

- Commentary -

천연감미료 스테비오사이드 : 안전한가?

김현익 · 이병무<sup>†</sup>  
성균관 대학교 약학대학

Stevioside, a Natural Sweetener : Is It Safe?

Hyun Ig Kim and Byung Mu Lee<sup>†</sup>

Division of Toxicology, College of Pharmacy, Sung Kyun Kwan University Kyunggi-Do, Suwon 440-746, Korea

서 론

감미료는 꿀, 설탕(sucrose)에서부터 합성 감미료에 이르기까지 그 종류는 매우 다양하며 최근에는 비만과 질병 때문에 저칼로리성 감미료의 연구개발에 많은 관심이 기울여지고 있다. 단맛은 물질이 나타내는 하나의 특성이며, 화학적으로 공통점을 가지고 있다. 단맛을 내는 물질들은 두 개의 electronegative atom, A와 B를 가지고 있으며 그 두 원소는 수소원소가 붙어있는 하나의 원소(AH)와 B로 존재하고 서로 2.5~4.0Å의 거리로 나누어져 있다. AH는 proton donor이며, B는 proton acceptor이다.<sup>1)</sup>

감미료중 합성감미료는 설탕보다 염가로 감미를 얻을 수 있고 특히 당뇨병과 비만을 방지하며 높은 감미를 얻을 수 있기 때문에 널리 애용되고 있다. 과거에는 감미료의 부족으로 합성감미료가 사용되었으나 인체안전성 때문에 현재는 천연 및 합성감미료의 사용이 제한되고 있다.

그 대표적인 예로 cyclamate(sodium cyclohexyl sulfamide), saccharin(sodium saccharinate) 등이 있는데, cyclamate의 경우 1960년대 말까지 널리 사용되었던 감미료로 그 대사물질인 cyclohexylamine이 방광암의 원인이 되는 물질이며 1969년에 mouse에서 발암성이 확인되었다(Fig. 1).<sup>2)</sup> 그리고, saccharin은 분해산물중의 benzene sulfonamide와 같은 방향족화합물이 발암성을 나타낼 수 있다.<sup>3)</sup>

Stevioside는 현재 선진국에서는 사용이 기피되고 있지만 일본과 한국 등 일부나라에서 사용되고 있는 non-nutritive sweetener이며 저칼로리 드링크류나 식품 등에 사용되고 있다. 한국에서는 1984년에 처음으로 stevioside에 대한 규격 기준이 마련된 이후로 별다른 제재없이 사용되고 있다.<sup>4)</sup>

현재 stevioside에 관하여 쓴맛을 제거시키고 감미효능을

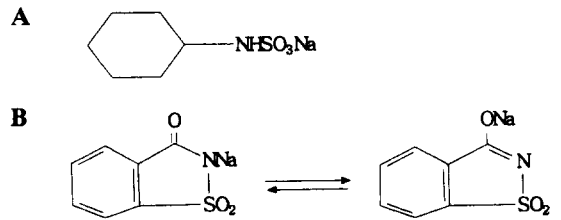


Fig. 1. Structures of cyclamate(A) and saccharin(B).

향상시키기 위한 여러 가지 연구가 행해지고 있다.<sup>5)</sup> Commercial glucosidases에 의한 transglucosylation,<sup>6,7)</sup> Actinomycete의 배양에 의한 실험,<sup>8)</sup> 13-O-glycosyl moiety의 enzymic transglucosylation에 의한 연구,<sup>9)</sup> Streptomyces sp.에 의한 연구,<sup>10)</sup> stevioside의 hydrophilicity를 증가시켜 감미효과의 상승에 관한 연구,<sup>9,11)</sup> 그리고  $\gamma$ -cyclodextrin을 응용하는 연구<sup>12)</sup> 등으로 안전성에 대한 연구보다는 감미효과에 대한 연구가 더 많이 이루어지고 있다.

본 연구보고서에서는 인체안전성에 대해 논란이 되고 있는 stevioside의 감미료로서의 특성과 지금까지 보고된 독성 자료 등을 기초하여 stevioside의 안전성을 검토하고자 한다.

Stevioside의 유래

Stevioside는 남미의 Northeastern Paraguay에서 광범위하게 자생하고 있는 식물인 Stevia rebaudiana Bertoni (Compositae)에서 추출되는 diterpenoid glycoside이다. 원주민은 이 물질을 400년이상 사용하여 온 것으로 알려졌으며 stevioside는 현재 Sato Stevia, Stevicon, Steviosin, Stevix, Murumilon 50 등의 이름으로 추출되고 있다.<sup>13)</sup> Stevia rebaudiana는 1899년에 M.Berdoni라는 과학자에서 의해 처음 알려졌으며 단맛에 대한 효능은 1908년 Rasenack과 1909년 Dieterich에 의해 확인됐지만 1931년까지는 순수하

<sup>†</sup> Author to whom correspondence should be addressed.  
본 내용은 학회의 공식적인 입장과는 관련이 없음을 알립니다.

게 추출하지는 못했다.<sup>14,15)</sup>

1931년 Bridel과 Lavielle에 의해 stevioside라고 명명됐으며 1955년 Mosettig와 Wood 등에 의해 stevioside의 구조가 규명되었으나 stevioside의 의학적 용도에 관심이 집중되었다.<sup>16)</sup> 그리고 Mosettig와 Wood는 stevioside를 alkali로 처리하므로써 steviol과 두 개의 glucose unit로 바뀔 수 있음을 밝혀내었다.<sup>13)</sup> 그 이후 chromatographic, spectroscopic method 등의 분석, 추출기술이 발전하므로써 Stevia rebaudiana로부터 추출되는 물질들의 구조가 계속 밝혀지게 되었다. Stevioside의 상업적인 이용은 1973에 일

본에서 처음으로 시작되었으며 브라질, 한국, 파라과이 및 중국 등에서 그 뒤를 잇게 되었다.<sup>1)</sup>

**Stevioside의 물리·화학적 특성**

순수한 stevioside는 sucrose에 비해 약 110~300배 정도의 감미도를 갖고 있는 것으로 알려졌으며 물에는 아주 잘 녹으나(용해도: 1 g stevioside/1 ml H<sub>2</sub>O) 칼로리는 없다.<sup>17)</sup> 대체로 높은 안정성을 가지고 있으며 쓴 뒷맛을 갖고 있다.

Stevioside(C13-O-β-phosphoryl-C19-O-β-glucosyl steviol)는 Stevia rebaudiana leave에서 약 10%정도 발견되며 silica with chloroform: methanol:water를 mobile phase로 이용하는 방법, ion-exchange방법 등의 여러 가지 chromatographic system에 의해 추출되어 stevioside와 rebaudioside A-E 등으로 나뉘어진다.<sup>18,19)</sup> Stevia rebaudiana에서 추출되는 stevioside와 단맛을 나타내는 대표적인 물질은 Table 1과 같다.

Stevioside는 glucosyltransferase(GTases I와 IIB)라는 효소에 의해 가수분해되어 steviol(13-hydroxy-ent-kaurenoic acid)과 3 mole의 glucose가 생성된다(Fig. 2).<sup>15)</sup> 옆기로 가수분해를 하면 steviolbioside가 얻어지고 산가수분해에 의한 steviolbioside의 methylation은 isosteviol(Table 1)의 methyl ester(3,4,4,6-tri-O-methyl-D-glucose and 2,3,4,6-tetra-O-methyl-D-glucose)가 생성된다.<sup>1,13)</sup> Steviol은 deuterium bromide에 의해 Wagner-Meerwein rearrangement라 불리는 steviol; isosteviol rearrangement가 일어나며 steviol에 15-hydroxyl group이 존재할 경우 이런 rearrangement가 일어나지 않는다.<sup>20)</sup>

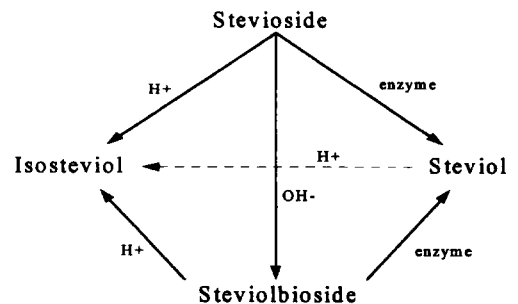
**Table 1. Chemicals extracted from Stevia rebaudiana**

Chemicals	Structure	
	R1	R2
Stevioside	β-Glc	β-Glc <sup>2</sup> -β-Glc
Steviolbioside	H	β-Glc <sup>2</sup> -β-Glc
Rebaudioside A	β-Glc	β-Glc <sup>2</sup> -β-Glc <sub>3</sub>
Rebaudioside B	H	β-Glc β-Glc <sup>2</sup> -β-Glc <sub>3</sub>
Rebaudioside C	β-Glc	β-Glc β-Glc <sup>2</sup> -α-Rha <sup>a)</sup> <sub>3</sub>
Rebaudioside D	β-Glc <sup>2</sup> -β-Glc	β-Glc β-Glc <sup>2</sup> -β-Glc <sub>3</sub>
Rebaudioside E	β-Glc	β-Glc <sup>2</sup> -β-Glc
Dulcoside A	β-Glc	β-Glc <sup>2</sup> -β-Rha <sup>a)</sup>
Sulcoside B=Rebaudioside C		
Steviol <sup>b)</sup>	H	H
Isosteviol <sup>c)</sup>		

<sup>a)</sup> Rhamnose  
<sup>b,c)</sup> a metabolite of stevioside

**Stevioside의 안전성**

Stevioside의 독성은 체내에서 형성되는 대사물질과 밀접한 연관성이 있다. Steviol이 stevioside의 독성을 나타내는



**Fig. 2. Major transformational process of stevioside.**

대표적인 대사물질로 알려졌으며 이 물질은 랫트의 肝内 미토콘드리아에서 oxidative phosphorylation을 억제한다.<sup>13,21)</sup> Stevioside의 독성을 요약하면 아래와 같다.

**신장독성**

Stevioside는 rat renal tubules의 산소 섭취와 glucose 생성을 억제하여 신장독성을 나타내는 것으로 알려졌으며 그 기전은 다음과 같이 추정된다(Fig. 3).

첫째, proximal convoluted tubule cell에 존재하는 microsomal enzyme에 의해 대사되는 stevioside의 대사체 또는 가수분해된 steviol이 신장에 대해 직접적으로 손상시킨다.

둘째, liver microsomes에 의해 대사되는 stevioside의 대사체 또는 가수분해된 steviol이 순환도중 nephrotoxic effect를 나타내는 것으로 추정되고 있다<sup>22,23)</sup>

**신장배설 및 혈압**

Stevioside는 diuresis와 natriuresis를 증가시키고 glucose의 renal tubular에서의 재흡수를 감소시킨다.<sup>24)</sup> Stevioside는 MAP(mean arterial pressure)을 감소시키고 afferent, efferent arterioles의 확장에 의한 renal plasma flow(RPF)와 glomerular filtration rate(GFR)를 대체로 증가시킨다.<sup>25-27)</sup> 또한, fractional Sodium(FeNa<sup>+</sup>)과 fractional Potassium(FeK<sup>+</sup>)의 분비와 urine flow도 증가시킨다.<sup>25)</sup>

이러한 stevioside의 diuretic, natriuretic, kaliuretic effect는 아마도 stevioside가 vasodilator substance처럼 작용하며 이것은 prostaglandin에 의해 좌우되지 않나 생각되어지고 있다. 그리고 이러한 효과는 indomethacin의 투여에 의해 제거될 수 있으며 정상적인 쥐에서는 hypotension을 일으킬 수도 있다.<sup>25)</sup>

**변이원성**

Stevioside와 그 유도체인 isosteviol은 변이원성이 없으나 steviol은 변이원성이 있는 것으로 알려졌다.<sup>1,28,29)</sup>

Stevioside와 isosteviol은 Salmonella typhimurum TA98,

TA100, TM677, Escherichia coli 또는 Bacillus subtilis 등 여러 균주에서 변이원성을 나타내지 않았다.<sup>29,30)</sup> 그러나, stevioside가 rat intestinal microflora에서—cytochrome P-450 system이 관여하는 것으로 추측되는— 가수분해되어 생성되는 steviol은 15 $\alpha$ -hydroxysteviol를 거쳐 15-oxosteviol이라는 대사물질로 대사되며 15-oxosteviol은 변이원성이 강한 것으로 밝혀졌다. 그리고 그 변이원성은 glutathione S-transferase의 존재하에서 소멸되며 13-hydroxyl group의 위치에서 steviol를 acetylation시키면 변이원성이 감소되는 것으로 알려졌다.<sup>1,29,31,32)</sup>

반면에 in vitro에서 human lymphocytes를 이용한 실험에서는 stevioside와 steviol 모두 변이원성, 세포유전독성을 나타내지 않았다.<sup>30)</sup>

그러나 중요한 것은 일반적으로 식품조리, 저장 및 가공 과정에서는 stevioside가 steviol로 바뀌지 않으나 특히 human alimentary tract에서 발견되는 효소에 의해 stevioside가 steviol로 100% 전환된다는 사실이다. 즉, human enzymatic system에 의해 stevioside가 완전히 active mutagenic species로 바뀔 수 있다는 것이며 이는 stevioside가 감미료로서의 사용에 의문을 갖게 한다.<sup>29)</sup>

**생식 및 발암성**

Stevioside는 성장이나 생식에 별로 영향을 끼치지 않는다고 보고되었다.<sup>30,32)</sup> 그러나, 추출할 때 존재하는(불임성을 갖고 있는 apigenin과 관계있는) flavonoid glycosides와 같은 물질에 의해 경구 피임효과를 갖고 있는 것으로 추측된다.<sup>33)</sup>

Stevioside와 그 대사체에 대한 발암성에 관한 증거는 아직 없는 것으로 알려졌다.<sup>34,35)</sup>

**기타**

Stevioside를 i.p. 또는 i.v.로 실험동물에게 투여했을 때 급성독성이 매우 낮게 나타난다고 보고되었다(LD50 values between 1 and >34g/kg body weight).<sup>34)</sup>

Stevioside는 ketogenesis 등의 상태에서 long-chain fatty acid의 수송을 방해하며 stevioside와 그 유도체(isosteviol, steviolbioside)는 세포막을 통과하는 D-glucose와 D-fructose의 수송을 방해한다.<sup>36-39)</sup> 이것은 stevioside가 intestinal mucosal Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>ATPase를 저해하기 때문이며 이런 영향은 혼합된 형태로 나타나고 isosteviol이 가장 크게, steviolbioside가 가장 적게 영향을 미친다.<sup>26,36)</sup> 또한, 유사한 형태로 탄수화물의 수송체계를 저해하기도 한다.<sup>23,39)</sup>

Stevioside는 calcium antagonist로도 작용하는 것으로 추측되며 cariogenicity(굴저유발성)는 일으키지 않는 것으로

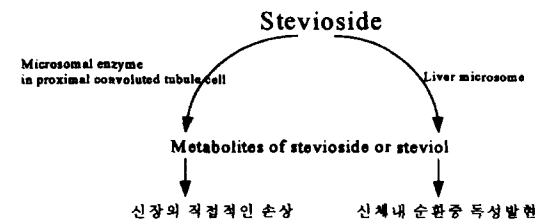


Fig. 3. A proposed mechanism of kidney toxicity by stevioside.

밝혀졌다.<sup>40,41)</sup>

1992년 한 보고서에 의하면 뚜렷한 독성을 나타내지 않는 신체에 대한 유효량은 7.938 mg/kg body weight/day인 것으로 알려졌다.<sup>42)</sup>

## 결 론

감미료는 음식 및 식품에 널리 이용되는 식품첨가물로서 우리 생활과 밀접한 관계로 유지하고 있다. 감미료는 수용성, 안정성, 경제성 및 맛 등이 중요한 문제가 되지만 인체 안전성이 무엇보다도 중요한 요소이다. Stevioside는 우리나라에서 주류에 대량사용되고 있는 감미료로서 안전성에 대해 최근 문제가 제기되고 있다.

여러 자료들은 검토한 결과 stevioside는 cyclamate나 saccharin의 경우 처럼 발암성의 위험이 높게 나타나지는 않았지만 대표적인 신장독성과 그 대사물질인 steviol 등이 돌연변이를 일으킬 수 있는 위험성을 갖고 있는 것으로 나타났다.

국내에서는 이 물질의 안전성에 관한 연구보고가 거의 없는 실정으로 앞으로 좀 더 구체적인 연구가 이루어져 종합적으로 안전성을 평가할 수 있는 노력을 해야 할 것이다. 또한, 감미료 등 식품첨가물에 대하여 안전성을 입증할 수 있는 충분한 자료가 확보되기 전에는 그 사용을 엄격하게 규제해야하며 기존의 국내 사용 식품첨가물에 대해서도 안전성 재평가를 실시해야 할 것이다.

## 참고문헌

- Hanson, J. B. and De Oliverira, B. H., Stevioside and Related Sweet Diterpenoid Glucosides., *Natural Product Reports*, **10**, 301-309 (1993).
- Oser, B. L., Carson, S., Cox, G. E., Vogin, E.E. and Sternbert, S.S., Long-term and multigeneration toxicity studies with cyclohexylamine hydrochloride, *Toxicology*, **6**, 47 (1976)
- Bryan, G. T., Ertürk, E., and Yoshida, O., production of urinary bladder carcinomas in mice by sodium cyclamate, *Science*, **168**, 1238 (1970).
- 보건사회부고시 제84-59호 (1984).
- Vasquez, E. and Jakinovich, W., Stimulation of the Gerbil's Gustatory Receptors by Some Potently Sweet Terpenoids : *J. Afric. Food Chem*, **41**, 1305-1310 (1993).
- Yamamoto, K., Yoshikawa, K. and Okada, S., Effective Production of Glycosyl-stevio sides by  $\alpha$ -1,6 Transglucosylation of Dextrin Dextranase : *Biosci. Biotech. Biochem*, **58**, 1657-1661 (1994).
- Lobov, S. V., Kasai, R., Ohtani, K., Tanaka, O. and Yamasaki, K., Enzymic production of sweet stevioside derivatives : Transglucosylation by glucosidase : *Agric. Biol. Chem.*, **55**, 2959-2955 (1991).
- Kusakabe, I., Watanabe, S., Morita, R., Terahara, M. and Murakami, K., Formation of a Transfer Product from Stevioside by the cultures of Actinomycete : *Biosci. Biotech. Biochem.*, **56**, 233-237 (1992).
- Mizutani, K., Miyata, T., Kasai, R., Tanaka, O., Ogawa, S. and Doi, S., Study on improvement of sweetness of steviol bisglycosides : Selective enzymic transglucosylation of the 13-O-glycosyl moiety : *Agric. Biol. Chem.*, **53**, 395-398 (1989).
- Kusama, S., Kusakabe, I., Nakamura, Y., Eda, S. and Murakami, K., Transglucosylation into stevioside by the enzyme system from *Streptomyces* sp. : *Agric. Biol. Chem.*, **50**, 2445-2451 (1986).
- DuBois, G. E. and Stephenson, R. A., Diterpenoid sweeteners : Synthesis and sensory evaluation of stevioside analogues with improved organoleptic properties : *J. Med. Chem.*, **28**, 93-98 (1985).
- Ohtani, K., Aikawa, Y., Fujisawa, Y., Kasai, R., Tanaka, O. and Yamasaki, K., Solubilization of steviolbioside and stevilmonoside with gamma-cyclodextrin and its application to selective syntheses of better glycosides from stevioside and rubusoside : *Chem. Pharm. Bull. Tokyo.*, **39**, 3172-3174 (1991).
- Marie, S. and Piggott J. R. : *Handbook of Sweeteners. Blackie*, pp. 139-175, 265-277 (1991).
- Rasenack, P., *Arbeiten aus dem Kaiserlichen Gesundheitsame.*, **28**, 420 (1908).
- Dieterich, K., *Pharm. J.*, **28**, 836 (1909).
- Bridel, M. and Lavieille, R., *J. Pharm. Chim*, **14**, 99 (1931).
- Grenby, T. H. : *Progress In Sweeteners, Elsevier Applied Science*, pp. 189-305 (1989).
- Wood, H. B., Allerton, R., Diehl, H. W., and Fletcher, H. G. *J. Org. Chem.*, **20**, 875 (1955).
- Kohda, H., Kasai, M., Yamasaki, K., Murakami, K., and Tanaka, O., *Phytochemistry*, **15**, 981 (1982).
- Avent, A.G., Hanson, J. R., Hitchcock, P.B., and De Oliveira, B.H., *J. Chem. Soc, Perkin Trans. 1*, 2661 (1990).
- Barcht, A. K., Alvbarez, M. and Brachi, A., Effects of *Stevia rebaudiana* natural products on rat liver mi-

- tochondria : *Biochem. Pharmacol.*, **34**, 873-882 (1985).
22. Tokulkao, C., Deechakawan, W., leardkamolkarn, W. and Thirayudh Glinsukon, The Low Calorie Natural Sweetener Stevioside : Nephrotoxicity and its Relationship to urinary Enzyme Excretion in the Rat : *Phytotherapy Research*, **6**, 281-286 (1994).
  23. Krejci, M.E., Acute effects of carboxyatractyloside and stevioside, inhibitors of mitochondrial ADP/ATP translocation, on renal function and ultrastructure in pentobarbital-anesthetized dogs : *Toxicology*, **72**, 299-313 (1992).
  24. Melis, M. S., Renal excretion of stevioside in rats : *J. Nat. Prod.*, **55**, 688-690 (1992).
  25. Melis, M. S. and Sainati, A. R., Participation of prostaglandins in the effect of stevioside on rat function and arterial pressure : *Braz. J. Med. Biol. Res.*, **24**, 1269-1276 (1991).
  26. Melis, M. S., Stevioside effect on renal function of normal and hypertensive rats : *J. Ethnopharmacol.*, **36**, 213-217 (1992).
  27. Tosulkao, C., Sutteerawattananon, M., Wanichanon, C., saitongdee, P. and Suttagit, M., Effects of stevioside and steviol on intestinal glucose absorption in hamsters : *J. Nutr. Sci. Vitaminol. Tokyo.*, **41**, 105-113 (1995).
  28. Hagiwara, A., Fukushima, S., Kitaori, M., Shibata, M. and Ito, N., Effects of three sweeteners on rat urinary bladder carcinogenesis initiated by N-butyl-N-(N-hydroxybutyl)-nitrosamine : *Gann*, **75**, 763-768(1984).
  29. Pezzuto, J. M., Compadre, C. M., Swanson, S.M., Nanayakkara, N.P.D. and Kinghorn, A. D., Metabolically activated steviol, the aglycone of stevoside, is mutagenic : *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **82**, 2478-2482 (1985).
  30. Suttajit, M., Vinitketkaumnuen, U., Meevatee, U. and Buddhasukh, D., Mutagenicity and Human Chromosomal Effect of Stevioside, a Sweetener from *Stevia rebaudiana* Bertoni : *Environ. Health Perspect. Suppl.*, **101**, 53-56(1993).
  31. Pezzuto, J. M., Nanayakkara, N.P.D., Compadre, C. M., Swanson, S. M., Kinghorn, A.D. and Guenther, T. M., Characterization of bacterial mutagenicity mediated by 13-hydroxy-*ent*-kaurenoic acids(steviol) and several structurally-related derivatives and evaluation of potential to induce glutathione S-transferase in mice : *Mutat. Res.*, **169**, 93-103 (1986).
  32. Yodyingyud, V. and Bunyawong, S., Effect of stevioside on growth and reproduction., *Hum. Reprod.*, **6**, 158-165 (1991).
  33. Glinsukon, T., Pimbua, J., and Panichkul, T. Stevioside : a natural sweetener from *Stevia rebaudiana* Bertoni : toxicological evaluation : *Thai J. Toxicol.*, **4**, 1-22 (1988).
  35. Panichkul, T., Glinsukon, T., Buddhasukh, D., Cheuvychit, P., and Pimolsri, U., teh plasma levels of urea nitrogen, creatinine and uric acid and urine volume in rats and hamsters treated with stevioside : *Thai J. Toxicol.*, **4**, 47-52 (1988).
  36. Tosulkao, C., Sutteerawattananon, M. and Pi-yachaturawat, P., Inhibitory effect of steviol, a metabolite of stevioside, on glucose absorption in everted hamster intestine in vitro : *Toxicology Letters*, **80**, 153-159 (1995).
  37. Tosulkao, C. and sutteerawattananon, M., Effects of Stevioside, A Natural Sweetener, On Intestinal Glucose Absorption In Hamsters : *Nutrition Research*, **14**, 1711-1720 (1994).
  38. Constantin, J., Ishii, E.L., Ferraresi, F.O., Kelmer, B.A. and Bracht, A., Sensitivity of ketogenesis and citric acid cycle to stevioside inhibition of palmitate transport across the cell membrane : *Braz. J. Med. Biol. Res.*, **24**, 767-771 (1991)
  39. Ishii, E.L., Schwab, A.J., and Bracht, A., Inhibition of Monosaccharide Transport in Teh Intact Rat Liver by Stevioside : *Biochemical Pharmacology*, **36**, 1417-1433 (1987).
  40. Das, S., Evaluation of the cariogenic potential of the intense natural sweeteners stevioside and rebaudioside A : *Caries Res.*, **26**, 363-366 (1992).
  41. Melis, M. S. and Sainati, A. R., Effect of calcium and verapamil on renal function of rats during treatment with stevioside : *J. Ethnopharmacol.*, **33**, 257-262 (1991).
  42. Xili, L., Chengjian, B., Ery, X., Reiming, S., Yuengming, W., Haodong, S. and Zhiyian, H., Chronic oral toxicity and carcinogenicity study in rats : *Food Chem. Toxicol.*, **30**, 957-965 (1992).