KOREAN J. FOOD SCI. TECHNOL.
Vol. 30, No. 2, pp. 446~449 (1998)

에리스리톨의 난충치성 및 기타 생리 특성

변상희 · 이철호
고려대학교 생명공학원 및 식품가공핵심기술 센터

Dental Caries Suppression Effect and Other Physiological Properties of Erythritol

Sang-Hee Byun and Cherl-Ho Lee
Center for Advanced Food Science and Technology and Graduate School of Biotechnology, Korea University

Abstract

Dental caries suppression effect and other physiological properties of erythritol were measured in comparison with those of sucrose, xylitol and sorbitol. The susceptibility test for dental caries by using *Streptococcus mutans* KCTC 3065 and *Lactobacillus acidophillus* indicated that erythritol was as effective as xylitol in suppressing dental caries. In lactic acid fermentation test, erythritol showed the least growth of bacteria among the tested sweeteners. The tolelerance test by using mice showed that diarrhea began by feeding once 1500 mg erythritol/kg b.w., 1500 mg xylitol/kg b.w. and 1000 mg sorbitol/kg b.w. respectively.

Key words: erythritol, *dental caries supression effect, lactic acid fermentation,* tolerable test

서 론

설탕 대신 사용되는 대체감미료들은 본래의 기능인 단맛 이외에도 영양원으로서의 2차 기능과 건강에 도움을 주는 3차적인 생리적 기능(physiologica functionality)이 요구되고 있다[1,2]. 감미료의 생리적 기능은 비발암성, 당뇨병 환자의 이용가능성, 정장 작용, 충치 예방 효과, 과다 섭취에도 안전하고 특별한 부작용이 발생하지 않는 것 등이 고려되고 있다[3-6]. 대체 감미료의 3차 기능에 대한 연구는 주로 올리고당에서 많이 연구되었는데 Oku 등[7]은 이 물질이 생체내 효소에 의해 분해되지 않음으로서 난소화성임을 밝혔고, 日高秀昌[8,9] 등은 장내 미생물군총을 변화시켜 변비나 장내 부패를 막아 주는 기능에 대하여 보고한바 있다. 反川孝光 등[10]은 일부 대체 감미료들이 혈청 지질 개선 효과가 있음을 밝혔고 또한 松田和雄[11,12] 등의 연구에서는 난충치성 효과가 있다고 보고하였다. Yamashida 등[13,14]은 올리고당을 당뇨병 환자의 식이에 직접 적용함으로 효과를 볼 수 있음을 밝혔다.

설탕 대체 감미료 소재로 개발된 에리스리톨은 4탄당 당알콜감미료(1,2,3,4-Butanetetrol, $C_4H_{10}O_4$)로서 효모나 곰팡이를 이용한 발효에 의해 생산되며, 설탕의 70~80% 정도의 단맛이 있고 낮은 용해성과 뛰어난 수분활성저하능력 등의 기능들을 가지고 있다[15-18].

본 연구에서는 에리스리톨을 설탕 대체 감미료 소재로 사용하기 위한 기초 연구로 생리 특성을 조사하였다. 치석의 원인균인 *Streptococcus mutans*와 치아부식의 원인균인 *Lactobacillus acidophilius*를 이용하여 난충치성을 조사하였고 이외에도 젖산균 발효성과 마우스를 이용한 소장 내성력을 설탕, 크실리톨, 소르비톨과 비교 평가하였다.

재료 및 방법

실험 재료

(주)제일제당에서 생산한 순도 99.3%의 에리스리톨과 설탕, 프락토올리고당 55%(w/v)을 사용하였으며 Sigma Chemical Co.에서 구입한 크실리톨과 Hayashhi Pure Chemical Industries Ltd.에서 구입한 소르비톨을 각각 사용하였다.

난충치성 시험

Streptococcus mutans KCTC 3065의 산생성력과 Den-

Corresponding author: Cherl-Ho Lee, Center for Advanced Food Science and Technology, Graduate School of Biotechnology, Korea University, Seoul 136-701, Korea

tal plaque 형성 능력 비교: Dental plaque를 형성하는 주요 세균[19,20]으로 알려진 *S. mutans* KCTC 3065를 생명공학 연구소 유전자 은행에서 분양 받아 Brain heart Infusion broth에서 3회 계대 배양시킨 다음 5% dextrose 대신 시료 감미료들로 대치시킨 tryptic soy broth를 조제하여 37°C에서 48시간 동안 계대 배양하였다. 각 감미료에 적응된 *S. mutans*를 37°C에서 48시간 동안 배양시켜 pH 변화를 측정하여 산생성력을 조사하였고, 또한 *S. mutans*의 dental plaque 생성 능력을 배양액에 생성된 침착물의 양을 측정하여 비교하였다. 즉 1% 감미료를 tryptic soy broth에 넣어 37°C에서 48시간 동안 배양한 후 배양액을 버리고 1 mL 증류수로 시험관벽을 닦아 낸 후 0.5 N-NaOH 용액 2 mL를 가하여 시험관에 붙은 침착물의 양을 용해시켜 540 nm에서 흡광도를 측정하였다[19,20].

*Lactobacillus acidophilus*를 이용한 Bacto Snyder Agar test: 산을 형성하여 치아를 부식시키는 주요 세균[16]으로 알려진 *L. acidophilus*를 MRS broth에서 2회 계대 배양시켜 균체를 분리하였다. 지시약 첨가로 미량의 산생성 여부를 알 수 있는 Bacto Snyder agar를 감미료 종류만을 달리하여 제조한 후 균체를 접종시켜 재빨리 vortex에서 혼합시켰다. 똑바른 위치에서 agar를 굳힌 후 24, 48 및 72시간 후의 색깔 변화를 관찰하였다[19,20].

발효성 시험

2% dextrose를 시료 감미료로 대치하여 조제한 MRS 배지를 50 mL cap tube에 30 mL씩 넣어 가열 살균한 후 실온으로 식힌 다음 *Leu. mensenteroides, L. lactis, L. delbreuki, L. casei, L. plantarum*의 순수 배양 균체를 백금이로 따서 접종하여 24시간 동안 배양시킨 후 pH 변화를 측정하였다[21].

소장 내성력 시험

12시간 동안(p.m. 10~a.m. 10) 절식시킨 ICR mice (숫컷, 30±10 g, 각구당 10마리)에게 각 몸무게 kg당 일정 비율의 감미료를 식도에 직접 강제 경구 급여 하였다. 시료의 급여량은 mice가 설사를 전혀 유발하지 않은 한계량에서부터 설사를 모두 유발하는 최저양을 알 때까지 계속 되었다. 또한 수돗물에 용해시킨 급여량의 총 부피는 몸무게 30 g당 0.3 mL (몸무게의 1% (v/w))이 되게 하였으며 0.3 mL 안에 급여량이 모두 용해될 수 있도록 하여 급여한 후 설사 유무를 4시간 동안 관찰하였다. 이와 같이 설사 유발 한계량을 조사함으로서 감미료들 사이의 소장 내성력을 비교 시험하였다[17,22].

결과 및 고찰

충치성

Streptococcus mutans KCTC 3065의 산생성능력과 dental plaque 형성 능력: 감미료들의 dental plaque 형성 능력을 시험하기 전에 *S. mutans* KCTC 3065 생육에 따른 산생성능력을 배양시키전 초기 pH에서 배양시킨 후 pH를 뺀 감소 정도로서 비교하였다(Table 1). 당알콜감미료들의 pH 감소는 매우 적었고 특히 에리스리톨의 pH 감소는 0.30으로 가장 낮았다. 또한 감미료들의 dental plaque 형성 능력은 충치균에 의한 polymer 형성에 기인하며[20], 이러한 현상을 비교하기 위하여 시험관벽에 부착된 침전물을 0.5 N-NaOH에 녹여 흡광도를 측정함으로서 형성된 polymer의 농도를 간접적으로 비교할 수 있었다(Table 1). 그 결과 당알콜감미료들이 포도당이나 설탕에 비해 흡광도가 현저히 낮아 dental plaque 형성 능력이 적음을 알 수 있었고 특히 에리스리톨의 흡광도는 0.06으로 크실리톨이나 소르비톨에 비해 더 낮았다. 따라서 당알콜감미료 중에서도 에리스리톨은 plaque 형성력이 매우 적음으로 충치 예방효과가 가장 큰 감미료임을 알 수 있었다.

*Lactobacillus acidophilus*를 이용한 치아 부식 억제 효과: *L. acidophilus*를 이용한 Bacto Snyder Agar test에서 에리스리톨과 크실리톨은 색깔 변화를 나타내지 않았다(Table 2). 따라서 에리스리톨과 크실리톨은 치아를 부식시키는 산생성능력이 없음으로 충치 유발에 안전함을 알 수 있었다.

젖산 발효성

감미료들의 젖산 발효 능력을 비교하기 위하여 일정 시간 발효후에 도달한 pH에서 초기의 pH를 뺀 결

Table 1. Ability of acid production and polymer formation by *Streptococcus mutans* in Tryptic soy broth substituted with different sweeteners

Sweeteners	Ability of acid production[1] (pH decrease[3])	Ability of polymer formation[2] (Absorbance at 540 nm)
Glucose	2.52	0.14
Sucrose	2.82	1.68
Erythritol	0.30	0.06
Xylitol	0.41	0.08
Sorbitol	0.80	0.12

[1]substituted with 5% sweetener.
[2]substituted with 1% sweetener.
[3]Initial pH-pH after 46 hrs. Incubation.

Table 2. Observation of the color changes in Bacto Synder Agar test[1] added with 2% of sweetener during three days of incubation

Sweeteners	Days		
	1 day	2 days	3 days
Glucose	+++	+++	+++
Sucrose	+	+	+
Erythritol	-	-	-
Xylitol	-	-	-
Sorbitol	+	+	++

[1]Incubation using *L. acidophillus* at 37°C.
-: no change
+: very light yellow
++: light yellow
+++: bluish-green

Table 3. Changes in the pH of MRS broth substituted for dextrose with different types of sweetener by lactic acid fermentation

Bacteria	Glucose	Sucrose	Erythritol	Sorbitol	Xylitol
Leuconostoc mensenteroides	-3.10[1]	-3.90	-0.96	-1.06	-1.09
Lactobacillus lactis	-3.71	-3.86	-1.24	-3.50	-1.28
Lactobacillus delbreuki	-3.55	-3.19	-1.38	-1.61	-1.36
Lactobacillus casei	-3.87	-4.06	-1.24	-3.68	-1.67
Lactobacillus plantarum	-3.96	-4.21	-1.43	-3.89	-1.39

[1]pH after 24 hrs. Incubation-Initial pH.

과 얻어진 발효 중의 pH 감소 정도는 Table 3과 같다. 에리스리톨과 크실리톨이 다른 감미료에 비해 사용한 모든 젖산균에 대하여 발효성이 현저히 낮음을 알 수 있었고 특히 *Leu. mensenteroides* 이용성이 매우 낮았다. 이 등[21]의 연구에서와 같이 대체적으로 당알콜감미료들은 젖산균에 의한 발효성이 매우 낮음을 알 수 있었으나 본 실험에서 소르비톨은 *L. lactis, L. casei, L. plantarum*에 대하여 포도당이나 설탕과 비슷한 이용성을 나타냈고 *L. mensenteroides*와 *L. delbreuki*에 대해서는 낮은 이용성을나타냈다. 따라서 에리스리톨과 크실리톨은 다른 감미료에 비해 미생물 증식 억제가 필요한 식품에 적합한 감미료임을 알 수 있었다.

소장의 내성력

당알콜감미료의 소장 내성력을 조사하기 위하여 mice의 설사 유발 한계량을 비교하였다. ICR mice의 각 개체들의 kg 체중당 투여량을 달리하여 강제 경구 투여시 Table 4와 같은 결과를 얻었다. 모든 개체들이 설사를 유발하지 않은 양은 체중 1 kg당 에리스리톨은

Table 4. Diarrheal effect of Sugar Alcohols detected in a feeding trial of 10 ICR male mice

Amount of Sugar Alcohol ingestion (mg/kg body wt.)		Time (hours) after feeding				Total
		1 hr	2 hrs	3 hrs	4 hrs	
Erythritol	1000	0[1]	0	0	0	0
	1500	0	0	2	0	2
	2000	0	3	2	0	5
	3000	4	2	2	0	6
	3500	3	3	0	0	6
	4000	4	1	5	0	10
Xylitol	1000	0	0	0	0	0
	1500	0	2	0	0	2
	2000	0	3	1	1	5
	3000	4	3	0	9	7
	3500	6	4	0	9	10
Sorbitol	500	0	0	0	0	0
	1000	2	1	0	0	3
	1500	3	0	1	0	4
	2000	3	3	2	0	8
	3000	4	6	0	0	10

[1]Number of mice of having diarrhea among 10 mice fed with sugar alcohols.

1000 mg, 크실리톨은 1000 mg, 소르비톨은 500 mg이었고, 설사를 유발하기 시작한 빈도는 10마리 중 에리스리톨의 경우 1500 mg/kg b.w.에서 2마리, 크실리톨은 1500 mg/kg b.w.에서 2마리, 소르비톨은 1000 mg/kg b.w.에서 3마리이었으며 10마리 모두 설사를 유발하는 양은 체중 1 kg당 각각 4000 mg, 3500 mg, 3000 mg이었다. 따라서 에리스리톨의 소장 내성력은 크실리톨과 비슷함을 알 수 있었다. 한편 Niwa 등[22]이 연구한 결과에 의하면 에리스리톨은 1750 mg/kg b.w., 소르비톨은 1500 mg/kg b.w.에서 부터 설사를 유발하기 시작했다고 보고하고 있어 본 실험의 결과와 다소 차이를 나타내고 있었다.

요 약

에리스리톨을 설탕 대체 감미료 소재로 사용하기 위한 기초 자료를 얻기 위하여 치석의 원인균인 *S. mutans* KCTC 3065와 치아 부식의 원인균인 *L. acidophillus*를 이용하여 난충치성 시험을 하였고 기타 생리특성으로 젖산균을 이용한 발효성 시험 그리고 마우스를 이용한 소장 내성력 시험을 주로 설탕, 크실리톨, 소르비톨과 비교 평가하였다. 치석을 형성하는 *S. mutans* KCTC 3065와 치아를 부식시키는 *L. acidophillus*를 이용한 감미료들의 충치 유발 효과 시험에서 크실리톨과 에리스리톨은 다른 감미료에 비해 뚜렷한 충치 예방 효과를 보였다. 감미료들의 젖산균을 이용한

발효성 시험에서 에리스리톨은 가장 낮은 당이용성을 나타내었다. 마우스를 그룹당 10마리를 사용하여 설사 유발 한계량 조사를 실시한 결과 체중 1 kg당 에리스리톨은 1500 mg, 크실리톨은 1500 mg, 소르비톨은 1000 mg 강제 경구 투여시 부터 설사를 유발하기 시작하였다. 따라서 에리스리톨은 크실리톨과 같이 뚜렷한 난충치성으로 인하여 충치 예방용 감미료로서 뛰어난 특성과 미생물 증식 억제가 필요한 식품에 적합한 감미료임이 확인되었으며 또한 에리스리톨의 사용 한계로 고려되는 설사 유발 농도도 크실리톨과 같고 소르비톨보다 높아 소장 내성력에 있어서는 안전한 대체 감미료임을 알 수 있었다.

감사의 글

이 연구는 과학재단 특정연구개발과제 "미생물 발효에 의한 에리스리톨 생산 및 식품산업에의 응용을 위한 특성 연구"로서 제일제당(주)의 연구비 지원으로 수행된 것이다(CAFST Research Paper No. 97017).

문 헌

1. Bornet R.J.: Undigestible sugars in food products, *Am. J. Clin. Nutric.*, **59**, 763-769 (1994)
2. Ha S.Y.: A review on recent direction of research and satety of sweetener, *J. Fd Hyg. Safety,* **9**(2), 29-39 (1994)
3. Scientific Status Summary by the Institute of Food Technologists Expert Panel on Food Safety & Nutrition: Sweeteners, Nutritive and Non-Nutritive, *Food Technol.,* **40**(8), 1-12 (1986)
4. Anon: Sweeteners, *Food Technol.,* **40**(1), 112-130 (1986)
5. Anon: Sweet taste, basic mechanisms and applications, *Food Technol.,* **45**(11), 107-145 (1991)
6. 大江區親 基のた : 新甘味料の登場とその背景. 食の科學, (株)光, **83**, 22(1985)
7. Oku T., Tokunaga T. and Hosoya N.: None digestability of a new sweetener, "Neo-sugar" in the rat. *J. Nutr.,* **114**, 1574-1681 (1984)
8. 新原久 : Bifidus菌を 增殖させる 甘味料. 食の科學(日本), **85**, 62-66(1985)
9. 日高秀昌, 宋用李章 : 腸內 floraの 植物因子, Fructo-oligo糖が 腸內 flora及ばす 影響. 日本 理研 腸內 Flora Symposium, **4**, 39 (1986)
10. 泰酵哉, 原 , 反川孝光, 山本實 基のた : Fructo-oligo糖の高脂血症にしいて 研究. 老年 醫學(日本), **21**(1), 156 (1983)
11. Matsuda K.: Biochemical studies on oligo- and polysaccharide, *Nippon Nõgeikagaku Kaishi,* **25**(10), 549-599 (1984)
12. Ikeda T., Okuda Y. and Yamshida K.: International Association for Dental Research Abstract, Sydeney, Australia (1983)
13. Yamashida K. and Itakura M.: Effect of fructo-oligosaccharide on blood glucose and serum lipids in diabetic subjects, *Nutri. Reserch,* **4**, 961 (1984)
14. Kawai K., Okuda Y. and Yamashida K.: *Endocrinology, Japan,* **32**, 933 (1985)
15. Sasaki T.: Production and properties erythritol obtained by aureobasium fermentation, *Nippon Nõgeikagaku Kaishi,* **63**(6), 1130-1132 (1989)
16. Sasaki T.: 發酵法による 新甘味料 erythritol 生産技術の開發. バイオサ イエンスとソダストリー, **46**(6), 3295-3298 (1988)
17. Oda T. and Sasaki T.: Product of biotechnology, *New Food Industry,* **35**(4), 38-45 (1993)
18. Harald R. V. and Jozef G. B.: Erythritol a new raw material for food and non-food applications, *Starch,* **45**, 400-405 (1993)
19. Cappuccin J. G. and Sherman N.: Microbiology a laboratory manual, Third edtion, p.8 (1992)
20. Birkhed O., Rosell K. and Gvanath K.: Structure of extracellar soluble polysaccarides synthesized from sucrose by oral strains of *Streptococcus mutans, Streptococcus salivarius, Streptococcus sanguis, Actinomyces viscosus. Archs Oral Biol,* **24**, 53-61 (1979)
21. Lee C. H., Souane M., Lee H. Y. and Kim S. Y.: Studies on the functional properties of sugar derivaties sweeteners (in Korean). Korean J. Dietary Culture, **5**(4), 431-436 (1990)
22. Niwa H., Hikichi N., Sakurai E., Ueda M. and Fukuse G.: Alteration of biogenic amines, serotonic, histamin and polyamines, in cases of diarrhea induced by sugar alcohols. *Yakugaku Zasshi,* **101**(6), 567-574 (1981)

(1997년 9월 18일 접수)