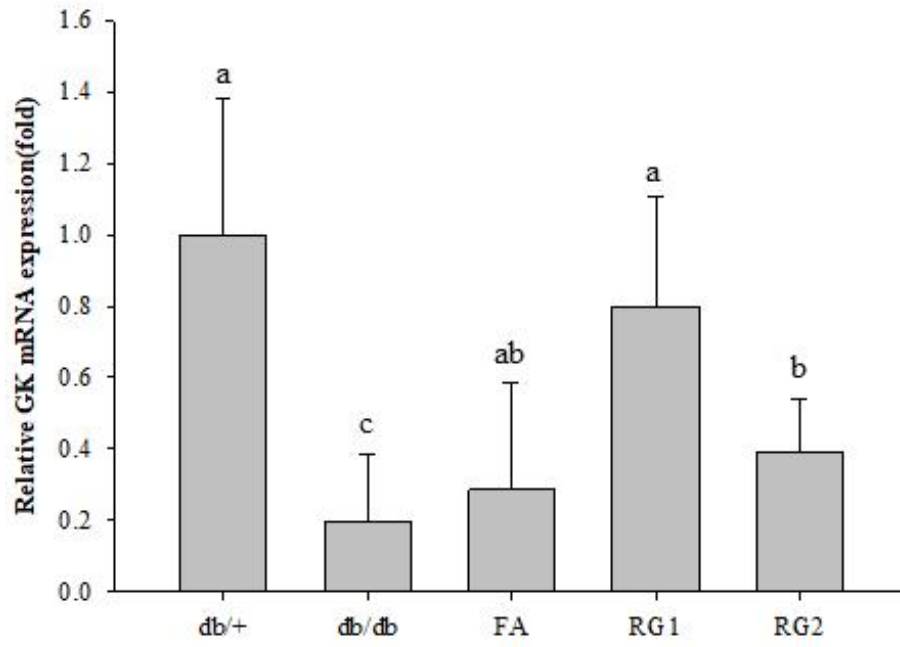
GK는 췌장의 베타세포와 간세포에 존재하며, 간에서는 glucose를 인산화시켜 Glucose-6-phosphate를 증가시킴. 이는 glycogen합성 과정을 활성화시켜 간에서 glucose 합성을 감소시키는 효소임. 따라서, 간 조직에서 GK의 유전자 발현양이 증가하면 간에서 해당과정을 증가로 인해 glucose 합성을 감소시켜 제2형 당뇨병을 개선함.

G6Pase는 간에서 해당과정과 당 신생과정을 거치면 최종 단계에 생성되는 Glucose-6-phosphate를 glucose로 가수분해 하는 역할을 함. 기아나 당뇨상태에서는 G6Pase의 발현과 활성이 증가되며 인슐린 분비에 영향을 주어 혈중 glucose 농도를 유지하는데 어려움이 있음.

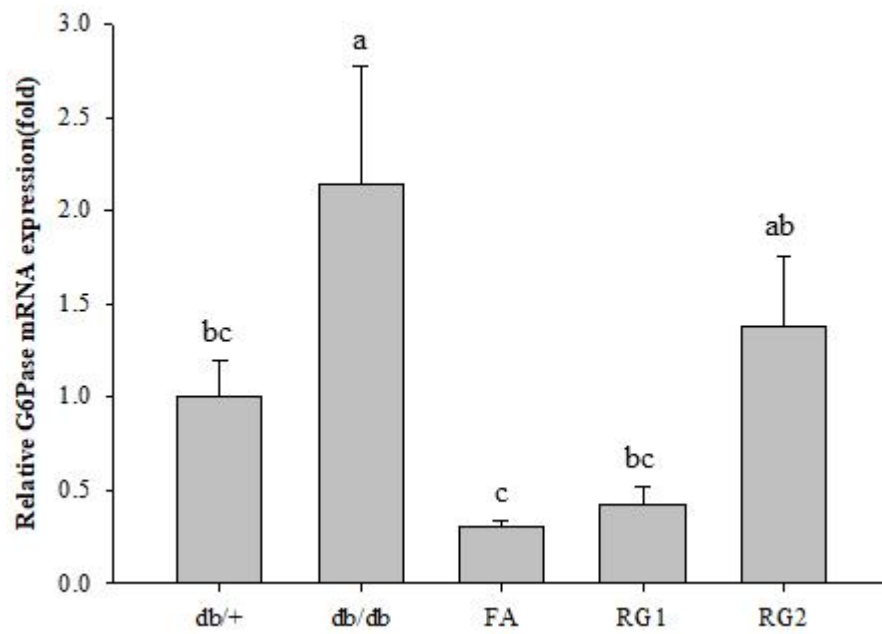
- PEPCK는 당 신생과정에 작용하는 효소로, 조직 내 포도당이 부족하게 되면 간에 존재하는 글리코겐을 분해하여 당 신생과정이 진행됨. pyruvate를 phosphenol pyruvae(PEP)로 전환할 때 PEPCK 효소가 작용하면서, 당 신생 작용 시 PEPCK효소는 증가함.

(A)에서 db/+군에 비해 db/db군에서 유의적으로 GK 유전자 발현양이 감소함. FA군, RG1군, RG2군 모두 db/db군에 비해 GK 유전자 발현이 증가했고, RG1과 RG2는 유의적으로 증가함. 특히, RG1군에서의 GK유전자는 db/+군만큼 회복됨. (B)에서는 db/+군과 비교하여 db/db군은 유의적으로 G6Pase 유전자 발현이 증가했고, FA군, RG1군, RG2군 모두 db/db군보다 G6Pase 유전자 발현양이 감소함. 특히 FA군과 RG1은 db/db군에 비해 유의적으로 감소함. (C)에서는 db/db군이 db/+군에 대해 PEPCK 발현은 유의적으로 증가했고, FA군, RG1군, RG2군 끼리는 유의적인 차이는 없지만 db/+군보다 더 낮은 PEPCK 유전자가 발현됨. 따라서, RG1군에서는 해당작용에 관여하는 효소인 GK 유전자의 발현이 증가했고, 당 신생과정과 관련된 G6Pase와 PEPCK 유전자 발현이 감소한 것으로 보아 RG1 시료가 당 대사에 관여하여 혈중 glucose 농도를 조절에 의한 혈당 상승을 억제했음.

(A)



(B)



(c)

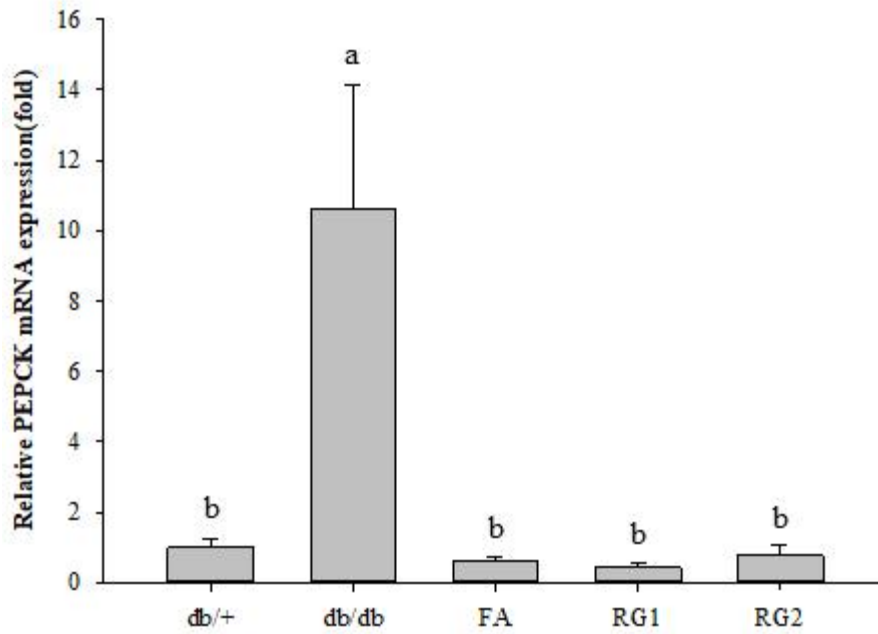


그림 17. The mRNA expression levels of (A)GK, (B)G6Pase and (C)PEPCK genes in liver tissue of the mice. The fold changes value was calculated by GAPDH gene expression. The values with different alphabets are significantly different at $P < 0.05$, as determined by Duncan's multiple range test.

3절. 연구결과

1. 기술적 성과

- 쌀눈발효물로부터 혈당상승 억제 효능관련 최초로 근기 확보.

국내 쌀부산물 산업은 주로 사료쪽으로 유통이 집중되어 있으며, 식품 또는 건강기능식품 등 식품바이오 소재, 식품 등으로 상품화 출시 실적은 그리 많지 않다. 특히, 미강의 효능에 대해서 지속적으로 많은 연구가 진행되었고, 감마오리자놀, GABA, 옥타코사놀 등 항산화물질들이 미강에서 분리되어 상품화 된 사례가 있으나, 국산 미강으로 제작한 것이 아니라 일본 등 해외에서 생산된 사례가 있을뿐이다.

일본의 미강전문 소재기업 Tsuno사와 Oryza Fat & Oil 사에서는 미강으로부터 페룰산, 피틴산, 이노시톨 등 기능성 성분을 추출하여 상품화하고 있으며 관련 시장규모도 연간 10억 엔 대에 육박하는 수준이다.

해외에서는 비교적 활발히 미강 또는 쌀눈 유래 기능성 소재 제품이 판매되고 있으나, 국내에서는 상품화와 연결될 수 있는 양산 기술이 발명되지 못하여 수입 제품에 대응하여 경쟁할 수 있는 상품이 없는 실정이다. 최근 (주)에스엔디에서는 미강으로부터 수면유도할 수 있는 물질을 추출하고 식약처로부터 개별인정형 건강기능식품 소재 인증을 획득하여 상품화한 사례가 있다.

쌀눈의 페룰산을 지표성분으로 하는 건강기능성 소재가 출시된 적이 없어 타 소재와 직접 비교는 어려우나 현재 혈당 상승 억제용도로서 바나바추출물, 홍경천등복합추출물 등이 식약처 원료 목록에 등록되어 있어 향후 임상 시험 결과를 확보하게 되면 이들 소재와 직접적인 효능비교가 가능할 것으로 예상된다.

2. 경제적성과

- 쌀눈의 고부가가치화는 당 조합법인 수익성 개선에 필수적인 사업.

그동안 사료용도로 저렴하게 처리되던 미강으로부터 쌀눈을 개발생산하여 건강에 도움이 되는 식품으로 판매되어 왔는데, 상품성의 부족으로 쌀눈 판매증가 추세가 정체상태이다. 이때, 쌀눈에서 혈당억제효능을 갖는 기능성 소재를 생산한다면, 고부가가치 수익을 확보할 수 있어 법인의 매출 신장 및 이익구조 개선 등 긍정적인 효과를 예상할 수 있다.

추출물 생산에는 대량의 쌀눈 생산이 필요한바 유희라인의 가동률을 올리는 등의 생산성 향상 효과를 기대할 수 있으며, 경쟁 쌀눈 업체는 영세하여 연구개발을 통한 바이오소재화를 진행할 수 없는 바, 시장 점유율을 획기적으로 향상시킬 수 있을 것으로 생각된다.

성공적인 쌀눈 기능성소재 상품화를 위해 연구 및 품질관리, 마케팅영업 인력 추가 고용도 고려할 수 있는 만큼 지역 고용률 향상에 기여가능할 것이다.

무엇보다도 쌀눈으로부터 기능성 바이오소재를 생산할 경우 전국의 미곡종합처리장(RPC) 및 쌀산업 관련 업체에 긍정적인 영향을 주어 쌀산업의 사업성 개선에 이바지 가능할 것으로 예상된다. 또한 당 조합법인의 조합원 들인 쌀재배 농민들에게 보다 안정적인 수익배분을 할 수 있어 농가소득 및 지역경제 소득 증대에 이바지할 수 있을 것이다.

3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도

3-1. 목표

○ 주관연구기관(청원생명농협쌀공동사업법인) : 기능성 쌀눈발효소재의 생산 및 사업화

1) 항산화효능을 갖는 쌀눈발효소재 개발 : 상품화 1건(품목제조보고 1건 완료)

: 현재 당 조합법인에서 생산하고 있는 쌀눈을 유산균, 청국장균을 포함한 유익균들의 액상 발효를 통해 기능성 쌀눈발효농축액을 생산함.

2) 혈당강하효능을 갖는 쌀눈발효소재를 활용한 기능성식품 개발 : 총 3종 (각 제품별 식품품목제조보고 완료)

○ 협동연구기관(서울과학기술대학교 산학협력단): 동물실험모델을 통한 쌀눈 발효농축액 소재의 혈당상승 억제 기능성 검증

: 논문 게재 신청 1건

○ 평가의 착안점 및 기준

: 연구성과 평가는 다음 항목에 따라 평가

평가항목	기 준	가중치(%)	근거
○ 기능성 쌀눈발효소재 개발	식품품목제조보고 완료 - 표준제조공정도 작성 - 자가품질시험성적서	20	국내 최초
○ 기능성 쌀눈발효소재 응용상품 개발	식품품목제조보고 완료(3건)	20	국내 최초
○ 혈당상승억제 동물실험 후 효능근기 확보	논문 게재 신청 : 1건	20	국내 최초
○ 개발된 쌀눈발효페이스트 제품의 영양성분분석	영양성분시험성적서 확보 - 식약처 공인시험분석기관 성적서	20	국내 최초
○ 쌀눈발효소재의 지적재산권 확보	개발된 제품의 특허출원	20	국내 최초

- 기능성 쌀눈발효소재 및 응용상품 개발의 평가는 이 제품들이 모두 식품유형이므로 식품 유형에 맞는 식품품목제조보고서를 작성하고 공장소재지의 해당 관청부서에 신고완료함으로써 개발완료된 것으로 평가함.

: 이때 표준제조공정도 및 자가품질시험성적서를 작성첨부하여 향후 생산 및 품질관리가 완벽히 수행될 수 있도록 함.

- 혈당상승억제 동물실험 근기 확보 항목은 KCI급 저널에 논문게재 신청을 하는 것으로 평가함.

- 개발된 쌀눈발효페이스트 제품은 마케팅을 위해 지표성분 및 영양성분의 분석자료가 있어야 함. 따라서, 식품의약품안전처에서 공인하는 공인시험기관에 9대영양소 및 지표성분에 대

한 함량분석을 의뢰하고 공인시험성적서를 발급받아 확보하는 것으로 평가함.

- 쌀눈발효소재는 제조공정에 대한 특허를 출원하는 것으로 지적재산권을 확보할 수 있으므로, 특허출원 여부로 달성여부를 평가함.

(단위 : 건수, 백만원, 명)

성과목표	사업화지표										연구기반지표1									
	지식재산권			기술실시(이전)		사업화					기술인증	학술성과				교육지도	인력양성	정책활용·홍보		기타(타연구활용등)
	특허출원	특허등록	품종등록	건수	기술료	제품화	매출액	수출액	고용창출	투자유치		논문		논문평균IF	학술발표			정책활용	홍보진시	
											SC I	비SC I								
단위	건	건	건	건	백만원	건	백만원	백만원	명	백만원	건	건	건	명	건	건				
가중치	20	0		20		20			10						10		10	10		
최종목표	1	1		1		1	300		1			1			1		1	1		
1차년도	1			1		1			1						1		1	1		
2차년도																				
소 계	1			1		1			1			0			1		1	1		
종료 1차년도												1								
종료 2차년도		1					300													
종료 3차년도																				
종료 4차년도																				
종료 5차년도																				
소 계		1				1	300		1			1								
합 계	1	1		1		1	300		1			1			1		1	1		

3-2. 목표 달성여부

○ 기능성 쌀눈발효 소재 개발 항목(가중치 : 20%)

식품품목제조보고 완료함(제품명 : 쌀눈발효추출농축액)

: 주관기관에 직접 생산할 수 있는 시설을 갖추지 못한 관계로 생산시설을 보유한 바이셀(충북 괴산군 소재)에 OEM 가공생산하는 것으로 진행.

* 품목제조보고서

발급번호 : 1PB5-0PNV-JEGU-JHOK-FYLB



식품(식품첨가물) 품목제조보고서

보고인	성명(법인명)	생년월일(법인번호)		
	주소 충청북도 괴산군	전화	휴대전화	
영업소	명칭(상호)	영업등록번호		
	바이셀	20110444018		
소재지 충청북도 괴산군 길선1길 35-14				
제품정보	식품의 유형	기타가공품	요청하는 품목제조 보고번호	20110444018119
	제품명	쌀눈발효추출농축액		
	유통기한	제조일로부터 3개월		
	품질유지기한			
	원재료 또는 성분명, 대항비율	뮷장에 기재		
	용도 용법	뮷장에 기재		
	보관방법 및 포장재질	뮷장에 기재		
	포장방법 및 포장단위	1kg~20kg		
	성상	연갈색 액체로서 쌀눈 고유의 향취와 시큼한 발효취가 있다.		
	품목의 특성 ● 고열량·저영양 식품 해당 여부 <input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오 <input type="checkbox"/> 해당 없음 ● 영·유아를 섭취대상으로 표시 판매하는 식품 해당 여부 <input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오 ● 알균·열균 제품의 해당 여부 <input type="checkbox"/> 비알균 <input checked="" type="checkbox"/> 알균 <input type="checkbox"/> 불균			
기타				

「식품위생법」 제37조제5항 및 같은 법 시행규칙 제45조제1항에 따라 식품(식품첨가물) 품목제조 사항을 보고합니다.

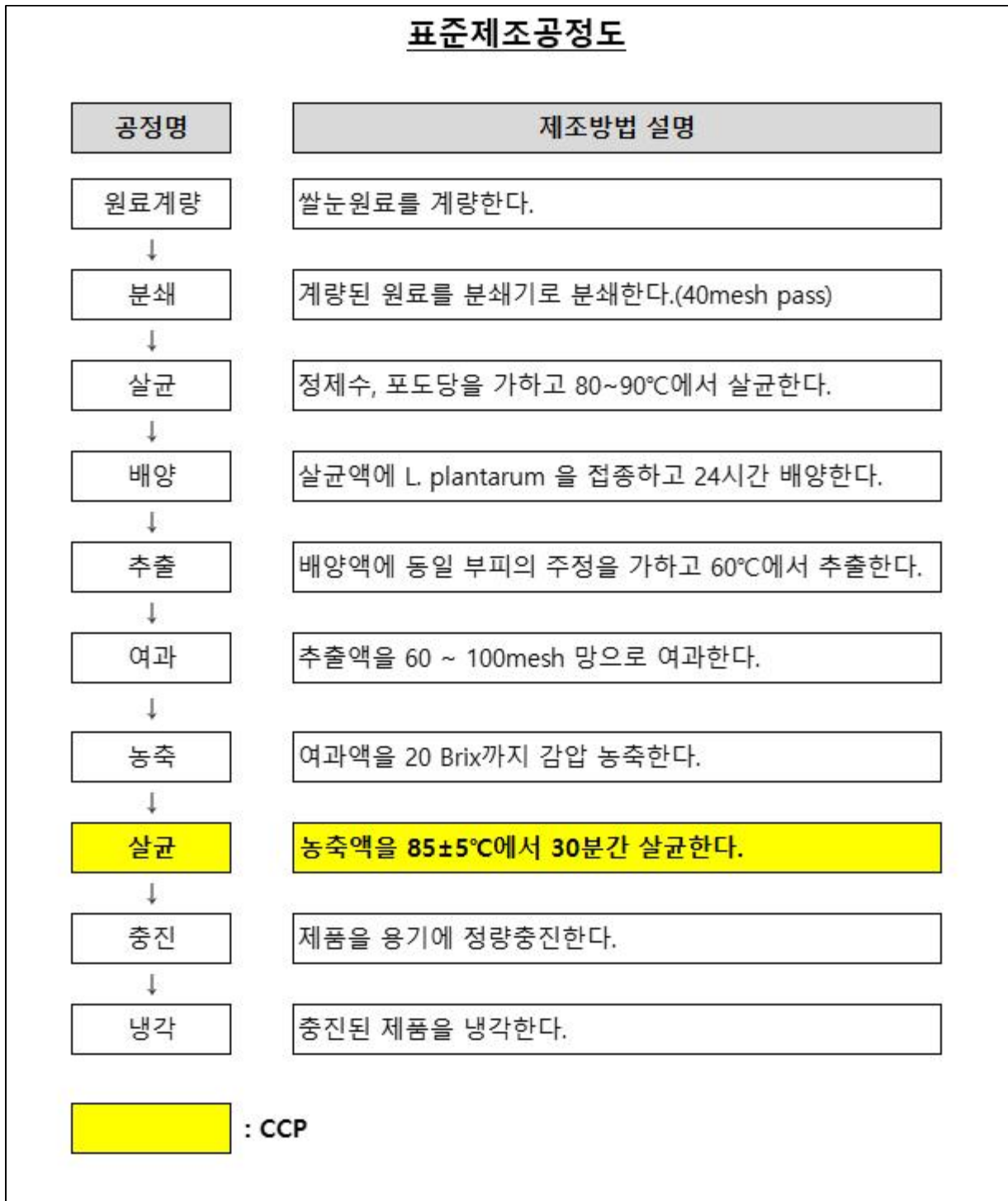
2020년 06월 29일
보고인

괴산군수 귀하

품목보고번호	20110444018-119			
처리부서	행정복지국 환경위생과	처리자성명	처리일자	2020년 07월 01일



본 증명서는 인터넷으로 발급되었으며 식품안전정보포털(<http://www.foodsafetykorea.go.kr/>) 홈페이지에서 확인할 수 있습니다.



* 자가시험성적서

시험성적서

1. 일반사항

제품명	쌀눈발효추출농축액	품목보고번호	20110444018-119
Lot 번호	RFE-200625	식품유형	기타가공품
제조일자	2020. 06. 25.	유통기한	3개월(2020. 09. 24.까지)
포장단위	1kg	비교	넷차 보과
소재지	충청북도 괴산군 소수면 길선1길 35-14		

2. 시험 결과

번호	검사항목	시험방법	규격	판정
1	성상	자가품질관리기준에 준함	연갈색 액체로서 쌀눈 고유의 향취와 시큼한 발효취가 있다.	적합
2	이물	자가품질관리기준에 준함	이물이 없어야 함	적합
3	당도	당도계 측정	Brix 20	21.0
4	pH	pH Meter 측정	3.5-4.5	3.89
5	일반세균	식품공전시험법	세균수 1,000 이하 (cfu/ml)	0
6	대장균군	식품공전시험법	n=5, c=1, m=0, M=10 (ctu/ml)	0,0,0,0,0
판정	적합(○), 부적합()		검사자	배형석

상기와 같이 분석 결과를 통보합니다.

2020년 6 월 27 일

VICELL
Health & Vital Food Lab

바이셀



○ 기능성 쌀눈발효소재 응용상품개발(가중치 : 20%)

: 응용상품 개발 3종 완료(제품별 식품품목제조보고 완료)

- 쌀눈유산균발효즙(플레인맛), 홍삼 쌀눈유산균발효즙(홍삼맛), 과일 쌀눈유산균발효즙(사과맛)

- 품목제조보고

발급번호 : 19F5-4PSV-DE4J-XHVK-2SN0



식품(식품첨가물) 품목제조보고서

보고인	성명(법인명)		생년월일(법인번호)	
	주소		전화번호	
	충청북도 괴산군		휴대전화	
영업소	명칭(상호)		영업등록번호	
	바이셀		20110444018	
	소재지			
		충청북도 괴산군 길선1길 35-14		
제품정보	식품의 유형	기타가공품	요청하는 품목제조 보고번호	20110444018121
	제품명	활농유산균발효음		
	유통기한	제조일로부터 3개월		
	품질유지기한			
	원재료 또는 성분명, 배합비율	맛장에 기재		
	운도 방법	맛장에 기재		
	보관방법 및 포장재질	맛장에 기재		
	포장방법 및 포장단위	10g~20kg		
	성상	연강석 액체로서 활농 고유의 향취가 있다.		
	품목의 특성	<input checked="" type="checkbox"/> 고열량 · 저열량 식품 해당 여부 <input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오 <input type="checkbox"/> 해당 없음 <input checked="" type="checkbox"/> 영·유아를 섭취대상으로 표시 판매하는 식품 해당 여부 <input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오 <input checked="" type="checkbox"/> 살균 · 멸균 제품의 해당 여부 <input type="checkbox"/> 비살균 <input checked="" type="checkbox"/> 살균 <input type="checkbox"/> 멸균		
기타				

「식품위생법」 제37조제5항 및 같은 법 시행규칙 제45조제1항에 따라 식품(식품첨가물) 품목제조 사항을 보고합니다.

2020년 07월 02일

보고인

괴산군수 귀하

품목보고번호	20110444018-121	처리부서	농업건설국 농식품유통과	처리자성명		처리일자	2020년 07월 07일
--------	-----------------	------	--------------	-------	--	------	---------------



본 증명서는 인터넷으로 발급되었으며 식품안전정보포털(<http://www.foodsafetykorea.go.kr/>) 홈페이지에서 확인할 수 있습니다.

발급번호 : 1PF5-1PQW-FEJU-WHGK-8KMM



식품(식품첨가물) 품목제조보고서

보고인	성명(법인명)		생년월일(법인번호)	
	주소		전화번호	
	충청북도 괴산군		휴대전화	
영업소	명칭(상호)		영업등록번호	
	바이셀		20110444018	
	소재지 충청북도 괴산군 길선1길 35-14			
제품정보	식품의 유형	기타가공품	요청하는 품목제조 보고번호	20110444018122
	제품명	홍삼 쌀눈유산균발효즙		
	유통기한	제조일로부터 3개월		
	품질유지기한			
	원재료 또는 성분명, 비밀번호	맛장에 기재		
	용도 용법	맛장에 기재		
	보관방법 및 포장재질	맛장에 기재		
	포장방법 및 포장단위	10g~20kg, 밀봉 포장		
	성상	연갈색의 홍삼과 쌀 고유의 맛이 나는 액상		
	품목의 특성 <input type="checkbox"/> 고열량 · 저영양 식품 해당 여부 []예 [O]아니오 []해당 없음 <input type="checkbox"/> 영,유아를 섭취대상으로 표시 판매하는 식품 해당 여부 []예 [O]아니오 <input type="checkbox"/> 살균 · 멸균 제품의 해당 여부 []비살균 [O]살균 []멸균			
기타				

「식품위생법」 제37조제5항 및 같은 법 시행규칙 제45조제1항에 따라 식품(식품첨가물) 품목제조 사항을 보고합니다.

2020년 07월 03일

보고인

괴산군수 귀하

품목보고번호	20110444018-122			
처리부서	농업건설국 농식품유통과	처리자성명	처리일자	2020년 07월 07일



본 증명서는 인터넷으로 발급되었으며 식품안전정보포털(<http://www.foodsafetykorea.go.kr/>) 홈페이지에서 확인할 수 있습니다.

발급번호 : 1PE5-ZPKV-FAU-ZHCK-ES1V



식품(식품첨가물) 품목제조보고서

보고인	성명(법인명)		생년월일(법인번호)	
	주소		전화번호	
	충청북도 괴산군		휴대전화	
영업소	명칭(상호)		영업등록번호	
	바이셀		20110444018	
	소재지			
		충청북도 괴산군 길선1길 35-14		
제품정보	식품의 유형	기타가공품	요청하는 품목제조 보고번호	20110444018123
	제품명	과일 씹는유산균발효즙		
	유통기한	제조일로부터 3개월		
	품질유지기한			
	원재료 또는 성분명, 비율비율	맛장에 기재		
	음료 종류	맛장에 기재		
	보관방법 및 포장재질	맛장에 기재		
	포장방법 및 포장단위	10g~20kg		
	성상	연갈색 액체로서 사과와 딸기 고유의 향취와 시큼한 발효취가 있다.		
	품목의 특성	<input type="checkbox"/> 고열량 · 저영양 식품 해당 여부 <input type="checkbox"/> 예 <input type="checkbox"/> 아니오 <input type="checkbox"/> 해당 없음 <input type="checkbox"/> 영, 유아를 섭취대상으로 표시 관해하는 식품 해당 여부 <input type="checkbox"/> 예 <input type="checkbox"/> 아니오 <input type="checkbox"/> 알균 · 멸균 제품의 해당 여부 <input type="checkbox"/> 비살균 <input type="checkbox"/> 살균 <input type="checkbox"/> 멸균		
기타				

「식품위생법」 제37조제5항 및 같은 법 시행규칙 제45조제1항에 따라 식품(식품첨가물) 품목제조 사항을 보고합니다.

2020년 07월 03일

보고인

괴산군수 귀하

품목보고번호	20110444018-123				
처리부서	농업안전국 농식품유통과	처리자성명		처리일자	2020년 07월 07일



본 증명서는 인터넷으로 발급되었으며 식품안전정보포털(<http://www.foodsafetykorea.go.kr/>) 홈페이지에서 확인할 수 있습니다.

- 개발된 쌀눈 발효 페이스트 제품 영양성분분석
: 제품별 영양성분시험성적서 확보(식약처 공인인증기관 발행)

발급번호 : 제 K-20-120703-0053 호



시험검사성적서

(시험검사결과보고서)

접수번호	20-120703-0053	접수일자	2020.07.03
업체명	형원생명농업농조합공동사업법인	대표자	이범호
주소	충청북도 청주시 흥원구 오창을 가곡길 6		
제품(시료)명	쌀눈유산균발효제품	제조일자	2020.06.30
검사목적	참고용	검사완료일	2020.07.15

시험항목 및 결과

시험항목	단위	결과	비고
물량	㎖/100g	107.70	-
단수화물	g/100g	15.14	-
당류	g/100g	6.01	-
단백질	g/100g	0.94	-
지방	g/100g	4.82	-
포화지방	g/100g	0.78	-
트랜스지방산	g/100g	0.00	-
콜레스테롤	㎖/100g	0.00	-
나트륨	㎖/100g	66.87	-

비고 : 당류는 Fructose, Glucose, Sucrose, Lactose, Maltose에 대한 분석결과입니다.
수분 78.64% 회분 0.46%

한국표준시험분석연구원 시험검사업무규정에 따라 시험검사성적서(시험검사결과보고서)를 발급합니다.

2020년 07월 15일

한국표준시험분석연구원(주)

경기도 안산시 단원구 광덕4로 250, 5층 / 전화:031)493-3547 / 팩스:031)493-1500



1. 본 시험검사성적서는 의뢰자가 의뢰한 시료에 대한 작별검사 결과로 의뢰자 전체 제품을 대신하지 않습니다.
2. 본 시험검사성적서는 의뢰목적의 붓고, 소송 등에 사용하지 못합니다.

발급번호 : 제 R-20-120703-0055 호



시험검사성적서

(시험검사결과보고서)

접수번호	20-120703-0055	접수일자	2020.07.03
업체명	경원생명농업발효공학연구소	대표자	이병로
주소	충청북도 청주시 흥원구 오창읍 가곡길 6		
제품(시료)명	홍삼발효유산균발효액	제조일자	2020.06.30
검사목적	향고음	검사완료일	2020.07.15

시험 항목 및 결과

시험항목	단위	결과	비고
물분	㎖/100g	116.64	-
탄수화물	g/100g	16.16	-
당류	g/100g	4.22	-
단백질	g/100g	1.19	-
지방	g/100g	5.24	-
포화지방	g/100g	0.79	-
트랜스지방산	g/100g	0.00	-
콜레스테롤	㎍/100g	0.00	-
나트륨	㎍/100g	66.67	-

비고 : 당류는 Fructose, Glucose, Sucrose, Lactose, Maltose에 대한 분석결과입니다.
수분 76.97% 환분 0.42%

한국표준시험분석연구원 시험검사업무규정에 따라 시험검사성적서(시험검사결과보고서)를 발급합니다.

2020년 07월 15일

한국표준시험분석연구원(주)



경기도 안산시 단원구 광덕4로 250, 5층 / 전화: 031)455-3547 / 팩스: 031)493-1900

1. 본 시험검사성적서는 의뢰자가 의뢰한 시료에 대한 시험검사 결과로 의뢰자 전체 제품을 대신하지 않습니다.
2. 본 시험검사성적서는 저의목적외 광고, 소송 등에 사용되지 않습니다.

발급번호 : 제 R-20-120703-0054 호



시험검사성적서

(시험검사결과보고서)

접수번호	20-120703-0054	접수일자	2020.07.03
당체명	충청남도농업기술원쌀조합공등사업법인	대표자	이범표
주소	충청북도 청주시 흥원구 오성읍 가곡길 6		
제품(시트)명	교일쌀(보통유선급발효종)	제조일자	2020.06.30
검사목적	참고용	검사완료일	2020.07.15

시험항목 및 결과

시험항목	단위	결과	비고
물분	㎖/100g	122.43	-
탄수화물	g/100g	18.88	-
당류	g/100g	7.86	-
단백질	g/100g	1.13	-
지방	g/100g	4.71	-
포화지방	g/100g	0.73	-
트랜스지방산	g/100g	0.00	-
폴라놀리올	㎍/100g	0.00	-
니트록	㎍/100g	70.81	-

비고 : 당류는 Fructose, Glucose, Sucrose, Lactose, Maltose에 대한 분석결과입니다.
수분 74.88% 회분 0.40%

한국표준시험분석연구원 시험검사업무규정에 따라 시험검사성적서(시험검사결과보고서)를 발급합니다.

2020년 07월 15일

한국표준시험분석연구원(주)



경기도 안산시 단원구 광덕4로 250, 5층 /전화:031)493-3547 전송:031)493-1959

1. 본 시험검사성적서는 의뢰자가 의뢰한 시료에 대한 시험검사 결과로 의뢰자 전체 제품을 대신하지 않습니다.
2. 본 시험검사성적서는 의뢰목적외 광고, 소출 물에 사용하지 못합니다.

- 혈당상승억제 동물실험 후 효능근기 확보 : 논문출원 진행중
- 쌀눈발효소재의 지적재산권 확보 : 특허출원진행중(8월 중 출원 예정)

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

○ 혈당상승억제 동물실험 후 효능근기 미확보

혈당상승억제 동물실험의 효능근기 확보는 당초 KCI급 저널에 논문게재 신청을 하는 것으로 계획되어 있었으나, 실험이 6월 초에 종료되어 시기적으로 논문을 출원할 수 있는 여유가 없었음. 목표 달성을 위해 8월까지 논문 초안을 작성 완료하고 10월까지 논문 게재 신청할 계획임.

○ 쌀눈발효소재의 지적재산권 확보 : 특허출원 진행중.

동물실험결과가 나올때까지 기다려 특허출원을 진행하고, 특허권 확보 시점을 앞당기기 위해 우선심사를 신청하려고 하는 관계로 사전 기술조사등에 시간이 필요하여 현 시점까지 출원을 마무리짓지 못했음. 8월 중으로 특허출원 완료 가능함.

4. 연구결과의 활용 계획 등

4-1. 연구개발 결과의 활용방안

연구개발성과는 주관기관인 청원생명농협쌀조합공동사업법인에서 특허출원하여 현재 침체에 있는 쌀눈시장을 활성화 시키기 위한 신제품 런칭 목적으로 활용할 계획이다. 일단 발효 기술에 강점을 가지고 있는 충청도내 기업 바이셀과 협력관계를 통해 OEM 생산을 진행할 계획이며, 장기적으로는 당 조합법인과 기존 거래중인 건강기능식품 전문제조기업 비타민하우스(전남 담양 소재)를 참여시킴으로써 상품성과 판매가능성을 최적화한 제품을 추가개발하여 시장상황에 맞는 제품을 시장에 런칭 판매하고자 한다.

가. 실용화/제품화 방안

- 개발된 기술은 중장년층 혈당관리에 신경을 쓰는 소비자들을 타겟으로 하여 제품화 할 계획이다. 현재 판매되는 쌀눈제품의 핵심 컨셉이 “혈당에 좋은..”임을 참고로 하여 쌀눈을 활용한 본격적인 혈당관리용 기능식품으로 제작할 계획이다.

- 추가로 면역력이 약한 어린이 및 노인들, 환자들을 위한 건강컨셉의 기능성 식품으로 판매할 계획이다. 쌀눈은 비타민과 미네랄이 풍부하며, 저알레르기성 단백질과 지방산 조성이 좋은 지방이 함유되어 있어 소화흡수가 잘 되는 특징을 가지고 있다. 따라서, 어린이, 노인, 환자들을 위한 건강식품으로서 이용하는 것이 유망할 것으로 판단하고 있다.

나. 국내 시장규모

○ 국내 쌀눈 시장 규모는 2018년 약 100억원 규모로 추정되었으나, 이후 쌀눈 섭취의 불편함, 맛과 편리성의 문제로 인해 시장이 크지 않고 성장이 정체된 상태이다. 2015년 GS홈쇼핑에서 쌀눈제품이 전회 매진을 기록하는 등 소비자들의 관심을 급격히 유도해낸바가 있어 새로운 컨셉으로 포장한다면 다시 시장이 커질 가능성이 높은 것으로 판단중이다.

○ 얼마전 유행한 그릭요거트 등을 비롯, 해외 트렌드가 국내에 수입되어 대유행하는 경우가 빈번하며, 특히 식물성 식품은 비건(Vegan) 푸드라하여 국내외 시장에서 새로운 건강웰빙식품의 트렌드로 급부상하는 중이다. 국내 건강기능식품 시장특성상 이러한 트렌드를 감안할 경우 식물성 발효식품에 대한 시장성장이 곧 일어날 것으로 예상된다.

<표> 기술개발 후 국내·외 주요 판매처 현황

판매처	국가 명	판매 단가 (천원)	예상 연간 판매량(개)	예상 판매기간(년)	예상 총판매금 (천원)	관련제품
NS홈쇼핑	한국	5	500,000	5	12,500,000	쌀눈페이스트
하나로마트	한국	5	100,000	5	2,500,000	쌀눈페이스트

4-2. 사업화 전략
가. SWOT 분석

	Strength(강점)	Weakness(약점)
Opportunity(기회)	<ul style="list-style-type: none"> • 기능성 식품 도입 • 수출 시작 	<ul style="list-style-type: none"> • 쌀눈용도 제한 • 대량소비유발할 수 있는 신규 소비용도 발굴 시급
Threat(위협)	<ul style="list-style-type: none"> • 쌀눈시장한계 봉착 • 강력한 경쟁자가 등장하여 시장 점유율 경쟁구도 심 	<ul style="list-style-type: none"> • 연구개발 역량 부족 • 쌀눈 연구기반 부족

SWOT 분석결과 현재는 쌀눈판매가 순조롭고 중국수출이 시작됨으로써 탄탄한 성장이 예상되지만, 변화가 심한 소비자 니즈와 국내 농식품 트렌드를 감안하면 쌀눈을 그대로 섭취하여 먹는 현재의 제품은 한계가 있을 것으로 예상된다. 따라서, 국내 건강식품의 steady trend인 유산균과 발효기술을 도입하여 쌀눈에 접목함으로써, 쌀눈의 주요 소비계층인 노인층 및 중장년층을 대상으로 한 마케팅 계획에 집중하여 매출을 신장시키는 전략을 취할 예정이다. 무엇보다도 2019년 2월 일반식품의 기능성 표시를 허가하는 쪽으로 정부에서 국산 농산물 판매 활성화를 위해 방침을 변경하고 있는 바 국내 신규 기능성 식품 표시제에 따른 최초의 인증제품으로 포지셔닝할 경우 다른 경쟁 식품 대비 빠른 시장 침투와 성장을 가져갈 수 있을 것으로 생각한다.

추가로 어린이 소비자층에서 최근 우유나 대두등 알러지가 있는 식품 섭취에 어려움을 겪고 있는 인구가 늘어나고 있어 이를 타겟으로 한 쌀유래 헬스푸드를 공급하여 마케팅하는 전략을 수립하여 진행할 계획이다.

나. 4P Mix 전략

(1) 가격 : 중고가 설정(홈쇼핑 유통이 가능한 수준을 목표로 하며 건강과 고급 이미지를 부여할수 있는 적절한 가격 설정)

1일 1개, 2주분 12개로 셋트포장 판매(셋트당 약 50,000원 설정)

(2) 판매유통 : 우선 인터넷 쇼핑몰과 홈쇼핑을 통한 유통에 집중하며, 현재 마케팅영업사원이 충분히 확보되어 있지 못하므로, 이를 커버할 수 있는 온라인 유통망부터 우선 접근함. 향후 판가를 낮춰 소비자 구매가능성을 높이고 백화점과 대형마트로 입점 판매.

< 주요 핵심유통채널별 쌀눈발효유 판매 계획 >

유통채널	종류	판매액(백만원)		
		2018	2019	2020
NS홈쇼핑	홈쇼핑	500	2,000	2,000
CJ오쇼핑	홈쇼핑	1,000	5,000	8,000
헬로네이처	온라인	500	1,000	1,500
합계		2,000	8,000	11,500

(3) 제품 : 쌀눈추출물을 바탕으로 더 건강한 식물성 유산균 판매를 설정한다.(중고가 가격에

맛취 쌀눈추출물의 건강기능성이 부각될 수 있도록 항산화, 노화방지 효과를 추가로 연구하여 마케팅자료로 활용할 계획이다)



< 현재 인기리에 판매되는 스틱형 젤리 건강기능식품 사례 >

(4) 홍보 : 농협 하나로마트를 중심으로 현재 납품중인 거래처를 대상으로 홍보할 계획이며, 마케팅을 위해 기존 마케팅 인력외에도 협업 및 온라인/오프라인 홍보를 병행하여 진행할 계획이다.

- 협업마케팅 : 기존 거래선인 비타민하우스가 보유하고 있는 약국유통체인에 국산 농산물을 활용한 최초의 기능성 식품으로 홍보하고, 표지서닝 함.

- 온라인/오프라인 홍보 : SNS, 블로그, 검색 등의 전통적 홍보방식과 보도자료의 기사화를 통한 기사형 홍보 방식, 유튜브에 이용방법 동영상 게시 등 새로운 미디어 시장을 통한 홍보를 동시에 진행함.

오프라인으로는 체험단 모집, 기존 유통망에 행사 광고, 시식행사 등을 적극 활용하여 소비자 대상 홍보를 적극 진행하고자 함.

4-3. 기대성과 및 파급효과

가. 과학적 영향 : 쌀눈에 대해서는 그동안 막연하게 GABA나 폴리페놀등의 기능성 성분이 풍부하게 존재한다고만 학술발표가 이뤄질뿐 기능성 식품으로서 개발이 진행되지 않았는데, 본 연구를 통해 쌀눈발효추출물의 혈당 억제 기능이 밝혀져 최초로 과학적 근거를 첨부하여 쌀눈 유래 기능성 식품으로 개발하여 출시가 가능해졌다. 이를 활용하면 쌀눈의 기능성이 부각되어 더 많은 연구가 활발히 이뤄질 것으로 기대하고 있다.

그동안 쌀눈은 GABA나 감마오리자놀 등의 물질에 대하여 주로 기능성이 언급되었으나, 실

제로는 페룰산 등의 폴리페놀이 강력한 항산화 효능을 가지고 항당뇨, 항비만, 항염증 등 대사 증후군 개선효과에 영향을 줄 수 있음이 여러 실험을 통해 입증된바 있다. 이를 활용하여 본 연구성과도 실제 기능성 식품으로 상품화한다면 국산 쌀눈 최초로 과학적 근거를 확보한다는 점에서 과학적 의의가 있다.

- 사회적 효과 : 쌀소비가 감소하면서 줄어든 농가소득을 쌀의 고부가가치화를 이용한 새로운 상품을 개발함으로써 쌀경작 농민들에게 도움이 될 수 있는 새로운 방법을 제시할 수 있다. 새롭고 앞선 기술로 청원생명쌀의 가치와 우수성을 홍보함으로써 당 조합에 속한 농민 조합원들의 소득을 늘리고 지역 경제를 활성화하는데 이바지할 수 있다.

- 경제적 효과 : 정체 상태인 국내 쌀가공식품 시장에서 기능성 식품으로 새로운 시장을 개척함으로써 국내 쌀가공품 시장의 성장을 유도가능할 것으로 예상된다.

향후, 쌀눈발효추출농축물에 대한 혈당억제 효능에 대한 임상실험도 진행하여 개별인정형 건강기능식품 인증 취득까지 하게 된다면, 본격적인 건강기능 식품 시장에 진출할 수 있을 것으로 예상된다. 특히, 조만간 실시되는 일반식품의 기능성 표현 허용을 목표로 개발일정계획을 잘 세워 상품화를 추진한다면, 국산 농산물을 활용한 기능성 식품 시장에서 쌀눈 유래 소재로 탄탄한 기반을 잡을 수 있게 될 것으로 기대한다.

붙임. 참고문헌

1. 조인희, 최용희, “미강의 γ -oryzanol 및 새이활성물질의 에탄올 추출공정 최적화”, 한국식품저장유통학회지, 17, 2, pp 281-289, 2010
2. 김성란, 안지윤, 이현유, 하태열, “품종 및 도정도별 백미와 미강의 특성 및 페놀산 함량”, 한국식품과학회지, 36, 6, 930-936, 2004
3. 정은희, 황인경, 하태열, “미강 페놀산 농축물의 특성 및 항산화 활성”, 한국식품과학회지, 42, 5, 593-597, 2010
4. Narasimhan, A., Chinnaiyan, M., & Karundevi, B. “Ferulic acid exerts its antidiabetic effect by modulating insulin-signalling molecules in the liver of high-fat diet and fructose-induced type-2 diabetic adult male rat”. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 40(8), 769-781, 2015
5. Bao Le, Pham Thi Ngoc Anh, Jung-Eun Kim, Jinhua Cheng, Seun Hwan Yang, “Rice bran fermentation by lactic acid bacteria to enhance antioxidant activities and increase the ferulic acid, ρ -coumaric acid, and γ -oryzanol content”, *J. Appl. Biol. Chem.* 62, 3, 257-264, 2019
6. Jung, E. H.; Kim, S. R.; Hwang, I. K.; Ha, T. Y. Hypoglycemic Effects of a Phenolic Acid Fraction of Rice Bran and Ferulic Acid in C57BL/KsJ-db/db Mice. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55, 24, 2007
7. Senaphan, K.; Kukongviriyapan, U.; Sangarti, W.; Pakdeechote, P.; Pannangpetch, P.; Prachaney, P.; Greenwald, S, E.; Kukongviriyapan, V. Ferulic Acid Alleviates Changes in a Rat Model of Metabolic Syndrome Induced by High-Carbohydrate, High-Fat Diet. *Nutrients*, 7, 6446-6464, 2015
8. Shin, H, Y.; Kim, S, M.; Lee, J, H.; Lim, S, T. Solid-state fermentation of black rice bran with *Aspergillus awamori* and *Aspergillus oryzae*: Effects on phenolic acid composition and antioxidant activity of bran extracts. *Food chemistry*, 272, 235-241, 2019
9. Li, L.; Shewrt, P, R.; Waed, J, L. Phenolic Acids in Wheat Varieties in the HEALTHGRAIN Diversity Screen. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56, 9732-9739, 2008
10. Laoufi, H.; Benariba, N.; Adjdir, S.; Djaziri, R. *In vitro* α -amylase and α -glucosidase inhibitory activity of *Ononis angustissima* extracts. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 7(02), 191-198, 2017
11. Gao, H. and J. Kawabata., α -Glucosidase inhibition of 6-hydroxyflavones. Part 3 : synthesis and evaluation of 2,3,4-trihydroxybenzoyl-containing flavonoid analogs and 6-amino flavones as α -glucosidase inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.*, 13(5), 1661-1671, 2005
12. Ogawa, S., S. Fujieda, Y. Sakata, M. Ishizaki, S. Hisamatsu, K. Okazaki, Y. Ooki, M. Mori, M. Itoh, and T. Korenaga., Synthesis and glucosidase inhibitory activity of some N-substituted 5a-carba- β -fuco- and β -galactopyranosylamines, and selected derivatives. *Bioorg. Med. Chem.*, 12, 6569-6579, 2004
13. Yin, Jun ; Zuberi, Aamir ; Gao, Zhanquo., Shilianhua extract inhibits GSK-3 β and promotes glucose metabolism., *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 296(6), 1275-1280, 2009
14. Chen, T, C.; zhang, Y.; Liu, Y.; Zhu, D.; Yu, J.; Li, G.; Sun, Z.; Wang, W.; Jiang, H.;

- Hong, Z. MiR-27a promotes insulin resistance and mediates glucose metabolism by targeting PPAR- γ -mediated PI3K/AKT signaling. *Aging (Albany NY)*. 11(18): 7510–7524, 2019
15. Ina, S.; Ninomiya, K.; Mogi, T.; Hase, A.; Ando, T.; Matsukaze, N.; Ogihara, J.; Akao, M.; Kumagai, H.; Kumagai, H. Rice (*Oryza sativa japonica*) Albumin Suppresses the Elevation of Blood Glucose and Plasma Insulin Levels after Oral Glucose Loading. *Journal of agricultural and food chemistry*, 64, 4882–4890, 2016
16. Gao, Y.; Zhang, M.; Zhang, R.; You, L.; Li, T.; Liu, R, H. Whole Grain Brown Rice Extrudate Ameliorates the Symptoms of Diabetes by Activating the IRS1/PI3K/AKT Insulin Pathway in db/db Mice. *Journal of agricultural and food chemistry*, 67, 11657–11664, 2019
17. Seo, K, I.; Choi, M, S.; Jung, U,J.; Kim, H, J.; Yeo, J.; Jeon, S, M.; Lee M, K. Effect of curcumin supplementation on blood glucose, plasma insulin, and glucose homeostasis related enzyme activities in diabetic db/db mice. *Molecular Nutrition Food Research*, 52,995-1004, 2008.
18. Roe, J, H.; Dailey, R, E.; Determination of glycogen with the Anthrone Reagent. *Analytical biochemistry*, 15, 245-250, 1966
19. Keane, K, N.; Cruzat, V, F.; Carlessi, R.; Bittencourt Jr. P.; Newsholme P. Molecular Events Linking Oxidative Stress and Inflammation to Insulin Resistance and β -Cell Dysfunction. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 15, 2015
20. Agius L, Targeting hepatic glucokinase in type 2 diabetes: weighing the benefits and risks, *Diabetes*, 58(1) 18-20, 2009
21. Yoshinari O, Igarashi K, Anti-diabetic effect of pyroglutamic acid in type 2 diabetic Goto-Kakizaki rats and KK-Ay mice, *Br. J. Nutr.*, 106(7) 995-1004, 2011
22. 「건강기능식품 기능성 평가 가이드」, 식품의약품안전처, 2019

[별첨 1]

연구개발보고서 초록

과 제 명	(국문) 혈당상승 억제용 쌀눈 유래 유산균 발효소재 및 기능성 식품 개발				
	(영문) Development of lactic acid fermentation materials and functional foods derived from rice germ for inhibiting blood sugar level increase				
주 관 연구 기관	청원생명농협쌀조합공동사업법인		주 관 연 구 자	(소속) 청원생명농협쌀조합공동사업법인	
참 여 기 업			인	(성명) 손한수	
총연구개발비 (240,000 천원)	계	240,000	총 연구 기간	2019. 6. 19~ 2020. 6. 20(1년 월)	
	정부출연 연구개발비	120,000	총 참 여 수	총 인원	5
	기업부담금	120,000		내부인원	5
	연구기관부담금			외부인원	
<p>○ 연구개발 목표 및 성과</p> <p>1. 기능성 쌀눈발효소재의 생산 및 응용상품 개발.</p> <ul style="list-style-type: none"> - 쌀눈유래 기능성 발효소재 개발 : 쌀눈을 유산균 등 유익균들의 액상 발효를 통해 기능성 쌀눈발효농축액을 생산. (1건 개발완료) - 혈당강하효능을 갖는 쌀눈발효소재를 활용한 기능성식품 개발 : 총 3종 (각 제품별 식품품목제조보고 완료) <p>2. 동물실험모델을 통한 쌀눈 발효농축액 소재의 혈당상승 억제 기능성 근기확보</p> <ul style="list-style-type: none"> - in vivo, in vitro 실험 및 바이오마커 확인을 통한 혈당상승 억제 기능성 확인완료 <p>○ 연구내용 및 결과</p> <p>1. 쌀눈으로부터 향산화소재 쌀눈발효추출농축액 개발 완료</p> <ul style="list-style-type: none"> - 쌀눈을 유산균 <i>Lactobacillus plantarum</i>으로 발효한 다음, 주정과 1:1로 혼합하여 추출농축함으로써 향산화효과가 있는 쌀눈발효추출농축액을 개발 완료 - 품목제조보고 및 표준제조공정 설정을 완료하여 양산준비를 완료함. <p>2. 쌀눈발효추출농축액을 원료로한 기능성 식품 3종 개발 완료</p> <ul style="list-style-type: none"> - 향산화능과 쌀고유의맛을 살린 플레인맛, 홍삼추출물을 첨가하여 면역력을 강화한 홍삼맛, 어린이를 위한 기능성 식품으로 제작한 과일맛 제품 - 품목제조보고, 영양성분분석, 관능분석 맛품질 평가 등 출시를 위한 시제품 규격설정을 완료함. <p>3. 쌀눈발효추출농축액의 혈당억제효능을 동물실험을 통해 확인완료.</p> <ul style="list-style-type: none"> - 세포모델을 통한 쌀눈발효추출농축액의 혈당상승억제 기능성 확인시험 결과 세포내 glucose uptake를 저해함으로써 혈당상승 억제 기능이 있다고 확인됨. - 동물모델에서 쌀눈발효추출농축액의 혈당상승억제 기능성 확인시험 결과, 테스트한 쌀눈발효추출농축액 RG1시료에서 혈당억제효능이 유의하게 확인되었음. 당대사과정에 영향을 주어 당흡수를 저해하며, 당 신생과정과 관련된 유전자발현을 억제함으로써 혈당 상승을 억제하는 것으로 보임. <p>○ 연구성과 활용실적 및 계획</p> <p>쌀부산물인 쌀눈을 이용하여 건강기능성 소재를 양산할 수 있는 기술을 확보하고 소재의 혈당억제효능을 확인함으로써, 개별인정형 건강기능식품소재와 식품을 상품화할 수 있는 길이 열림. 쌀눈을 고부가 기능성식품 및 바이오소재로서 개발가능.</p>					

자체평가의견서

1. 과제현황

		과제번호		119072-1	
사업구분	농축산물안전유통소비기술개발사업(역매칭 사업)				
연구분야				과제구분	단위
사업명	농축산물안전유통소비기술개발사업				주관
총괄과제	기재하지 않음			총괄책임자	기재하지 않음
과제명	혈당상승 억제용 쌀눈 유래 유산균 발효소재 및 기능성 식품 개발			과제유형	(개발)
연구기관	청원생명농협쌀조합공동사업법인			연구책임자	손한수
연구기간 연구비 (천원)	연차	기간	정부	민간	계
	1차년도	2019.6~2020.6	120,000	120,000	240,000
	2차년도				
	3차년도				
	4차년도				
	5차년도				
계					
참여기업					
상대국			상대국연구기관		

※ 총 연구기간이 5차년도 이상인 경우 셀을 추가하여 작성 요망

2. 평가일 : 2020.8.3

3. 평가자(연구책임자) :

소속	직위	성명
청원생명농협쌀조합공동사업법인	상무이사	손한수

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

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

1. 연구개발결과의 우수성/창의성

■ 등급 : 아주 우수

국산 쌀눈을 유산균으로 액상발효하여 대량생산할 수 있는 발효추출농축 소재를 최초로 개발함.

개발한 쌀눈발효추출농축 소재가 혈당상승억제 효능을 갖고 있음을 동물실험을 통해 밝힘.(국내 최초)

2. 연구개발결과의 파급효과

■ 등급 : 우수

국산 쌀눈으로 기능성 바이오소재를 개발하고 개별인정형 소재까지 계획하고 있는 첫번째 사례로서, 최종적으로 개별인정형 건강기능소재 인증획득하게 되면 국내 쌀산업에 큰 영향을 줄 것으로 예상함.

3. 연구개발결과에 대한 활용가능성

■ 등급 : 우수

향후 임상시험 진행할 수 있는 유의미한 결과를 확보함. 후속 임상연구와 상품화 진행예정.

4. 연구개발 수행노력의 성실도

■ 등급 : 우수

계획된 연구내용에 비해 시간이 충분히 많이 주어지지 못한 관계로 촉박하게 진행되었으며, 계획된 내용을 다 수행하지는 못했음. 그러나, 쌀눈을 발효하여 혈당상승억제 효능을 갖는 기능성 소재를 개발한다는 핵심 연구에 집중하여 계획된 목표는 거의 달성하였음.

5. 공개발표된 연구개발성과(논문, 지적소유권, 발표회 개최 등)

■ 등급 : 보통

계획된 연구내용에 비해 시간이 충분히 많이 주어지지 못한 관계로 촉박하게 진행된 관계로 연구일정내 완료를 하지 못한 상태. 논문과 특허를 낼 수 있는 유의미한 연구결과는 확보된 상태이므로 곧 계획된 연구성과를 확보할 예정

II. 연구목표 달성도

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중 (%)	달성도 (%)	자체평가
기능성 쌀눈발효소재 개발	20	20	달성
기능성 쌀눈발효소재 응용상품 개발	20	20	달성
혈당상승억제 동물실험 후 효능근기 확보	20	10	부진(10월까지 논문게재 신청완료)
개발된 쌀눈발효페이스트 제품의 영양성분분석	20	20	달성
쌀눈발효소재의 지적재산권확보	20	10	부진(8월까지 특허출원 완료)
합계	100점	80	

III. 종합의견

1. 연구개발결과에 대한 종합의견

*계획된 연구개발목표는 성공적으로 달성함.

- 쌀눈유래 혈당상승 억제 발효소재 개발완료, 개발소재의 동물실험 통한 혈당억제 효능근기 확보.

*논문게재신청, 특허출원은 빠른 시일 내에 완성할 계획임.

2. 평가시 고려할 사항 또는 요구사항

논문게재신청이나 특허출원 등 일부 평가지표는 현 시점까지 완성되지 않았는데, 당초 과제선정심사때부터 전체적인 실험 계획에 비해 무리한 일정이라는 평가를 들었었고, 이후 연구기간을 수정하고자 했으나 수정이 불가하여 어쩔 수 없이 1년내 모든 연구를 마무리지어야 하는 상황이 됨.

과제의 핵심연구결과는 확보한 만큼 이 부분을 많이 평가에 반영해주시면 좋겠음.

3. 연구결과의 활용방안 및 향후조치에 대한 의견

* 개발기술이전을 통해 사업화할 계획이며, 향후 임상시험을 실시하여 개별인정형 건강기능식품 소재인증 할 계획임.

IV. 보안성 검토

o 연구책임자의 보안성 검토의견, 연구기관 자체의 보안성 검토결과를 기재함

※ 보안성이 필요하다고 판단되는 경우 작성함.

1. 연구책임자의 의견

특이사항 없음

2. 연구기관 자체의 검토결과

특이사항 없음

[별첨 3]

연구성과 활용계획서

1. 연구과제 개요

사업추진형태	<input checked="" type="checkbox"/> 자유응모과제 <input type="checkbox"/> 지정공모과제		분 야	
연구과제명	혈당상승 억제용 쌀눈 유래 유산균 발효소재 및 기능성 식품 개발			
주관연구기관	청원생명농협쌀조합공동사업법인		주관연구책임자	손한수
연구개발비	정부출연 연구개발비	기업부담금	연구기관부담금	총연구개발비
	120,000천원	120,000천원		240,000천원
연구개발기간	2019. 6. 20. ~ 2020. 6. 19.			
주요활용유형	<input checked="" type="checkbox"/> 산업체이전 <input 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
① 쌀눈발효추출소재 생산기술 확보	목표 달성
② 쌀눈발효추출소재의 혈당상승억제 효능근기확보	목표 달성(논문은 연내 발표)
③ 기능성 쌀눈발효소재 응용상품 개발(3건)	목표 달성
④ 개발된 쌀눈발효페이스트 제품의 영양성분분석	목표 달성
⑤ 쌀눈발효소재의 지적재산권확보	진행중(8월내 완료)

* 결과에 대한 의견 첨부 가능

3. 연구목표 대비 성과

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		학 술 발 표			정 책 활 용	홍 보 전 시	
												SC I	비 SC I						

단위	건	건	건	건	백만 원	백만 원	백만 원	백만 원	명	백만 원	건	건	건	건	명	건	건
가중치	20			20													
최종목표																	
연기간내 달성실적																	
달성율(%)																	

4. 핵심기술

구분	핵심기술명
①	항산화물질이 풍부한 쌀눈 유산균 발효 후 50%주정추출농축액 제조기술
②	쌀눈발효추출농축액의 혈당상승 억제 효능 규명 기술
③	쌀눈발효추출농축액을 사용한 쌀눈 페이스트 상품화 기술
·	
·	
·	

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	v			
②의 기술		v				v	v			
③의 기술		v					v			
·										
·										

* 각 해당란에 v 표시

6. 각 연구결과별 구체적 활용계획

핵심기술명	핵심기술별 연구결과활용계획 및 기대효과
①의 기술	임상시험을 실시하여 개별인정형 건강기능식품 소재 인증 추진
②의 기술	임상시험을 실시하여 개별인정형 건강기능식품 소재 인증 추진
③의 기술	컨셉별 쌀눈 페이스트 상품 출시, 회사 매출 증가
·	
·	

7. 연구종료 후 성과창출 계획

성과목표	사업화지표				연구기반지표				
	지식	기술실	사업화	기	학술성과	교	인	정책	기

	재산권			시 (이전)							술인증	논문		논문 평균 IF	학술 발표	육지도	력양성	활용-홍보		타 (타 연구 활용 등)
	특허출원	특허등록	품종등록	건수	기술료	제품화	매출액	수출액	고용 창출	투자유치		SC I	비 SC I					정책 활용	홍보 전시	
단위	건	건	건	건	백만 원	건	백만 원	백만 원	명	백만 원	건	건	건	건	명					
가중치																				
최종목표																				
연간내 달성실적																				
연구 종료 후 성과 창출 계획																				

8. 연구결과의 기술이전조건(산업체이전 및 상품화연구결과에 한함)

핵심기술명 ¹⁾	혈당상승 억제효능을 갖는 쌀눈발효추출물 생산 기술		
이전형태	<input type="checkbox"/> 무상 <input type="checkbox"/> 유상	기술료 예정액	천원
이전방식 ²⁾	<input type="checkbox"/> 소유권이전 <input type="checkbox"/> 전용실시권 <input type="checkbox"/> 통상실시권 <input type="checkbox"/> 협의결정 <input type="checkbox"/> 기타()		
이전소요기간		실용화예상시기 ³⁾	2021.8
기술이전시 선행조건 ⁴⁾			

- 1) 핵심기술이 2개 이상일 경우에는 각 핵심기술별로 위의 표를 별도로 작성
- 2) 전용실시 : 특허권자가 그 발명에 대해 기간·장소 및 내용을 제한하여 다른 1인에게 독점적으로 허락한 권리
통상실시 : 특허권자가 그 발명에 대해 기간·장소 및 내용을 제한하여 제3자에게 중복적으로 허락한 권리
- 3) 실용화예상시기 : 상품화인 경우 상품의 최초 출시 시기, 공정개선인 경우 공정개선 완료시기 등
- 4) 기술 이전 시 선행요건 : 기술실시계약을 체결하기 위한 제반 사전협의사항(기술지도, 설비 및 장비 등 기술이전 전에 실시기업에서 갖추어야 할 조건을 기재)

<뒷면지>

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 농축산물안전유통소비기술개발사업의 연구 보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 농축산물안전유통 소비기술개발사업의 연구 결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.