

특집: 새로운 감미료의 산업적 이용과 전망

스테비오사이드의 안전성 현황

(Current Safety Status of Stevioside)

이 일 수

식품의약품 안전본부

서론

스테비아 리보디아나 베르토니(Stevia Rebaudiana Bertoni)는 브라질 국경지방에 인접한 파라구아이의 북동부 고산지대에 자생하는 감미식물이다. 스테비오사이드(stevioside)는 이 식물의 주요한 감미성분으로 파라구아가 스페인에 의해 식민지화(16세기)되기 훨씬 이전부터 여러 가지의 감미음료에 널리 사용되고 있었다. 스테비오사이드는 감미도가 설탕의 300배로 비발암성 혹은 무칼로리의 당대체 감미료로서 인기가 높다. 특히 일본에서는 과거 20년 동안 해산품, 피클야채, 디저트, 음료와 과자류 등 각종 식품에 감미를 내기 위해 스테비오사이드를 사용하고 있다. 스테비오사이드의 현대적 이용은 다분히 다혈당 증상을 보이는 식생활과 연관이 깊으며 이는 스테비아(stevia)가 갖고 있는 다양한 약리효과 중에 스테비오사이드의 저혈당적 효과가 사람에게 널리 이용될 수 있음을 나타내고 있다(Table 1).

우리나라에서도 스테비오사이드가 식품에 이용되고 있고, 특히 희석식 알콜음료(소주)에 감미를 내기 위해 사용되고 있어 소비자와 업계, 그리고 관련 기관에서는 스테비오사이드의 안전성에 대해 관심이 증가하고 있다. 이 글에서는 사람에게 대한 스테비오사이드의 안전성에 대해 평가해 보고자 하였다.

설치류에서의 독성

스테비오사이드 또는 스테비아 리보디아나 추출물의 급성·아급성 독성 연구는 다양한 수준의 첨가량에서 급성 또는 아급성 독성이 없다고 쥐와 마우스에서 각각 입증되어 있다(Table 2).

스테비오사이드의 만성, 암원성 특성에 대해서는 일본국립위생시험소(Takahashi 등)에서 F344쥐를 이용하여 실시하여 연구결과를 최근에(1997년) 발표한 바 있다(Table 3-6, Fig. 1).

Table 1. Functional properties of stevia

Hypoglycemic effect	: Diabetes, obesity, etc. In Brazil, stevia tea and stevia capsules are officially approved for sale for the treatment of diabetes.
Cardiotonic effects	: lowering of arterial blood pressure at lower doses. Increase of arterial blood pressure at high doses.
Antimicrobial effects	: Inhibit the growth of bacteria and other infectious organisms(Streptococcus mutants, Pseudomonas, Proteus, etc.).
Digestive tonic actions	: Improve digestion(used for centuries by Gauchos, nomadic culture in Brazil) by improved GI function.
Skin problems	: Guarani tribes used it to treat for acne, seborrhea, dermatitis, eczema and cuts and wounds, etc.
Mouth hygiene	: Mouth wash.

Table 2. Toxicity of stevioside on rodents

Authors	Dose period (days)	purity (stevioside)	Mouse	Rat
			LD50g/kg	
1. Akashi and Yokoyama(1975)	30	93.5%	17.2	15.0
2. Lee et al.(1979)	56	50%		3.4(ip) 1.7(po)
3. Katsuda et al.(1979)	30	>90%	>8.2(po)	>8.2(po)
4. Aze et al.(1991)	98	95.6%		>4g/kg b.w.(LD0)

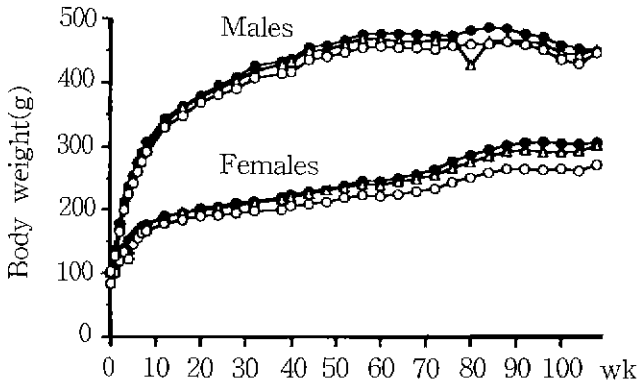


Fig. 1. Growth curves of F344 rats given stevioside in the diet for 104 weeks.

●: Control, ▲: 2.5% in diet, ○: 5.0% in diet

실험에 사용된 스테비오사이드 순도는 함량 95.6%이며 최

고 5%까지 포함된 먹이를 26개월간 투여하여 실시한 연구의 결과 비록 다량의 스테비오사이드(5%w/w)가 함유된 식이를 섭취한 암,수 쥐 모두에서 약간의 일시적 성장저해가 나타나기는 하였지만 치사율 면에서는 큰 차이가 없다. 스테비오사이드를 장기간 복용한 쥐와 복용하지 않은 쥐에 대한 장기 무게 및 비뇨기적, 혈액학적, 혈액생화학적 연구도 수행되었다.

이 연구에서 알 수 있었던 바와 같이 스테비오사이드를 2.5%와 5% 농도로 26개월에 걸쳐 섭취시킨 결과 생화학적 관점에서 스테비오사이드의 섭취량과 관계된 특별한 변화는 발견되지 않았다. 일부 생성된 종양들은 실험대상인 F344 rats의 노화와 관계있고 스테비오사이드의 투여와는 관계없다고 결론지어졌다.

Table 3. Body weights, final survival rates and survival times for F344 rats given stevioside in the diet for 104 weeks

Groups	Body weights at wk 104(g)	Daily intakes of		Final survival rates(%)	Survival times (wk)	
		Food (g/rat)	Stevioside (mg/kg body weight)			
Males	Control	455±34 ¹⁾	15.2±0.6	0	78	105.8± 5.1
	2.5%	445±54	15.4±0.7	969±308	72	104.3± 9.2
	5%	431±31 ²⁾	15.5±0.7	1997±617	60 ⁴⁾	102.8± 9.5
Females	Control	305±38	10.0±0.8	0	78	105.4± 6.3
	2.5%	294±30	10.1±0.9	1120±285	70	103.2±10.4
	5%	263±29 ³⁾	10.0±0.7	2387±508	78	105.5± 7.5

¹⁾Values are means±SD

²⁾Significantly different from the control-group value at p<0.05(Scheffe's test)

³⁾Significantly different from the control-group value at p<0.01(Scheffe's test)

⁴⁾Significantly different from the control-group value at p<0.05(Fisher's exact probability test)

Table 4. Absolute body and organ-weights, and relative organ weights(organ/body) for F344 rats given stevioside in the diet for 104 weeks

	Males			Females		
	Control(49) ¹⁾	2.5%(48)	5%(47)	Control(49)	2.5%(46)	5%(47)
<i>Absolute weights(g)</i>						
Body	421.7±55.6 ²⁾	429.9±90.8	409.1±44.2	280.3±41.4	270.2±40.4	251.4±35.8 ⁴⁾
Bram	2.142±0.079	2.161±0.07	2.139±0.089	1.935±0.100	1.927±0.063	1.938±0.073
Kidney-right	1.470±0.228	1.405±0.17	1.351±0.186 ³⁾	0.926±0.228	0.890±0.079	0.841±0.076 ³⁾
Kidney-left	1.463±0.232	1.419±0.16	1.359±0.185 ³⁾	0.895±0.119	0.899±0.082	0.843±0.073 ³⁾
Ovary-right	-	-	-	0.033±0.009	0.042±0.054	0.030±0.024
Ovary-left	-	-	-	0.035±0.011	0.037±0.014	0.028±0.006 ³⁾
<i>Relative weights(%)</i>						
Brain	0.517±0.077	0.522±0.102	0.529±0.064	0.706±0.126	0.728±0.115	0.788±0.126 ⁴⁾
Kidney-right	0.357±0.093	0.339±0.082	0.333±0.053	0.342±0.142	0.335±0.049	0.341±0.059
Kidney-left	0.355±0.092	0.343±0.078	0.335±0.051	0.324±0.053	0.338±0.048	0.341±0.052
Ovary-right	-	-	-	0.012±0.003	0.015±0.018	0.012±0.011
Ovary-left	-	-	-	0.013±0.004	0.014±0.005	0.011±0.003

¹⁾Numbers in parentheses represent the numbers of rats examined

²⁾Values are means±SD

³⁾Significantly different from the control-group value at p<0.05(Scheffe's test)

⁴⁾Significantly different from the control-group value at p<0.01(Scheffe's test)

Table 5. Incidences of tumours in F344 rats given stevioside in the diet for 104 week

Sites	Histological types of tumours	No. of male rats with tumours			No. of female rats with tumours		
		Control (49) ¹⁾	2.5% (48)	5% (47)	Control (49)	2.5% (46)	5% (47)
Brain	Glioma	0	0	0	1	0	0
Trigemimus	Schwannoma	0	0	0	1	0	0
Pituitary gland	Adenoma	13	5	8	11	14	9
	Carcinoma	0	0	1	1	0	1
Thyroid gland	C-cell adenoma	5	10	10	4	4	6
	C-cell careinoma	5	2	4	1	0	1
	Follicular cell adenoma	0	0	1	0	0	0
	Follicular cell carcinoma	0	0	1	0	0	0
Adrenal gland	Cortical adenoma	1	1	0	0	0	1
	Pheochromocytoma	15	10	7	3	1	7
	Ganglioneuroma	0	1	1	0	0	0
Pancreas	Islet cell adenoma	2	5	3	3	0	0
	Islet cell carcinoma	1	1	1	0	1	0
	Mixed acinar-islet cell adenoma	1	0	0	0	0	0
Haematopoietic system	Large granular lymphocyte leukaemia	6	9	11	7	9	10
	Malignant lymphoma	1	1	2	1	4	3
	Thymoma	1	0	0	0	1	0
Lung	Bronchiolo-alveolar adenoma	6	5	2	1	1	1
	Bronchiolo-alveolar carcinoma	2	0	3	0	0	1
Tongue	Squamous cell papilloma	1	1	0	0	0	0
Oral cavity	Squamous cell papilloma	0	0	0	0	0	1
Forestomach	Squamous cell papilloma	0	1	0	0	0	0
Small intestine	Adenocarcinoma	1	0	0	0	0	0
	Leiomyosarcoma	1	0	0	0	1	0
Large intestine	Adenoma	1	1	0	0	0	0
	Adenocarcinoma	0	0	0	0	0	1
	Malignant fibrous histiocytoma	0	0	1	0	0	0
Liver	Hepatocellular adenoma	5	3	3	0	0	0
	Hepatocellular carcinoma	0	1	0	0	0	0
Kidney	Renal cell adenoma	0	1	0	0	0	0
	Renal cell carcinoma	0	0	0	1	0	0
Testis	Interstitial cell tumour	47	44	40	—	—	—
Prostate	Adenoma	3	2	0	—	—	—
Ovary	Granulosa cell tumour	—	—	—	0	1	0
Uterus	Endometrial adenoma	—	—	—	0	1	0
	Endometrial ademocarcinoma	—	—	—	1	1	0
	Endometrial stromal polyp	—	—	—	7	8	9
	Endometrial stromal sareoma	—	—	—	0	2	0
Mammary gland	Fibroma	5	8	2	2	1	0
	Fibroadenoma	5	4	1	5	6	6 ²⁾
	Adenoma	2	0	0	6	0	0 ²⁾
	Adenocarcinoma	0	0	1	0	0	1
Skin	Squamous cell careinoma	2	4	0	0	0	0
	Keratoacanthoma	1	0	2	0	1	0
	Basal cell adenoma	1	0	0	0	0	1
	Trichoepithelom	0	1	0	0	0	0
	Tricholemmoma	0	1	0	0	0	0
Subcutis	Fibroma	1	1	1	0	0	0
	Lipoma	1	0	2	0	0	0
	Hemangioma	0	0	0	0	0	0
	Malignant fibrous histiocytoma	0	0	1	1	0	0
	Fibrosarcoma	1	0	0	0	0	0
	Leiomyosarcoma	0	0	1	0	0	2
	Sarcoma(not otherwise specified)	0	0	0	1	0	0
Bone	Osteosarcoma	0	1	0	0	0	0
Pinna	Neural crest neoplasm	1	0	0	0	0	0
Zymbal's gland	Squamous cell caccinoma	0	0	1	0	0	0
Preputial/clitoral gland	Adenoma	6	9	3	6	3	2
Abdominal cavity	Mesothelioma	3	2	0	0	0	0
	Fibrosarcoma	0	0	0	0	1	0
	Malignant fibrous histiocytoma	0	0	1	0	0	0
	Chordoma	0	1	0	0	0	0
All sites		49	47	47	37	37	36

¹⁾Numbers in parentheses represent the numbers of rats examined²⁾Significantly different from the control-group value at p<0.05

Table 6. Incidence and severity of chronic nephropathy in F344 rats given stevioside in the diet for 104 week

Groups		No. of rats examined	No. of rats with chronic nephropathy	Severity of chronic nephropathy			
				Normal	Mild	Moderate	Severe
Males	Control	49	46	3	16	24	6
	2.5%	48	38	10	19	17	2 ²⁾
	5%	47	40	7	27	9	4 ¹⁾
Females	Control	49	17	32	12	5	0
	2.5%	46	23	23	16	7	0
	5%	47	9	38	8	1	0

¹⁾Significantly different from the control group case at p<0.01(cumulative chi-square test)

²⁾Significantly different from the control group case at p<0.05(cumulative chi-square test)

Table 7. Mutagenicity of stevioside

Authors	Chemical Components	<i>S. typhimurium</i>	Ames Test	MN (Micronuclei)	CA (Chromosome aberration)
1. Ishitade et al.(1984)	Stevioside-, +S9	TM677	-		-(c,umu,r)
2. Pezzuto et al.(1985)	Stevioside	TM677	-		
	Steviol+S9(A1), NADPH	"	+		
	Isosteviol+S9(A1), NADPH	"	-		
	Dihydrosteviol A&B	"	-		
	Steviol16a, 17-epoxide	"	+		
3. Flores et al.(1987)	Stevioside(150mg/kg) " (15mg/pl)			-	-(S.E.)
4. Matsui, 1989	Stevioside	TA100,102,97,98	-	-	-
	Steviol+S9	TM677	+		+(c,umu)
5. Procinka, et al.(1991)	15-Oxosteviol	TM677	-		
6. Suttajit, 1993	Steviol-, +S9(25mg/pl)	T98,100	-		-(human)
	Stevioside(25mg/pl)	"	-		-(human)
	Stevioside(50mg/pl)	T98	+		-(human)

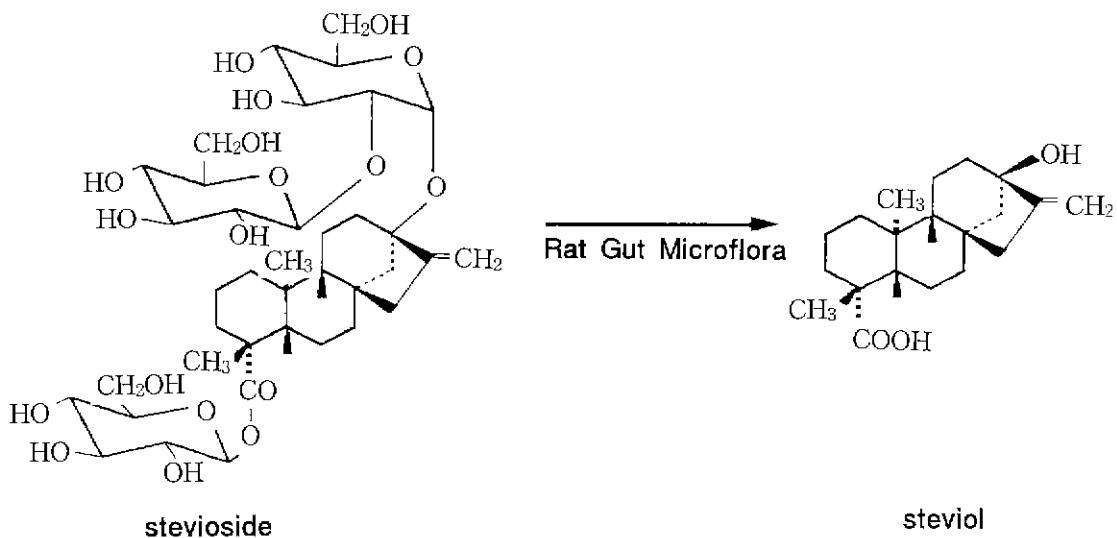
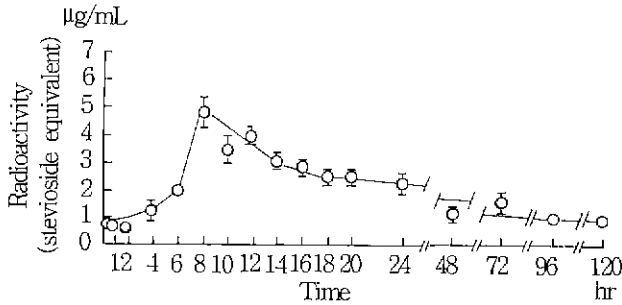


Fig. 2. Metabolic conversion of stevioside.

Table 8. Cumulative excretion of radioactivity after oral administration of [³H] stevioside to rats

Time (hr)	Feces (n=3)	Urine (n=3)	Expired air (n=3~5)
24	49.4±0.9 ^{a)}	2.0±0.2 ^{a)}	2.3±1.6 ^{a)}
48	60.3±1.3	2.2±0.2	6.8±5.5
72	63.8±1.6	2.2±0.2	23.9±0
96	67.0±1.9	2.3±0.2	—
120	68.4±2.1	2.3±0.2	—

^{a)}Expressed as % of dose

**Fig. 3. Blood levels of radioactivity after oral administration of [³H] stevioside to rats.**

유전독성

스테비아(*S. rebaudiana*)에서 유래된 스테비오사이드와 조추출물들은 몇몇 실험에서 변이원성이 없는 것으로 밝혀졌다(Table 7). 즉, 스테비아 잎 추출물(stevioside, rebaudioside A-C, dulcoside A, steviolbioside)에 대한 Salmo-

nella, typhimurium 균주의 TA 97, 98, 100, 102 그리고 TM677를 이용한 실험에서 이들 중 어떤 물질도 대사활성 시스템(S9)의 유, 무에 관계없이 변이원으로 작용한다는 증거는 없었다.

그러나 스테비오사이드가 쥐의 장내균총 G1 flora에 의해 스테비올(steviol)로 전환된다는 보고가 있고(Fig. 2), 전방 돌연변이 실험에서 스테비올이 Aroclor-1254(상표명, PCB의 일종)로 전처리된 쥐 간의 9,000×g 상등액으로 얻어진 대사활성 시스템(S9)의 존재하에 변이원으로 작용할 수 있다는 결과가 Ames test로 나타난 바 있다(Table 7). 대사되지 않은 스테비올은 이 시스템에서 비활성이었다. 그러나 영국의 Procinka 등(1991)의 실험결과에 의하면 스테비올의 대사활성물질로 사료되는 15-oxosteviol은 변이원성이 없다고 보고하고 있다(Table 7).

한편 Iwamoto 등(1995)은 스테비올(Steviol)의 쥐 간의 perfusion을 유도한 실험의 perfusate에서 스테비올을 검출해내지 못했다. 또한 스테비오사이드는 쥐에서 대부분 분뇨, 땀 등 분비물로 배출된다는 보고도 있다(Table 8, Fig. 3) 이러한 결과로 미루어 볼 때 일부 Ames Test의 positive 실험결과가 생체에 그대로 적용될 수 없음을 보여 주고 있어 사람이 섭취한 스테비오사이드가 스테비올로 활성화되고 활성을 띤 돌연변이 물질로 작용할 가능성은 거의 없다고 할 수 있다.

Table 9. Reproductive performance & teratogenicity tests of stevioside

Authors	Exp. animal	Dose(g/kg)	Duration	Pregnant	Litter size	Litter Abn.
1. Planas & Kuc(1968)	Rats	5% sol. (stevia?)	6-day	Reduced	Reduced	—
2. Mori et al.(1981)	Rats	0.75 0.75	-60d(m) -14,7d(f)	— No change	— No change	—
3. Yodyingyuad et al.(1991)	Hamsters	2.5	Fo.1,2	No change	No change	—

Table 10. Chronic cancer tests of stevioside

Published year	1985	1992	1997
Country	Japan	China	Japan
Rat var.	F344 rats	Wistar rats	F344 rats
E. period	24 months	24 months	26 months
Diet	0, 0.1, 0.3, 1%	0, 0.2, 0.3, 1.2%	0, 2.5, 5.0
Purity	95.2%(74.5% stevioside 16.3% rebaudioside A	85% stevioside	95.6% stevioside
Conclusion	Negative	Negative	Negative
Published Journal	J. Food Hyg. Sci. 26(2) 169-183, 1985	Food Chem. Tox. 30(11) 957-965, 1992	Food Chem. Tox. 1997 in press.

생식 기형 독성

쥐의 임신 후 6일부터 15일까지 매일 사료로서 스테비오사이드를 0.25, 0.5 그리고 1.0g을 투여한 결과 어미와 새끼쥐 모두에서 기형과 독성증상을 관측하는데 실패하였다(Table 9). Planas 등(1968년)은 스테비아잎이 쥐에서 임신억제 효과가 다소 있다고 보고하였으나 그런 결과는 실험동물을 이용한 수 많은 실험결과에서는 반복되어 나타나지 않았다(Table 9).

만성 발암성

수차례 보고된 논문에 의하면 스테비오사이드의 장기간의 투여에 의한 만성 발암성은 없는 것으로 밝혀지고 있다(Table 10). 최근 일본국립위생시험소(1997년)가 발표한 보고서에 의하면 스테비오사이드를 2.5와 5%를 첨가한 사료를 먹인 2년간의 쥐에 대한 발암성 실험 결과는 암, 수 모두 병리학적으로 발암성은 물론 신장독성도 없음을 보여주고 있었다(Table 5).

결론

1. Stevioside는 주로 쥐의 G1 flora에 의해 steviol로 대사되지만 쥐의 간에 의해서는 대사되지 않는다. Yoshihira 등(1978년)과 Wingard 등(1980년)은 G1 flora가 단지 stevioside의 steviol로의 전환에만 관여함을 증명하였다. 이러한 결과는 분리된 쥐 간에서의 stevioside의 perfusion 실험으로 perfusate에서 steviol을 보임을 실패한 lwamoto 등(1995)의 실험결과로 더욱 뒷받침되었다. 이러한 일종의 결과는 S9 hepatic microsome으로 행한 positive한 Ames test 결과들과 일치되지 않는 것이다.
2. Stevioside 또는 steviol은 모든 돌연변이 연구에 근거해 유전독성이 없는 것으로 보인다.
3. Stevioside는 발암성 뿐만 아니라 어떤 독성도 없음이 2년간 쥐에 투여(2g/kg/day)한 실험 결과로 입증되어 있다.
4. Diet에 5% stevioside가 되도록 첨가한 실험(Takahashi 등, 1997)이 최대 NOEL bench mark로 간주한다면 stevioside에 대한 ADI가 사람체중 60kg당 1.2g으로 100배 이상 안정성이 높다고 평가된다.