J. Fd Hyg. Safety 9(2), S29-S39(1994)

甘味料의 最近 研究動向과 安全性

河 成 潤
太平洋 中央研究所 生物工學研究팀

A Review on Recent Direction of Research and Safety of Sweetener

Sungyoon Ha
R&D Center, Pacific Corporation

ABSTRACT—A review on sweetener has been conducted. Enzymes are utilized preferentially to break-down or synthesize stevioside, MGGR and oligo-saccharides. These result in change or modification of the functions of sweetener. Originally, the sweetener was used to obtain energy, add sweet taste and for rheological properties. Recently, the physiological functions of the sweetener have been studied considerably. As the oligo-sacchride is found to function as substance of physiological activities, more researh will be carried out using enzyme to discover new functions of sweetener.

甘味料의 본래 機能은 甘味를 附與하는데 있으며 二次的으로 營養을 생각할 수 있지만 최근 중요시되고 있는 개념은 第三次機能이라고 불려지는 生理調節機能이다. 근래 消費者들의 健康志向의 慾求로 인하여 低칼로리, 整腸作用, 蟲齒豫防 등의 機能을 갖춘 機能性甘味料의 使用이 점차 확대되고 있다.

本稿에서는 甘味料를 전체적으로 分類하고 현재 사용되고 있거나 開發中인 機能性 甘味料를 中心으로 開發狀況, 課題, 展望 및 安全性 등에 관하여 살펴보고자 한다.

甘味料의 分類

甘味料는 分類하는 방법에 따라 달라지기도 하지만 甘味度를 기준으로 分類할 경우 설탕보다 甘味度가 높은 경우를 高甘味度甘味料, 낮은 경우를 低甘味度甘味料로 分類한다. 또한 原料나 製造方法 등에 따라 糖質甘味料, 非糖質甘味料 혹은 天然甘味料, 人工甘味料 등으로 분류된다.[1] Table 1에서는 甘味料의 分類 및 種類別로 代表的인 甘味料를 나타내고 있다.

高甘味度 甘味料

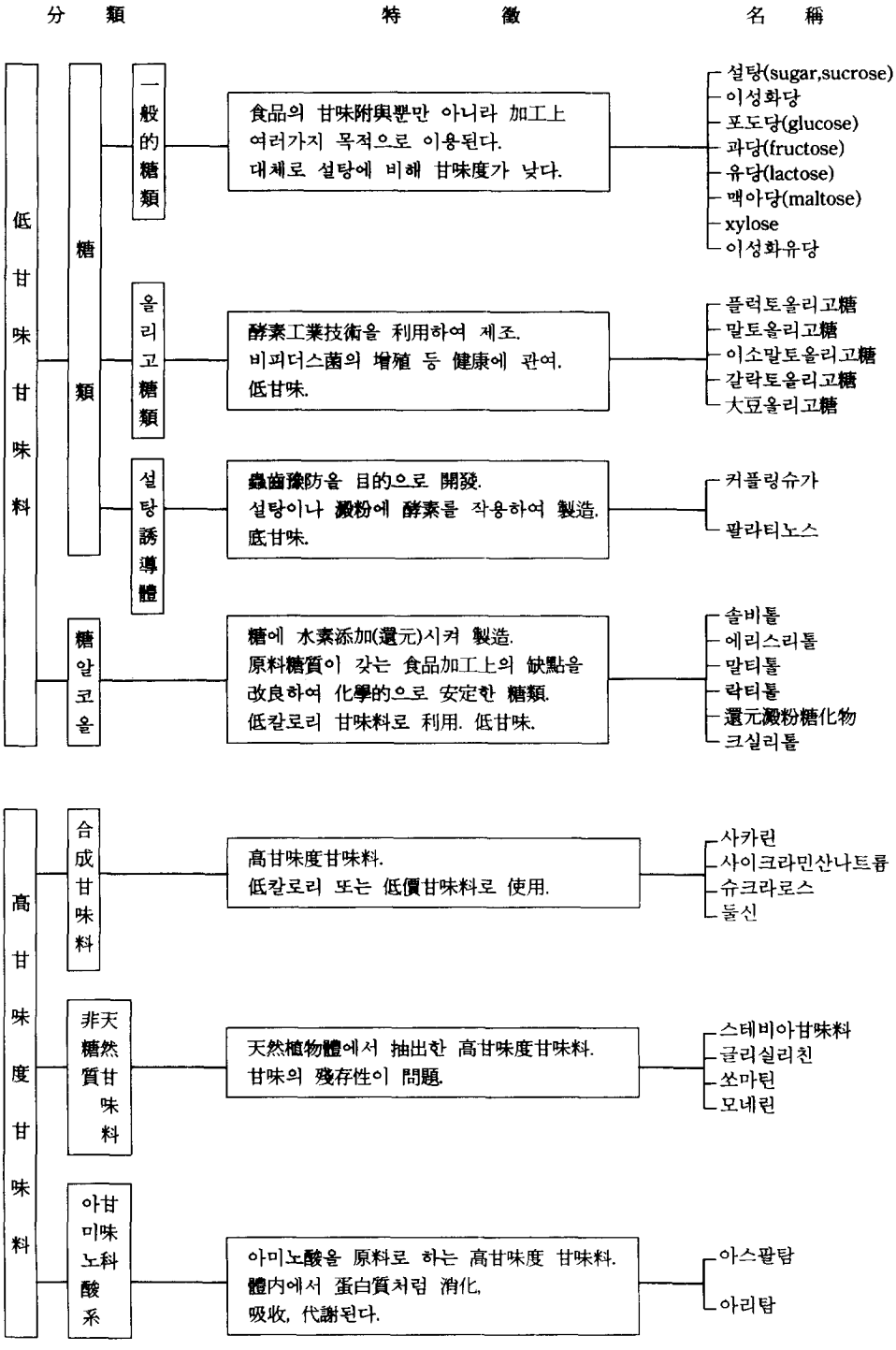
스테비아甘味料

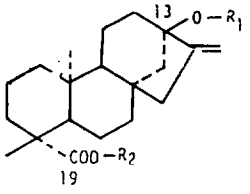
스테비아甘味料는 南美 Paraguay가 原產地인 菊花科 多年生 草本 *Stevia rebaudiana* Bertoni 植物에서 抽出, 精製한 天然甘味料로서 1970年代初 日本에서 開發된 이후 우리나라에서는 1985年부터 사용되기 시작하여 현재에는 酒類, 간장, 스넥류 등 여러 食品에 이용되고 있으며 1994年 현재 年間 市場規模는 100億원에 달하고 있다.

스테비아의 植物에 존재하는 甘味成分은 isosteviol을 骨格으로 하는 配糖體로서 主成分인 stevioside 外에 rebaudioside-A, rebaudioside-C, rebaudioside-D, rebaudioside-E 및 dulcoside-A 등이 있다. Fig. 1에 스테비아甘味料의 種類別 構造를 나타내었다.

스테비아甘味料는 각 종류별로 甘味倍數에 약간의 차이는 있으나 대체로 설탕에 비해 200~300倍 정도의 甘味度를 가지며 非醱酵性, pH變化 및 加熱處理 등 食品加工上 安定한 특징을 가지고 있으나 甘味發現이 늦고 뒷맛이 오래남는 등의 短點으로 인하여 甘味質 改良에 많은 研究가 진행되어 최근에는 설탕의 甘味質에 보다 가까운 여러 종류의 스테비아甘味料가 開發되었다. 그중 가장 우수한 것은 糖轉移製品으로 糖轉移스테비아란 糖轉移酵素를 이용하여 스테비오사이드에 糖을 부가시켜 얻어지는데 轉移되는 糖의 種類 및 轉移酵素의 종류에 따라 여러 종류를 만들 수 있으나 현재 가장 많이 제조되고 있는 것은

Table 1. 甘味料의 分類





glc: β-D-glucopyranosyl
rha: α-L-rhamnopyranosyl

甘味成分	R_1	R_2
Stevioside	-glc^2-^{1}glc	-glc
Rebaudioside-A	-glc^2-^{1}glc-glc^3-^{1}glc	-glc
Rebaudioside-D	-glc^2-^{1}glc^3-^{1}glc	-glc^2-^{1}glc
Rebaudioside-E	-glc^2-^{1}glc	-glc^2-^{1}glc
Dulcoside-A	-glc^2-^{1}rha	-glc
Steviol	H	H

Fig. 1. 스테비아甘味成分의 種類 및 構造

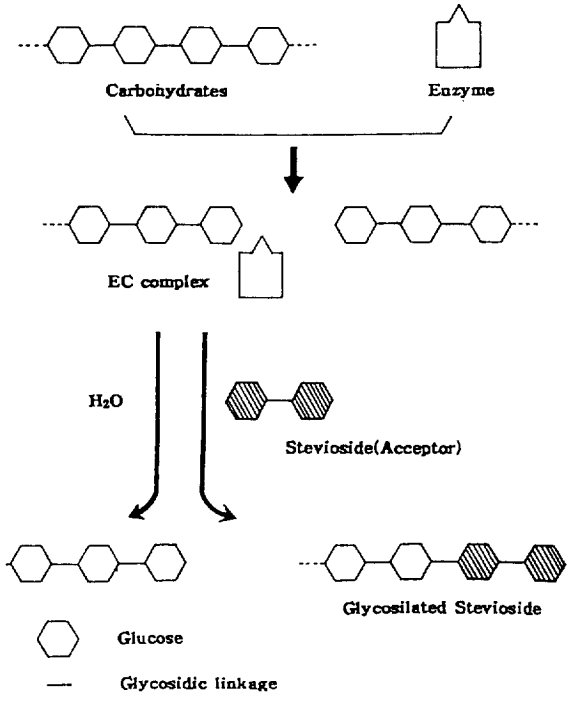
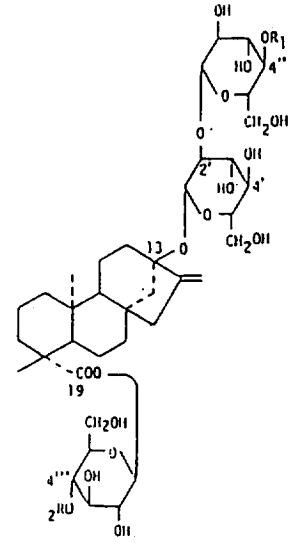


Fig. 2. 스테비오사이드의 糖轉移反應

glucose를 轉移시킨 글루코실스테비오사이드이다. Fig. 2에서는 글루코실스테비오사이드의 製造原理를, Fig. 3에서는 글루코실스테비오사이드의 構造를 Fig. 4에서는 그루코실化 前後의 液體크로마토그라피에 의한 各各의 分析結果를 나타내고 있다.



glc: β-D-glucopyranosyl

Compd.	R_1	R_2
1-1a	α-glc	H
1-1b	H	α-glc
1-2a	α-glc^4-^{1}glc	H
1-2b	α-glc	α-glc
1-2c	H	α-glc^4-^{1}glc
1-3a	α-glc^4-^{1}glc^4-^{1}glc	H
1-3b	α-glc^4-^{1}glc	α-glc
1-3c	α-glc	α-glc^4-^{1}glc
1-3d	H	α-glc^4-^{1}glc^4-^{1}glc

Fig. 3. α-글루코실스테비오사이드의 分子構造

最近 日本에서 開發이 完了되어 곧 市販될 플럭토실스테비오사이드의 製造原理는 글루코실스테비오사이드와 같으나 糖供與體가 글루코스가 아니고 플럭토스가 사용되며 轉移酵素는 CGT-ase 대신에 β-fructofuranosidase가 이용되고 있다.[2] 플럭토실스테비오사이드 製造에 利用되고 있는 轉移酵素는 스테비오사이드의 基質特異性으로 인하여 一般的인 올리고糖의 製造에 이용되고 있는 酵素와는 달리 特定菌株에서만 分泌되는 酵素를 이용하고 있다.[3] Fig. 5에 플럭토실스테비오사이드의 構造를 나타내었다.

스테비아甘味料의 安全性에 관하여는 原產地 Paraguay 등 南美 여러나라에서 과거 100余年 동안 甘味料로 널리 사용되어왔기 때문에 經驗的으로 確認되고 있다. 安全性試驗에 관해서는 오래전 Pomaret 및 Lavieille 등의 動物試驗이 있지만 日本에서도 三橋

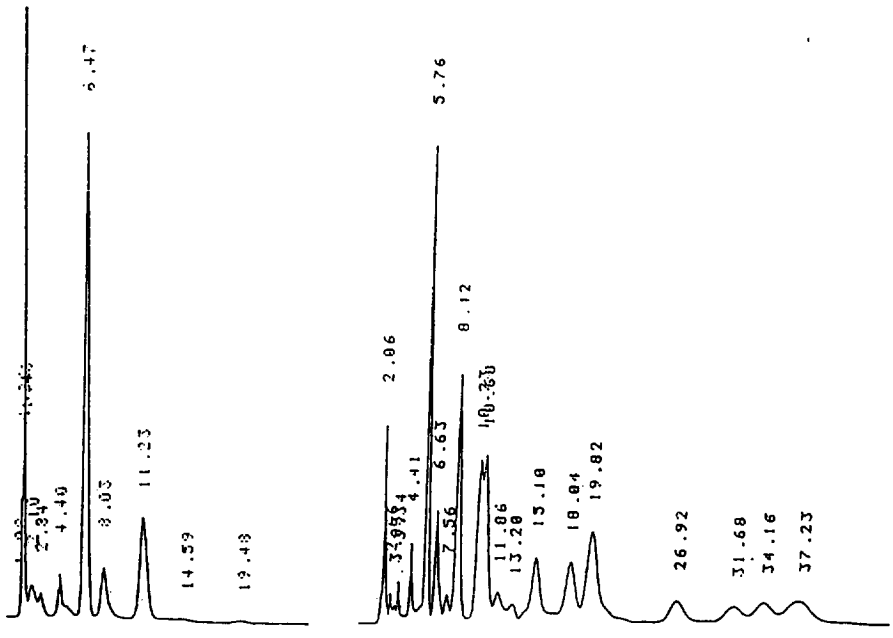


Fig. 4. 糖轉移反應 前, 後의 HPLC에 의한 分析

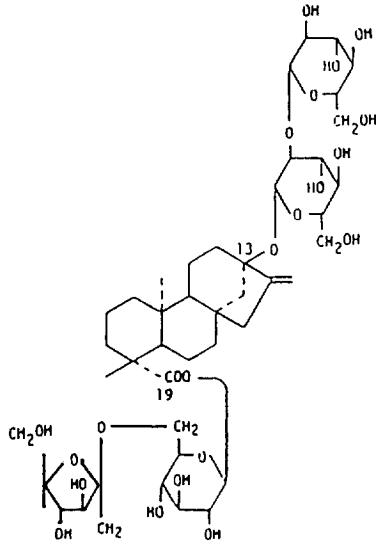


Fig. 5. 플럭토실스테비오사이드의 構造

Table 2. Rat 및 Mouse에 의한 急性 性試驗(스테비오사이드)

	LD_{50} (mg/Kg)	
	Rat	Mouse
經 口	>8,200	>8,200
皮下注	>8,200	>8,200
腹腔內注 ♂	1,590	2,430
♀	1,910	2,990

(三橋)

Table 3. Mouse(經口)에 의한 急性 性試驗

	LD_{50} (mg/Kg)	스테비오사이드含量 (%)
粗엑기스	17,073	20.4
精製엑기스	>42,000	41.4
Stevioside粗結晶	>15,000	93.5

(明石)

또는 明石 등에 의한 急性 및 亞急性毒性試驗이 행하여졌다.[4] 急性毒性試驗의 成績은 Table 2 및 Table 3에 나타난 바와 같이 높은 安全性이 확인되었으며 또한 亞急性毒性試驗의 被檢動物에의 투여량에서 Table 4 및 Table 5와 같은 각 1個月 및 3個月間의 成績에 의하면 體重變動, 飼料攝取量 및 剖檢에 의한

Table 4. Rat에 의한 亞急性(1個月) 性試驗(스테비오사이드結晶) 檢體投與量 (mg/Kg/day)

	♂	♀
對照	0	0
1	100	100
2	500	500
3	2,500	2,500

(三橋)

Table 5. Rat에 의한 亞急性(3個月) 性試驗(精製엑기스 : 含量 53.1%) 檢體投與量 (mg/Kg/day)

	♂	♀
對照	0	0
0.28% 群	211	217
1.40% 群	1.112	1,165
7.00% 群	5,628	5,699

(明石)

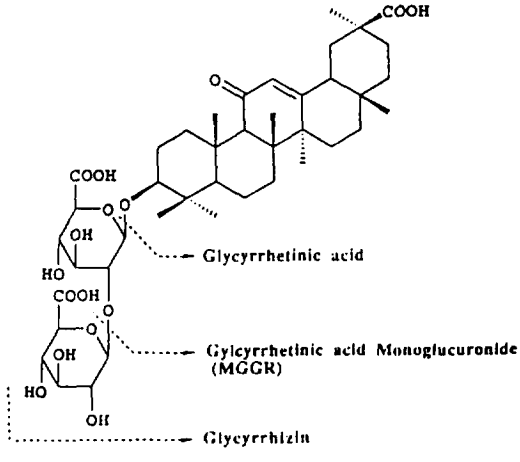


Fig. 6. MGGR의 構造式

組織學的 所見에서도 異狀은 나타나지 않았음을 報告하고 있다.[5] 또한 日本 大阪市立環境科學研究所에서 실시한 24個月間의 慢性毒性試驗, 癌原性試驗 및 突然變異性試驗 結果에서도 病的인 變化 및 異狀所見은 나타나지 않았다.[6] 한편 현재 널리 사용되고 있는 글루코실스테비아甘味料의 安全性에 관한 試驗은 日本의 製造메이커에서 英國의 Huntingdon Research Center Ltd.에 依賴하여 施行한 결과 rat를 이용한 13週間混飼投與의 毒性試驗에 있어서 50,000 ppm(飼料中 5%)까지의 投與量에서 毒性이라고 생각되어지는 所見은 전혀 나타나지 않았음을 報告하였다.[7]

Table 6. 글리실레틴酸配糖體의 甘味倍數

글리실레틴酸配糖體	설탕에 대한 甘味倍數
Glycyrrhizin	170
β-D-Cellobioside	71
β-D-Glucoside	218
β-D-Galactoside	100~120
β-D-Arabinoside	31~34
β-D-Xyloside	544
β-D-Glucuronide	941

MGGR(glycyrrhetinic acid monoglucuronide)

글리실리친製劑에서 味質改良品으로서 糖轉移스테비아甘味料와 같이 酵素的으로 糖轉移시킨 製品이 開發되어 있지만 이 경우 糖의 數가 增加되어도 甘味의 增强은 없으며 逆으로 甘味倍數는 減少한다. 또한 글리실레틴酸의 각종 1,2-結合糖鎖인 配糖體의 甘味에 관해 검토한 결과 이러한 配糖體들은 글리실리친보다 甘味가 減少된다고 報告되었다. 이러한 결과는 글리실리친의 配糖體에서는 糖의 數가 적은 편이 보다 甘味가 强하고, 또한 糖의 종류에 의해 甘味强度가 달라지는 것을 示唆하고 있다. 糖의 종류가 각기 다른 글리실레틴酸配糖體를 化學的으로 合成하여 각각의 甘味評價試驗을 행한 결과 글루쿠론酸 2分子의 글리실리친보다 글루쿠론酸 1分子인 MGGR이, 또한 글루코스 2分子인 셀로비오스配糖體보다 글루코스 1分子의 配糖體가 甘味度가 높은 등 글리실레틴酸配糖體에서는 糖의 數가 적은 것이 高甘味인 것으로 확인되었다.[8] 單糖類의 配糖體에서는 糖의 種類에 따라 甘味度에 차이가 있으며 글루코스, 자일로스, 글루쿠론酸의 配糖體는 글리실리친보다 높은 甘味를 나타내었으며 그 중에서도 글루쿠론酸配糖體인 MGGR이 글리실리친보다 5倍, 설탕의 941倍 높은 것으로 확인되었다(Table 6).

글리실리친으로부터 酵素反應을 이용하여 MGGR을 製造하는 방법은 확립되어 있다. 일반적으로 市販되고 있는 β-glucuronidase에 의해서는 글리실리친이 MGGR을 경유하여 글리실레틴酸까지 分解되지만 酵母菌의 일종인 *Cryptococcus magnus* MG-27이 生產하는 새로운 효소 β-glucuronidase는 글리실리친을 加水分解하여 定量的으로 MGGR을 生成한다(Table 7).

Table 7. 올리고糖의 商品化 現況

糖 質 名	原 料	製 造 (酵 素)	重 要 機 能
直鎖올리고糖	澱 粉	β-amylase, Pullulanase	低甘味, 保水性, 保濕性, 老化防止
Maltotetraose	澱 粉	G_4생성 Amylase	*C. perfringens*菌 抑制
Maltopentaose	澱 粉	G_5생성 Amylase	*C. perfringens*菌 抑制
分岐올리고糖	澱 粉	β-amylase, α-glucosylase	*Bifidus*菌因子
겐티올리고糖	포도당	β-glucosidase	쓴맛, 低칼로리, 抗蟲齒
Glucosylsucrose	澱 粉 설 탕	CGT-ase	抗蟲齒
플럭토올리고糖	설 탕	Fructosyltransferase	*Bifidus*菌因子
Palatinose	설 탕	Glucosyltransferase	抗蟲齒
Lactosucrose	설 탕 乳 糖	β-fructofuranosidase	*Bifidus*菌因子
갈락토올리고糖	乳 糖	β-galactosidase	*Bifidus*菌因子, 低칼로리
大豆올리고糖	大 豆	抽出	*Bifidus*菌因子
자일로올리고糖	Xylan	Hemicellulase (*Trichoderma* sp.)	*Bifidus*菌因子, 低칼로리

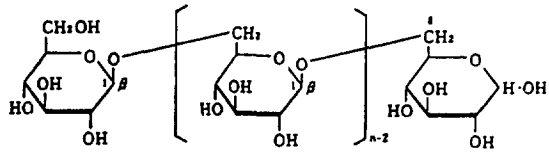


Fig. 7. 겐티올리고糖의 構造

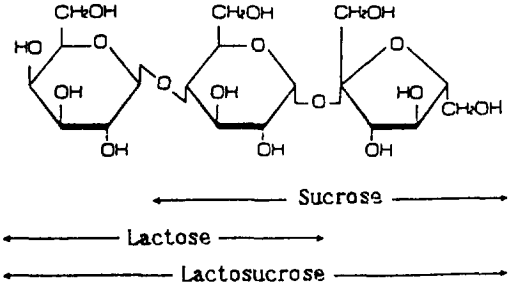


Fig. 8. Lactosucrose의 構造

MGGR의 安全性은 mouse 經口投與에 의한 急性毒性試驗, umu-遺傳子의 發現을 指標로 한 變異原性試驗 및 人間腸內 flora에 의한 代謝實驗에 의해 확인되었다.

現在 甘味料로 使用되고 있는 日本의 경우 日本厚生省生活衛生局食品化學課編 酵素分解甘草의 品名으로 등록되어 있다.

올리고糖

올리고糖이란 單糖이 2~3개 結合된 糖類로서 出發原糖의 이름을 첫머리에 넣은 이름으로 불려지고 있는데 例를 들자면 말토올리고糖, 셀로올리고糖, 락토올리고糖 등이다. 올리고糖은 그 種類에 따라 機能性이 다르지만 *Bifidus*菌 增殖因子, 蟲齒豫防, 肥滿防止, 콜레스테롤蓄積防止 등이 代表的인 機能으로 알려져 있다.[9]

商品化 現況

1984年 이후 많은 種類의 올리고糖이 商品化되었고 지금도 새로운 올리고糖이 개발중에 있다. 현재까지 開發된 代表的인 올리고糖類를 Table 7에 나타내었다. 이러한 올리고糖의 製造技術은 몇개를 제외하고는 基本的으로 糖質分解酵素나 糖轉移酵素의 開發에 근거하고 있다.[10] Table 7 중 최근 實用化된 몇종류에 대해서 설명하고자 한다.

Gentiobiose는 高濃度의 포도당溶液에 微生物起源의 β-glucosidase를 작용시키면 糖轉移,縮合作用에 의해 高收率로 生成된다. 이 甘味料의 특징은 甘味뿐만 아니라 적절한 쓴맛을 갖는 독특한 糖으로 각종 飮食物의 맛개선에 유용하게 이용될 수 있다. 또한 *Bifidus*菌增殖促進效果, 低칼로리性, 抗蟲齒性 등을 가진다.[11] Fig. 7에 겐티올리고糖의 構造를 나타내었다.

Lactosucrose는 乳糖과 설탕의 混合溶液에 *Arthrobacter* sp. K-1 菌株가 生産하는 糖轉移酵素 β-fructofuranosidase를 作用시키면 30~33%의 收率로 生成된다. 이 糖은 lactose의 glucose쪽에 fructose를 β-1,4 結合시킨 三炭糖으로 甘味質은 설탕과 類似하지만 甘味度는 설탕의 70% 정도이다. 또한 *Bifidus*菌增殖效果, 難消化性, 腸內易醱酵性糖質로 溶解度는 설탕에 비해 훨씬 높은 등의 특징을 가지기 때문에 食品分野에서의 다양한 응용이 가능하다.[12]

澱粉을 原料로 한 올리고糖

이 分野의 올리고糖은 일찍 개발된 품목으로 종류도 많고 원료도 풍부하기 때문에 생산량도 가장 많다. Table 8에 澱粉을 원료로 한 올리고糖의 開發例를 나타내었다.

말토올리고糖의 종래의 製造方法은 澱粉에 加水分解酵素를 이용한 加水分解反應이 水系에서 이루어져 왔다. 이 방법은 生澱粉에 직접 加水分解시키는 것은 어렵고 加熱糊化가 필요하고 또한 澱粉의 加水分解

Table 8. 澱粉을 原料로 한 올리고糖의 開發例

올리고糖	製 造 方 法	特徵, 生理機能, 用途
말토올리고糖	水-疎水性有機溶媒中에 界面活性劑 存在下, 澱粉에 α-amylase를 作用시킨다.	高濃度의 α-maltopentaose, 血液中의 amylase 活性測定用
말토올리고糖	澱粉에 α-amylase를 作用시켜 말토 올리고糖을 포함한 分解液을 逆浸 透膜으로 처리한다.	低分子量의 糖類를 효율적으로 除去한다.
Maltose 및 Maltotriose	澱粉에 同一蛋白質分子中 α-amylase와 pullulanase의 活性基를 가진 酵素를 作用시킨다.	高溫에서 安定 特有의 부드러운 甘味, 低粘度, 低濕性
分岐올리고糖	澱粉液化液에 maltotriose 또는 maltotetraose를 生成하는amylase와transglucosidase를作用시킨다.	分岐3糖類以上이 主成分 比醱酵性糖, *Bifidus* 菌增殖因子, 低蟲齒發生, 低칼로리
分岐올리고糖 시럽	澱粉加水分解(濃度 20~70%, glucose 當量 20~40)에 α-glucosidase를 作用시킨다.	分岐올리고糖 50~90%, 그中 3糖類 시럽 以上의 分岐올리고糖 70~95% 含有 시럽
소말토올리고糖	澱粉에 neopullulanase와 α-amylase를 作用시키면 分岐型올리을 60% 收率로 生成된다.	

Table 9. 설탕을 原料로 한 올리고糖의 開發例

올리고糖	製 造 方 法	特徵, 生理機能, 用途
Trehalose	Varidamycin을 添加한 培地를 이용하여 *Rhizoctonia*屬菌 또는 *Sclerotium*屬菌을 培養하여 高收率로 생산한다.	抗蟲齒性甘味料, 醫藥品의 安定性
Trehalose	*Enterobacter* sp. 또는 *Erwinia* sp.의 glucosyltransferase 生産性菌體를 利用하여 설탕을 轉換하여 生産한다.	抗蟲齒性甘味料
Trehalose 및 Palatinose	설탕으로부터 *P. mesoacidophila* MX45가 Trehalose를 50% 以上 含有하는 syrup을 生産한다.	抗蟲齒性甘味料
이소말토올리고糖	*S. bovis*가 生産하는 dextransucrase를 이용하여 설탕을 供與體, maltose를 收容體로서 反應시킨다.	*Bifidus*菌增殖因子
Cellobiose시럽	설탕에 燐酸의 存在下에 sucrose phosphorylase, glucose isomerase, cellobiose phosphorylase를 作用시킨다.	Glucose 2分子가 β-1,4結合, non-calorie, 低甘味, 合成甘味料의 增量劑
Nystose고糖	설탕에 β-fructofuranosil를 作用시켜 생성된 프럭토올리고糖을 크로마토分離와 結晶分離技術에 의해 製造한다.	Glucose에 fructose 3個가 結合된 糖, *Bifidus* 菌增殖因子, 可食性乾燥劑

Table 10. CD를 原料로 한 올리고糖의 開發例

올리고糖	製 造 方 法	特徵, 生理機能, 用途
Neotrehalose	α-CD와 fructose의 混合液에 CGTase를 作用시켜 lactoneotrehalose를 얻고 이어서 β-galactosidase를 作用시킨다.	非還元性으로 安定, 易水溶性定性 各種飮料, 加工食品, 嗜好物 등의 口中使用物에 利用
말토올리고糖	CD에 *B. shaericus*가 생산하는 새로운 cyclodextrinase 및 말토올리고糖 生成酵素를 作用시킨다.	血淸amylase測定用基質, 營養劑, 賦形劑, 增量劑
分岐말토올리고糖	分岐CD에 *B. shaericus*가 生産하는 새로운 cyclodextrinase 및 말토올리고糖 生成酵素를 作用시킨다	血淸amylase測定用基質, 營養劑, 賦形劑, 增量劑
헤테로分岐CD	G_1-CD 또는 G_2-CD와 α-갈락토실糖化 合物의 混合物에 α-galactosyl基轉移 酵素를 作用시킨다.	DDS에 利用

速度가 늦어 長時間이 요구되며 生成된 올리고糖은 低濃度였다. 반면에 水-疎水性有機溶劑의 分散系는 反應速度가 빨라 反應時間도 짧으며 酵素活性의 低下가 없이 高濃度의 α-maltopentaose를 얻을수 있는 利點을 가지지만 生産코스트의 問題가 남아있다.[13] Maltose 함량 60%의 maltose syrup은 종래에는 澱粉에 α-amylase를 이용하여 液化시킨 후 β-amylase를 이용하여 제조하였지만 최근에 이용되고 있는 酵素는 *Clostridium thermohydro-sulfuricum*의 變種에서 生成된 α-amylase pullulanase 酵素이다. 이 酵素는 耐熱性이 있으며 兩酵素活性基의 最適溫度는 80～90℃ 이며 最適 pH는 85℃ 에서 pH 5～6, 60℃ 에서는 4.5～5.5이다. 이 방법의 특징은 한 종류의 酵素로서 maltose syrup을 제조하는데 있다.[14]

分岐올리고糖은 澱粉液化液(DE 8～25)에 maltotriose, 또는 maltotetraose 生成 amylase와 transglucosidase를 加하여 온도 40～65℃, pH 4～8, 30～90시간 반응시키면 glucose가 적어도 分岐 3糖類以上을 主成分으로 하는 分岐올리고糖이 효율적으로 생산된다.[15]

蛋白質工學을 應用하여 機能을 變換시킨 糖化酵素 neopullulanase와 α-amylase를 併用하여 澱粉에서 分岐型올리고糖을 生成收率 約 60%로 이소말토올리고糖의 生産法도 開發되어 있다.[16] 즉, neopullulanase는 *B. stearothermophilus* TRS40의 好熱性菌이 生産하며 糖類의 α-1,4 와 α-1,6 結合을 切斷함과 함께 糖轉移反應能을 갖는 酵素이다.

설탕을 原料로 하는 올리고糖

Table 9에 설탕을 원료로 하는 올리고糖의 開發例를 나타내었다. Trehalose는 酵母, 海産動物, 海草 등의 天然物에 널리 分布되어 있는 二糖類이다. 이 物質을 얻는 방법은 天然物에서 抽出하거나 微生物에 의한 醱酵法이 알려져 있지만 低價로 大量生産하기에는 問題點이 많다. 따라서 여러가지 檢討가 이루어져 varidamycin을 添加한 培地에서 *Rhizoctonia*屬菌 또는 *Sclerotium*屬菌을 培養하는 것에 의해 生産量이 현저하게 증가하는 것, 土壤에서 檢索된 *Enterobacter* sp. 또는 *Erwinia* sp.의 菌株는 20% 以上의 높은 사입농도에서도 糖轉換能이 우수하여 短時間으로 trehalose를 주요 생산물로서 생산하는 것, 土壤中에서 分離한 *P. mesoacidophila* MX-45는 基質인 20%의 설탕으로부터 80%의 수율로 trehalose로 變換시킴과 동시에 소량의 palatinose를 생성하는 것 등이 밝혀졌다.[17]

S. bovis No. 148이 生産하는 dextransucrase는 설탕을 供與體, maltose를 글루코실收容體로 하여 三糖類, 四糖類, 五糖類의 이소말토올리고糖을 생성한다.[18] 河本[19] 등은 이소말토올리고糖의 人體代謝에 관한 檢討結果 一部는 消化吸收되지만 一部는 大腸에 도달하여 腸內細菌에 의해 醱酵되는 것을 밝혔다.

CD를 原料로 하는 올리고糖

Cyclodextrin(CD)은 環狀의 올리고糖으로 分子內部에 空洞이 있으며, 그 內部에 疎水化合物을 包接하는 特殊한 性質을 가지고 있다. 이와 같은 CD를 原料로 하여 여러 가지의 올리고糖이 開發되고 있다. Table 10에 CD를 原料로 하는 올리고糖의 開發例를 나타내었다.

Neotrehalose는 Fig. 9에 나타낸 바와 같은 構造를

가진 올리고糖이다. α-CD와 乳糖의 混合液에 *B. stearothermophilus*가 생산하는 Cyclomaltodextrin glucanotransferase(CGTase)를 作用시켜 새로운 非還元性 三糖인 glucosyllactoside가 合成된다.[20] 다음으로 이 2.5% glucosyllactone 水溶液에 β-galactosidase를 pH 4.5, 40℃에서 24時間 작용시켜 neotrehalose를 얻을 수 있다.

Maltohexose까지의 말토올리고糖이나 分岐올리고糖은 澱粉으로부터 amylase를 作用시켜 製造하는 방법이 있지만 分離精製에 문제점이 많다. 따라서 高純度에 高收率로 얻는 效率的인 製造法이 開發되었다. 즉 CD 또는 分岐CD에 *B. sphaericus*가 생산하는 cyclodextrinase 및 말토올리고生成酵素를 작용시키면 말토올리고糖 또는 分岐올리고糖이 製造된다.[21]

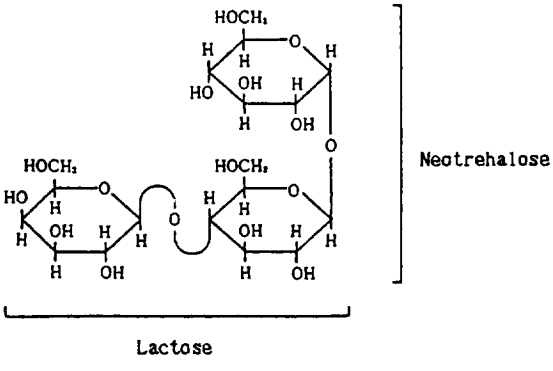


Fig. 9. Neotrehalose의 構造

最近, 糖質의 細胞認識性에 착안하여 이것을 DDS (Drug Delivery System)의 藥劑運搬體의 標識細胞로의 센서로서의 이용이 연구되고 있으며 또한 galactose는 生體內의 各部位에 강한 親和性을 나타내는 것이 알려져 있다. 따라서 分岐CD의 包接作用과 galactose의 이러한 性質을 이용하여 DDS에 이용하는 것을 목적으로 연구되었다. *B. circulans*由來의 β-galactosidase를 이용하여 lactose를 供與體, 分岐CD를 受容體로 하여 轉移反應을 행하여 分岐CD의 側鎖에 galactosyl基를 轉移結合시켜 헤테로分岐CD가 開發되었다.[22]

高分子多糖類를 原料로 한 올리고糖

Table 11는 高分子多糖類를 原料로 한 올리고糖의 開發例이다.

셀로올리고糖은 cellulose에 cellulase를 作用시켜 製造하지만 이 方法은 生成된 셀로올리고糖이 分解되기 때문에 수율이 낮다. 따라서 cellulose에 cellulase를 作用시킬 때에 gluconolactone 또는 글루콘酸을 存在시켜 제조하는 방법이 개발되었다. 즉 cellulose에는 C1酵素活性, Cx酵素活性, β-glucosidase活性이 포함되어 있기 때문에 cellulose로부터 C1酵素活性이나 Cx酵素活性에 의해 셀로올리고糖이 生成되지만 gluconolactone 또는 글루콘酸이 존재하면 β-glucosidase의 活性이 低下되어 셀로올리고糖으로부터 glucose로의 分解가 抑制되기 때문에 셀로올리고糖의 收率向上이 기대된다.[23]

Table 11. 高分子多糖類를 原料로 한 올리고糖의 開發例

올리고糖	製造方法	特徵, 生理機能, 用途
이소말토올리고糖	Dextran을 酸加水分解시킨 후 *Fusarium* sp.가 생산하는 endo-dextranase를 作用시킨다.	抗齒蝕性甘味料, *Bifidus*菌增殖因子
셀로올리고糖	Cellulose에 gluconolactone 또는 글루콘酸의 存在下에 cellulase를 作用시킨다.	Glucose가 α-1,4結合한 小糖類, cellulase基質 또는 沮害劑
Oligoxylsucrose	Xylan 分解反應生成物의 存在下, fructose供與體에 β-fructofuranosidase를 作用시킨다.	抗齒蝕性甘味料, *Bifidus*菌增殖因子
이누로올리고糖	Inulin 또는 inulin含有植物體의 粉末에 물을 加하여 50~70% 溶液으로 하여 inulanase를 作用시킨다.	Fructose에 fructose가 β-2, 1結合한 小糖類, *Bifidus*菌增殖因子, 體內脂肪低下作用
이누로올리고糖	Inulin에 *Streptomyces* sp. MC12524가 生產하는 酵素를 作用시켜 DFA I을 生成한다.	低칼로리甘味料
Cycloinulohexaose	Inulin에 *B. circulans*가 生產하는 hexaose CGFase를 作用시킨다.	6個의 fructose가 β-2,1結合에 의해 環狀으로 連結, 金屬補捉作用

Table 12. 아미노糖을 原料로 한 올리고糖의 開發例

올리고糖	製 造 方 法	特徵, 生理機能, 用途
키틴올리고糖	*Vibrio anguillarum* E-383a를 콜로이드狀 chitin을 含有하는 培地에서 培養하여 N-acetylchitobiose를 얻는다. *B. licheniformis* X-7u를 이용하여 培地中에 含有된 chitin의 90%를 分解하여 著量의 $(GlcNAc)_2$를 얻는다.	키틴올리고糖은 N-acetylglucosamine 이 β-1,4結合한 小糖類, 免疫亢進效果, 抗腫瘍活性
키틴올리고糖	低重合度키틴올리고糖에 *Nocardia* sp.가 生産하는 chitinase의 糖轉移反應을 利用하여 高重合度올리고糖을 生成하였다.	6糖은 抗腫瘍性 및 腫瘍轉移抑制 效果
키토산올리고糖	키토산酢酸溶液에 *Bacillus* R-4가 生産하는 chitinase를 作用시킨다.	키토산올리고糖은 D-glucosamine이 β-1,4結合한 小糖類, 抗菌性
키토산올리고糖	Chitosan에 *Bacillus* sp. PI-7S가 生産하는 chitosanase를 作用시킨다.	抗菌性
L-fucose를 含有한 올리고糖	ρ-nitrophenyl-α-fucopyranoside(供與體)와 N-acethyl-D-glucosamine(受容體)를 含有한 溶液에 *A. niger*가 生産하는 L-fucosidase를 作用시킨다.	肝臟으로의 血清糖蛋白質의 취입, microphage遊走 沮止因子의 受容體, 血液型의 型決定基
Galactosamino 올리고糖	Polygalactosamine에 *Pseudomonas* sp.이 生産하는 polygalactosamine을 分解酵素를 pH 3~4.5에서 作用시킨다.	抗細菌活性, 抗곰팡이活性
N-acetyllactosamine單位를 含有한 올리고糖	Lactose와 N-acetylchito올리고糖의 混合物에 *B. Bifidus*菌 *circulance* 由來의 β-galactosidase를 作用시킨다.	*Bifidus*菌增殖因子

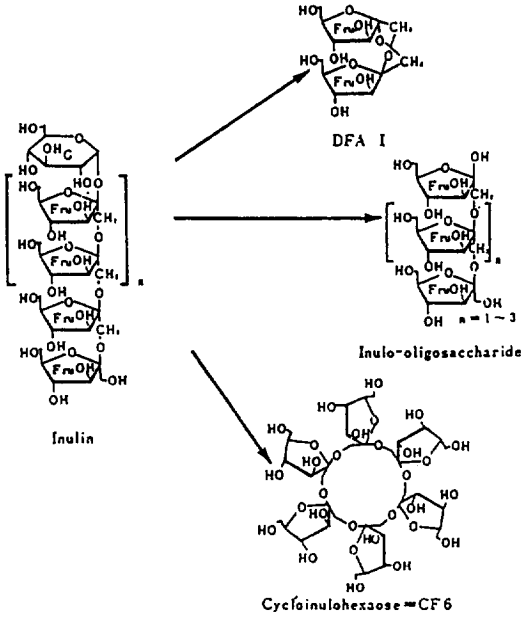


Fig. 10. 이누올리고糖의 構造

Oligoxylsucrose는 xylan의 分解反應生成物(例; xylobiose)과 fructose供與體(例; 설탕)의 混合液에 *Arthrobacter*屬 由來의 β-fructofuranosidase를 作用시킴으로서 fructosyl基를 xylan分解反應生成物의 還元末端인 xylose殘基의 一位인 水酸基에 轉位시켜 製造가 可能하다.[24] 大岸[25]은 *Storeptomyces* sp. MC12524가 生産하는 효소를 이용하여 inulin으로부터 60%의 수율로 Fig. 10에 나타난 바와 같이 DFAI(difructose anhydride I)을 生産하였다. 또한 *Aureobacterium* sp. MC12494가 生産하는 endo型을 이용하여 inulin으로부터 直鎖의 F_3와 F_4를 70%의 高收率로 生産하였으며 *B. circulans* sp. MC12554가 生産하는 cycloinulo-oligosaccharide fructanotrnasferase(CFTase)를 이용하여 inulin으로부터 CF-6를 50%, CF-7을 25%의 高收率로 生産한다.

아미노糖을 原料로 한 올리고糖

Table 12에 아미노糖을 原料로 한 올리고糖의 開發例를 나타내었다.

最近, 이 分野의 아미노糖이 여러가지의 生理活性을

나타내는 것으로 밝혀져 주목받고 있다. 坂井[26] 등은 *Noccrdia orientalis*가 生産하는 chitinase를 이용하여 N-acetylchitote-traose($GlcNAc_4$)으로부터 $GlcNAc_6$를 收率 21%로, $GlcNAc_5$으로부터 $GlcNAc_7$를 收率 18%로 生成시켰다. 또한 *Bacillus* R-4가 生産하는 chitosanase를 이용하여 100% 脫아세틸化한 chitosan으로부터 二糖 14%, 三糖 33%, 四糖 30%의 收率로 키토산올리고糖을 生成하였다.

비교적 高濃度의 갈락토사민올리고糖은 여러가지 生理活性이 기대되지만 高重合度로 되는 收率은 낮다. 村上[27] 등은 *Pseudomonas* sp.나 *Bacillus* sp가 生産하는 polygalactosamine分解酵素를 反應液의 pH를 3~4.5의 범위에서 polygalactosamine에 反應시킴으로서 수율향상을 꾀하였다. 横山 등에 의하면 分子量 0.3~1만의 galactosamine이나 올리고糖은 細胞表層과 反應하여 細胞膜의 透過性을 변화시켜 抗곰팡이 活性을 나타낸다. 또 分子量 10만 以上의 α-1,4-galactosaminepolymer는 抗細菌活性을 나타내는 것으로 알려져 있다.

結　論

以上, 最近 注目받고있는 甘味料의 開發動向을 중심으로 그 特性 및 安全性을 살펴보았다. 스테비오사이드나 MGGR 및 올리고糖 등 언급한 甘味料들은 전부가 酵素를 이용하여 선택적으로 分解하거나 結合시키는 등의 構造變更을 이루어 甘味質을 개선하거나 새로운 機能을 부여하고 있다. 從來 糖質의 이용목적은 주로 에너지, 甘味, 物性 등이었지만 最近에는 生理的 機能이 가장 중요시되고 있다. 生物界에 널리 분포되어 있는 올리고糖類가 情報物質로서 여러가지 역할을 가지고 있는 것이 밝혀짐에 따라 앞으로도 酵素工學技術을 이용하여 새로운 生理活性機能을 가진 많은 종류의 糖質甘味料가 開發될 것이다.

参考文献

1. 甘味料 總覧(食品化學新聞社) P. 4 (1991).
2. 日本 特開平 3-99092.
3. *Agric. Biol. Chem.*, **54**(12), 3137 (1990).
4. ステビア實用化と研究開發デ-タ(ISU株式會社) P.225 (1976).
5. 食品工業, **18**(20), 34 (1975).
6. ステビア抽出物のラットにおける慢性毒性試験ならびに癌原性試験 (ステビア懇話會) P.17 (1984).
7. 月刊フ-ドケミカル, **4**(6), 54 (1988).
8. 食品と開發 **28**(2), 22 (1993).
9. New Food Industry, **35**(6),58 (1993).
10. 月刊フ-ドケミカル, **9**(2), 21 (1993).
11. New Food Industry, **32**(10), 28 (1990).
12. 澱粉科學, **39**(2), 135 (1992).
13. 日本 特開平4-66093.
14. 日本 特開平3-244388.
15. 日本 特開平3-187390.
16. バイオサイエンスとインダストリ-, **50**(7), 682 (1992).
17. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **56**, 1680 (1992).
18. 日本食品工業學會誌, **39**,391 (1992).
19. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **56**, 937 (1992).
20. 日本農藝化學會講演要旨集, P. 97 (1992).
21. 日本 特開平3-87193.
22. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **56**, 240 (1992).
23. 日本 特開平4-75594.
24. 日本 特開平4-179492.
25. 醱酵と代謝研究會シンポジウム講演要旨集, P. 33 (1992).
26. 澱粉科學, **37**(2), 79 (1990).
27. 日本 特開平4-108395.