

팔라티노스의 Sprague-Dawley rats에서 14일 반복 경구투여 독성 평가

손승우¹ · 김재환² · 신광순^{1,*}

¹경기대학교 식품생물공학과, ²(주)네오크레마

Toxicity assessment of the palatinose orally administered to Sprague-Dawley rats for 14 consecutive days

Seung-U Son¹, Jae Hwan Kim², and Kwang-Soon Shin^{1,*}

¹Department of Food Science and Biotechnology, Kyonggi University

²Neo Crema Co., Ltd.

Abstract In order to examine the toxicity of palatinose-L (Pal-L) bioconverted from sucrose, we performed a 14-consecutive day toxicity study with male and female Sprague-Dawley (SD) rats. We recorded clinical signs of toxicity, body weight, organ weights, hematology, blood biochemical, urinalysis, histological changes in organs, such as the liver and kidneys, and clinical chemistry analysis data for all SD rats. There were no significant changes in food/water consumption, body weight, and organ weights during the experimental period. Although there were some hematologic and urinalysis alterations, these changes were not considered toxicologically significant. In addition, histopathological examination of the liver and kidneys revealed no abnormal or toxicological changes between the control and Pal-L-treated rats of both sexes. Collectively, these results suggest that Pal-L was not indicated to have any toxicity in the SD rats when it was orally administered up to a dose of 1,000 mg/kg/day for 14 days.

Keywords: palatinose, Sprague-Dawley rat, oral administration, toxicity

서 론

현대사회의 의료기술과 생활수준 향상으로 인한 고령화와 식습관 변화에 따라 비만, 당뇨병, 고혈압, 고지혈증과 같은 대사성 질환을 비롯한 각종 성인병의 발병이 크게 증가하고 있다(Anari 등, 2017). 특히 당류를 포함한 탄수화물은 생명 유지 및 육체적 활동에 필수적인 에너지원인 동시에, 식품에 감미와 조식감을 부여하는데 중요한 역할을 맡고 있다(Park 등 2018). 하지만 당류의 과다섭취는 비만, 당뇨병 그리고 고혈압 등과 같은 만성 대사 질환의 발병률을 증가시킨다는 연구가 지속적으로 발표되면서 당류의 섭취를 줄이기 위해 세계 보건기구(WHO) 및 각국의 정부는 당류 저감화 정책을 펼치고 있다(Jung, 2016; Wang, 2014). 이에 따라 설탕(sucrose)이나 과당(fructose)과 같은 당류에 대한 소비자의 인식은 매우 부정적이기 때문에 타카토스, 스테비아, 알룰로스, 팔라티노스와 같은 설탕대체제들에 대한 관심이 높아지고 있다. 그 중 팔라티노스(Palatinose)는 이소말톨로오스(isomaltulose)라고 부르기도 하며 벌꿀이나 사탕수수에서 발견되는 천연 이당류로서, 설탕과 동일하게 포도당(glucose)과 과당으로 이루어

져 있으나 결합 양식이 다른 구조 이성질체이다(Low 등, 1988; Low와 Sporns, 1988; Siddiqui와 Furgala, 1967). 설탕은 포도당과 과당이 α -1,2 결합[α -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-fructofuranoside]으로 결합한 비환원당이지만, 팔라티노스는 α -1,6 결합(6-O- α -D-Glucopyranosyl-D-fructose)으로 결합된 환원당이다(Krastanov 등, 2007). 또한 팔라티노스는 설탕과 거의 동일한 감미질을 갖고 있으나, 감미도는 절반 정도이며(Kim, 2011) 녹는점은 설탕(160-185°C)에 비해 낮은 123-124°C 정도로 알려져 있고 낮은 pH에서도 설탕에 비해 안정적이기 때문에 체내의 위장과 같은 산성 환경에서도 비교적 덜 분해되는 것으로 알려져 있다(Lina 등, 2002). 뿐만 아니라 팔라티노스는 설탕에 비해 체내 흡수가 20% 정도 느리며 다른 당질의 소화, 흡수를 지연시키는 작용이 있다고 알려져 있고(Kawai 등, 1985; Kawai 등, 1989), 열 안정성 평가에서도 우수한 안정성을 가져 가수분해가 덜 일어나는 것으로 알려져 있다(Dahlqvist 등, 1963). 이를 바탕으로 최근 본 연구진은 *Protaminobacter rubrum* CBS 574.77로부터 분리한 α -glucosyl-transferase 효소를 이용한 생물전환공정법을 통해 설탕으로부터 팔라티노스를 생산하였다. 나아가 이들의 구조적 특성을 규명하였고(Park 등 2018), 경구투여를 통해 hepatic lipogenesis와 cholesterol homeostasis를 통한 hyperglycemia 개선 효과에 대한 연구를 발표하였다(Hwang 등, 2018; Lee 등, 2020). 따라서 본 연구에서는 팔라티노스의 치사율 및 독성 증상 등의 안전성을 확보하기 위해 식품의약품안전처 『의약품 등의 독성 시험 기준(별표 2 반복투여독성시험)』 및 OECD guideline for testing of chemical NO. 407 'Repeated Dose 28-day Oral Toxicity Study in Rodents' (OECD, 2008)를 참고하여 안전성을 평가하고자 하였다.

*Corresponding author: Kwang-Soon Shin, Department of Food Science and Biotechnology, Kyonggi University, Suwon, Gyeonggi 16227, Korea
Tel: +82-31-249-9655
E-mail: ksshin@kyonggi.ac.kr
Received September 7, 2020;
accepted October 3, 2020

재료 및 방법

실험 동물

Sprague-Dawley (SD) rat (6주령, 수컷, 암컷)은 새론바이오 (Uiwang, Korea)에서 구입하였으며, 사료와 물을 자유롭게 공급하며 일주일의 순화 기간을 거친 후 그룹당 7마리씩 무작위로 나누어 실험에 사용하였다. 사육장은 온도 23±3°C, 습도 60±10%로 유지하고 12시간 간격으로 명암을 조절하였으며, 경기대학교 동물실험윤리위원회의 승인을 받은 후 이의 규정을 준수하며 실험을 진행하였다(2019-001).

팔라티노스 시럽 제조

본 실험에서 사용한 팔라티노스 시럽 Palatinose (Pal)-L은 네오 크레마(Seoul, Korea)에서 제조한 것을 제공받아 사용하였다. Pal-L은 설탕 400 g에 증류수 600 mL을 첨가한 후 75에서 교반하여 설탕수용액을 제조하고 pH 6으로 조정된 후, *Protaminobacter rubrum* CBS 574.77 (wet cell 0.01-0.5%)을 투입하고 30°C에서 20시간 동안 반응시켰다. 반응이 종료된 후 90°C에서 30분간 효소를 실행시키고 이에 활성탄을 첨가하고 65°C에서 2시간 동안 교반하여 반응시켰다. 그 후 반응물을 0.5 µm 여과지를 이용하여 여과하고, 최종적으로 0.22 µm 여과지를 통과시킨 후 70°Bx로 농축하여 Pal-L을 만들고 추후 실험에 사용하였으며 Pal-L의 효소 처리 전과 후의 성분은 Table 1에 제시된 바와 같다.

투여 방법 및 용량

6 주령 수컷 및 암컷 SD rat를 그룹당 7마리씩 하여 Pal-L 실험군의 경우, SD rats용 존데를 사용하여 1,000 mg/kg의 용량으로 14일간 1일 1회 경구투여 하였으며 대조군은 증류수를 경구투여 하였다.

일반 증상 및 폐사 관찰

투여 전기간에 걸쳐 모든 동물에 대하여 1일 1회 투여 직후의 일반 증상을 관찰하고 1일 2회 빈사 및 사망 동물의 유무를 개체별로 기록하였다.

체중 측정 및 사료/음수 섭취량

시험 기간 중 모든 동물의 체중은 투여 개시일(투여 전)부터 투여 후 14일(투여 기간)까지의 체중을 매일 1회 측정하였으며 시험 기간 중 모든 동물의 사료 및 음수 섭취량은 순화기간(7일), 투여 개시일부터 투여 종료일(14일)까지의 섭취량을 측정하여 1일 평균 섭취량을 산출하였다.

혈액학적 검사

부검 전 12시간 절식시킨 후, 부검일에 CO₂ gas로 마취하여 간문맥으로부터 혈액을 채취하였다. 혈액학적 검사는 혈액 약 3 mL를 EDTA-2K가 코팅된 튜브(Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ, USA)에 취한 후 혈구계측장치(SYSMEX NX-1000, Sysmex Corporation, Kobe, Japan)를 이용하여 총백혈구(white blood cell, WBC), 총적혈구(red blood cell, RBC), 혈색소량(hemoglobin, Hgb), 헤마크리트치(hematocrit, HCT), 평균적혈구용적(mean corpuscular volume, MCV), 평균적혈구헤모글로빈양(mean corpuscular hemoglobin, MCH), 평균적혈구혈색소농도(mean corpuscular hemoglobin concentration, MCHC), 혈소판수(platelets, PLT), 적혈구크기 분포(red blood cell distribution width, RDW), 평균혈소판용적(mean plasma volume, MPV)을 측정하였다.

Table 1. Sugar compositions of Pal-L bioconverted from sucrose by α -glucosyltransferase

Sugar composition	Contents (%)	
	Before enzyme reaction	After enzyme reaction
Glucose	0-0.5	1.0-3.5
Fructose	0-0.5	1.0-3.5
Trehalulose	-	0.5-2.0
Palatinose	-	20.0-22.0
Sucrose	99.5-100	70.0-78.5

혈액 생화학적 검사

부검 당일 채취된 혈액에서 분리한 혈청을 혈액 생화학 분석기(DRI-CHEM 3500i, FUJIFILM, Tokyo, Japan)를 이용해 glucose, albumin, 알칼라인 포스파타아제(alkaline phosphatase, ALP), 혈액요소질소(blood urea nitrogen, BUN), 직접빌리루빈(bilirubin direct, D-BIL), 총빌리루빈(bilirubin total, T-BIL), creatinine, triglyceride, total protein, 알라닌 아미노 전이효소(alanine aminotransferase, ALT), 아스파테이트 아미노 전이효소(aspartate aminotransferase, AST)를 측정하였다.

노 검사

투여 마지막 주에 각 시험군별 동물을 대사케이지에 수용하여 신선노를 채집하고 노 화학분석기(HITACHI7180, HITACHI, Tokyo, Japan)를 이용해, blood urea nitrogen (BUN), glucose, bilirubin total (T-BIL), total protein (TP)을 측정하였다.

조직병리학적 검사

부검 후 조직 검사를 수행하기 위해 적출한 간과 신장을 4% formaldehyde 용액에 고정시킨 후, 일반적인 조직처리과정을 거쳐 파라핀 포매하였다. 포매된 각 조직은 microtome (Leica, Wetzlar, Germany)으로 3.5 µm 박절한 후, hematoxylin & eosin (H&E) staining을 실시하여 광학현미경(Olympus BX53 microscope (Olympus Corp., Tokyo, Japan)으로 관찰하였다.

통계처리

모든 실험 결과는 평균±표준편차로 나타내었으며, Student's t-test를 이용하여 대조군과 각 시험군 간의 유의성을 $p < 0.05$ 수준에서 검정하였다.

결과 및 고찰

사망 유무 및 일반 증상

Pal-L을 이용한 2주간의 시험 기간 동안 암수 대조군 및 Pal-L 1,000 mg/kg 용량을 투여한 군 모두 사망 동물은 관찰되지 않았으며, 어떠한 특이 증상도 나타나지 않았다(Table 2).

체중 변화 및 사료/음수 섭취량 관찰

Pal-L을 이용한 2주간의 시험 기간 동안 체중 변화를 관찰한 결과, 암수 대조군 및 Pal-L을 투여한 군 모두 유의적인 차이는 관찰되지 않았으며, 대조군 및 Pal-L 시험군 모두 암컷 약 37.3 g, 수컷 약 91.5 g 내외로 체중이 증가된 것으로 확인되었다. 투여 마지막 날 대조군의 경우 암수 체중은 각각 210.4±27.4과 296.8±11.2 g이고, Pal-L을 투여한 군의 경우 각각 223.8±13.0과 302.6±41.7 g으로 대조군과 시험군 사이의 유의적인 차이는 관찰

Table 2. Mortality in SD rats administered orally with Pal-L for the repeated oral dose toxicity test

Sex	Sample (1g/kg)	Days after treatment														Final Mortality ^{a)}		
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13		14	
Female	NC	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/7
	Pal-L	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/7
Male	NC	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/7
	Pal-L	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/7

^{a)}Values are expressed as dead number/total number of animals.

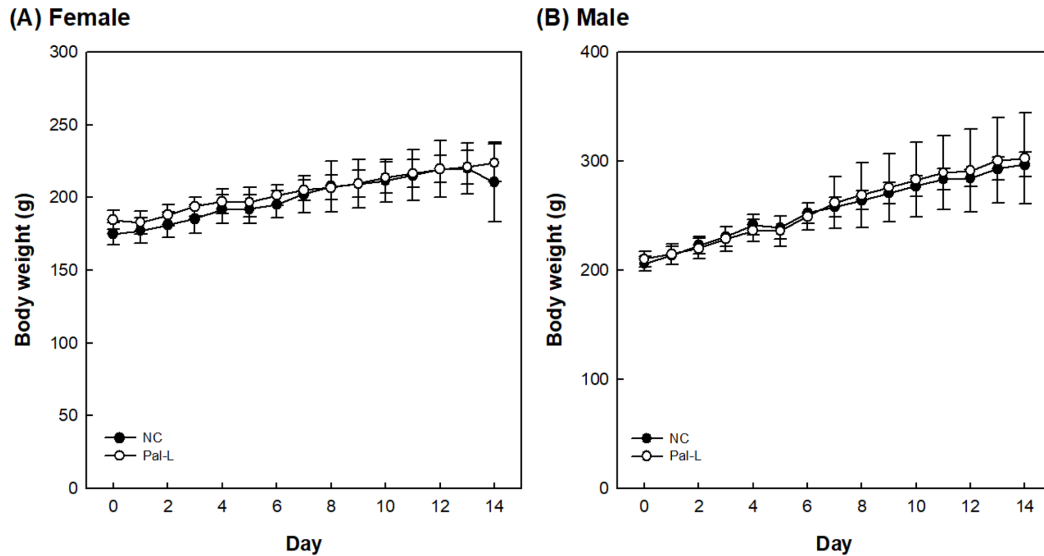


Fig. 1. Body weight in SD rats administered orally with Pal-L for the repeated oral dose toxicity test

Table 3. Food and water intake in SD rats administered orally with Pal-L for the repeated oral dose toxicity test

Food and water intake	Group for subacute toxicity (n=7)	
	Control	Pal-L
Female		
Food	16.5±2.0	16.3±2.6
Water	29.8±2.8	33.3±8.2
Male		
Food	22.3±3.3	21.5±2.9
Water	40.0±5.1	39.1±5.1

Table 4. Relative organ weights in SD rats administered orally with Pal-L for the repeated oral dose toxicity test

Relative organ weight (g/100 g of body weight)	Group for subacute toxicity (n=7)	
	Control	Pal-L
Female		
Liver	4.2±0.3	4.1±0.3
Kidney	0.9±0.1	0.9±0.1
Spleen	0.2±0.0	0.2±0.0
Heart	0.5±0.0	0.4±0.0
Male		
Liver	4.3±0.2	4.2±0.2
Kidney	0.9±0.1	0.9±0.0
Spleen	0.2±0.0	0.2±0.0
Heart	0.4±0.0	0.4±0.0

되지 않았다(Fig. 1). 또한 투여 기간 동안 사료 및 음수 섭취량의 변화를 관찰한 결과, 암수 대조군과 Pal-L을 투여한 군 사이에서 유의적인 차이는 관찰되지 않았다(Table 3).

장기 중량 관찰

암수 대조군 및 Pal-L을 투여한 시험군의 간, 신장, 비장, 심장을 적출하여 각각의 무게를 측정된 결과 암수 대조군과 Pal-L을 투여한 군과의 비교 시 시험물질 투여로 인한 장기 무게의 유의성 있는 변화나 특이적인 부검 소견은 관찰되지 않았다(Table 4).

혈액학적 검사

암수 대조군과 Pal-L을 투여한 시험군을 부검한 후 혈구계측장치를 이용하여 전혈(whole blood)을 분석한 결과(Table 5), 암수 대조군과 Pal-L을 투여한 군 모두 대부분의 수치는 정상치를 나

타냈고 암컷의 경우 Pal-L을 투여한 군에서 Hgb, MCHC, PLT 군간에 유의적으로 증가하는 경향을 나타냈지만 SD rat의 reference 값의 범위에 비취 봤을 때(Charles River Laboratories Japan, Inc), 이는 각 지표의 정상범위인 12.5-17.8 g/dL (Hgb), 30.7-37.1 g/dL (MCHC), 815-1397 g/dL (PLT) 내에서의 증가로(Han 등, 2010; Wolford 등, 1986) 팔라티노스의 독성에 의한 것은 아니라고 판단하였다. 반면 수컷의 경우 Pal-L을 투여한 군의 MCV 수치가 증가하였으나 이 또한 정상 범위인 51.8-63.6 fL 내에 속하며(Wolford 등, 1986; Han 등, 2010) 팔라티노스의 독성에 의한 것으로 판단하기는 어려운 것으로 확인되었다.

Table 5. Hematological parameters in SD rats administered orally with Pal-L for the repeated oral dose toxicity test

Hematological parameters	Group for subacute toxicity	
	Control	Pal-L
Female		
WBC (k/L)	12.3±1.5	12.8±2.9
RBC (M/L)	6.9±0.8	7.8±1.0
Hgb (g/dL)	14.8±1.3	16.5±1.9*
Hct (%)	47.0±4.5	51.0±5.2
MCV (fL)	67.7±1.6	65.7±2.5
MCH (pg)	21.3±0.6	21.2±0.7
MCHC (g/dL)	31.5±0.4	32.2±0.5*
PLT (k/L)	881.9±181.8	1095.6±155.5*
RDW (%)	11.8±0.7	12.8±1.6
MPV (fL)	9.8±0.4	9.3±0.6
Male		
WBC (k/L)	15.4±2.0	15.0±4.3
RBC (M/L)	7.2±0.5	7.6±0.3
Hgb (g/dL)	16.2±0.7	16.4±0.3
Hct (%)	50.6±2.1	51.4±.8
MCV (fL)	60.2±2.1	58.0±1.9*
MCH (pg)	22.5±1.2	21.7±1.1
MCHC (g/dL)	32.0±0.8	31.9±0.8
PLT (k/L)	1038.4±120.5	967.6±175.0
RDW (%)	12.9±0.8	13.6±0.7
MPV (fL)	9.6±0.2	9.9±0.4

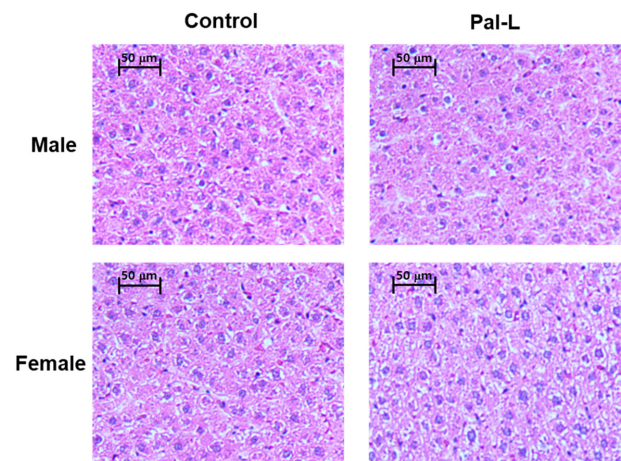
Table 6. Blood biochemical parameters in SD rats administered orally with Pal-L for the repeated oral dose toxicity test

Blood biochemical parameters	Group for subacute toxicity	
	Control	Pal-L
Female		
Glucose (mg/dL)	114.5±4.0	120.1±3.8
ALP (U/L)	137.2±11.5	103.0±53.6
BUN (mg/dL)	17.7±0.4	19.1±1.3
Creatinine (mg/dL)	0.2±0.0	0.2±0.0
Total protein (g/dL)	6.5±0.1	6.7±0.2
Albumin (g/dL)	4.5±0.3	5.0±0.2
T-bilirubin (mg/dL)	0.3±0.0	0.5±0.1
D-bilirubin (mg/dL)	0.1±0.0	0.1±0.0
Triglyceride (mg/dL)	36.6±16.0	47.6±11.8
AST (U/L)	61.8±1.5	66.3±2.5
ALT (U/L)	27.6±2.5	32.4±2.6
Male		
Glucose (mg/dL)	127.1±2.7	130.4±2.8
ALP (U/L)	189.4±42.7	161.4±36.9
BUN (mg/dL)	17.5±0.9	18.2±.5
Creatinine (mg/dL)	0.2±0.0	0.2±0.0
Total protein (g/dL)	6.1±0.1	6.4±0.1
Albumin (g/dL)	4.4±0.2	4.8±0.1
T-bilirubin (mg/dL)	0.3±0.0	0.4±0.1
D-bilirubin (mg/dL)	0.1±0.0	0.1±0.0
Triglyceride (mg/dL)	72.4±7.8	65.3±7.9
AST (U/L)	72.7±4.7	76.4±3.5
ALT (U/L)	34.9±2.7	35.9±3.0

Table 7. Urinalysis in SD rats administered orally with Pal-L for the repeated oral dose toxicity test

Urinalysis	Group for subacute toxicity	
	Control	Pal-L
Female		
Glucose (mg/dL)	14.9±2.1	7.4±4.4**
BUN (mg/dL)	2579.7±674.0	2213.5±628.7
Total protein (g/dL)	2.3±1.1	2.7±0.7
T-bilirubin (mg/dL)	N.A. ¹⁾	N.A.
Male		
Glucose (mg/dL)	15.7±5.3	15.3±6.5
BUN (mg/dL)	2815.1±503.8	3065.2±214.0
Total protein (g/dL)	3.7±0.7	2.2±0.7***
T-bilirubin (mg/dL)	N.A.	N.A.

¹⁾N.A.; not applicable.

**Fig. 2. Histological examination of liver in male and female SD rats administered orally with Pal-L for the repeated oral dose toxicity test. Hematoxylin and eosin stain. Original magnification ×200**

혈액 생화학적 검사 결과

암수 대조군 및 Pal-L을 투여한 시험군을 부검 후 채취한 전혈을 분리하여 얻어진 혈청을 분석한 결과, 암수 대조군 및 Pal-L을 투여한 군에서 각각의 수치를 비교했을 때 대조군 대비 그 수치의 변화가 크지 않았으므로 독성학적 의미는 없는 것으로 판단되었다. 또한 SD rat의 reference 값의 범위에 비취 봤을 때 (Charles River Laboratories Japan, Inc), 본 결과와 큰 차이가 나타나지 않았다. 따라서 혈액 생화학적 수치의 변화를 독성소견으로 판단하지 않았다(Table 6).

뇨 분석 결과

SD rat의 신선뇨를 채집하여 분석한 결과(Table 7), 암수 대조군 및 Pal-L을 투여한 시험군에서 모든 항목이 정상 수치를 나타내었고, 암컷 시험군의 경우 glucose에서, 수컷 시험군의 경우 total protein에서 유의적으로 감소하였으나 SD rat의 reference 값의 범위에 비취 봤을 때 모두 정상 범위 내에 속하며(Han 등, 2010) 팔라티노스의 독성에 의한 것은 아니라고 사료되었다.

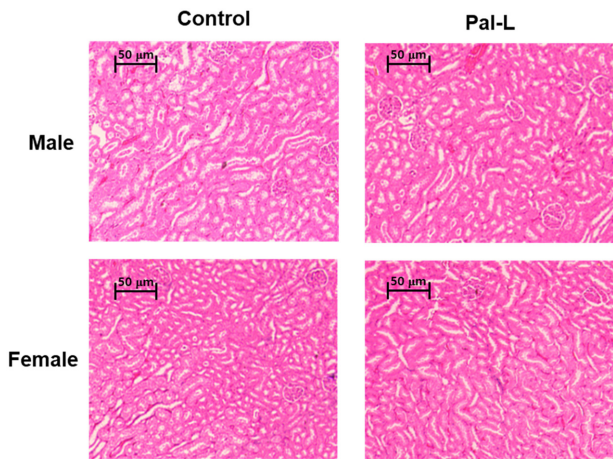


Fig. 3. Histological examination of kidney in male and female SD rats administered orally with Pal-L for the repeated oral dose toxicity test. Hematoxylin and eosin stain. Original magnification $\times 200$

조직학적 검사 결과

위의 혈액 생화학적 검사 및 뇨 분석 결과 Pal-L을 투여한 시험군에서 간 및 신장 관련 지표가 일부 유의적인 변화를 보여 부검 후 적출한 간 및 신장을 파라핀 포매후 H&E 염색하여 조직학적인 관찰을 수행하였다. 그 결과 암수 대조군 및 시험군 모두 조직학적인 이상은 관찰되지 않은 것으로 보아 시험물질 투여에 대한 독성학적 의미는 확인되지 않았다(Fig. 2, 3).

요 약

본 연구에서는 팔라티노스 시럽 Pal-L을 반복 투여하였을 때 나타나는 독성을 확인하기 위하여 암수 SD rat에 1,000 mg/kg의 용량으로 14일간 1일 1회 경구 투여한 후 사망률, 일반 증상, 체중 및 사료/음수 섭취량 변화, 장기 중량의 변화, 혈액 및 혈액 생화학적 변화, 뇨 분석 및 간과 신장의 조직학적 검사에 대한 변화를 관찰하였다. 실험 결과 투여 기간 중 암수 대조군 및 Pal-L을 투여한 군 모두 사망 동물은 발견되지 않았으며, 팔라티노스의 반복 투여에 의한 일반 증상의 변화 역시 관찰되지 않았다. 또한 체중 및 사료/음수 섭취량에 대한 변화, 장기 중량의 변화에 대한 이상 변화 역시 관찰되지 않았다. 부검 후 채취한 전혈의 혈액학적 분석 결과, 암컷 Pal-L 투여군에서 Hgb, MCHC, PLT의 수치가 유의적인 차이를 보였으나 정상 범위 내에서의 차이로 팔라티노스에 의한 독성이라고 판단하기는 어려웠으며, 혈액의 생화학적 분석 결과 암수 대조군 및 시험군에서 모든 항목이 정상 수치를 나타냈다. 부검 전 채취한 뇨를 분석한 결과 암컷 시험군에서 glucose, 수컷 시험군에서 total protein 수치가 유의적으로 감소하였지만 정상 범위 내에서의 차이로 팔라티노스에 의한 독성이라고 판단하기 또한 어려웠다. 혈액, 혈청 및 뇨에서 일부 유의적인 차이가 나타난 것을 바탕으로 간 및 신장에 대한 조직병리학적 검사를 진행한 결과 대조군과 시험군 모두 조직학적 이상은 관찰되지 않았다. 이상의 결과를 종합해보면 SD rat을 이용하여 팔라티노스(Palatinose-L)를 1,000 mg/kg/day의 용량으로 14일간 반복 경구투여하고 사망 여부, 체중 변화, 혈액학적 검사, 혈액 생화학적 검사, 뇨 분석 및 조직학적 검사 등을 통해 독성 평가를 진행하고자 하였다. 그 결과 2주간 투여 기간 동안 시험 동물에게 어떠한 독성도 관찰되지 않았음을 확인하였고, 이에

따라 팔라티노스(Pal-L)는 1,000 mg/kg/day 용량까지는 독성이 없는 안전한 물질이라는 것이 최종 확인되었다.

감사의 글

이 결과는 2018년 한국식품산업클러스터진흥원 기업기술지원 사업의 지원을 받아 수행된 연구이며, 이에 감사드립니다. 본 연구는 2020년 경기대학교 대학원 연구원 장학생 장학금 지원에 의하여 수행되었습니다.

References

Anari R, Amani R, Veissi M. Sugar-sweetened beverages consumption is associated with abdominal obesity risk in diabetic patients. *Diabetes Metab. Syndr.* 115: S675-S678 (2017)

Dahlqvist A, Auricchio S, Semenza G, Prader A. Human intestinal disaccharidases and hereditary disaccharide (isomaltulose), and a 1,6- α -oligosaccharide (isomalto-oligo-saccharide) preparation. *J. Clin. Invest.* 42: 556-562 (1963)

Han ZZ, Xu HD, Kim KH, Ahn TH, Bae JS, Lee JY. Reference data of the main physiological parameters in control Sprague-Dawley rats from pre-clinical toxicity studies. *Laboratory Animal Research* 26: 153-164 (2010)

Hwang DH, Park HR, Lee SJ, Kim HW, Kim JH, Shin KS. Oral administration of palatinose vs sucrose improves hyperglycemia in normal C57BL/6J mice. *Nutrition research.* 59: 44-52 (2018)

Jung J. Action plan for sugars reduction. *Food Science and Industry* 49: 12-16 (2016)

Kawai K, Okuda Y, Yamashita K. Changes in blood glucose and insulin after an oral palatinose administration in normal subject. *Endocrinol. Japon.* 32: 933-936 (1985)

Kawai K, Yoshikawa H, Murayama Y, Okuda Y, Yamashita K. Usefulness of palatinose as a caloric sweetener for diabetic patients. *Horm. Metab. Res.* 21: 338-340 (1989)

Kim JH. slow calorie, palatinose, *Food Science and Industry* 44: 73-83 (2011)

Krastanov A, Blazheva D, Stanchev V. Sucrose conversion into palatinose with immobilized *Serratia plymuthica* cells in a hollow-fibre bioreactor. *Process Biochem.* 42: 1655-1659 (2007)

Lee SJ, Yu WK, Park HR, Kim H, Kim JH, Park JY, Shin KS. Improved effect of palatinose syrup bioconverted from sucrose on hyperglycemia and regulation of hepatic lipogenesis in male C57BL/6J mice. *J. Food Biochem.* 00: 13201 (2020)

Lina BAR, Jonker D, Kozianowski G. Isomaltulose: a review of biological and toxicological studies. *Food Chem. Toxicol.* 40: 1375-1381 (2002)

Low NH, Nelson DL, Sporns P. Carbohydrate analysis of western Canadian honeys and their nectar sources to determine the origin of honey oligosaccharides. *J Apic Res.* 27: 245-251 (1988)

Low NIH, Sporns PE. Analysis and quantitation of minor di- and trisaccharides in honey, using capillary gas chromatography. *J Food Sci.* 53: 558-561 (1988)

OECD. OECD guidelines for the testing of chemical S. No. 407: repeated dose 28-day oral toxicity study in rodents. OECD publishing, paris, France (2008)

Park HR, Lee SJ, Im SB, Kim H, Kim JH, Shin KS. Analysis and structural characterization of palatinose converted from sucrose by biotransformation. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 47: 279-287 (2018)

Siddiqui IR, Furgala B. Isolation and characterization of oligosaccharides from honey. Part I. disaccharides. *J Apic Res.* 6: 139-145 (1967)

Wang J. Consumption of added sugars and development of metabolic syndrome components among a sample of youth at risk of obesity. *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* 39: 512 (2014)

Wolford ST, Schroer RA, Gohs FX, Gallo PP, Brodeck M, Falk HB. Reference range data base for serum chemistry and hematology values in laboratory animals. *J. Toxicol. Environ. Health* 18: 161-188 (1986)