

## 스테비오시드 당전이 반응의 최적화

김정렬 · 육 철\*

두산인재기술개발원,

\*영동공과대학교 생명공학부

## Optimization of Transglucosylation Reaction of Stevioside

Jeong-Ryul Kim and Cheol Yook\*

Doosan Training & Technology Center,

\*Faculty of Life Science and Engineering, Youngdong Institute of Technology

### Abstract

Stevioside was transglucosylated to improve its sweetness. Eighteen conditions were tested using the tables of orthogonal arrays of  $L_{18}$  ( $2^1 \times 3^7$ ). Statistical analysis showed that the transglucosylation rate was significantly affected by temperature, the ratio of co-substrate (maltodextrin) to stevioside, pH, DE of maltodextrin and concentration of stevioside, in their order. Optimum conditions selected for temperature, ratio of co-substrate to stevioside, pH and DE of maltodextrin were 80°C, 1.0, 6.0 and 15, respectively. Glycosyl-stevioside with 68% yield of transglucosylation was produced at the optimum condition and found to have better quality in sweetness than stevioside and rebaudioside A.

Key words: stevioside, transglucosylation, optimization

### 서 론

스테비오시드(stevioside)는 *Stevia rebaudiana* Bertoni의 잎에 함유되어 있는 천연감미료로 주 감미성분이 스테비올 배당체의 형태를 하고 있다<sup>(1)</sup>. 감미도가 설탕의 200배에 달하여 저칼로리 감미료로 사용되며 설탕에 비하여 열, 산 등에 대한 안정성이 우수하고 아미노산과의 치환화합물이 형성되지 않으며 비발효성으로 가공식품, 저칼로리 식품, 기능성 식품의 감미료로써 사용이 증가되고 있다<sup>(2,4)</sup>.

그러나 스테비아 잎에서 추출 정제한 스테비오시드 자체로는 감미 이외에 쓴맛이 있으며 후미가 오래 지속되는 등의 단점이 있어서 용도 확대의 걸림돌이 되고 있다<sup>(5,6)</sup>. 스테비올 배당체 성분 중에는 레바우디오사이드 A (rebaudioside A)가 가장 감미질이 우수한 것으로 알려져 있으며, 이 성분을 선택적으로 분리 사용하는 경우도 있으나 원료에 함유된 레바우디오사이드의 양이 적어 경제적이지 못하다. 스테비오시드, rebaudioside A 및 당전이 생성물의 구조는 Fig. 1에서와

같다. 스테비오시드에 당을 전이시키면 쓴맛 및 후미가 감소하여 설탕에 가까운 감미질을 보이고, 청량감을 갖게 되어 단맛이 우수해지는데 최근에는 당전이 효소를 이용하여 스테비오시드에 당을 전이시켜 단맛

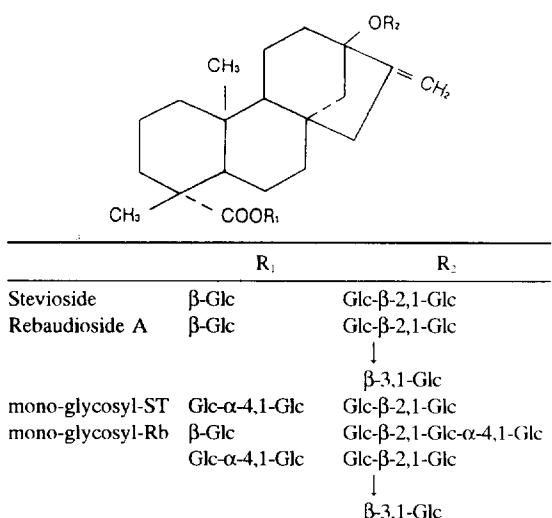


Fig. 1. Chemical structures of stevioside glucosides. Glc: glucose, ST: stevioside, Rb: rebaudioside A.

Corresponding author: Cheol Yook, Faculty of Life Science and Engineering, Youngdong Institute of Technology, Youngdong, Chungbuk 370-800, Korea

을 개선하는 방법에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다<sup>(7,11)</sup>. Kazuya 등<sup>(9)</sup>은 dextrin dextranase (EC2.4.1.2)를 이용하여 dextrin의 glycosyl기를 스테비오시드에 전이 시켜 glycosyl-steviosides를 제조하였으며 Satoru 등<sup>(10)</sup>은 curdlan ( $\beta$ -1,3-glucan)에  $\beta$ -1,3-glucanase와  $\beta$ -glucosidase의 혼합효소계 시스템을 이용하여  $\beta$ -1,2 및  $\beta$ -1,3 결합의 glycosyl-steviosides가 생성됨을 확인하였다. 한편 Hiroshi 등<sup>(11)</sup>은 *Arthrobacter* 유래의  $\beta$ -fructofuranosidase가 설탕의 fructosyl기를 전이 시켜 fructosyl-stevioside를 생성한다고 보고하였다. 이상과 같이 당전이반응에는 여러 종류의 당전이효소 및 전이 기질이 사용될 수 있으나 상대적으로 가격이 낮은 cyclodextrin glucanotransferase (EC2.4.1.19; CGTase)를 이용하여 말토덱스트린의 glycosyl 잔기를 스테비오시드에 전이 시키는 방법이 가장 일반적인 방법이라 할 수 있다<sup>(13,14)</sup>. 그동안 CGTase를 이용하여 glycosyl-steviosides를 제조하는 방법이나 생성된 glycosyl-steviosides의 구조와 감미질 평가에 관해서는 수차례 보고된 바 있으나 전이반응의 최적화에 대한 연구는 아직 미흡한 실정이다.

본 연구에서는 스테비오시드의 단맛 개선을 위하여 CGTase를 이용한 포도당 전이 반응의 최적조건을 찾고자 하였다. 특히 전이율이 높고 감미질이 양호한 glycosyl-stevioside의 생산 최적조건을 경제적으로 찾고자 직교배열표에 의한 실험계획법을 활용하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

스테비오시드는 (주)태평양의 stevion 100S를 사용하였으며, 당전이 효소는 Novo사의 CGTase를 사용하였다. 말토덱스트린은 (주)두산음료로부터 DE (dextrose equivalent) 15, 22의 2종류를 공급 받아 사용하였다. stevion 100S의 조성은 스테비오시드 79.5%, rebaudioside A 20.5%였으며 관능검사에 사용한 rebaudioside A (Chrysanta, 일본)는 함량이 90% (rebaudioside A 90%, stevioside 10%)인 제품을 사용하였다.

### 당 전이율 분석

당 전이율은 전이반응 후 생성된 glycosyl-stevioside와 glycosyl-rebaudioside 함량의 총합으로 계산하였으며 이때 사용한 표준시료는 Hiroshi 등<sup>(11)</sup>의 방법에 따라 시중의 당전이제품을 column chromatography로 분획하여 사용하였다. 반응액 중 스테비오시드 성분이 0.1% 농도가 되도록 종류수에 희석하여 여과한

후 HPLC (Shimazu, 일본)로 분석을 행하였다. HPLC 분석 시 column은 Polyamine-II (YMC사, 일본, 4.6 × 250 mm)를 사용하였으며, 용매는 acetonitrile : water=64 : 36 (v/v), 용매의 속도는 1.0 mL/min, peak는 UV detector로 210 nm에서 측정하였다.

### 인자와 수준의 설정

당전이 반응에 영향을 주는 인자로서는 말토덱스트린의 DE값(A), pH (B), 온도( $^{\circ}$ C), 반응액의 스테비오시드 농도(D), 스테비오시드에 대한 말토덱스트린의 비(E)를 설정하였다. DE 15와 22의 두가지 수준의 말토덱스트린(A1, A2)을 사용하였으며 pH, 온도, 스테비오시드 농도, 스테비오시드에 대한 말토덱스트린의 비는 Table 1에서와 같이 3 수준으로 설정하였다. 효소 투여량은 스테비오시드 고형분량의 0.02% 그리고 반응시간은 48시간으로 하였다.

### 직교배열표를 이용한 실험계획법 작성

2수준 인자가 1개이고 3수준 인자가 4개이며, A와 D의 상호작용(interaction)이외의 다른 인자간의 상호 작용을 무시하고, 강한 주효과(main effect)를 도출하기 위하여 직교배열표(orthogonal array) L<sub>18</sub> ( $2^7 \times 3^7$ )을 이용하였다<sup>(15,16)</sup>. 그리고 인자와 실험 순서를 확률화(randomization)하여 배치하여 각 실험구의 조건을 결정하였으며 Table 2에 실험조건을 나타내었다. 실험 결과를 분산 분석하여 최적조건과 최적조건에서의 예상 전이율을 예측하였다. 반복 시 전이율의 95% 신뢰 구간을 구하였고, 재현성의 유무와 통계적 유의성을 확인하기 위하여 최적조건에서 3회 반복 실험을 행하여 95% 신뢰구간과 비교하였다.

### 효소 첨가량 및 반응시간 설정

상기 방법으로 구한 최적조건에서 효소 첨가량과 반응시간에 따른 전이율을 분석하였다. 15% 스테비오시드와 15% 말토덱스트린(DE 15)을 함유한 기질 용액을 pH 6.0과 80 $^{\circ}$ C로 조절하고 효소량을 고형분 대

**Table 1. Factors and levels selected for optimization of transglucosylation of stevioside**

Level	A	B	C	D	E
1	22	6.5	80	5	1.00
2	15	6.0	85	15	2.33
3	-	5.5	90	10	0.43

A: DE of maltodextrin as co-substrate, B: pH, C: Temperature ( $^{\circ}$ C), D: Concentration of stevioside (%), E: Ratio of co-substrate (maltodextrin) to stevioside (w/w).

**Table 2. The tables of orthogonal array, L<sub>18</sub> (2<sup>1</sup>×3<sup>7</sup>) and transglucosylation yield data obtained at each condition**

No	1	2	3	4	5	6	7	8	Experimental condition <sup>a</sup>	Trans-glucosylation yield (%)
1	1	1	1	1	1	1	1	1	A <sub>1</sub> B <sub>1</sub> C <sub>1</sub> D <sub>1</sub> E <sub>1</sub>	17.3
2	1	1	2	2	2	2	2	2	A <sub>1</sub> B <sub>1</sub> C <sub>2</sub> D <sub>2</sub> E <sub>2</sub>	16.0
3	1	1	3	3	3	3	3	3	A <sub>1</sub> B <sub>1</sub> C <sub>3</sub> D <sub>3</sub> E <sub>3</sub>	11.8
4	1	2	1	1	2	2	3	3	A <sub>1</sub> B <sub>2</sub> C <sub>1</sub> D <sub>3</sub> E <sub>3</sub>	17.5
5	1	2	2	2	3	3	1	1	A <sub>1</sub> B <sub>2</sub> C <sub>2</sub> D <sub>1</sub> E <sub>1</sub>	14.3
6	1	2	3	3	1	1	2	2	A <sub>1</sub> B <sub>2</sub> C <sub>1</sub> D <sub>1</sub> E <sub>2</sub>	9.3
7	1	3	1	2	1	3	2	3	A <sub>1</sub> B <sub>3</sub> C <sub>1</sub> D <sub>2</sub> E <sub>2</sub>	14.1
8	1	3	2	3	2	1	3	1	A <sub>1</sub> B <sub>3</sub> C <sub>2</sub> D <sub>1</sub> E <sub>3</sub>	14.9
9	1	3	3	1	3	2	1	2	A <sub>1</sub> B <sub>3</sub> C <sub>3</sub> D <sub>1</sub> E <sub>1</sub>	12.1
10	2	1	1	3	3	2	2	1	A <sub>2</sub> B <sub>1</sub> C <sub>3</sub> D <sub>1</sub> E <sub>2</sub>	12.7
11	2	1	2	1	1	3	3	2	A <sub>2</sub> B <sub>1</sub> C <sub>1</sub> D <sub>3</sub> E <sub>3</sub>	19.7
12	2	1	3	2	2	1	1	3	A <sub>2</sub> B <sub>1</sub> C <sub>2</sub> D <sub>1</sub> E <sub>1</sub>	14.0
13	2	2	1	2	3	1	3	2	A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> C <sub>1</sub> D <sub>3</sub> E <sub>3</sub>	11.3
14	2	2	2	3	1	2	1	3	A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> C <sub>1</sub> D <sub>1</sub> E <sub>3</sub>	19.5
15	2	2	3	1	2	3	2	1	A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> C <sub>3</sub> D <sub>1</sub> E <sub>2</sub>	13.4
16	2	3	1	3	2	3	1	2	A <sub>2</sub> B <sub>3</sub> C <sub>2</sub> D <sub>1</sub> E <sub>1</sub>	20.4
17	2	3	2	1	3	1	2	3	A <sub>2</sub> B <sub>3</sub> C <sub>1</sub> D <sub>2</sub> E <sub>2</sub>	10.0
18	2	3	3	2	1	2	3	1	A <sub>2</sub> B <sub>3</sub> C <sub>1</sub> D <sub>3</sub> E <sub>3</sub>	19.7
Factor	A	D	e	e	C	B	E	e	Sum	268.0

<sup>a</sup>A: DE of maltodextrin as co-substrate, B: pH, C: Temperature (°C), D: Concentration of stevioside (%), E: Ratio of co-substrate(maltodextrin) to stevioside(w/w), e: error.

비 각각 0.05%, 0.1%, 0.2%, 0.4%씩 첨가하여 48시간 동안 반응시키면서, 시간별로 sampling하여 HPLC로 전이율을 분석하였다. 설정된 조건에서 당전이 반응을 실시하고 반응액을 분무건조하여 당전이 스테비오시드 분말품을 얻었다.

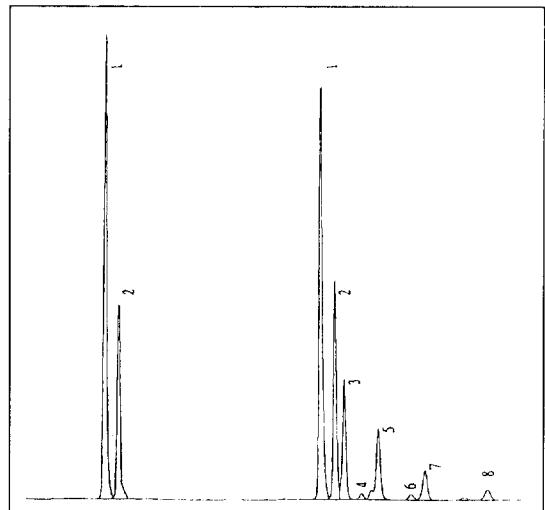
### 관능검사

관능검사는 20명의 패널요원에게 쓴맛(bitterness), 뒷맛(after-taste) 및 전체적인 맛을 평가하도록 하였다. 예비 관능검사를 통하여 설탕 5% 농도와 동일한 감미도가 되도록 스테비오시드, rebaudioside A 및 당전이 스테비오시드(glycosyl-steviosides)를 각각 0.025%, 0.020%, 0.05%의 실온의 수용액으로 만들어 200 mL 유리컵에 담아 제공하였고 평가단계는 5단계(5=매우 좋다, 4=상당히 좋다, 3=좋다, 2=약간 좋다, 1=좋지 않다)로 실시하였는데 쓴맛과 뒷맛은 없을수록 높은 수치를 주도록 하였다.

### 결과 및 고찰

#### 당전이 스테비오시드의 HPLC 패턴

Fig. 2는 당전이 반응의 원료인 스테비오시드와 당전이 반응 후의 glycosyl stevioside의 전형적인 HPLC



**Fig. 2. Typical patterns of HPLC of stevioside (left) and glycosyl-stevioside produced by reaction with CGTase (right). 1: stevioside, 2: rebaudioside A, 3: mono-glycosyl-stevioside, 4: mono-glycosyl-rebaudioside, 5: di-glycosyl-stevioside, 6: di-glycosyl-rebaudioside, 7: tri-glycosyl-stevioside, 8: tetra-glycosyl-stevioside.**

패턴을 보여주는 그림이다. CGTase에 의해 glycosyl 기가 스테비오시드 및 rebaudioside A에 전이되어 mono-glycosyl-stevioside, di-glycosyl-stevioside, tri-glycosyl-stevioside 및 mono-glycosyl-rebaudioside가 생성되었는데 이중 주 생성물은 mono-glycosyl-stevioside, di-glycosyl-stevioside 이었으며 glycosyl-rebaudioside의 생성량은 상대적으로 적었다. 이와 같은 현상은 효소에 의해 전이기질로부터 유리된 당이 steviol 배당체의 당쇄말단에 결합되어 당전이 스테비오시드가 생성되는 데 rebaudioside A의 경우에는 Fig. 1에서 보는 바와 같이 당쇄 골격이 분자구조를 하고 있어 CGTase의 접근성이 어렵기 때문에 전이 생성물이 적은 것으로 생각된다.

### 분산 분석

직교배열표에 의해 설정된 18개의 실험구에 대한 전이율 결과를 Table 2에 나타내었다. 결과로부터 각 인자들에 대해 분산 분석을 한 결과는 Table 3에 나타나 있다. Fo값이 높아 전이율에 강하게 영향을 주는 인자는 C(온도), E(스테비오시드에 대한 말토덱스트린의 비), B(pH), A(말토덱스트린의 DE), AD(인자 A와 인자 D의 상호작용) 순으로 나타났다. 독립 인자인 D와 종속 인자 AD의 검정값 Fo가 2 미만으로, 다른 인자들에 비해 상대적으로 작아 유의성이 없으므로, 이 두 인자의 효과를 제거하기 위해 오차항에 풀링

**Table 3. Analysis of variance in yield of transglucosylation of stevioside**

Source of variation <sup>1)</sup>	Sum of squares	Degree of freedom	Mean square	F <sub>0</sub>
A	11.05	1	11.05	2.95
B	41.27	2	20.63	5.51
C	75.77	2	37.88	10.11
D	8.61	2	4.31	1.15
E	49.55	2	24.78	6.61
AD	10.57	2	5.29	1.41
e	22.48	6	3.75	
Total (corrected)	219.30	17		

<sup>1)</sup>A: DE of maltodextrin as co-substrate, B: pH, C: Temperature (°C), D: Concentration of stevioside (%), E: Ratio of co-substrate (maltodextrin) to stevioside (w/w), AD: interaction between A and D, e: error.

**Table 4. Analysis of variance in yield of transglucosylation of stevioside after pooling**

Source of variation <sup>1)</sup>	Sum of squares	Degree of freedom	Mean square	F <sub>0</sub> (Φ, 10, 0.05)
A	11.05	1	11.05	2.65
B	41.27	2	20.63	4.95
C	75.77	2	37.88	9.09
E	49.55	2	24.78	5.95
e	41.66	10	4.17	
Total (corrected)	219.30	17		

<sup>1)</sup>A: DE of maltodextrin as co-substrate, B: pH, C: Temperature (°C), E: Ratio of co-substrate (maltodextrin) to stevioside (w/w), e: error.

(pooling) 시켜 다시 분산 분석표를 만들어 Table 4에 나타내었다. 풀링 후 F<sub>0</sub> 값은 풀링 전과 같아 전이율에 영향을 크게 주는 인자는 C, E, B, A 순임을 알 수 있었다.

### 최적조건의 예측

인자들의 각 수준에서의 평균 전이율 결과는 Table 5에서와 같으며, 유의한 인자를 C, E, B, A로 볼 때 최적조건은 C<sub>1</sub>E<sub>1</sub>B<sub>2</sub>A<sub>2</sub> (C 1수준, E 1수준, B 2수준, A 2수준)이었다. 즉 80°C, 말토덱스트린/스테비오시드=1, pH 6.0, DE 15의 말토덱스트린을 사용한 조건에서 최적으로 반응하였다. 또한 최적조건에서의 전이율은 아래와 같이 20% 정도로 예측할 수 있었다<sup>(15)</sup>.

$$\begin{aligned} \bar{Y} &= \bar{T} + (\bar{A}_2 - \bar{T}) + (\bar{B}_2 - \bar{T}) + (\bar{E}_1 - \bar{T}) \\ &= \bar{A}_2 + \bar{B}_2 + \bar{C}_1 + \bar{E}_1 - 3\bar{T} \\ &= 15.71 + 16.20 + 16.55 + 16.18 - 3 \cdot \frac{268.0}{18} \\ &= 19.97 \end{aligned}$$

단,  $\bar{T}$ =전체 평균

**Table 5. Average yield<sup>1)</sup> of transglucosylation of stevioside at each level and factor (unit: %)**

Level	A <sup>1)</sup>	B	C	D	E
1	14.14 ± 0.67	12.80 ± 0.82	16.55 ± 0.82	15.25 ± 0.82	16.18 ± 0.82
2	15.71 ± 0.67	16.20 ± 0.82	16.20 ± 0.82	13.97 ± 0.82	12.58 ± 0.82
3	-	15.78 ± 0.82	12.03 ± 0.82	15.57 ± 0.82	16.01 ± 0.82

A: DE of maltodextrin as co-substrate, B: pH, C: Temperature (°C), D: Concentration of stevioside (%), E: Ratio of co-substrate (maltodextrin) to stevioside (w/w).

<sup>1)</sup>mean ± S.D.

### 최적조건의 통계적 검증

최적조건의 통계적 검증을 위하여 스테비오시드 전이율의 95% 신뢰구간은 다음과 같이 구하였고<sup>(13)</sup>,

$$19.97 \pm t(10, 0.025) \sqrt{V_c \times \left( \frac{1}{n_c} + \frac{1}{r} \right)} = 19.97 \pm 3.87 = (16.10, 23.84)$$

$$t(10, 0.025) = 2.228$$

$$V_c = \text{에러항의 분산} = 4.17$$

$$\begin{aligned} n_c &= \frac{\text{총 실험 수}}{y \text{의 추정에 고려한 자유도의 합}} \\ &= \frac{18}{1+2+2+2} = \frac{18}{7} \end{aligned}$$

$$r = \text{최적조건에서의 반복수} = 3$$

3회 반복실험시 전이율의 95% 신뢰구간은 16.1~23.8%로 계산되었다. 그리고 직교배열법을 이용하여 구한 최적조건에서 실제로 3회 반복 실험한 결과, 전이율은 각각 19.6, 21.3, 20.1로 3회 모두 신뢰구간 안에 있는 것으로 나타나 구해진 최적조건은 재현성이 있고 95% 신뢰구간에서 통계적으로 유의함을 알 수 있었다.

이상의 결과를 통하여 볼 때 최적화 통계 방법을 사용하지 않고 실험을 할 경우 본 실험과 같은 3 수준의 4개의 인자와 2 수준의 1개의 인자인 경우  $3 \times 3 \times 3 \times 3 \times 2$  즉 162회의 실험을 하여야 하는 반면 직교배열법을 이용하였을 경우에는 18회의 실험 만으로 95% 신뢰구간에서 유의성을 갖는 최적조건을 구할 수 있었으므로 스테비오시드의 당전이반응에 적용한 직교배열법의 최적화 실험은 매우 효율적이고 경제적인 방법으로 판단된다.

### 반응시간 및 효소 첨가량

직교배열법을 이용하여 구한 최적조건에서 반응시

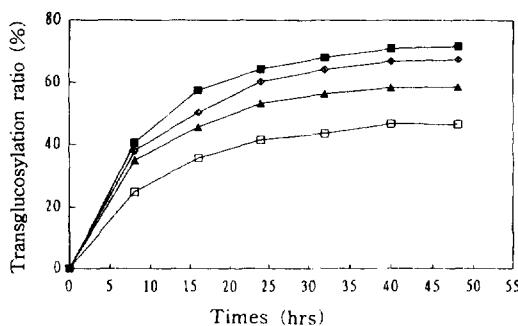


Fig. 3. Time course of transglucosylation with different concentrations of CGTase. ■—■: 0.4%, ◇—◇: 0.2%, ▲—▲: 0.1%, □—□: 0.05%.

간 및 효소 첨가량에 따른 스테비오시드의 당전이율의 변화를 살펴보았고 그 결과를 Fig. 3에 나타내었다. 반응시간이 경과함에 따라 전이율은 증가하였으나, 효소의 불활성화와 말토덱스트린의 고갈로 인해 반응 후기에 갈수록 전이율의 증가가 완만해졌으며 40시간 이 지나면서 당전이율은 정체되었다. 따라서 40시간 을 CGTase의 작용 한계로 보아 반응시간을 40시간으로 설정하였다. 또한 효소 첨가량이 증가함에 따라 전 이율은 점차로 증가하여 전이율을 높히기 위하여는 효소의 첨가량을 높혀야 하겠지만 효소량 0.4% 실험 구와 0.2% 실험구 사이에 전이율의 큰 차이가 없었고 효소의 가격 등을 고려할 때 효소 투여량은 0.2%로 결정하는 것이 좋다고 판단된다. 따라서 효소 첨가량을 0.2% 그리고 반응시간을 40시간으로 하여 앞서 구한 최적조건에서 스테비오시드의 당전이율을 실시한 결과 68%의 높은 전이율을 갖는 스테비오시드 당전이 제품을 얻을 수 있었다.

#### 관능검사

본 실험에서 제조한 스테비오시드 당전이 제품의 감미질을 확인하기 위하여 원료인 스테비오시드와 rebaudioside A 그리고 glycosyl-stevioside에 대하여 5단 계 기호도 검사를 실시하였으며 그 결과는 Table 6에 서와 같다. 천연추출물에 존재하는 성분 중 스테비오 시드 보다는 rebaudioside A가 단맛이 우수한 것으로 평가되었으며, 당전이반응에 의해 생성된 glycosyl-stevioside는 스테비오시드나 rebaudioside A 보다 쓴 맛과 뒷맛 그리고 전체적인 면에서 맛이 훨씬 좋은 것으로 평가되었다. 특히 스테비오시드가 감미료로서 단점으로 지적된 쓴맛과 뒷맛이 현저히 개선되어 우수한 단맛을 갖는 천연 감미료로 사용될 수 있음을 확인하였다.

Table 6. Sensory evaluation data<sup>a)</sup> of stevioside, rebaudioside A and glycosyl-stevioside

compound	Bitterness	After-taste	Deliciousness
stevioside	3.1±0.01	3.3±0.03	3.6±0.02
rebaudioside A	3.5±0.04	3.4±0.02	3.9±0.04
glycosyl-stevioside	4.3±0.03	4.0±0.01	4.7±0.01

<sup>a)</sup>mean±S.D.

## 요약

식품에의 사용이 확대되고 있는 고감미 천연 감미료인 스테비오시드의 단맛을 개선하기 위하여 CGTase를 이용한 당전이 반응 조건을 연구하였다. 당전이율을 높이기 위한 당전이 반응의 최적조건을 구하기 위하여  $L_{18}(2^1 \times 3^1)$  직교배열표로부터 18개 실험구를 선정하여 실험하였고 그 실험 결과를 분산 분석하였다. 그 결과 전이율에 가장 큰 영향을 주는 인자는 온도, 스테비오시드에 대한 말토덱스트린의 비, pH, 당공여체의 DE 값, 스테비오시드 농도 순이었으며, 각각의 조건이 80°C, 말토덱스트린/스테비오시드=1.0, pH 6.0, 그리고 말토덱스트린의 DE가 15 일 때 최적 반응조건임을 확인하였다. 선정된 최적조건이 통계적으로 유의한지를 확인하기 위하여 3회의 반복 확인 실험을 한 결과 재현성이 있었고, 3회의 전이율이 모두 95% 신뢰 구간 안에 포함되어 통계적으로 유의함을 확인하였다. 그리고 최적조건에서의 효소 첨가량 및 당전이 시간은 각각 0.2%와 40시간이 적합한 것으로 나타났고, 이러한 조건에서 스테비오시드의 당전이를 실시한 결과 전이율 68%의 단맛이 우수한 당전이 스테비오시드를 제조할 수 있었다.

## 문헌

- 菊池啓明: 스테비아 감미료의 추출 정제. *Bioindustry*, 3(10), 23 (1986)
- 이용현, 백승걸: 대체감미료의 개발 동향과 주류산업. *주류공업*, 3, 56 (1994)
- 藤田英雄, 枝廣知新: 스테비아 감미료의 안전성과 그 이용. *식품공업*, 10, 66 (1979)
- Wingard, R.E., Brown, Jr., J.P., Enderline, F.E., Dale, J. A., Hale, R.L. and Seitz, C.T.: Intestinal degradation and absorption of the glycosidic sweeteners stevioside and rebaudioside A. *Experientia*, 36, 519 (1980)
- Satoru, K., Isao, K., Yasuyuki, N., Shigeru, E. and Kazuo, M.: Transglucosylation into stevioside by the enzyme system from *Streptomyces* sp. *Agric. Biol. Chem.*, 50(10), 2445 (1986)
- 小熊武: 효소처리 스테비아의 미질 개선 기술의 진보. *Food Chemical*, 1, 36 (1995)
- Hitoshi, S., Satoru, S., Hideo, O., Hideji, N. and Masaharu,

- Y.: Glucosylation of steviol and steviol-glucosides in extracts from *stevia rebaudiana* Bertoni. *Plant Physiol.*, **95**, 152 (1991)
8. Isao, K., Satoru, W., Reiko, M., Masaki, T., Kazuo, M.: Formation of a transfer product from stevioside by the cultures of *Actinomycete*. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **56**(2), 233 (1992)
  9. Kazuya, Y., Kenji, Y. and Shigetaka, O.: Effective production of glycosyl-steviosides by  $\alpha$ -1,6 transglucosylation of dextrin dextranase. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **58**(9), 1657 (1994)
  10. Satoru, K., Isao, K., Yasuyuki, N., Shigeru, E. and Kazuo, M.: Transglucosylation into stevioside by the enzyme system from *Streptomyces* sp. *Agric. Biol. Chem.*, **50**(10), 2445 (1986)
  11. Hiroshi, I., Sumio, K., Kazuhiro, O., Chizuko, I. and Osamu, T.: Production of stevioside and rubusoside derivatives by transfructosylation of  $\beta$ -fructofuranosidase. *Agric. Biol. Chem.*, **54**(12), 3137 (1990)
  12. Muchsin, D., Kenji, M., Ryoji, K., Osamu, T., Sumio, K., Shigetaka, O., Susumu, O., Fumikazu, M. and Feng, H.C.: Enzymatic transglucosylation of rubusoside and the structure-sweetness relationship of steviol-bis-glycosidase. *Agric. Biol. Chem.*, **48**(10), 2483 (1984)
  13. 田中 治, 水谷健二, 大谷和弘 : 스테비아 배당체의 최근의 연구. *Food Chemical*, **10**, 73 (1989)
  14. Kenji, M., Takeshi, M., Ryoji, K., Osamu, T., Susumu, O. and Shigeki, D.: Study on improvement of sweetness of steviol bisglycosidase. *Agric. Biol. Chem.*, **53**(2), 395 (1989)
  15. 박성현 : 현대실험계획법. 민영사, p.461 (1993)
  16. 田口玄一 : 품질공학강좌 4 [품질설계를 위한 실험계획법]. 일본규격협회, 동경 (1991)

---

(1996년 8월 20일 접수)