



스테비아의 成分에 關하여

姜 孝 源

<建國大 教授>

1.2. Stevioside 以外の 成分

1.2.1. Monoglucosyl Stevioside

三橋 等は Stevioside(2)의 精製母液을 薄層크로마토그래피(TLC)로서 檢索하였더니 Stevioside(2)보다도 Rf值가 적은 Spot를 찾아냈다.²⁴⁾

이것을 調製薄層크로마토그래피(Preparative TLC)로 分離하여 mp 230~231° $[\alpha]_D - 36.6^\circ$ 의 吸濕性인 結晶을 얻었다. 이 結晶은 IR에서 1640cm^{-1} 에 末端메틸렌, 1720cm^{-1} ester의 吸收를 가지며 元素分析에서는 꼭 2에 一分子의 glucose가 結合한 것에 相當하므로 monoglucosyl stevioside(91)라 命名하였다.

91을 알카리로서 處理하면 一分子의 glucose가 없어진 새로운 配糖體가 얻어졌다. (92)(mp 213~214.5°, $[\alpha]_D - 256^\circ$)

따라서 이 配糖體(91)은 1의 Sophorose部分에 一分子의 glucose가 結合한 것으로 推定된다. 이것은 元素分析에 의하여 確認되었다. 91은 植物의 系統에 의하여 多少 다르지만 Synchrograph에 의한

定量에서는 乾燥植物體에 2~7%의 比率로 包含되어 있으며 甘味는 Stevioside(1)보다도 달며 食味(맛)도 뛰어나 있다.

1.2.2. Rebaudioside-A와 Rebaudioside-B

1.1.5에서 言及했지만 廣島大學의 田中等은 Stevioside의 定量法을 研究할 때 Stevia中の 配糖體 Fraction에 1 以上の 配糖體라고 생각되는 化合物이 4種類 含有되어 있는 것을 TLC로서 認定하였다.²⁵⁾ (Silicagel $\text{CHCl}_3 : \text{MeOH} : \text{H}_2\text{O} = 30 : 20 : 4$) 이 fraction으로부터 再結晶에 의하여 1을 除外한 나머지 母液 fraction을 컬럼크로마토그래피에 걸어 mp 242~244° $[\alpha]_D - 208^\circ$ 의 甘味를 갖는 結晶을 約 2%로서 얻어 rebaudioside A(62)라 命名하였다. 그리고 1보다도 若干 큰 Rf值를 갖는 mp 192~195° $[\alpha]_D - 45.5^\circ$ 의 甘味를 갖는 結晶을 0.07%로서 얻어 이것은 rebaudioside B(63)이라 命名하였다. 62와 63은 모두 酸加水分解에 의하여 isosteviol(3)을 붙인다. 62를 crude-hesperdinase라는 酵素나 알카리에 處理하면 63을 주게 된다. 63은 이酵素에 의하여 그

以上加水分解를 받지 않는다. 이後 62, 63의 構造는 1.1.5에서 言及했던 것처럼 BCNMR로서 推定되었다.

그러나 Sophorose에 對해서 結合한 새로운 glucose의 結合樣式은 그 以上 明確하지 않다. 田中 等은 痕量의 stevioside(6)을 同時에 얻고 있다.

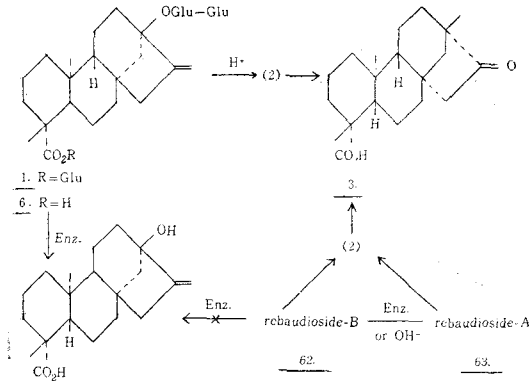


圖 12. rebaudioside A와 B의 性質

1.2.3. 林 等의 研究

小城忠治商店의 林 等도 Stevioside의 兩結晶母液에 關하여 分離를 하고 있다.⁸⁵⁾ 薄層크로마토그래피에서는 展開溶媒를 n프로판올:水(2:1)의 混液 35部:醋酸에틸 65部에서 實施하면 a₁(Rf 0.05), a₂(0.1), a₃(0.4), a₄(0.65) a₅(0.7) a₆(0.8), a₇(0.9) a₈(0.95)의 8 spot가 檢出되었다. 이 母液 fraction을 silica 300g에 對하여 1.8g을 chromatography에 걸면 벤젠:醋酸에틸:메타놀=3:1:1로 부터 a₁~a₈가 各己 單離된다. 그 中에서 a₂, a₃, a₄에 關하여 恒數와 呈色反應 等を 記載하고 있으나 構造에 關하여서는 抵觸 안되고 있다. 그리고 a₁과 a₈는 그람陰性菌 中에서 綠膿菌, proteus菌, 枯草菌 및 그람陽性菌의 黃色葡萄狀球菌에 對해서 強한 抗菌活性을 갖는다고 記載되어 있다.

a₂, a₃, a₄의 性質에 關하여서는 以下 記述한다.

a₂: 無色骰子結晶. mp198°. uv 吸收없음. 1R: 3300, 16%, 1660, 1240, 1075, 1040cm⁻¹, 피리딘, 水, acetone에 可溶, 벤젠, 에테르에 不溶. 濃黃酸에 黃色을 나타내며 리펠만反應, 醋酸鉛, Fehling 試藥, 銀鏡反應은 모두 陽性, 鹽化第2鐵에는 陰性,

水溶液은 中性이다.

a₃: 無色板狀結晶, mp237°, [α]_D²⁰-74° (c=0.6, 피리딘), uv吸收없으며, 1R: 3350, 1725, 1635, 1230, 1030cm⁻¹, 피리딘에 易溶, 물에 可溶, alcohol, acetone에 僅溶, 벤젠, 크로로포름 및 에테르에 不溶, 濃黃酸에 淡黃色을 나타낸다. 리펠만反應, 銀鏡反應 및 Fehling 試藥에 陽性, 鹽化第2鐵, 醋酸鉛에 陰性, 水溶液은 中性.

a₄: 無色針狀結晶, mp198°, [α]_D²⁰-197° (c=0.6 피리딘), uv吸收없고, 1R: 3400, 1690, 1660, 1240, 1010cm⁻¹, 피리딘에 易溶, 水에 可溶, 알코올 및 아세톤에 僅溶, 벤젠 및 에테르에 不溶, 濃黃酸에 淡黃色을 나타냄. 리펠만反應, Fehling 試藥 및 銀鏡反應에 陽性, 鹽化第2鐵, 醋酸鉛에 陰性, 水溶液은 中性.

三橋 等의 monoglucosyl stevioside(91)는 rebaudioside A(62)로 同定되었다는 趣旨의 發言이 田中 教授로부터 있었다(日本藥學會 96年會 生藥學部 會場). 그러나 monoglucosyl stevioside(91)의 알카리加水分解 生成物(62)의 融點(213~214.5° [α]_D²⁰=-256°)와 63의 融點(193~195° [α]_D²⁰=-454°)이 크며 엇갈려 있다. 그리고 三橋 等은 TLC上과 91과 1과 사이에 새로운 Spot를 찾아 내고 있으며, 더우기 研究가 進行 中이다.

1.3. Stevia 成分의 定量

近年 合成 甘味料가 安定性的 面으로부터 檢討되어 Cyclo, Dulcine 等の 使用이 禁止되어 또, Saccharin에 關하여서도 여러가지 問題點을 남기면서도 使用이 認定되고 있는 現狀이다. 이를 위하여 이들 合成甘味料에 代替되는 天然甘味料의 開發이 重要한 問題가 되어 스테비아가 그 하나로서 登場하게 된 것이다.

住田는⁸⁶⁾ Stevia가 日本에서 新甘味作物로서 定着할 것을 豫想하고 1971年, 種子의 導入을 하고, 各種 豫備調査를 하여 그 可能性을 確認하였다. 그 後 日本 各地에서 栽培研究가 施行됨에 따라 優良品種의 選定, 收穫適期의 決定, 栽培適地의 決定을 위하

여 함유甘味成分의 定量法의 開發이 必要하게 되었다.

從來 이것의 定量法에 關하여서도 報告가 적고 1973年 以後, 主로 日本의 研究者에 의한 것이 몇개 發表되었다.

이것들은 gaschromatograph法(GLC法)과 薄層 Chromatograph法(TLC法)으로 大別되는데, CLC法에서는 主로 配糖體를 酵素 또는 酸으로 加水分解하여 Steviol(2) 또는 isosteviol(3) 및 그들의 메틸에스테르로서 CLC에 걸어 定量하는 것이다. 그리고 TLC法은 試料를 酸處理하여 다음에 여기서 생긴 isosteviol(3)을 着色誘導體로 하여 TLC에 걸어 該當 spot를 抽出 比色定量하거나 또는 試料를 그대로 TLC에 걸어 配糖體部分을 抽出하여 適當한 方法으로 發色시켜 比色定量하는 것이다. 그리고 基本的으로는 TLC法과 다르지 않으나 檢出方法에 特徵이 있는 것으로서 Synchrograph法이 있다.

이때까지 報告는 없으나 高速液體 Chromatography에 의한 方法은 檢出에 研究가 必要하겠으나 今後 큰 可能性을 갖고 있는 것으로 생각된다*. 또 TLC크로마토스칸나이에 의한 定量은 몇 개의 生藥成分의 分析에 使用되어 評價받고 있으나, 呈色試驗의 檢討 等에 의하여 Stevia成分에 關하여서도 應用된 것이다.

以下 이때까지 報告되었던 것에 關하여 記述하기로 한다.

1.3.1. Gaschromatography

(1) 三橋·等の 方法²⁷⁾

이 方法은 1을 黃酸으로 加水分解하여 isosteviol(3)으로 하여 GLC에 걸어 定量하는 方法이지만 1以外的 Steviol을 aglycone으로 하는 甘味配糖體도 同時에 檢出되는 셈이다. 그리고 isosteviol(3) 바로 그것은 chromatograph上 peak의 tailing이 일어난 守田化學工業의 藤田, 守田에 의한 Stevioside의 紫外吸收波長이 198nm에 있다는 點으로 보아 200nm에서 吸光度로서 絕對檢量線法, 內部標準法으로 定量하였다. 또 monoglucosyl stevioside도 同時에 分析定量할 수 있었다. 컬럼充填劑로는 YANAKO-gel 5510, perma foods ODS를 使用하는 逆相크로마토이다(藤田, 守田, 私信, 1979年 7月 30日付).

다.

그러나 그 메틸에스테르는 날카로운 peak를 나타내므로 15% 黃酸메타놀로서 methanolysis하면 메틸에스테르가 定量的으로 얻어지므로 良好한 定量値가 얻어진다. 回收率은 101~103%이다. 操作은 時間이 걸리며 若干 번거롭다.

操作: 乾燥葉 10g에 炭酸칼슘 0.5g과 물 120ml을 混合하여 一夜 室溫에 放置한 後 濾別한다. 다시 100ml의 물을 加하여 마찬가지로 抽出하고 한번 더 물 80ml로서 都合 3회抽出한다. 이들 抽出液을 合하여 Amberlite-1R 120B(H) 4ml을 加하여 Celite를 濾紙로서 濾過한다. 濾液을 Amberlite 1R 120B(11)(經 1.6×10cm)과 Duolite A-4(經 1.8×40cm)의 컬럼을 順次通過시켜 通過液을 減壓으로 濃縮乾固시킨다. 이것에 16ml의 메타놀을 加하여 水溶上一時間還流하면서 濾過한다. 濾液을 減壓下 濃縮乾固한다. 이것을 다시 Dioxane 10ml을 加하여 1時間還流抽出後 抽出液에 메타놀 2ml을 加한다. 이것을 減壓乾固後 15% 黃酸메타놀 16ml로서 15分間 水溶上 95°C에서 加熱還流하여 다음 減壓下 溶媒를 留去하여 殘渣를 에틸로서 5회抽出하고 에틸層을 水洗後 黃酸나트륨으로서 乾燥하여 에테르를 留去한다. 이것을 一定量의 에테르에 녹여 CLC用의 試料로 한다.

別途로 精製한 Stevioside를 使用하여 2.22mg/ml의 에테르溶液으로 하여 1 μ l~4 μ l까지 CLC를 통해서 peak의 높이로 부터 檢量線을 作成하였다.

gaschromatography의 條件

1.8mg gascolumn, 1.5% SE-30에 chromosorb W, 카탈온도 230°, 流速: 60ml/min, N₂Rf 4.5min

(2) 田中 等の 方法²⁸⁾

三橋 等の 方法에서는 配糖體의 混合物을 定量하는 것이 되는데, 田中 等은 酵素法에 의하여 Stevioside(1)만을 加水分解하여 생긴 Steviol(2)을 GLC에 거는 方法을 取하였다. 이것에 使用하는 酵素를 檢索한 結果 粗 Hesperidiase*에 그 活性이 있는 것을 알아내었다.²⁹⁾ 이 酵素에 의하여 rebaudioside A(62)는 rebaudioside B(63)까지 分解되지만 거기

*Hos는 田邊製藥 醱酵研究所製의 原末을 使用한다. 透折하여 精製한 것의 力價는 보다 낮(低)다고 한다.

에서 멈추고 만다. 그리고 Stevioside(6)을 Steviol(2)으로 분해시키는데 植物 中の 6의 含量이 大端히 적으므로 定量値에 對한 影響은 無視할 수 있다.

이 hesperidinase (Hes라 略함)는 Aspergillus niger를 柑橘類의 果皮에 加한 培地에서 培養한 培養液을 硫安沈澱, 脫色, 脫鹽, 除菌後 凍結乾燥하여 얻어지는 粗酵素이다.

操作: 一定量의 乾燥스테비아葉을 속수레에 抽出器에서 에테르에 의하여 4時間 脫脂後 메타놀로서 5時間抽出한다. 抽出液을 完全히 蒸發乾固하여 磷酸緩衝液(0.2M, pH4.0)에 녹인 後 stevioside 約3mg에 相當하는 量을 取하여 새로히 磷酸緩衝液을 加하여 約 10ml로 하여 polycral AT를 0.5g 加하여 30分間 振盪 脫色한다. Polycral AT를 濾過하여 그 濾液 및 洗液을 合해서 12ml로 하고 Hes 6mg을 加하여 Toluene 數滴을 넣어 40°C에서 48時間 反應시킨다. 反應液을 에테르抽出(15ml×4回)하고 에테르層을 蒸發乾固하여 progesterone(GLC의 内部標準으로 함)의 0.4mg을 含有하는 크로로포름 6ml에 溶解하여 GLC로서 Steviol/Progesterone의 比를 求하여 檢量線으로 定量한다.

그리고 에틸에스테르로서는 上記한 操作으로서 얻은 試料 또는 에테르層을 蒸發乾固하여 디아조메탄의 에테르溶液을 加하여 메틸化한 後, 溶媒를 留去한다. 이것을 androsterone 0.8mg을 含有하는 크로로포름 2ml에 녹여 GLC에 걸어 peak 比로부터 定量한다.

Polycral AT는 脫色을 爲하여 使用되고 있지만 반드시 必要한 것은 아니다. 試料 1~5mg로서 훌륭한 直線性을 나타내며 再現性도 良好하다. 그리고 Stevioside(1)로서 適當한 甘味로 調整한 오렌지쥬스 中の Stevioside(1)에 關하여도 100%의 回收率로서 定量이 可能하다고 한다.

GLC의 條件

Steviol로서,

1.5m glass column 3% SE-300n chromosorb W, 컬럼溫度 235°, 流速 35ml/min N₂ Rt 53 min

또는 1m 그라스 컬럼 1.5% ov-17on chromosorb W, 컬럼온도 260°

에틸에스테르로서,

1m 그라스컬럼, 1.5% ov-17 on chromosorb W, 컬럼溫度 230°, 流速 35ml/min Rt 54min

(1) 宮崎 等의 方法¹⁾

이 方法은 黃酸處理에 의해 생긴 isosteviol의 carbonyl에 2,4-dinitrophenyl-hydrazine(DNP)을 作用시켜 hydrazone으로 하고 이것과 標準의 stevioside를 마찬가지로 處理하여 얻은 isosteviol의 2,4 DNP를 동시에 TLC에 걸어 相應하는 點을 攄어 모아 알코올로 溶出하여 362nm에 있어서의 吸光度를 測定하여 標品에 의한 檢量線으로부터 가장 試料의 量이 적다.

操作: 收穫後, 風乾한 試料를 메시케이타에서 乾燥한 後 粉末로 하여 그 500mg에 물 50ml를 加하여 水溶上에서 3時間 加熱抽出하여 濾過한다. 濾液을 合하여 加壓下*(그대로) 蒸發乾固하여 여기에 5% 黃酸메타놀 20ml를 加하여 水溶上에서 30分 還流한다. 이것에 2-4 DNP試藥(0.5g을 85% 磷酸 6ml에 加溫하여 녹이고 95%에타놀 3.95ml로서 稀釋하여 濾過後 使用) 1ml, 물 10ml를 加하여 水溶上에서 加溫하여 메타놀을 留去한다. 冷却後, 물 10ml를 다시 加하고 析出하는 沈澱物을 濾取하여 風乾後 크로로포름 10.0ml에 녹여 그 0.05ml, 0.01ml을 TLC用 試料로 한다.

別途로 標品 Stevioside를 마찬가지로 處理해서 얻은 isosteviol 2,4 DNP와 同時에 TLC에 걸어 相當하는 點을 攄어모아 에타놀 5.0ml에 溶出하여 吸着劑를 濾去하고 波長 362nm에 있어서의 吸光度를 測定하여 미리 標準品에서 얻은 檢量線에 의하여 定量한다.

條件: Kiesel gel G (Merck) 0.25nm×200×50 110°C 1時間 加熱活性化後 使用.

溶媒系; 헥산: 醋酸에틸: 醋酸(8:2:0.25)

(2) 小城商店 group의 方法²⁾

이 group의 方法은 配糖體를 TLC로서 分離 後

*減壓下の 誤 아닌가?

相當하는 點을 抽出하여 Anthrone에 의하여 呈色시켜 吸光度를 測定하는 것이다.

그들의 主眼은 Stevioside가 다른 合成 또는 天然 甘味料와 併用되었을 때의 定量이라는 것에 있는 것 같다.

操作 : Stevia葉末 15g을 精秤하여 속스레 抽出器로서 Dioxane으로 約 15時間 加熱抽出을 하여 抽出後 다시 Dioxane을 加하여 全量을 正確히 100ml로 한다. 다음에 Merck의 Silicagel G의 TLC板上에서 上記한 抽出液의 0.02ml를 2點으로 붙여 Benzene : 醋酸·에틸 : 메타놀(1 : 1 : 3)을 15cm까지 展開한 後 風乾한다.

다음에 한 例에만 4% 메타沃度酸나트륨水溶液을 噴霧하여 10分 後에 다시 1% 파라니트로아니린의 메타놀溶液과 濃鹽酸(4 : 1)의 混液을 噴霧해서 Stevioside部分(Rf 約 0.75~0.85)을 黃色의 Spot로서 發現시켜, 이것에 相當하는 또 다른 한 例의 Stevioside部分을 긁어모아, 選流冷却器가 붙은 微量檢出器에 넣고 메타놀 4.5ml을 加하여 30分間 加熱抽出하여 抽出後 메타놀로서 全容量을 5ml로 하였다. 이것을 遠心分離에 붙여 上澄液 2ml을 共檢試驗管에 의하여 水水中에서 0.1w/v% 안스론 90v/v% 黃酸 4ml를 正確하게 徐徐히 加한다.

그 後 80°C의 水浴上에서 正確히 20分間 加熱하면 液色은 綠色을 나타내게 된다. 加熱終了後 다시 水水中에 넣어 冷却하고 冷却後 2時間 以內에 620nm의 波長에서 吸光度를 測定한다. 純品으로부터 얻은 檢量線으로 定量한다.

이때 TLC에 使用한 發色試藥에 의하여 stevioside는 鮮黃色을 나타내지만 여기서 使用한 溶媒系에서는 各種의 配糖體가 明瞭하게 分離안되며 混合物로서 定量하게 된다.

(3) Synchrograph 法¹¹⁾의 Synchrograph 裝置는 Synchrod라 命名한 Silica末을 石英棒에 燒結한 徑 1mm程度의 rod에 TLC와 마찬가지로 試料溶液을 spot하여 適當한 溶媒로 展開하여 그後 溶媒를 乾燥 除去하여 그 rod를 水素鹽 ion化檢出器를 通過시켜

서 spot의 展開位置와 量을 檢出하는 것이며 簡便하게 定量할 수 있다.

操作 : stevia乾燥末 5g을 메타놀 80ml을 使用하여 Soxlet抽出器로서 6時間 抽出한다. 抽出液 1~3μl를 synchrod에 얹어 크로로포름 : 에타놀 : 水(6.5 : 3 : 1)의 下層을 展開溶媒로 하여 約 10cm程度 展開한다. 이것을 乾燥하여 Synchrograph에 걸어 Stevioside에 相當하는 部分의 面積値를 測定하여 檢量線에 의하여 定量한다.

이것은 抽出液을 그대로 定量하므로 行程이 아주 짧으며 그리고 檢體가 比較的 적어도 못한다. 回收率은 96.1%이다. Synchrod에서의 分離가 좋으면 各己合成에 關하여서도 同時定量이 可能하다. 이것에 의하여 Stevioside(1)와 monoglucosyl stevioside (91)를 同時에 定量할 수가 있었다. Synchrod의 再生은 比較的 簡單하지만 操心스럽게 할 必要가 있다.

1.4. Stevia成分의 抽出과 精製

Stevioside(1)의 抽出과 精製는 그 構造研究와 더 붙어 改良되어 왔다는 것은 1.1에서도 이미 言及한 것이지만 近年이 되어 그 商業的 需要가 增加함에 따라 더욱 能率의인 研究改良이 要求되어 여러가지 方法이 報告되어 왔다.

그 先驅的인 報告라 하면 무엇이랴 해도 1955年의 Wood 等の 이온交換樹脂法¹²⁾을 들 수 있다.

이 節에서도 먼저 이 方法으로 부터 順次 記述코져 한다. 그리고 實際로 甘味料로서 利用하려면 그 使用目的에 따라 純粹한 結晶이 要求될 때와 반드시 그런 必要가 要求되지 않을 때가 있으며 各己의 方法이 考察되고 있다.

1.4.1. Wood 等の 方法

陽, 陰 兩이온交換樹脂를 使用하여 不純物을 除去하고 메타놀, Dioxane 등으로 兩結晶하여 stevioside(1)을 얻는 方法이다.

實施例

200g의 風乾한 葉徑部中末을 10g의 炭酸칼슘과 混 合하여 1200ml의 물로서 室溫下 20時間 浸出한다.

抽出液을 排出하여 나머지 植物殘渣에 다시 300ml의 물을 加하여 洗滌하여 壓縮機로서 抽出液을 얻는다. 壓縮機에 남은 cake狀의 殘渣를 600ml의 물로서 섞어 다시 抽出操作을 되풀이 한다. 이것을 合計 세번 한다. 모든 抽出液을 合하여 Amberlite 1R-120(H)와 함께 攪拌하여 樹脂와 함께 生成한 沈澱을 Hyflo Super Cell을 같은 Nutze에서 濾過한다. 濾液은 順次 Amberlite 1R-120(H)(45×800mm)과 Duolite A-4(450×800mm)의 컬럼을 通過시켜 溶出液을 45~50°에서 減壓下, 蜂蜜狀이 될 때까지 濃縮한다. 이것을 175ml의 메타놀에 녹여 +5°에서 一夜放置하면 Stevioside의 粗結晶을 折出한다. 이 結晶을 濾取하여 50ml의 물로 洗滌하고 40°C에서 乾燥하면 20.2g가 얻어진다. 이 綠色으로 着色한 粗結晶을 沸騰하는 Dioxane 4부에 抽出하여 殘渣는 濾過하여 除去한다. 이 濾液에 메타놀 1부를 加하고 室溫에 一夜放置 後 無色의 거의 純粹한 Stevioside mp 198~202°, $[\alpha]_D - 38.8^\circ$ 를 14g(7%)의 收量으로 얻는다.

1.4.2. Persinos의 方法⁴²⁾

이것은 葉의 粉末을 四鹽化炭素로 脫脂 後, 風乾하여 炭酸칼슘과 混和하고 Dioxane과 1~3時間 沸騰抽出한다. 濾過 後 濾液을 減壓下 40~60°에서 Syrup狀으로 될 때까지 濃縮한다. 이것에 메타놀을 加하면 Steviol의 結晶(mp 196~198°)이 折出된다. 結晶을 濾取하여 母液은 結晶이 折出않게 될 때까지 再結晶을 되풀이한다. 이러한 方法이지만 收量 等에 關하여는 記載된 것이 없었다.

1.4.3. 明石 等의 方法⁴³⁾

工業的 規模로서의 生産에 있어서 이온交換樹脂는 比較的 高價이며 樹脂의 再生 및 그 때의 廢液의 處理 等을 考慮한다면 製品 cost中的 樹脂에 드는 比率은 크다. 그 때문에 樹脂에 試料를 通過시키기 前에 可及的 不純物을 除去하는 것이 바람직하다. 그들은 이때문에 各種 吸着劑(表 1.1)에 關하여 不純物의 除去率을 檢討한 結果, 水酸化칼슘이 除去率 52.5%로서 가장 높았다. 水酸化칼슘의 溶解度는 比

較的 적으므로 樹脂에 對한 負擔이 적으며 그 樹脂를 再生했을 때, 再生廢水의 BOD 및 COD는 水酸化칼슘을 使用하지 않을 때에 比하여 各各 約 1/4이 되어 있다. 그리고 使用하는 樹脂의 量도 强酸性이온交換樹脂에서는 17%, 强鹽基성이온交換樹脂에서는 50%이나 節約이 可能하다고 하고 있다.

實施例

Stevia乾葉 1kg을 熱水로 抽出하여 抽出液 16l을 얻는다. 이것을 500ml까지 濃縮하여 水酸化칼슘 100g을 添加하여 攪拌 後 濾過한다. 濾液을 鹽酸으로 再生한 Amberlite-120B 567ml에 通하여 다시 암모니아再生한 Duolite A-4850ml에 通過시킨다. 이 通過液을 蜂蜜狀으로 濃縮하여 메타놀 500ml을 加하여 一夜+5°에 放置하여 Stevioside 5g을 얻는다. 抽出溶媒에 80(v/v)%메타놀을 使用하여도 같은 結果가 되었다.

表 1.1. 不純物除去劑와 除去率

物理吸着劑	不純物除去率	物理吸着劑	不純物除去率
酸性白土	25%	Cellite	0
活性白土	55%	炭酸칼슘	0
Bentonite	0	水酸化칼슘	52.5%

1.4.4. 林野 等의 方法⁴⁴⁾

이 方法은 水抽出液으로 부터 Stevioside를 適當한 溶媒로 抽出하는 것이다. 芳香族炭化水素(벤젠, 톨루엔 등), 石油系炭化水素(헥산, 石油에테르), 할로젠화炭化水素(크로로포름 등)에 對하여서는 Stevioside의 溶解度가 너무 적어서 使用할 수가 없다. 그리고 물에 녹는 低級알코올, 아세톤도 不適當하다. 그래서, 炭素數 4~8까지의 알코올을 使用하도록 되었다.

飽和의 直鎖, 分枝環狀脂肪族알코올, 芳香族알코올 등이 使用된다. 그리고 여기에서는 이온交換樹脂는 使用되고 있지 않다.

이 方法은 回分式에서나 連續式 向流抽出方式에서나 可能하다. 抽出時의 溫度는 50~60°C에서 施行하는 것이 最適이라고 한다. 알코올은 減壓濃縮으로 回收한다. 이때 完全히 알코올을 除去한 Paste狀物,

이것에 Dextrin, Arabia Gum 등의賦形劑를加하여乳化해서噴霧乾燥한粉末甘味劑 또는알코올을Stevioside豫想得量の2~6倍를남겨서放置하면얻어지는結晶等,甘味の目的,用途에의하여 좋아하는形으로加工할수있다.

實施例

Stevia의全草乾燥品100部에물800部를加하여50°C에서1時間攪拌抽出한다.

이混合物를遠心分離機로固體分離하여水抽出液650部를얻는다.이것에400部の벤질알코올을加하여50~60°C에서約1時間攪拌하여靜置後分液하여約410部の벤질알코올層을얻는다.水層에는다시300部の벤질알코올을加하여第1回째의抽出과 마찬가지로處理하여約300部の벤질알코올抽出液을얻는다.이兩者를合하여세라이트를加하고淸澄濾過한다.濾液를眞空下2~3mmHg에서濃縮하여約20部の濃縮物을얻는다.이것을30%Arabic Gum溶液100部에本濃縮物을加하여乳化시키고Spray dryer로서噴霧乾燥하여約45部の粉末Stevioside를얻는다.이것은官能試驗의結果,雪糖의約40倍의甘味를갖는다.

以上のCyclohexanol, 2-Octanol, 2級부타놀, 플프릴알코올의實施例가報告되어있다.

1.4.5. 林 등의 方法

이方法의意味等に關해서는1,2,3에서言及되어있으므로여기에서는實施例에關하여서記述하기로한다.

實施例

(1) Stevia葉1kg를99%메타놀10l로서3時間씩3回約70°에서抽出處理한다.이抽出液을約2l까지濃縮하여이것을6l안에投入한다.생긴葉綠素等の不溶物을濾別하여濾液를減壓下에서蒸發乾固한다.殘渣를99%메타놀2l에녹여1l까지濃縮하고室溫에서放置하면Stevioside는折出하여50g얻어진다.濾液를60°以下에서減壓濃縮하면黃褐色의粉末110g를얻는다.

(2) 스테비아葉1kg을10l의물로24時間씩2回

常溫에서抽出處理한다.抽出液을濾過하여60°以下에서蒸發乾固한다.殘渣를99%메타놀2l에녹여이溶液을約1/4量까지濃縮하여dioxane 250ml를加하여室溫에서放置한다.析出하는Stevioside 48g을얻는다.濾液를60°以下에서濃縮乾固하여黃褐色인粉末120g을얻는다.

(3) 스테비아葉1kg을使用하여(2)에서記述한것과 마찬가지로水抽出處理 및 乾固를하여 얻은乾固物約170g을含水부타놀9l에熱湯溶解하여不溶物部를蒸發乾固하였다.이乾固物을2l의메타놀에녹여約半量으로濃縮하여放冷하면Stevioside 45g가析出한다.母液과(a)를合하여減壓濃縮하여乾燥엑스110g를얻는다.

1.4.6. 井越 등의 方法

이方法은不純物을除去하는方法으로서半透膜(세로판, 코로디온, 醋酸섬유 등의膜)에 의한透析法, 코로디온膜 또는水和gel膜에 의한限外濾過法, 各種擔體gel에 의한gel濾過法等을使用하여抽出液을處理하여分子篩效果에 의하여比較的分子량이 큰着色物質等の不純物을除去하는 것을特徵으로하고있다.即ion交換處理後얻어지는Syrup의着色物質이分子량1萬以上の것임이活性炭에對한吸着性を檢討하는것에 의하여發見되었으므로Stevioside의分子量約805와比較하여分子篩에 의한分離가可能하게되는셈이다.이온交換樹脂가再生直後の것일 때는着色物質도꽤吸着이되지만樹脂의劣化와 더불어Syrup은褐色으로부터暗綠色으로着色되며메타놀로 부터의再結晶단으로는着色된結晶 밖에얻어지지 않으며다시再結晶을 되풀이 할 必要가 있다. 이方法으로는97%以上のStevioside를含有하는 거의無色のSyrup이 얻어진다(使用 안할 때는Stevioside含量이80%以上이 되지만着色된Syrup이 얻어진다).

實施例

(1) 乾燥粉碎한 스테비아 100g에 5g의 粉末炭酸칼슘과 500ml의 물을加하여室溫에서充分히攪拌抽出을 한다.遠心分離機에 걸고上澄液을 얻었다.殘

渣는 다시 2회 各己 500ml의 물로서 抽出을 한다. 上澄液을 합하여 1規定의 鹽酸으로서 pH를 2.8로 調整하여 생긴 沈澱物을 濾去한다. 濾液을 Amberlite 1R A 410(OH) 및 Amberlite 1R 120B(H)의 컬럼을 順次로 通過시켜 脫이온을 한다. 얻어진 茶褐色의 Stevioside溶液 1.7l을 減壓下 45~50°에서 濃縮하여 500ml로 한다. 다음에 다이아필터-G-10T를 作用하여 窒素壓을 걸어 限外濾過를 하면 거의 無色の Stevioside溶液 約 500ml을 얻는다. 이것을 濃縮하여 淡色の Syrup 10.2g을 얻는다. 이것을 約 10ml의 물에 녹여 50ml의 메타놀과 20ml의 메타놀을 加하여 50에서 一夜放置하면 無色の 粒狀結晶 8.0g을 얻는다.

(2) (1)과 마찬가지로 處理하여 얻은 茶色の Stevioside溶液 1.7l을 500ml까지 濃縮하여 이것을 셀 루로오즈류브透明膜에 密封하여 2l의 물에 浸漬하여 攪拌하여 透析한다. 透析液은 減壓濃縮하면 거의 無色の Syrup 8.1g을 얻는다.

(3) 乾燥粉碎한 스테비아 100g에 500ml의 물을 加하여 加熱攪拌抽出을 한다. 熱時 濾過를 하여 다시 殘渣를 2회 마찬가지로 抽出을 한다. 濾過液을 합하여 1.2l의 抽出液을 얻고 減壓下에서 45~50°에서 濃縮을 하여 400ml로 하여 다이아필터 G-05T를 使用하여 窒素壓을 걸어 限外濾過를 하여 거의 無色の Syrup 10.8g을 얻는다.

1.4.7. 久保村 等の 方法

이 方法의 特徵은 非極性 乃至 中間極性的 巨大網狀構造를 가진 合成吸着樹脂를 使用하여 Stevioside를 吸着시켜 適當한 溶媒로 溶離하는데 있다. 樹脂로서는 非極性스틸렌비닐벤젠 重合體의 Amberlite XAD-2, XAD-4 等, 또 中間極性的의 아크릴에스테르의 重合體인 Amberlite XAD-7, XAD-8 等이 使用된다. Stevioside의 樹脂에 對한 吸着은 컬럼法, 回分法의 어느 것이나 可能하다 回分法은 操作이 簡便하지만 컬럼法은 精製效果가 뛰어나 있다. 樹脂量은 處理液 中の Stevioside含量에 따라 決定되며, Stevioside 1g當 24ml以上の 樹脂를 必要로 한다.

30~40ml가 가장 適當하다. 吸着에 要하는 時間은 回分法에서는 1~2時間 攪拌하는 것으로 充分하다. 그리고 컬럼에서는 溶出速度를 容積速度가 1~5가 되도록 維持하는 것이 必要하다. 溶出溶媒는 主로 알코올·메타놀·아세톤 Dioxane 等を 물로 稀釋, 單獨, 또는 混合하여 使用되지만 그 稀釋度는 溶媒量, 溶出時間, 溶媒의 種類, 吸着樹脂의 種類·吸着 溶解의 方法 等으로 다르다.

實施例

(1). 물 160l에 스테비아 乾燥葉 8kg과 炭酸칼슘 400g을 加하여 浸漬한다. 18時間 後 濾別하여 抽出液 140l을 얻는다. 殘渣에 다시 물 160l을 加하여 18時間 浸漬하여 濾別하고 濾液 160l을 얻는다. 앞의 抽出液과 合한다(이것은 固型分 4.8kg에 相當하며 GLC로서 定量하면 0.71kg의 Stevioside를 含有하고 있다). 이 抽出液을 減壓下 40~45°에서 30l까지 濃縮하여 遠心分離機에 걸어 不溶物을 除去한 後 Amberlite XAD-2를 24l 加하여 2時間 攪拌하여 吸着시켜 樹脂를 濾取하며 물 30l로서 洗滌한다(이 洗液 中에는 61.9g의 Stevioside가 含有되어 있다). 다시 이 樹脂에 알코올 20l를 加하여 攪拌하며 濃縮 乾固하면 890g의 粉末이 얻어진다. 이 粉末의 Stevioside含量은 63.5%이며 收率은 79.7%이다. 그리고 不純物의 除去率은 91.6%이다.

(2). (1)에서 얻은 Stevioside含有粉末을 120ml의 물에 녹여 300ml의 Amberlite XAD-2의 컬럼을 容積速度 3에서 通液시켜 吸着시킨다. 吸着 後 1l의 물 및 1l의 20% 알코올을 通液하여 順次 洗滌하고, 이어 1l의 40% 稀알코올을 容積速度 3으로 溶出하여 Stevioside含量이 높은 600ml을 얻는다. 이것을 濃縮乾固하여 5.4g의 純度 95.6%의 Stevioside를 얻는다. 메타놀로 부터 再結晶하면 5.2g의 純品인 Stevioside를 얻는다.

(3). (2)와 마찬가지로 Amberlite XAD-7에 吸着시켜 1l의 물로 洗滌한 後 2l의 20% 稀알코올로서 Stevioside를 溶解시켜 溶出液을 濃縮乾固하여 5.93g의 純度 92.0%의 Stevioside를 얻는다.

(4). (1)의 方法에 있어서 溶出溶媒로서 50% 아세

톤 4g으로서 할 때 Stevioside含有粉末 1.1kg(純度 60.5%)을 얻는다. 不純物除去率은 88.7%, 이 粉末 100g을 dioxane 400ml와 메타놀 100ml의 混合溶媒로서 5°C에서 再結晶하면 純度 98.0%의 Stevioside 514g을 얻는다.

1.4.8 小松 等の 組織培養⁴⁷⁾

이것은 스테비아葉으로부터의 抽出, 精製方法이 아니고 스테비아의 여러가지組織을 培養하여 生成된 카루스를 Stevioside抽出原料로 한다는 것이다. 組織培養은 잘 알려져 있는 바와 같이 普通으로 栽培하는 方法에 比하여 天候等の 天然의 條件에 左右되지 않는다. 生育時間은 比較的 짧다. tank等에 의하여 밭과 같은 넓은 場所를 必要로 하지 않고 管理도 容易하다는 等の 많은 利點이 있다. 그러나 植物組織이나 培養條件 等に 따라서는 天然條件下에서 生育한 植物 中에서 主成分이었던 것과 같은 物質이 極히 微量이든지 전혀 다른 物質이 主成分이 되는 경우도 있으며 適當한 條件을 發見한다는 것은 甚困難하다. 이와같은 視點에서 本方法은 極히 興味있는 것이지만 定量的인 面에서의 記載가 없고 다시 今後의 研究가 크게 期待되는 것이다.

스테비아의 잎, 줄기, 뿌리, 종자를 殺菌하여 Auxin을 含有하는 營養培地에 放置하여 暗所下에 18~23°C에서 培養하면 2~3週間 後에 白色카루수가 發生한다.

이것을 別途의 같은 組成의 培地에 移植하여 밝은 곳에 培養하면 카루수는 綠化된다. 이것을 選擇移植하여 大量의 카루스를 얻는다. 培地는 液體培地에서도 可能하다. 얻은 카루스를 水抽한 後 抽出液을 濃縮한다.

여기서 使用된 Auxin은 2,4디클로로 페녹시醋酸(2-4D), 인돌醋酸(IAA), 나프티렌醋酸(NAA), 인돌酪酸(IBA)이다. 또 培地에 關하여서는 Heller, Linsmaier-skoog, Murashige, White 等の 培地가 使用된다. 代表例를 表 1.2에 表示한다.

實施例

(1)表에 나타내는 無機成分, 炭素源으로서 Glucose

를 含有하는 培地에 Auxin으로서 IAA를 $10^{-6}M$ 添加하여 寒天을 加하고 常法처럼 殺菌하여 培地를 作成한다. 이 培地에 스테비아의 잎 및 줄기를 適當한 크기로 切斷하여 70% 알코올과 0.1%昇汞으로서 殺菌後 無菌水로서 充分히 洗滌한다. 이 잎과 줄기를 暗所下 25°C에서 斜面培地에 置床한다. 2~3週間 培養 後에 切斷으로 부터 白色카루수가 發生한다. 카루수가 發生한 組織을 移植하여 다시 카루스를 增殖시킨다. 카루수가 붙어나면 카루스 만을 똑같이 移植하여 다시 늘린다. 이 붙어난 카루수를 三角플라스크에 移植하여 3000룩스의 빛을 照射시켜 25°C 培養한다. 培養에 따라 카루수는 綠化되어 음에 따라 一部는 뿌리, 줄기, 잎 등의 器官으로 分化가 일어난다. 이 中 增殖한 카루수 만을 移植培養한다. 이것을 되풀이함으로서 約 80g이 얻어졌다. 이 카루수에 3倍量의 물을 加하여 Homogenize하여 이것을 되풀이하여 約 500ml의 抽出液을 얻는다. 이 抽出液은 Stevioside樣의 甘味를 갖는다. 이 抽出液 100ml을 減壓乾固한 後 少量의 물에 녹여 TLC에 걸면 Stevioside의 Spt를 認定한다. 또 Crowngoll에 關하여서 組織培養하여 그 카루수로 부터도 마찬가지로 Stevioside를 檢出하고 있다.

最近 日本專賣社 中央研究所의 鈴木等은 스테비아의 카루수 3kg으로부터 rutin (93) 224mg을 分離하였다고 報告하고 있지만, Stevioside에 關해서는 言及안하고 있다.⁴⁸⁾

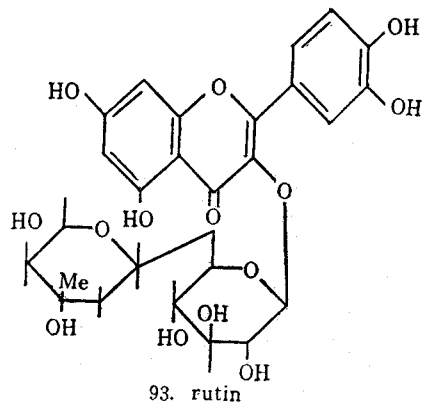


圖 13 rutin의 構造

表 1.2. 培地組成의 一例

NaNO ₃	600(mg/l)	CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.03(mg/l)
KCl	750	AlCl ₃	0.03
CaCO ₃ ·2H ₂ O	75	KI	0.01
MgSO ₄ ·7H ₂ O	250	H ₃ BO ₃	1
NaH ₂ PO ₄ ·H ₂ O	125	비타민B ₁	0.1
FeCl ₃ ·6H ₂ O	1	비타민B ₆	0.5
MnSO ₄ ·4H ₂ O	0.1	Yeast ex.	200
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	1	Glucose	30g/l
NiCl ₂ ·6H ₂ O	0.06	寒天	10g/l

1.5. Steviol 類의 微生物에 의한 지베레린 類에 의한 變換에 關하여

Gibberellin은 植物生長促進 等の 強한 生理作用을 가지는 植物홀몬이며 農作物의 增收나 品質의 向上 等を 위하여 널리 使用되고 있다. Gibberellin은 벼의 바보묘病菌 *Gibberella fujikuroi*의 代謝產物 입이 黑澤에 의하여 發見되고⁵¹⁾ 藪田等에 의하여 이 菌의 培養渣液으로부터 처음으로 2種의 活性이 있는 結晶으로 單離되었다는 것은 잘 알려져 있다.⁵²⁾ 現在까지 約 40種의 gibberelli類가 *Gibberella fujikuroi*의 代謝產物로서 或은 많은 高等植物의 生長 因子로서 分離되어 있다.

gibberellin類의 生合成에 關하여서는 많은 사람들 에 의하여 詳細히 研究되어 Kaurene型 骨格의 diterpene이 그 前驅體가 되어 있는 것이 證明되어 있다.⁵³⁾

英國의 Imperial Chemical Industries Ltd(I.C.I)의 group은 gibberellin類에 關한 各種의 研究를 많이 報告하고 있었다. 現在로는 解散하고 있지만 그 一員이었던 McMillan은 繼續하여 이 研究에 從事하여 現在도 活發하게 論文을 發表하고 있다.

最近에는 *G. fujikuroi*의 變異株 B-41a를 使用한 代謝物의 研究를 몇 개 報告하고 있으며, 그 中에서 Steviol(2), isosteviol(3), Steviol acetate(94)를 이 菌에 投與하여 興味있는 結果를 얻고 있으며 스테비아의 다른 利用이라는 觀點으로부터 크게 注目되고 있다.

(一) -kaurene(95)이 gibberellin의 生合成上的

前驅體라는 것은 Cross 等に 의하여 밝혀져 있으나⁵³⁾ Steviol(2)가 中間代謝物의 19-Kaurenic acid (96)⁵⁴⁾의 C-13位의 水酸體에 相當하는 것으로 부터 13-hydroxy型 gibberellin, 例컨대 gibberellin A⁺ (GA₁으로 略稱, 以下 같다)(97) GA₄(98)等의 前驅體로 될 수 있다고 생각된다. 이와 같은 C-13位에 水酸基를 가지는 gibberellin은 菌의 代謝物로서는 GA₁과 GA₄뿐이며 나머지의 大部分(現在까지 約 15種 쯤 알려져 있음)은 高等植物 中에서 發見된 것 뿐이다.

高等植物 中의 gibberellin의 含量은 普通 10⁻⁶% 程度의 極微量이며 Steviol(2) 등은 前驅體로 하여 菌에 投與하여 이들의 gibberellin이 大量으로 얻어 지면 새로운 資源으로서 스테비아의 活用이 圖謀되는 것이다.

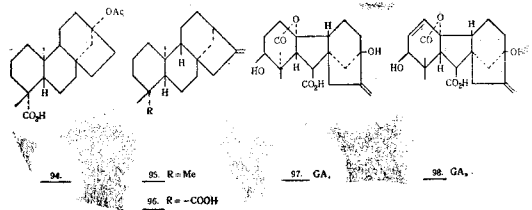


圖 14. Steviol과 GA의 關係

1.5.1. Steviol(2)의 變換⁵⁴⁾

Steviol(2)은 投與後 20時間 거의 代謝되고 만다.*

*代謝物의 同定은 메틸化體 또는 그것을 다시 트리메틸사 질化體로 하여 GC-MS法으로 標品과 比較同點하는 것으로서 行하여졌다. GC-MS法이란 가스크로마토와 가스스펙트로 메타를 直結한 裝置로서 解析하는 方法이다.

먼저 ent-7X, 13-dihydroxy-kaurenic(99)로 變換되어 이로부터 GA₁ (97), GA₁₀(100), GA₁₁(101), GA₂₂(102), 13-hydroxy-GA₁₂(103)으로 代謝한다. 그리고 ent-6α, 7α, 13-trihydroxy-kaurenic acid (104), ent-6β, 7α, 13-trihydroxy Raurenic acid lactone(105) 및 Securing Bdiacid(106)도 얻어지지만, 이것들은 이 以上으로는 gibberellin骨格으로 變換되지 않는다.

表 1.3. Steviol의 B1-41a에 의한 變換

化合物	20時間(%)	5日(%)
103	11.0	18.5
99	47.0	0
101	0.5	3.5
04+102	9.0	11.0
100	10.0	15.5
106	0.5	6.0
97	11.0	26.0
105	6.0	7.5

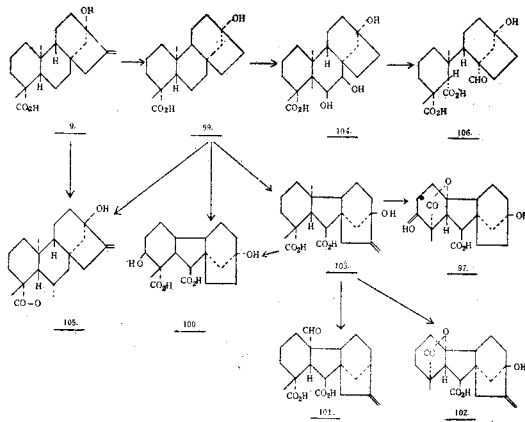


圖 15. Steviol의 代謝

5日 後에는 GA(97)이 26%, 13-hydroxy-GA₁₂(103)이 18.5%, GA₁₈(100)이 15.5% 얻어진다.

이들의 事實은 kaurene骨格으로부터 gibberellin骨格으로 變換하는 酵素의 基質特異성이 낮다는 것을 意味하며 아울러 C-13 水酸化 gibberellin類의 生合成經路의 하나인 model을 提供하는 셈이 된다.

1.5.2. Isosteviol의 代謝⁵⁵⁾

isosteviol(3)에 關하여서는 微量의 規模로 行하여졌다. 生成物의 同定은 마찬가지로 GC-MS法으로 行하였으며 生成物의 比率은 表示 안되었다. 培養 1日만에 다음과 같은 化合物이 檢出되었다. 여기서 注目되는 것은 C-3位가 酸化된 것이 認定되지 아니 하였다는 것이다.

이것은 Steviol acetate(94)의 代謝에 있어서도 보 여진 現象이다.

ent-7 α -hydroxy-16 oxobeyereran-19oic-acid (107), ent-6 α 7 α -dihydroxy-16-oxobeyereran-19oic acid(108), ent-13-methyl-16-oxo-17nor-13 β -gibberellan-19oic acid(109), ent-6 β , 7 α -dihydroxy-16oxo-beyereran-19-oic-acid lactone(110), ent-13-methyl-16-oxo-17-nor-13 β -gibberellane-7, 19, 20 trioic acid(111), ent-10 β -hydroxy-13-methyl-16-oxo-17-nor-13 β -gibberllane-7, 19-dioic acid (112), ent-13-methyl-16, 20-dioxo-17-norgibberellane-7,19-dioic acid (113).

1.5.3. Steviol acetate의 代謝⁵⁵⁾

大量規模로 7日間의 投與實驗의 結果, 培養濾液으로 부터 主代謝物의 結晶으로서 3種, GC-MS法으로 다시 3種의 物質을 確認하였다.

또 菌糸體로 부터의 抽出物 中에는 未代謝의 (94)가 認定되었다.

培養濾液을 pH 2.5로 하여 醋酸에틸로서 抽出한 酸性엑스를 아세톤 및 石油에테르의 混合溶媒로서 結晶化하면 約 10%의 收量으로 ent-13-acetoxy-6 α , 7 α dihydrox-kaure-16-en-19-oic acid (116)이 얻어진다.

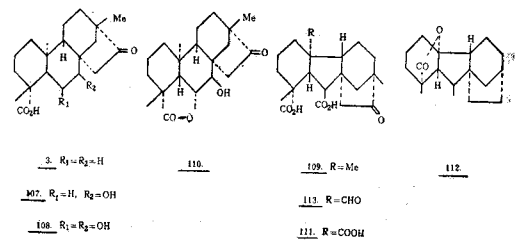


圖 16. isosteviol의 代謝

母液을 Silicagel의 TLC로서 分離를 되풀이하여 GA₁₇ acetate(117)를 4%로 다시 殘渣를 TLC에 걸 어 GA₂₁ acetate(119)를 20%로 各己 結晶으로서 單離하였다.

以上을 除外한 나머지 部分은 GC-MC法으로 ent-13-acetoxy-7 α -hydroxy kauren-oic acid (114), scorring Bdiacid acetate (118), 13-acetoxy GA₁₈ (115)임을 알았다.

또 別途로 小規模로 投與實驗을 하였을 때 (100)과 (105)가 微量檢出되었으나 이것은 (94)의 一部가 加水分解되어 Steviol (2)이 되고 이것이 代謝된 것으로 推定된다. (116)을 再次 B1-41a의 培地에 投與하면 (115)에 徐徐히 代謝되어 5日 後 25%가 變換된다. (117)과 (119)는 再投與에 의해서도 그 以上으로는 代謝되지 않지만 (119)는 極微量의 GA_2 의 acetate의 C-2 epimer (120)를 부여한다.

以上の 結果는 B1-41a의 kaurene으로부터 gibberelline으로의 變換酵素 中 B環을 轉位시키는 酵素는 C/D環의 構造의 變化에 對하여 敏感하지만 C-13位의 水酸化 酵素는 그러한 變化에 敏感하며 isosteviol acetate (94)에서는 全히 C-3의 水酸化를 받지 않는다는 것을 나타내고 있다.

또 이 結果는 스테비아 잎 5g으로부터 Stevioside (1)를 거처 얻은 Steviol acetate (94)가 B1-41a로 代謝되어 GA_2 acetate (119)가 되었을 때의 量이 나팔꽃의 未熟果 60kg로 부터 얻어진 (119)의 量 (7mg)⁶⁾에 匹敵한다는 것을 意味한다.

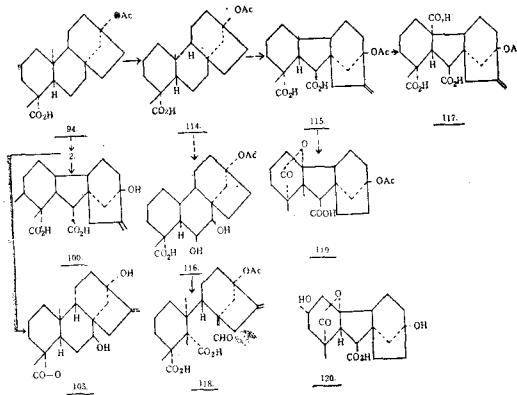


圖 17. Steviol acetate의 謝

文 獻

- 1) Jiménez: 파라과이 政府, 農林省報告.
- 2) P. Rasenack: Abs. Kais. Gesundheitsamt, 28, 420 (1908)
- 3) K. Dieterich, Pharm. Zentr., 50, 435
- 4) M. Bridel and R. Lavieille, Compt. rend., 192, 1123 (1931) Bull. Soc. Chim. Biol., 13, 636, 658, 785, 1248 (1931)

- 5) H.B. Wood, R. Allerton, H.W. Diehl and H.G. Fletcher Jr., J. Org. Chem., 20, 875 (1953)
- 6) H.B. Wood and C. Brice, Can. J. Chem. Soc., 78, 207 (1956)
- 7) R.V. Lemieux and C. Brice, Can. J. Chem., 30, 295 (1952)
- 8) E.M. Montgomery, N.K. Richtmyer and C.S. Hudson, J. Am. Chem. Soc. 65, 3 (1943)
- 9) H. Granichstädten and E.G.V. Percival, J. Chem. Soc., 54, (1943)
- 10) E.W. Putman, A.L. Potter, R. Hodgson and W.Z. Hassid, J. Am. Chem. Soc., 72, 5024 (1950)
- 11) K. Freudenberg, H. Knauber and F. Cramer, Chem. Ber., 84, 144 (1951)
- 12) E. Vis and H.G. Fletcher Jr., J. Am. Chem. Soc., 78, 4709 (1956)
- 13) E. Mosettig and W.R. Nes., J. Org. Chem., 20, 884 (1955)
- 14) J. Simonsen, D.R.H. Barton, and Owen, "The Terpenes", Vol. III, Cambridge Univ. Press, 1952 p.340.
- 15) F. Dolder, H. Lichti, E. Mosettig and P. Quitt., J. Am. Chem. Soc., 82, 246 (1960)
- 16) T.B.C. Mulholland, J. Chem. Soc., 2693 (1958)

(끝)