

## 수확시기별 국내산 Stevia 추출물의 품질특성

임효준<sup>1</sup> · 오상룡<sup>†</sup>

<sup>1</sup>(주) 대평, 상주대학교 식품공학과

### Quality of Extracts from Domestic Stevia(*stevia rebaudiana* BERTONI) Leaves with Harvest Time

Hyo-Jun Lim<sup>1</sup> · Sang-Lyong Oh

<sup>1</sup>Dae Pyung Co., LTD, Sangju 742-804, Korea

Department of Food Engineering, Sangju National University, Sangju 742-711, Korea

#### Abstract

Consumers were tend to purchase more natural sweetening materials than artificial sweetening materials because of safety and the consumed amount of natural sweetening material was increased sharply with consumers concern to health. The proper harvest time with changes of sweetening material contents was investigated in the purpose of cultivation and utilization on functional foodstuff. Soluble solid content and extraction yield were increased with growth period, but pH was decreased. Color value, transmittance and browning color showed little. L, a, b values was changed a little. Stevioside ratio(68.97%) in sweetness components was decreased to 61.09%. Rebaudioside A ratio was increased from 20.83% to 27.52% stevioside contents was maximized to 12.80% of August. The highest sweetening potencies of stevia leaves was 2530times to sugar. The stevia leaves harvested at May showed the best deliciousness.

Key words : stevia

## 서 론

Stevioside는 남미 파라과이가 원산지인 국화과 다년생 초본 stevia rebaudiana BERTONI(stevia)에 함유된 배당체로서, 설탕의 250300배의 감미를 갖는 천연 비당질의 diterpene 구조를 가진 저칼로리 단맛이 높은 감미료이다(1).

일본에서는 1971년에 Sumida가 인공재배에 성공하면서 연구가 활발히 진행되어 1977년 Maruzen Kasei사는 상업적으로 stevioside를 추출하여 시판하였고 stevia에는 stevioside 외에도 감미성분으로 rebaudioside-A, C, D, E와 dulcoside A가 함유되어 있으며, 이들 성분의 구조는 steviol을 aglycon으로 하는 배당체인 것으로 알려졌다(2). 이들 감미성분은 결합된 당의 종류 및 위치에 따라 감미도 차이가 있으나, 주요 성분은 stevioside 와 rebaudioside A이고 그 밖의 감미성분들은 미량 함유되어 있는 것으로 보고 되었다(3).

국내 연구로는 1976년 stevia의 국내외 연구동향을 시작으

로 stevia의 생육조건(4), 재배조건(5), 시기별 함량(6)에 대한 연구가 매우 활발하게 진행되었으며 오 등(7, 8)은 홍차, coffee, 생강차 및 혼합차에 stevia의 이용방법, 사용가능성 및 정량 방법까지 검토하였다고 보고하였다.

우리나라에서는 1973년 9월 농촌진흥청 연구관이 일본에서 stevia종자를 도입하여 재배하기 시작하였으며, 1977년 2월 농수산부에서 특용작물로서 스테비아 개발사업 방침을 수립함에 따라 농가재배로 확대되어 1978년에 재배면적 302.7 ha에서 431 M/T의 마른 잎이 생산되었으나 국내사용이 허가되지 않아 전량 일본으로 수출하였다. 그러나 일본의 수입업자들이 품질 등의 이유로 구매가격을 하락시킴에 따라 일본으로의 수출이 점차 어려워져 1984년 이후 재배가 점차 줄어 현재는 거의 없는 상태이다(3, 9). 1984년 9월에 stevioside가 식품첨가물로 허가되었고, 현재 국내 stevioside 제품 생산에 이용되는 모든 원료는 중국산 반제품 또는 마른 잎에 의존하고 있는 실정이며(9), 1980년대 이후의 stevia에 관한 연구도 미진한 실정이다.

본 연구에서는 stevia가 천연 저칼로리 감미료로써 소비가 증가 되고 있어 재배확대에 따른 농가소득증대와 수출에 기

<sup>†</sup>Corresponding author. E-mail : sloh@sangju.ac.kr,

Phone : 82-54-530-5264, Fax : 82-54-530-5269

여하고, 기능성 식품소재로써 활용 및 이용법위 확대를 위한 기초 자료를 얻고자 국내산 stevia의 성장시기별 품질 특징을 조사하여 최적 수확시기를 확립하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

본 실험에 사용된 stevia 잎은 주식회사 대평 부설 한국스테비아 연구소에서 재배하는 잎을 성장시기별로 채취하여 이물질을 제거하고 진공건조기(UOC-300SD, Tokyo Rikakikai, Japan)로 45°C로 8시간 동안 건조하여 사용하였다.

### Stevia 잎의 물 추출

Stevia 잎 중의 가용성 고형분 함량, 추출수율 및 pH를 측정하기 위하여 성장시기별로 채취한 시료를 각각 Fig. 1과 같이 추출하였다. 즉, stevia 잎 10 g에 증류수로 추출하여 stevia 잎의 물 추출액 200 mL를 제조하였다.

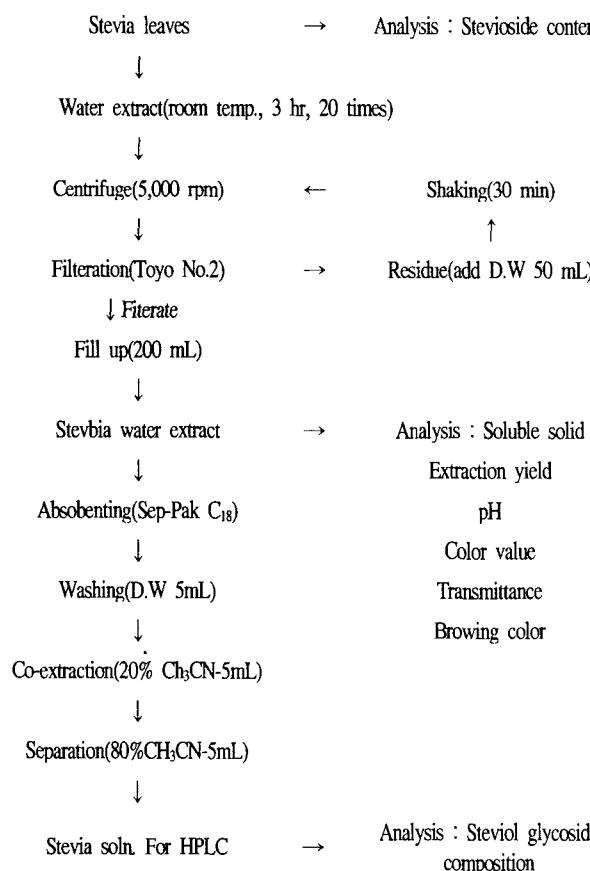


Fig. 1. The purification procedure of stevia rebaudiana BERTONI leaves water extracts.

### 추출조건 설정

Stevia 잎으로부터 stevioside 추출시 온도의 영향을 알아보기 위하여 추출시간 8시간, 잎 상태, 시료에 대한 용매의 비율(시료:물 = 1:30, w/w)의 조건(10)으로 30, 40, 50, 60, 70, 80°C에서의 추출실험(11)을 행하였으며, 추출시간의 영향을 살펴보기 위하여 잎 형태의 시료를 사용하여 추출온도 60°C, 시료에 대한 용매의 비율(시료:물 = 1:30, w/w), 추출시간은 2, 4, 6, 8, 10, 12 hr에 대한 추출실험을 실시하였다. 이렇게 추출된 stevioside의 추출수율은 GC 방법에 의해 Table 1의 조건으로 측정하였으며, 갈색도는 spectrophotometer (UV1202, SHIMADUZ, Japan)를 사용하여 420 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Stevioside 추출시 용매의 비율에 대한 추출효과를 알아보기 위하여 시료와 용매의 비율을 달리하면서 추출시간 8시간, 잎 상태, 추출온도 60°C의 조건에서 추출 실험을 수행하였다. 즉, 시료에 대한 용매비를 1:10, 1:15, 1:20, 1:25, 1:30, 1:35의 6개의 구로 나누어 추출을 행하였으며, 각 구의 stevioside 추출수율을 G.C 방법에 의해 Table 1의 조건으로 분석하였다.

Table 1. Operating conditions of GC for stevioside analysis.

Items	Conditions
Instrument	Shimazu 17A(Japan)
Column	3% OV-17
Column temp.	260°C
Injector temp.	250°C
Detector temp.	270°C
Detector	FID Detector
Carrier gas	N2 (40 mL/min)
Injection column	3 μL

### 가용성 고형분 함량, 추출수율 및 pH 측정

Stevia 물 추출물을 이용하여 가용성 고형분 함량은 상압 가열건조법을 이용하여 추출물의 무게 (w/w)로 나타내었고, 추출수율은 가용성 고형분 함량을 백분율로 나타내었다. pH는 pH meter(520A, Orion Research Inc, USA)를 이용하여 측정하였다.

### 색도, 투과율 및 갈색도 측정

색도는 color meter(CM-3600d, Minolta Co, Japan)를 사용하여 측정하였고, 그 값은 Hunter color value 즉 명도(L value), 적색도(a value), 황색도(b value)와 색깔차이는 ΔE로 나타내었다. stevia 물 추출물은 추출액을 증류수로 10%희석하여 측정하였다.

투과율과 갈색도는 spectrophotometer(UV-1202, SHIMADUZ, Japan)를 사용하여 420 nm에서 투과율과 흡광도를 측정하였

다. Stevia 물 추출물은 추출액을 10%로 회석하여 측정하였다.

### 감미성분의 조성 측정

Stevia 잎 중의 감미성분의 조성을 확인하기 위하여 Fig. 1과 같이 추출, 정제하여 HPLC용 시료를 얻어 Table 2와 같은 조건으로 화학적 합성품과 식품첨가물법과 식품첨가물공전법에 준하여 HPLC로 분석하였다.

Table 2. Operating conditions of HPLC for stevioside analysis.

Items	Conditions
Instrument	Water Associates(U.S.A)
Column	Carbohydrate(3.9 × 300 mm)
Temperature	30°C
Detector	UV(210 nm)
Solvent	CH <sub>3</sub> CN : H <sub>2</sub> O(80 : 20)
Flow rate	1.0 mL/min
Injection volume	20 μL

### 결과 및 고찰

#### 가용성 고형분 함량, 추출수율 및 pH 변화

성장시기별 stevia 잎의 가용성 고형분 함량, 추출수율 및 pH측정 결과는 Table 3과 같다.

Table 3. Changes of soluble solid, extraction yield and pH in stevia rebaudiana BERTONI on harvest time.

Harvest time	Soluble solid (%)	Extraction yield (%)	pH
4/29	0.92	18.36	5.95
5/31	0.93	18.64	5.96
6/29	0.97	19.32	5.92
7/31	0.99	19.84	5.59
8/30	1.01	20.11	5.76
9/25	1.02	20.43	5.72

가용성 고형분 함량은 성장시기별 뚜렷한 차이를 발견할 수 없었으나, 성장시기가 길어질수록 증가하는 경향을 보였다. 이는 성장시기별 녹차의 가용성 고형분 함량 변화를 보고한 김(12)의 보성지역녹차의 가용성 고형분 함량과는 차이를 보이나 광주지역의 녹차의 가용성 고형분의 변화와

는 유사한 경향을 보였다.

추출수율은 성장시기가 길어질수록 함량이 증가하는 것을 알 수 있었으며 6월말까지는 증가하다가 7월말 장마철을 지나면서 큰 변화 없이 일정하게 유지되는 것을 알 수 있었다. 이는 최 등(13)이 보고한 감잎의 수용성 탄닌의 변화와 유사한 경향을 보였다.

추출액의 pH는 약산성의 범위로 나타났으며, 이는 이 등(14)이 보고한 배초향의 경우와 유사한 경향을 보여고 성장시기가 길어질수록 떨어지다가 7월말이 지나면서 다시 증가하는 것을 알 수 있었다. 이는 stevia 잎의 감미성분 중 일부성분들이 장마철에 추출되었거나 장마로 인한 일조량의 차이에 의한 것으로 추측된다.

#### 색도, 투과율, 갈색도 변화

성장시기별 stevia 잎의 색도, 투과율, 갈색도의 측정 결과는 Table 4와 같다.

Table 4. Changes of color value, transmittance, browning color in stevia rebaudiana BERTONI harvest time

Harvest time	Color value				T(%) <sup>2)</sup>	Brownness <sup>3)</sup>
	L	a	b	ΔE <sup>1)</sup>		
4/29	29.69	4.14	6.57	70.74	26.6	0.575
5/31	29.03	3.98	4.77	71.24	24.4	0.612
6/29	28.56	2.66	3.33	71.57	21.8	0.661
7/31	28.52	2.44	2.86	71.58	22.0	0.657
8/30	28.15	2.18	1.72	71.90	20.4	0.691
9/25	28.09	2.13	1.72	71.96	19.5	0.723

<sup>1)</sup>  $\Delta E = \sqrt{(\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2)}$ , <sup>2)</sup> Transmit. at 420 nm, <sup>3)</sup> abs. at 420 nm.

색도에서는 색깔차이 ΔE와 L, a, b값은 각 처리 구간별로는 뚜렷한 차이를 보이지 않았으나, L값의 변화 경향은 6월 말 까지는 급격하게 감소하다가 8월말까지는 변화를 보이지 않고 일정하게 유지 되었으며 8월말에서 9월말까지는 감소하는 것을 알 수 있었으며 a값의 변화 경향은 5월말부터 6월말까지 변화가 가장 많으며 8월말에서 9월말까지가 변화가 가장 적었다. b값의 변화 경향은 성장시기가 길어질수록 감소하는 것을 알 수 있었고 감소 경향은 8월말 까지는 급격하게 감소하다가 8월말에서 9월말에는 변화가 없었다.

갈색도의 변화 경향은 6월까지는 급격하게 증가하다가 6월말에서 7월말까지는 일정하게 유지되며 7월말부터 다시

증가하는 것을 알 수 있었다. 성장시기별 색도, 투과율, 갈색도의 전체적인 경향은 stevia의 성장시기가 길어질수록 감소하는 경향을 보였다. 이는 볶음 시간이 길어질수록 갈색도가 증가 한다는 결과(15)와 유사하였다.

또한 투과율은 이 등(16)의 보고한 구기자 추출액의 갈색이 진해지면 탁도가 높게 나타난다는 결과와 유사한 경향을 보였다.

### 감미성분 조성 변화

성장시기별 stevia 잎의 감미성분의 조성 측정결과는 Table 5와 Fig. 2, 3에 나타내었다.

Table 5. Comparison of steviol glycosides composition of stevia rebaudiana BERTONI cultured in Korean

Harvest time	Stevioside(%) <sup>1)</sup>			
	St	R-A	R-C	D-A
4/29	68.97	20.83	5.20	5.01
5/31	64.28	24.90	6.40	4.43
6/29	62.06	26.73	7.04	4.18
7/31	62.98	25.94	6.41	4.67
8/30	61.09	27.52	6.44	4.96
9/25	62.32	26.22	7.18	4.27

<sup>1)</sup> St : Stevioside, R-A : Rebaudioside A, R-C : Rebaudioside C, D-A : Dulcoside A.

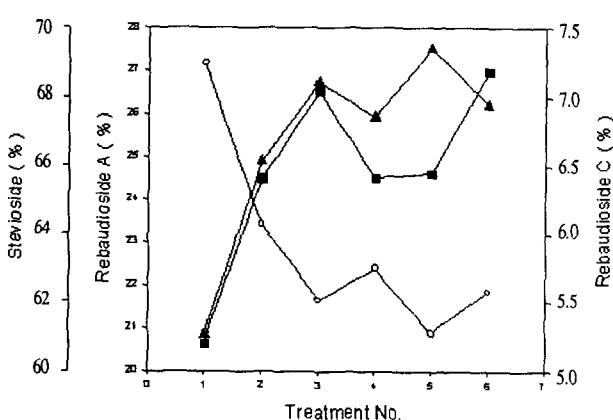


Fig. 2. Changes of steviol glycosides composition in stevia rebaudiana BERTONI harvest time.

-○- : Stevioside, -▲- : Rebaudioside A, -■- : Rebaudioside C.

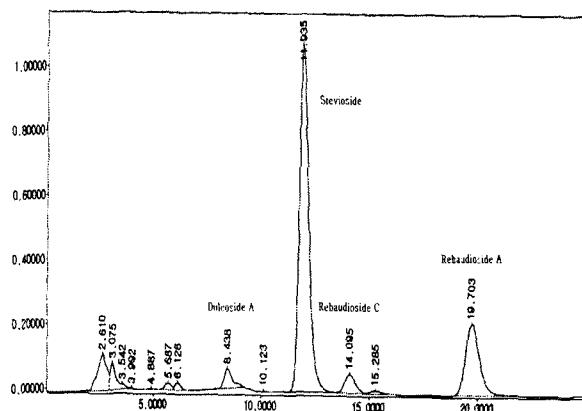


Fig. 3. HPLC chromatogram of steviol glycosides composition from stevia rebaudiana BERTONI.

Stevioside는 초기 68.97%이며 성장하면서 stevioside가 감소하였으며 특히 6월말까지는 급격하게 감소하다가 다시 증가하나 8월말에 다시 감소하여 62.23%까지 감소하는 것을 알 수 있으며, rebaudioside A는 stevioside와 반대로 성장시기가 길어질수록 초기 20.83%에서 8월말 27.52%까지 증가하다가 10월말 26.22%로 다소 감소하는 것을 알 수 있었고 rebaudioside C는 4월말 5.20%에서 9월말 7.18%까지 계속 증가하는 경향을 보였으나 dulcoside A는 성장시기와는 큰 변화 없이 일정한 것을 알 수 있었다.

이는 채취시기별 4종의 카테킨류 EGCG, ECG, EC, EGC의 조성을 보고한 위 등(17)의 EGCG는 5월에 채취한 것이 다른 시기에 채취한 것보다 더 많은 양이 함유되어 있으며, 7월, 8월의 순으로 함량이 감소하였으며 ECG는 EGCG와 반대로 5월에 채취한 것에 그 함량이 가장 적고 7월, 8월의 순으로 그 함량이 증가한다는 결과와 유사한 경향을 보였다.

Stevioside와 rebaudioside A의 조성비는 4월말, 6월말, 8월말 각각 7.7 : 2.3, 7.0 : 3.0, 6.9 : 3.1로 성장시기별로 큰 차이를 보였다.

이러한 결과는 오 등(7)이 보고한 감미성분의 계절에 따른 함량변화 실험결과 stevioside와 rebaudioside A의 조성비가 stevia가 성장하면서 rebaudioside A의 비가 증가한다는 결과와 동일하였고 stevioside(510%), rebaudioside A(24%), dulcoside A(0.40.7%)의 조성을 가진다고 보고(3)한 내용과 유사한 결과를 보이나 rebaudioside C(12%)는 차이를 보였다. 이는 stevia가 성장하면서 각 배당체의 형성시기가 다르기 때문에 발생한 것이라고 판단된다.

### 요약

천연 저 칼로리 감미료로써 stevia의 소비가 증가하고 있

는 시점에서 재배 및 기능성 식품소재로 이용하기 위하여 수확시기별 특성을 조사한 결과는 다음과 같다.

가용성 고형분 함량과 추출수율은 성장 기간이 길어질수록 증가하였고, pH는 감소하는 경향을 보였다. 색도와 투과율은 큰 변화가 없었으나, 성장 시기가 길어질수록 L, a, b값은 유사한 감소 경향을 나타내었고, 갈색도는 증가하였다. 성장기간 중 stevioside와 rebaudioside A의 비율은 stevioside는 68.97%에서 61.09%까지 감소하고, rebaudioside A는 20.83%에서 27.52%까지 증가하였다. Stevia 잎의 감미성분 함량은 성장함에 따라 일정한 수준으로 증가하여 최고치는 8월말이며 함량은 12.80%였고, 9월말에는 함량이 12.10%로 감소하는 경향을 보였다. 최고 감미도는 25 - 30배였으며 감미질은 5월말에 채취한 시료가 가장 우수하였다.

## 참고문헌

- 이용현, 배승걸. (1994) 대체감미료의 개발동향과 주류산업. 주류공업, 14, 56
- Darise, M., Kohda, H., Mizutani, Kasai, R. and Tanaka, O. (1983) Chmical constituents of flowers of stevia rebaudiana bertoni. Agric. Biol. Chem., 47, 133
- Douglas, K and D. Doel, S. (1991) Stevioside. Alternative sweeteners 2nd ed, 290-292
- Kang, K. H. (1981) Physio-Ecological studies on stevia. Graduate School Seoul National University the degree of Doctor, 3-19
- Yeou, C. Y. and Chae, Y. A (1984) In Vitro Propagation of stevia reabaudiana bertoni, KJCS, 29, 102-107
- Lee, J. P., Lee, S. W., Cho, S. Y. and Kim, K. S. (1977) Studies on the development of stevia as a new sweetness. J. Kor. Soc. Food Nutr. 6, 55-59
- Oh, S. L., Nam, Y. J. and Shin, D. H. (1978) Studies on utilization of stevia bertoni as a natural sweetener. (Experiments on some sweet glycoside content of stevia cultivated in korea), Nongjun 78, 5, 436-444
- Oh, S. L., Nam, Y. J. and Shin, D. H. (1978) Studies on utilization of stevia bertoni as a natural sweetener. (Experiments on substitution of the stevioside for sugar in teas), Nongjun 78, 5, 446-456
- 태평양화학(주) (1984) 천연 스테비아감미료의 특성 및 이용현황. 41-47
- Bea, S. W. (1998) Stevioside of separation and purification from Stevia. Graduate School Seoul National University the degree of Master, 20-26
- Kang, B. S., Kim, B. Y. and Hahm, Y. T. (2001) Optimization of the extrusion processing conditions for Job's-tear. Food Sci. Biotechnol. 10, 123-127
- Kim, K. (1977) Studies on the chemical constituents of the tea leaf. Kor. J. Food Sci. Technol., 9, 1012
- Choi, H. J., Son, J. H., Woo, H. S. and An, B. J. (1998) Changes of composition in the species of persimmon Leaves(*Diospyros kaki folium*)during Growth. Kor. J. Food Sci. Technol., 30, 529-534
- Lee, B. Y., Hwang, J. B. (2000) Physicochemical characteristics of *Agastache rugosa* O. Kuntze extracts by extraction conditions. Kor. J. Food Sci. Technol., 32, 1-8
- Kim, H. K., Lee, B. Y., Shin, D. B. and Kwon, J. H. (1998) Effects of roastion conditions on physicochemical characteristics and volatile flavor components of chicory roots. Kor. J. Food Sci. Technol., 30, 1279-1284
- Lee, B. Y., Kim, E. J., Choi, H. D., Kim, Y. S., Kim, I. H. and Kim, S. S. (1995) Physico-chemical properties of boxthorn(*Lycii Fructus*) hot water extracts by roastion conditions. Kor. J. Food Sci. Technol., 27, 768-772
- Wee, J. H., Moon, J. H. and Park, K. H. (1999) Catechin content and coposition of domestic tea leaves at different pluck time. Kor. J. Food Sci. Technol., 32, 2023

(접수 2004년 10월 11일, 채택 2004년 11월 30일)