



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2013139876/13, 24.01.2012

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
24.01.2012

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
28.01.2011 US 61/437,399

(43) Дата публикации заявки: 10.03.2015 Бюл. № 7

(45) Опубликовано: 10.09.2016 Бюл. № 25

(56) Список документов, цитированных в отчете о
поиске: EP 2215914 A1, 11.08.2010. US 2011/
021456 A1, 27.01.2011. RU 2008121422 A,
27.12.2009. RU 2008151078 A, 27.12.2009.(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 28.08.2013(86) Заявка РСТ:
US 2012/022339 (24.01.2012)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2012/103074 (02.08.2012)

Адрес для переписки:

129090, Москва, ул. Б. Спасская, 25, строение 3,
ООО "Юридическая фирма Городисский и
Партнеры"

(72) Автор(ы):

БРИДЖЕС Джон Р. (US),
КАРЛСОН Альфред (US),
ПОРТ Брайан Тимоти (US),
КВИНЛЭН Мэри (GB),
ШУНК Тимоти К. (US),
ТЕХАДА Элбер Ф. (US),
ЧЖОУ Шелли Юйцин (US)

(73) Патентообладатель(и):

ТЭЙТ ЭНД ЛАЙЛ ИНГРИДИЕНТС
АМЕРИКАС ЭлЭлСи (US)

(54) СМЕСИ РЕБАУДИОЗИД-МОГРОЗИД V

(57) Реферат:

Изобретение относится к пищевой промышленности. Предложена подслащивающая композиция, включающая экстракт Ло Хань Го, прошедший обработку активированным углем, содержащий могорозид V, и компонент ребаудиозида. Компонент ребаудиозида состоит

из одного или более соединения, выбираемого из группы, состоящей из ребаудиозида А, ребаудиозида В и ребаудиозида D. Данное изобретение позволяет получить некалорийные подсластители, которые могут заменить сахар. 4 н. и 28 з.п. ф-лы, 6 ил., 9 табл., 5 пр.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21)(22) Application: **2013139876/13, 24.01.2012**

(24) Effective date for property rights:
24.01.2012

Priority:

(30) Convention priority:
28.01.2011 US 61/437,399

(43) Application published: **10.03.2015** Bull. № 7

(45) Date of publication: **10.09.2016** Bull. № 25

(85) Commencement of national phase: **28.08.2013**

(86) PCT application:
US 2012/022339 (24.01.2012)

(87) PCT publication:
WO 2012/103074 (02.08.2012)

Mail address:

**129090, Moskva, ul. B. Spasskaja, 25, stroenie 3,
OOO "Juridicheskaja firma Gorodisskij i Partnery"**

(72) Inventor(s):

**BRIDZHES Dzhon R. (US),
KARLSON Alfred (US),
PORT Brajan Timoti (US),
KVINLEN Meri (GB),
SHUNK Timoti K. (US),
TEKHADA Elber F. (US),
CHZHOU SHelli YUjtsin (US)**

(73) Proprietor(s):

**TEJT END LAJL INGRIDIENTS AMERIKAS
EIEISi (US)**

(54) REBAUDIOSIDE-MOGROSIDE V BLENDS

(57) Abstract:

FIELD: food industry.

SUBSTANCE: invention relates to food industry.
Disclosed is a sweetening composition including Lo Han Go extract, treated with activated carbon containing mogroside V, and a rebaudioside component. Rebaudioside component consists of one or more

compounds selected from a group consisting of rebaudioside A, rebaudioside B and rebaudioside D.

EFFECT: present invention enables to produce non-caloric sweeteners, which can replace sugar.

32 cl, 6 dwg, 9 tbl, 5 ex

C 2
8 7 6 9 6 2 5 9 6 9 7 8
R U

R U
2 5 9 6 9 7 8
C 2

Уровень техники

Натуральные калорийные подсластители, такие как сахароза, глюкоза и фруктоза, обладают желаемыми характеристиками вкуса, но они повышают калорийность продуктов. Следовательно, существует большой интерес потребителей в отношении
 5 низкокалорийных или некалорийных подсластителей, которые являются здоровой альтернативой. Известны натуральные и синтетические высокоинтенсивные подсластители, но подавляющее большинство из них обладает профилями вкуса и аромата, которые не так желательны для потребителей, как таковые у сахаров. Таким образом, желательно разработать некалорийные подсластители, которые могут заменить
 10 сахар и которые обладают более желательным профилем вкуса и аромата.

Растения вида *Stevia rebaudiana* («Стевия») являются источником специфических сладких стевиол-гликозидов. Было проведено множество исследований и разработок для оценки применения сладких стевиол-гликозидов стевиин в качестве некалорийных подсластителей. Из стевиин могут быть экстрагированы сладкие стевиол-гликозиды,
 15 включая шесть ребаудиозидов (то есть ребаудиозиды А-Ф), стевиозид (преобладающий гликозид в экстрактах из дикой стевиин), стевиолбиозиды, рубузозиды и дулькозиды.

Коммерческие низкокалорийные или некалорийные подсластители на основе ребаудиозидов А и других стевиол-гликозидов имеют горькое или лакричное послевкусие. По существу эти характеристики ощутимы при концентрациях выше около 300 частей
 20 на миллион. При использовании в пищевых продуктах предпочтительные уровни (8-10% показателей сахарного эквивалента), как правило, составляют от около 500 частей на миллион до около 1000 частей на миллион, что выше уровня, при котором послевкусие первоначально становится заметным. Следовательно, сохраняется необходимость в подсластителях с пониженной, низкой калорийностью и/или
 25 некалорийных подсластителях, включающих сладкие стевиол-гликозиды, которые имеют профили вкуса с пониженной горечью или пониженным нежелательным вкусом и ароматом (например, лакрицы), или с отсутствием горечи и нежелательного вкуса и аромата (например, лакрицы), или профили сладости, более похожие на таковые у натуральных калорийных подсластителей, или комбинации таковых с такими
 30 свойствами.

Краткое описание

В одном из аспектов настоящее изобретение относится к композиции, включающей могорозид V и компонент ребаудиозидов в массовом соотношении $\geq 1:1$ и $\leq 6:1$, где компонент ребаудиозидов состоит из одного или более соединений, выбранного из
 35 группы, состоящей из ребаудиозидов А, ребаудиозидов В и ребаудиозидов D.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к способу очистки экстракта Ло Хань Го, включающему контактирование экстракта Ло Хань Го с активированным углем и адсорбентом - макропористой полимерной смолой, ионообменной смолой или обоими.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к композиции, содержащей экстракт Ло Хань Го, где могорозид V составляет от 50 масс.% до 75 масс.% экстракта Ло Хань Го, и композиция содержит от 0 до 13 масс.% ароматических гликозидов от общей массы могорозида V и от 0 до 15 частей на миллион полувolatile органических соединений от общей массы могорозида V.

45 Краткое описание чертежей

Фиг. 1 - хроматограммы анализа ВЭЖХ приведенного в качестве примера экстракта Ло Хань Го и анализа этого же материала после обработки углем по настоящему изобретению, верхняя и нижняя хроматограмма, соответственно.

Фиг. 2 - увеличенные хроматограммы фигуры 1.

Фиг. 3 - газовые хроматограммы полуволетучих органических соединений, присутствующих в образце Ло Хань Го, одно из которых взято перед обработкой активированным углем, а другое после обработки активированным углем по настоящему изобретению.

Фиг. 4 - хроматограмма ВЭЖХ фракции Ло Хань Го, содержащей компоненты, продуцирующие запах плесени.

Фиг. 5 - спектр ATR-FTIR фракции Ло Хань Го демонстрирует характеристики полос, соответствующие присутствию ароматических гликозидов.

Фиг. 6 - время пролета (ToF) точно измеренной массы при масс-спектрометрии основного компонента фиг. 4.

Детальное описание

Определения

Используемый в описании термин «сладкие соединения стевииол-гликозидов» относится к любому из множества натуральных соединений с общей кольцевой структурой системы дитерпенового стевииола с одним или более сахаридным остатком, химически прикрепленным к кольцу.

Используемый в описании термин «компонент ребаудиозида» относится к общим ребаудиозидам А, В и D, с пониманием того, что фактически присутствовать могут

только один или два из них.

Подслащивающие композиции, содержащие смеси ребаудиозид-могрозид V

В настоящее время выявлено, что смеси могрозид V с компонентом ребаудиозида, состоящим из одного или более из ребаудиозидов А, В и D, обеспечивают превосходные характеристики вкуса и аромата, во многих случаях превосходящие таковые, как только одного компонента ребаудиозида, так и только одного могрозид V, при сравнении при равном уровне сладости. В некоторых системах улучшенный вкус наиболее очевиден при показателях pH от около pH 2 до около pH 8.

Могрозид V может быть получен из экстрактов Ло Хань Го, коммерчески доступных из множества источников. Приведенные в качестве примеров способы получения таких экстрактов описаны в патенте США № 5411755 и патентной публикации США № 2006/0003053, оба введены ссылкой для любых целей. Ло Хань Го экстрагируют из плодов *Siraitia grosvenorii*, многолетняя травянистая лиана, родиной которой является южный Китай и северный Тайланд. Это один из четырех видов рода *Siraitia*. Ботанические синонимы включают *Momordica grosvenorii* и *Thladiantha grosvenorii*. Экстракт в около 200-300 раз слаще сахарозы.

Как правило, могрозид V является самым распространенным компонентом могрозид экстрактов Ло Хань Го, сопровождаемым другими могрозидами, такими как могрозиды I, II, III, IV и VI, наряду с другими экстрагированными материалами, такими как полифенолы, флавоноиды, меланоидины, терпены, белки, сахара, ароматические гликозиды и полуволетучие органические соединения. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения могрозид V обеспечен в форме экстракта Ло Хань Го (как в сыром, так очищенном и/или концентрированном виде для повышения содержания могрозид V). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения могрозид V составляет по меньшей мере 40 масс.% экстракта, или по меньшей мере 45 масс.%, или по меньшей мере 50 масс.%. Как правило, он может составлять максимально 95 масс.% экстракта, максимально 85 масс.% экстракта, максимально 75 масс.% экстракта, максимально 70 масс.% экстракта, или максимально 65 масс.%, или максимально 60 масс.%.

В некоторых подслащивающих композициях по настоящему изобретению массовое отношение могозида V к компоненту ребаудиозида составляет по меньшей мере 1:1 или по меньшей мере 1,3:1, или по меньшей мере 1,5:1. Как правило, массовое отношение максимально составляет 5:1, или максимально 4:1, или максимально 3,5:1, или
5 максимально 3:1, или максимально 2,5:1, или максимально 2:1, или максимально 1,9:1, или максимально 1,8:1, или максимально 1,7:1.

Компонент ребаудиозида состоит из одного или более ребаудиозида А, В и/или D. Как правило, ребаудиозид составляет по меньшей мере 65 масс.% от общих, присутствующих стевииол-гликозидов или по меньшей мере 70 масс.%, или по меньшей
10 мере 75 масс.%, или по меньшей мере 80 масс.%, или по меньшей мере 90 масс.%, или по меньшей мере 97 масс.%. Баланс сладких стевииол-гликозидов, если таковой есть, может включать один или более из ребаудиозидов С, Е и/или F, стевииозида и любого другого стевииол-гликозида, не являющегося частью компонента ребаудиозида. Как правило, ребаудиозид А составляет по меньшей мере 50 масс.% присутствующего
15 сладкого стевииол-гликозида или по меньшей мере 60 масс.%, или по меньшей мере 70 масс.%, или по меньшей мере 80 масс.%, по меньшей мере 90 масс.%, или по меньшей мере 95 масс.%. Ребаудиозид А, В и D может быть получен из экстрактов *Stevia rebaudiana*, коммерчески доступной из множества источников. Известно и описано в литературе множество различных способов получения относительно чистого ребаудиозида А, В
20 или D из экстрактов. В одном из типичных способов растения стевии сушат и проводят экстракцию водой. Сырой экстракт содержит около 50% ребаудиозида А. Различные молекулы гликозидов отделяют от экстракта при использовании технологий кристаллизации, как правило, при использовании этанола или метанола в качестве растворителя, что позволяет выделить чистый ребаудиозид А, В и D. Затем отдельные
25 очищенные гликозиды могут быть использованы в комбинации с обеспечением компонентов ребаудиозида, используемых в настоящем изобретении.

Хотя подслащивающие композиции по настоящему изобретению могут содержать смеси различных типов подсластителей в различных количествах, в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения композиция по существу состоит из
30 необязательно очищенного и/или концентрированного экстракта Ло Хань Го и необязательно очищенного и/или концентрированного экстракта стевии.

Удаление компонентов, вызывающих привкус Ло Хань Го

Также в настоящее время после обширных исследований было обнаружено, что присутствие определенных примесей в экстрактах Ло Хань Го в результате приводит
35 к возникновению привкуса, описываемого некоторыми дегустаторами, как «плесневый». В частности, были определены ароматические гликозиды и полуволетучие органические соединения, продуцирующие этот нежелательный вкус и аромат, хотя могут присутствовать дополнительные компоненты, вызывающие привкус плесени, или
40 компоненты, вызывающие другой привкус. Один из конкретных ароматических гликозидов имеет молекулярную массу 502 Дальтон и считается по существу продуцирующим вкус и аромат плесени. Это соединение соответствует формуле $C_{26}H_{30}O_{10}$, и все соединения, в общем имеющие такую молекулярную формулу, присутствующие в некоторых вариантах осуществления, ограничены согласно
45 настоящему изобретению. Любые средства, позволяющие достичь достаточно низкого уровня этого соединения, подходят для целей настоящего изобретения. Одним из подходящих способов является пропуск водного раствора могозида V, например, в форме необязательно очищенного и/или концентрированного экстракта Ло Хань Го, через колонку с гранулированным активированным углем, например, могут быть

использованы порошкообразные формы. Также обработка углем, как правило, позволяет удалить дополнительные компоненты, вызывающие привкус плесени, и компоненты, вызывающие другие привкусы, наряду с остатками пестицидов и других таких веществ, которые, как правило, нежелательны в ингредиентах, предназначенных для потребления людьми. Как правило, во время обработки углем присутствующим носителем является только вода, и не добавляют органические растворители. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения экстракт Ло Хань Го обрабатывают при использовании адсорбента - макропористой полимерной смолы, ионообменной смолы и активированного угля. Как правило, обработку проводят в таком порядке, но он не является обязательным. Одним из приведенных в качестве примера адсорбентов - макропористой полимерной смолы - является коммерчески доступный от Rohm and Haas, Philadelphia, PA под торговой маркой AMBERLITE® XAD1180N. Одну из приведенных в качестве примера подходящую ионообменную смолу представляет анионная смола, доступная под торговой маркой AMBERLITE® FPA90 CL, также от Rohm and Haas.

При обработке должно быть использовано достаточное количество активированного угля, и обработка должна происходить в течение достаточного периода времени для снижения уровня одной или более примесей ароматического гликозида и полуволетучего органического соединения для приемлемого уровня. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения подслащивающая композиция содержит от 0 до 13 масс.% общих ароматических гликозидов, или от 0 до 11 масс.%, или от 0 до 10 масс.%, или от 0 до 9 масс.%, все относительно могозида V. Ароматические гликозиды могут представлять фенильные гликозиды или, в частности, фенольные гликозиды, или они могут представлять кумарингликозиды или, в частности, фуранокумарингликозиды. Те же самые ограничения также могут быть использованы в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения для соединений с молекулярной массой 502 и, в частности, для соединений с формулой $C_{26}H_{30}O_{10}$, в каждом случае относится к общему количеству всех соединений с массой 502 или с формулой $C_{26}H_{30}O_{10}$.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения подслащивающая композиция содержит от 0 до 15 частей на миллион в конкретной массе общих полуволетучих органических соединений, или от 0 до 11 частей на миллион в конкретной массе, или от 0 до 7 частей на миллион в конкретной массе, или от 0 до 3 частей на миллион в конкретной массе, все относительно могозида V. Используемый в описании термин «полуволетучие вещества» относится к соединениям с молекулярной массой, превышающей 120 Дальтон, и точкой кипения при 1 атмосферном давлении от более чем 150°C вплоть до 350°C. Такие полуволетучие органические соединения могут включать без ограничения соединения, приведенные в таблице 7. Полуволетучие органические соединения могут включать, например, алифатические фураны, ненасыщенные алифатические углеводороды, сложные эфиры, полициклические углеводороды и/или терпеноиды.

Коммерчески доступный порошкообразный экстракт плодов Ло Хань Го, как правило, содержащий по меньшей мере 40% могозида V (по сухому веществу d.s.b), может быть обработан активированным углем следующим образом. Сухой экстракт растворяют в деионизированной воде в концентрации по меньшей мере около 1 масс.% и, как правило, максимально около 70 масс.%. Воду нагревают до температуры, достаточной для того, чтобы способствовать растворению порошкообразного материала, как правило, в пределах от комнатной температуры до 160°F (71,1°C), и

необязательно фильтруют при использовании микрофильтрационной мембраны или при использовании фильтрационной бумаги с помощью инертной фильтрации. Целью микрофильтрации является удаление нерастворимых белков и/или микроорганизмов, которые могут ухудшать продукт. Полученный в результате фильтрат подвергают адсорбции с активным углем (также известный, как активированный уголь). Уголь может быть в любой доступной форме активного угля и может быть, например, получен из древесного угля, каменного угля, бурого угля, угля кокосовых орехов, костяного угля или любого другого источника. В одном варианте осуществления настоящего изобретения используемый активный уголь представляет активный уголь, полученный активацией паром бурого угля. Как правило, уголь имеет форму гранул, но также могут быть использованы другие физические формы активированного угля, такие как порошки или шарообразные гранулы. Как правило, предпочтительно использовать активный уголь с высокой пористостью и имеющий большую площадь поверхности (например, более 100 м²/г, более 200 м²/г или более 300 м²/г). Нежелательные компоненты, вызывающие привкус (наряду с другими нежелательными веществами, такими как пестициды), адсорбируются углем, но улучшенный вкус материала не адсорбируется и непрерывно элюируется. Способ дает выход восстановления (по сухому веществу) от 50% до 99,9%. Количество используемого активного угля может варьировать от 0,05% до 150% (как процент по сухому веществу, присутствующий в водном растворе экстракта плодов Ло Хань Го). Как правило, для достижения достаточно низких уровней компонентов, вызывающих привкус, используют по меньшей мере 2 масс.% или по меньшей мере 5 масс.% активного угля относительно используемого экстракта плодов Ло Хань Го по сухому веществу. В частных вариантах осуществления настоящего изобретения по меньшей мере 6 масс.% или по меньшей мере 10 масс.% позволяют получить наилучшие результаты. Как правило, максимально используют 15 масс.%.

В обычном способе колонку заполняют заданным количеством активного угля (как правило, в гранулированной форме) и пропускают деионизированную воду через колонку сверху вниз или снизу вверх (нисходящий поток или восходящий поток) при скорости течения в пределах от 1 до 10 расходов в час в относительных объемах ионитного фильтра. Количество проходящей воды варьирует от 2 до 5 расходов в час в относительных объемах ионитного фильтра. Вода может иметь повышенную температуру (например, от 135°F до 185°F) при контактировании с активным углем, что помогает снизить вымывание нежелательных веществ, таких как тяжелые металлы, из угля при последовательном прохождении через колонку водного раствора экстракта плодов Ло Хань Го. Как только вода вытеснит оставшийся воздух и тонкие частицы из угля, водный раствор экстракта плодов Ло Хань Го подают в колонку со скоростью течения в пределах от 1 до 10 расходов в час в относительных объемах ионитного фильтра. Колонка должна быть снабжена рубашкой, и температура рубашки должна поддерживаться такой же, как температура исходного подаваемого раствора, которая, как правило, составляет в пределах от комнатной температуры до 71°C. Сначала подача вытесняет воду в колонке. Как только в колонке видны признаки присутствия элюента, элюент собирают в качестве материала с улучшенным вкусом. Присутствие твердых веществ в элюенте может быть оценено за счет проведения измерения индекса рефракции (RI). Для этой цели, как правило, выстроена корреляция между RI и сухим веществом.

Экстракт плодов Ло Хань Го подают в колонку до достижения целевого уровня обработки. Как только подача заканчивается, оставшийся экстракт плодов Ло Хань Го, все еще присутствующий в колонке, вымывают деионизированной водой или водой с обратного осмоса, замещая материал Ло Хань Го. Сбор элюента продолжают до

достижения индекса рефракции элюента, близкого к таковому только одной воды.

Необязательно извлеченный материал с улучшенным вкусом может быть подвергнут концентрированию для повышения СВ% (сухих веществ) до любого подходящего уровня для последующей сушки, если требуется. Концентрирование может быть
5 проведено при использовании выпаривания или мембран или при использовании любого другого подходящего способа. Мембранное концентрирование может быть проведено при использовании нанофильтрационной мембраны (200 Дальтон, Номинальное отсечение по молекулярной массе) или мембраны обратного осмоса (при показателе удаления солей >98%). Обе мембраны могут быть использованы по отдельности без
10 потери значительного количества могозидов в пермеате. Затем материал сушат при использовании традиционного устройства для распылительной сушки или при использовании традиционного агломерационного устройства для распылительной сушки или других средств. Или материал может быть использован как таковой. В одном варианте осуществления настоящего изобретения извлеченный материал с улучшенным
15 вкусом комбинируют с одним или более другим компонентом, таким как ребаудиозид А, В и/или D, или очищенным экстрактом стевии, содержащим сладкие стевииол-гликозиды, перед сушкой.

Применение подслащивающих композиций, содержащих смеси ребаудиозид-могозид V

20 Композиции, содержащие смеси ребаудиозид-могозид V, могут быть подвергнуты технологической обработке при использовании известных способов для модификации размера частиц и физической формы. Способы, такие как агломерация, распылительная сушка, барабанная сушка, и другие формы физической обработки могут применяться для регулирования размера частиц для доставки более лучшего потока, гидратации
25 или свойств растворения. Композиции могут быть представлены в жидких формах, необязательно содержать один или более консервантов и/или технологические добавки, для простоты использования в конкретных применениях. Композиции, содержащие смеси ребаудиозид-могозид V, могут быть подвергнуты совместной технологической обработке с агентом-наполнителем, таким как мальтодекстрин, и аналогичными
30 соединениями для доставки продуктов с контролируемой сладостью, дозировкой, силой и технологическими свойствами.

Подслащивающие композиции по настоящему изобретению используют в качестве подсластителей с пониженной калорийностью, низкокалорийных или некалорийных подсластителей в пищевых продуктах, то есть пищевых композициях или жевательных
35 композициях, таких как пищевые продукты, напитки, лекарственные средства, карамельные кондитерские изделия, жевательная резинка и тому подобное. Авторы настоящего изобретения обнаружили, что экстракт стевии и подслащивающие композиции по настоящему изобретению имеют профили сладости, более похожие на таковые у сахара, пониженную горечь в послевкусии, пониженный привкус (например,
40 лакрица) по сравнению с другими смесями сладких стевииол-гликозидов, таких как коммерчески доступные комбинации и смеси стевииол-гликозидов. Тестирование вкуса показало, что в большинстве случаев подслащивающие композиции по настоящему изобретению являются предпочтительными тестируемыми объектами по сравнению с композициями, содержащими 97% ребаудиозид А, при тестировании в одной и той же
45 концентрации. Предполагается, что добавление экстракта стевии и подслащивающих композиций по настоящему изобретению в пищевые продукты и напитки приведет к улучшению вкуса пищевых продуктов и напитков по сравнению с таковыми, полученными при использовании известных экстрактов стевии и подслащивающих

композиций, содержащих сладкие стевииол-гликозиды, таких как композиции с 97% содержанием ребаудиозида А.

Также предполагается, что ребаудиозид В может быть добавлен в другие высокоинтенсивные подсластители. Приведенные в качестве примера высокоинтенсивные подсластители, подходящие для вариантов осуществления настоящего изобретения, включают такие как: дулькозид А, дулькозид В (также известный, как ребаудиозид С), рубузозид, могорозид III, могорозид IV, могорозид VI, сиаменозид, монатин и его соли (монатин SS, RR, RS, SR), куркулин, глицирризиновая кислота и ее соли, тауматин, монеллин, мабинлин, браззеин, эрнандульцин, филлодульцин, глицифиллин и флоридзин;

и искусственные высокоинтенсивные подсластители, такие как: сахарин, аспартам, сукралоза, неотам, цикламат и ацесульфам калия.

Согласно настоящему изобретению смеси ребаудиозида-могорозида V также могут быть скомбинированы с калорийными подсластителями, такими как сахара (например, высокофруктозный кукурузный сироп, сахароза, фруктоза и тому подобное) и полиолы (например, сорбит, ксилит, лактит и тому подобное), и/или другими низкокалорийными подсластителями с получением подслащивающих композиций с пониженной калорийностью.

В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к пищевым продуктам, содержащим подслащивающие композиции с высокими концентрациями смесей ребаудиозида-могорозида V. По существу любая пищевая или жевательная композиция может быть подслащена в соответствии с настоящим изобретением. Неограничивающие примеры включают пищевые продукты (например, снеки, выпеченные изделия, супы, соусы, прошедшие технологическую обработку мясные продукты, консервированные фрукты, консервированные овощи, молочные продукты, замороженные кондитерские изделия, кексы, печенье, батончики и другую сладкую выпечку, готовые каши, злаковые батончики, йогурт, напитки, содержащие йогурт, энергетические батончики, батончики гранола, твердую карамель, железные конфеты, шоколадные конфеты и кондитерские изделия); напитки (например, газированные безалкогольные напитки, готовые к потреблению чай, спортивные напитки, молочные напитки, алкогольные напитки, энергетические напитки, кофе, ароматизированные воды, витаминные напитки, фруктовые напитки и фруктовые соки, порошкообразные безалкогольные напитки), лекарственные средства или фармацевтические продукты (например, таблетки, лекарственные леденцы, суспензии и тому подобное), нутрицевтические продукты (например, добавки, витамины и тому подобное), леденцы или кондитерские изделия; жевательную резинку; табачные изделия (например, жевательный табак); и тому подобное. Подслащивающую композицию вводят в эффективном количестве, которое придает желаемую сладость подслащенному пищевому продукту. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения рН подслащенного продукта составляет по меньшей мере около 2 и не более чем около 8.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения пищевой продукт содержит подслащивающую композицию, содержащую смеси ребаудиозида-могорозида V и одного или более дополнительного сладкого стевииол-гликозида, как указано выше. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения подслащивающая композиция содержит компонент ребаудиозида, дополнительные компоненты стевииол-гликозида и компонент могорозида V, присутствующие в пищевых продуктах в общей концентрации по меньшей мере около 50 частей на миллион, по меньшей мере около

200 частей на миллион, или по меньшей мере около 500 частей на миллион, или по меньшей мере около 1000 частей на миллион, или по меньшей мере около 1500 частей на миллион в конкретной массе, или по меньшей мере около 3500 частей на миллион в конкретной массе, или по меньшей мере около 5000 частей на миллион в конкретной массе.

ПРИМЕРЫ

Пример 1 - Тест на предпочтение смеси стевия-могрозид V по сравнению с ребаудиозидом А

При участии комиссии квалифицированных дегустаторов провели тест на сладость и тест на предпочтение смеси сухих веществ экстракта Ло Хань Го, содержавшего 50 масс.% могрозидов V, с продуктом стевии, содержавшим главным образом ребаудиозид А по сравнению с 97 масс.% ребаудиозидом. Очищенная версия экстракта Ло Хань Го представляла коммерческий продукт, доступный от Biovittoria (Guilin, People's Republic of China) под торговой маркой Fruit Sweetness™, где очистка Fruit Sweetness™ была проведена при использовании обработки активированным углем, как описано здесь и в любом другом месте, для удаления ароматических гликозидов и полуволетучих органических соединений, которые вызывают появление привкуса. Этот продукт ниже определен, как Образец А. Продукт стевии представлял коммерческий продукт, доступный от GLG Life Tech Corporation of Vancouver, B.C., Canada под торговой маркой BlendSure™ 7.5, состоящий на около 75 масс.% из ребаудиозидов А и на 25 масс.% из стевииозидов.

Тест на предпочтение

В парных сравнительных тестах на предпочтения и на сладость BlendSure 7.5 и Образца А со сладостью, равной таковой 97% ребаудиозидов А в лимоннокислом буфере с рН 3 (0,045% лимонной кислоты и 0,013% цитрата натрия), приняла участие комиссия квалифицированных дегустаторов. Тесты проводили, как полноблочный план с от 24 до 46 оценок. Порядок презентации чередовали. Растворы подавали в двух унциевых чашках типа soufflé cups, помеченных ярлычком со случайным трехзначным кодом, при комнатной температуре. Дегустаторы были проинструктированы потреблять по меньшей мере половину каждого образца. Дегустаторов просили подождать одну минуту между тестированием образцов и проинструктировали провести очистку неба перед тестированием. Квалифицированных дегустаторов просили определить, какой раствор слаще и какой раствор им нравится больше. Для очистки вкусовых рецепторов перед, во время и после тестирования дегустаторам была доступна бутилированная вода, 2% раствор сахарозы и несоленые крекеры. Результаты сладости анализировали при использовании биномиального теста при альфа-риске 0,05, как приведено ниже.

Результаты сладости и предпочтения анализировали при использовании биномиального теста и провели расчет при использовании d' Thurstonian. p-Показатель для одностороннего биномиального теста рассчитывали как

$$1 - \sum_{k=0}^c \binom{n}{k} p_0^k (1 - p_0)^{n-k}$$

где с - число успешных исходов, n - число серий, p₀ - вероятность. Тест считается статистически значимым, когда p-показатель составляет менее чем априори установленный альфа-риск. Двухсторонний p-показатель представляет двойной односторонний p-показатель, как рассчитано выше.

d' Thurstonian представляет линейное измерение психофизических различий. d'=1, как правило, считается порогом чувствительности (JND), где стимул будет оцениваться

строже в 75% серий. d' Thurstonian представляет независимый метод тестирования и для парного сравнения рассчитывается, как

$$p_c = \Phi(d' / \sqrt{2}),$$

5 где p_c - пропорция успешных исходов, а $\Phi(\cdot)$ - кумулятивная функция распределения стандартного нормального распределения. Полная обработка этих статистических расчетов может быть найдена в стандартных пособиях по этому вопросу, таких как «Sensory Discrimination Tests and Measurements», Jian Bi (Blackwell Publishing, 2006, Chapters 2 and 9).

10 Результаты комбинированного повторного теста приведены ниже в таблице 1.

15

20

25

30

35

40

45

Таблица 1

Частей на миллион смеси Образца А	Образцы		Предпочтение				Сладость		
	Частей на миллион смеси BlendSure	Фракция Образца А	Частей на миллион кон-троля Реб А	Число для Реб А	Число для смеси	р-показатель для од-ностороннего бино-минального теста	Число для Реб А	Число для смеси	р-показатель для двухстороннего бино-минального теста
444	296	0,60	605	22	18	0,68	16	24	0,15
547	365	0,60	705	13	27	0,01	15	25	0,08
547	365	0,60	800	22	46	<0,01	24	44	0,01
547	365	0,60	900	28	40	0,06	45	23	0,00
660	440	0,60	900	17	27	0,05	15	29	0,02
660	440	0,60	1000	18	26	0,09	23	21	0,65
675	225	0,75	900	9	31	<0,01	24	16	0,15
750	250	0,75	1000	12	28	<0,01	26	14	0,04
825	275	0,75	1000	8	38	<0,01	24	22	0,66

Не было обнаружено значительных различий в уровне сладости в лимоннокислом буфере с рН 3 (р-показатель >0,05 двухсторонний), приведенные выше данные указывают на предпочтение смесей с определенным соотношением могозида V к ребаудиозиду А. В частности, можно увидеть следующее.

5 Смесь из 675 частей на миллион Образца А и 225 BlendSure 7.5 (75% Образец А, общее количество 900 частей на миллион) имела значительное предпочтение по сравнению с 900 частями на миллион 97% ребаудиозид А.

10 Смесь из 825 частей на миллион Образца А и 275 BlendSure 7.5 (75% Образец А, общее количество 1100 частей на миллион) имела значительное предпочтение по сравнению с 1000 частями на миллион 97% ребаудиозид А.

Смесь из 444 частей на миллион Образца А и 296 BlendSure 7.5 (60% Образец А, общее количество 740 частей на миллион) имела значительное предпочтение по сравнению с 605 частями на миллион 97% ребаудиозид А.

15 Смесь из 547 частей на миллион Образца А и 365 BlendSure 7.5 (60% Образец А, общее количество 912 частей на миллион) имела значительное предпочтение по сравнению с 705 частями на миллион 97% ребаудиозид А.

Смесь из 660 частей на миллион Образца А и 440 BlendSure 7.5 (60% Образец А, общее количество 1100 частей на миллион) имела значительное предпочтение по сравнению с 1000 частями на миллион 97% ребаудиозид А.

20 Смеси из Образца А и BlendSure 7.5, содержащие 75% Образца А, были более предпочтительнее, чем смеси, содержащие 60% Образца А в отличие от 97% ребаудиозид А.

Смеси Образца А и BlendSure 7.5 были предпочтительны по сравнению с 97% ребаудиозидом А в виду повышенного уровня сладости.

25 Пример 2 - Тест на предпочтение смесей стевия-могозид V по сравнению со стевией

При участии комиссии квалифицированных дегустаторов провели тест на сладость и тест на предпочтение смеси сухих веществ экстракта Ло Хань Го, содержавшего 50 масс.% могозида V, с продуктом стевии, содержавшим главным образом ребаудиозид А в лимоннокислом буфере с рН 3 (0,045% лимонной кислоты и 0,013% цитрата натрия),

30 по сравнению с продуктом стевии. Смеси и продукт стевии описаны в Примере 1. Синергия может быть определена построением изобол (кривые изоэффекта), где концентрации двух веществ имели равный эффект, в данном случае сладость, и

приведены на графике по оси, представляющей концентрацию веществ. При линейных изоболах синергия между двумя веществами отсутствует. При нисходящей изоболе

35 присутствует синергия между двумя веществами. Более полную информацию о изоболах и синергии можно найти в Berenbaum, «What is Synergy», Pharmacological Reviews, Vol. 1989, No. 41, страницы 93-129. Смеси BlendSure 7.5 и Образца А, имевшие сладость,

равную 500 частям на миллион, 700 частям на миллион и 900 частям на миллион BlendSure 7.5, были спрогнозированы по линейным изоболам с допущением отсутствия

40 синергии сладости.

В парных сравнительных тестах на предпочтения и на сладость BlendSure 7.5 и Образца А со сладостью, равной уровням 500 частей на миллион, 700 частей на миллион

и 900 частей на миллион BlendSure 7.5, приняла участие комиссия квалифицированных дегустаторов. Тесты проводили, как полноблочный план с от 34 до 44 оценок. Порядок

45 презентации чередовали. Растворы подавали в двух унциевых чашках типа soufflé cups, помеченных ярлычком со случайным трехзначным кодом, при комнатной температуре. Дегустаторы были проинструктированы потреблять по меньшей мере половину каждого

образца. Дегустаторов просили подождать одну минуту между тестированием образцов

и проинструктировали провести очистку неба перед тестированием. Квалифицированных дегустаторов просили определить, какой раствор слаще и какой раствор им нравится больше. Для очистки вкусовых рецепторов перед, во время и после тестирования дегустаторам была доступна бутилированная вода, 2% раствор сахарозы и несоленые
5 крекеры. Результаты анализировали, как в Примере 1, и они приведены в таблице 2.

10

15

20

25

30

35

40

45

Таблица 2

Частей на миллион смеси Образца А	Образцы			Предпочтение			Сладость		
	Частей на миллион BlendSure	Фракция Образца А	Частей на миллион BlendSure	Число для BlendSure	Число для смеси	р-показатель для одностороннего би-номинального теста	Число для BlendSure	Число для смеси	р-показатель для двустороннего би-номинального теста
133	399	0,25	500	38	43	0,51	44	37	0,37
284	284	0,50	500	32	49	0,04	41	40	0,82
458	153	0,75	500	13	31	<0,01	20	24	0,45
660	0	1,00	500	29	52	0,01	35	46	0,18
179	537	0,25	700	33	46	0,11	50	29	0,01
367	367	0,50	700	23	56	<0,01	33	46	0,11
563	188	0,75	700	23	56	<0,01	38	41	0,65
770	0	1,00	700	32	47	0,07	43	36	0,37
226	679	0,25	900	24	48	<0,01	39	33	0,41
455	455	0,50	900	22	50	<0,01	34	38	0,56
686	229	0,75	900	23	49	<0,01	40	32	0,29
920	0	1,00	900	19	53	<0,01	37	35	0,72

Как видно из приведенных выше данных, не наблюдается синергия сладости между BlendSure 7.5 и Образцом А. Однако наблюдается повышение предпочтения смеси BlendSure 7.5 и Образца А по сравнению с только одной BlendSure 7.5 при повышении соотношения Образца А к BlendSure 7.5, и также в виду повышенного уровня сладости.

5 Пример 3 - Удаление ароматических гликозидов и полуволетучих органических соединений из экстракта Ло Хань Го

3'x1/2" ID стеклянную колонку с рубашкой (Ace glass incorporated) объемом около 115 мл заполнили около 57 г свежего гранулированного активированного угля (CAL 12x40 от Calgon Corporation), прошедшего промывку кипятком. Рубашку колонки нагрели до температуры 60°C и поддерживали такую температуру в течение эксперимента. После 10 заполнения колонки через фильтр из угля пропустили около 500 мл деионизированной воды со скоростью подачи от 2,5 мл/минуту для вытеснения и удаления тонких частиц угля. 27% масс.% раствор Biovittoria Fruit Sweetness™ (около 50 масс.% могозида V по сухому веществу (по СВ)) получили растворением 1,241 кг Biovittoria Fruit Sweetness™ 15 в 3,318 кг воды Milli-Q (вода обеспечена при использовании системы очистки воды обратным осмосом Milli-Q, доступной от Millipore Corp.). Затем раствор нагрели до температуры 60°C, пропустили через Millipore Optiseal Durapore 0,22 мкм гидрофильного гофрированного картриджного фильтра в стерильную бутылочку для кормления и 20 выдерживали при температуре 60°C во время процесса.

Раствор пропустили через колонку со скоростью подачи 2,6 г/минуту (эквивалент 1,25 расхода в час в относительных объемах ионитного фильтра) при использовании 25 трубы 13 MASTERFLEX® и пульсирующего насоса (насос MASTERFLEX®). Элюент собирали в 90 минутные фракции со средней массой 234 грамма на фракцию. После фракции 19 (время истечения: 28,5 часов) провели тестирование вкуса элюента, неофициально было установлено, что элюент имел гораздо более хороший вкус по сравнению с исходным подаваемым материалом. Таким образом, растворили 30 дополнительные 355,5 г Biovittoria Fruit Sweetness™ в 945,3 г воды Milli-Q, довели температуру до 60°C, пропустили через Millipore Optiseal Durapore 0,22 мкм гидрофильного гофрированного картриджного фильтра и добавили в бутылочку для кормления. Через 37,5 часов начали промывание колонки от подсластителя (используемый в описании настоящей патентной заявки термин «промытая от 35 подсластителя колонка» следует понимать, как промывку колонки для вытеснения оставшегося раствора Fruit Sweetness™) подачей воды Milli-Q (60°C). Колонку промывают от подсластителя в течение 6 часов до достижения индекса рефракции элюента, аналогичного таковому у воды. Материал, собранный из всех фракций, соответствовал общей массе выхода около 98 масс.% сухого материала, поданного в устройство. Уровень обработки всего поданного в устройство материала (1241 г + 335 40 г) был рассчитан как 3,61 масс.%. Был проведен экспертный круглый стол при участии восьми квалифицированных дегустаторов для сравнения приемлемости в отношении ослабленного привкуса по сравнению с водными растворами Fruit Sweetness™, Композитом фракций 1-5, Композитом фракций 1-10, Композитом фракций 1-15, Композитом фракций 1-20 и Композитом фракций 1-25. Было обнаружено, что у 45 Композитов 1-5, 1-10 и 1-15 вкус значительно улучшен по сравнению с поданным материалом Fruit Sweetness™. Композит фракций 1-15 содержал массу сухих веществ 947 г, что, следовательно, соответствует уровню обработки углем 6,0 масс.%. Композит фракций 1-15 далее обозначен как Образец А (286683).

ВЭЖХ использовали для определения композиции ароматических гликозидов поданного Biovittoria Fruit SweetnessTM и более лучшего определения вкуса элюента Ло Хань Го после обработки углем. Использовали Waters 2695 Separations Module, снабженный Waters 2487 Dual λ Absorbance Detector, и колонки Phenomenex Gemini C18, 5 мкм, 150x4,6 мм с защитным картриджем Phenomenex Gemini C18 Security Guard, 4x3 мм. В качестве мобильной фазы использовали приведенный ниже градиент ацетонитрил/вода при скорости подачи 1,0 мл/минуту и с температурой колонки 40°C. Использовали УФ детекцию при 203 нм, и объем инъекции составил 40 мкл.

Мобильная фаза: Ацетонитрил/Вода объем %, линейный градиент

Время [минуты]	Ацетонитрил	H ₂ O
0	20	80
15	30	70
20	50	50
25	50	50
30	20	80

Для калибровки количеств всех определенных при 203 нм компонентов использовали стандартный чистый могорозид V (ChomaDex, Inc.). В таблице 3 приведены в масс.% компоненты по сухому веществу (по СВ) в пересчете на могорозид V. Наблюдалось значительное снижение ароматических гликозидов, элюируемых из ВЭЖХ колонки со скоростью в пределах с 3,5 по 4,5 минуты при указанных выше условиях, между поданным Biovittoria Fruit SweetnessTM и элюентом угля, и такое снижение соответствует указанному значительному улучшению вкуса и аромата.

Таблица 3

ID образца	Могорозид V, масс.% от общей массы образца по СВ	Ароматические гликозиды, масс.% от общей массы как могорозид V	Ароматические гликозиды, масс.% относительно могозида V
Поданный Biovittoria Fruit Sweetness TM (284178)	49,1%	7,3%	14,8%
Ло Хань Го Образец А (286683)	50,9%	4,2%	8,3%

ГХ газовой фазы над жидкостью проводили при использовании детекции плазменной ионизации (FID) при следующих условиях для определения композиции полуволетучих органических соединений в поданном Ло Хань Го и более лучшего определения вкуса элюента Ло Хань Го после обработки углем.

Автоматический пробозаборник Combi PAL

Способ: газовая фаза над жидкостью

Объем инъекционного шприца: 1 мл

Температура инъекционного шприца: 85°C

Температура мешалки: 80°C

Время перед выдержкой: 30 минут

Скорость мешалки перед введением: 500 частей на миллион (5 секунд включена, 2 секунды выключена)

Скорость заполнения: 200 мкл/секунду

Задержка для введения поправки на вязкость: 12 секунд

Задержка перед введением образца: 0 секунд

Скорость введения: 100 мкл/секунд

Задержка после введения: 10 секунд

Время промывки инъекционного шприца: 3 минуты

Время цикла ГХ: 54 минуты

Varian 3800 GC

Термостат:

Начальная температура: 40°C

Начальное время выдержки: 5 минут

5 Линейное изменение: 7,5°C/минуту

Конечная температура: 235°C

Конечное время выдержки: 14 минут

Фронтальный воздухозаборник (1177):

Температура: 250°C

10 Способ: без разделения потока

Колонка:

Тип: Rtx-624 (30 м × 0,25 мм × 1,4 мкм) - Restek Cat # 10968

Способ: постоянный поток

Скорость подачи потока: 1,0 мл/минуту (гелий)

15 Термостат с центральным клапаном:

Температура: 250°C

Varian 4000 FID

Температура: 250°C

Вспомогательный газ: 2 мл/минуту (He)

20 Скорость подачи потока H₂: 40 мл/минуту

Скорость подачи потока воздуха: 450 мл/минуту

Varian 4000 Ion Trap MS

Тип сканирования: полный

Диапазон массовых чисел: 25-275 m/z

25 Время сканирования: от 0,00 до 45,00 минут

Тип ионизации: EI

Заданный показатель TIC: 20000 импульсов

Мах время ионизации: 25000 мксек

Ток эмиссии: 10 мкАмпер

30 Среднее значение сканирования: 3 мксекан (0,60 секунд/скан)

Частота передачи: 1,67 Гц

Коэффициент сдвига: 0 Вольт

Для калибровки количества всех компонентов полуволетучих органических соединений, приведенных на фиг. 3, использовали стандартный чистый D-лимонен (Sigma-Aldrich).

35 В таблице 4 приведены все компоненты полуволетучих органических соединений в частях на миллион в конкретной массе по сухому веществу (по СВ) в пересчете на D-лимонен.

Видно значительное снижение полуволетучих органических соединений в поданной

40 Biovittoria Fruit SweetnessTM (284178) в обработанный углем Ло Хань Го (образец А 286683), что соответствует значительному улучшению вкуса и аромата Ло Хань Го.

Таблица 4

ID образца	Могрозид V, масс.% от общей массы образца по СВ	Полуволетучие органические соединения, частей на миллион в конкретной массе в пересчете на D-лимонен	Полуволетучие органические соединения, частей на миллион в конкретной массе относительно могозида V
Поданный Biovittoria Fruit Sweetness TM (284178)	49,1%	8,9	18
Ло Хань Го Образец А (286683)	50,9%	0,6	1,2

Пример 4 - Идентификация компонентов привкуса в экстракте Ло Хань Го

При проведении сенсорной оценки было обнаружено, что материал Ло Хань Го,

прошедший через уголь в виде водного раствора, имел более лучший, более приемлемый вкус и аромат, чем поданный материал Ло Хань Го. ВЭЖХ анализ полученного в качестве примера сухого экстракта Ло Хань Го с содержанием могозида V около 50 масс.% (Biovittoria Fruit SweetnessTM) и анализ того же самого материала, который был обработан углем и подвергнут распылительной сушке, приведены на верхней и нижней хроматограммах на фиг. 1, соответственно. Параметры способа ВЭЖХ были такими же, как в Примере 3, со следующей модификацией линейного сегмента градиента.

Мобильная фаза: Ацетонитрил/Вода объем %, линейный градиент

Время [минуты]	Ацетонитрил	H ₂ O
0	10	90
10	10	90
20	20	80
25	20	80
30	30	70
35	30	70
55	95	5
65	95	5
75	10	90

Анализ ВЭЖХ показал, что профиль изомеров могозида остался по существу неизменным после обработки углем. Увеличенный вид более полярной области хроматограмм фиг. 1 приведен на фиг. 2, где обработанный продукт, приведенный на нижней хроматограмме, показал пики, близкие к 21 минуте (указанные стрелкой), значительно сниженные по сравнению с необработанным продуктом на верхней хроматограмме. Для определения взаимоотношений компонента(ов), элюируемого близко к 21 минуте, и определения снижения «плесневого» привкуса были применены серии стадий экстракции и очистки отработанного угля, использованного для обработки Ло Хань Го способом, аналогичным Примеру 3. После каждой стадии очистки экстракцией в настоящем исследовании комиссия квалифицированных дегустаторов проводила оценку образцов угля, использовавшегося для обработки Ло Хань Го, обогащенных ~5-10X относительно исходного уровня извлеченными компонентами для идентификации образцов, продемонстрировавших характерный «плесневый» привкус Fruit SweetnessTM.

Для извлечения компонентов, удаленных при проведении обработки углем водного раствора Ло Хань Го, около 500 г отработанного угля, который был использован для обработки Ло Хань Го, последовательно экстрагировали множеством 350 мл аликвот растворителей после промывки водой. Для промывки угля использовали этанол и затем ацетон. Экстракты фильтровали через 0,45 мкм нейлоновые фильтры и выпаривали досуха в потоке азота при комнатной температуре с получением около 2,0 г твердых сухих веществ. Осадок от экстракции ацетоном оценивали при участии указанной выше комиссии квалифицированных дегустаторов на наличие значительного «плесневелого» привкуса, характерного Fruit SweetnessTM. Также было подтверждено, что компонент 21 минуты ВЭЖХ (фиг. 1 и 2) содержал в ацетоновой фракции и также во всех последующих фракциях «плесневый» привкус, как указано ниже.

После полного высыхания начальную фракцию подвергли экстракции жидкость-жидкость при использовании 50 мл воды и 50 мл хлороформа. «Плесневелый» привкус сохранился в водорастворимой фракции (около 1,8 г извлеченного твердого сухого вещества). Затем провели твердофазную экстракцию (SPE) при использовании четырехъярусных картриджей для воды Waters Sep-Pak C18 SPE (Waters Corp.,

WAT020515) для дальнейшего фракционирования осадка привкуса. Около 10 мг/мл осадка в воде загружают в 10 мл картриджи после кондиционирования SPEs при использовании 5 мл метанола и 10 мл воды Milli-Q. Извлекаемые фракции получили при использовании серий 10 мл SPE промываний, как следующее; 100% воды, 2% ацетонитрила (MeCN)/98% воды, 5% MeCN, 10% MeCN, 20% MeCN, 25% MeCN, 30% MeCN, 40% MeCN, 50% MeCN и 100% MeCN. Затем все экстракты подвергли сушке в потоке азота и провели оценку при участии комиссии квалифицированных дегустаторов. Всю эту процедуру выделения из отработанного угля при использовании SPE фракционирования повторили три раза с теми же результатами сенсорной оценки.

Характерный «плесневый» привкус определяли как значительно более концентрированный у около 250 мг твердых сухих веществ, извлеченных из 20% MeCN/80% воды элюированной SPE фракции (288054), что подтверждено комиссией квалифицированных дегустаторов в случае обогащения водного раствора угля, использовавшегося для обработки Ло Хань Го. ВЭЖХ этой фракции опять же показал компонент элюирования 21 минуты, фиг. 4. Химический анализ основных компонентов этого изолята провели при использовании SPE контроля (10 мл воды + 10 мл 50% MeCN + 10 мл 100% MeCN); общий азот, колориметрический тест для определения фенольных соединений по Фолину-Чокальтеу, колориметрический тест на определение белка нингидрином, ионообменная хроматография для определения аминокислот кислотной вытяжки, ATR-FTIR сухих веществ, ЖХ-МС и ЯМР. Результаты приведены в таблицах 5 и 6 и согласуются с классом соединений ароматических гликозидов.

Тест	288054-SPE 20% MeCN
Фенольные соединения по Фолину-Чокальтеу, выраженные как эквиваленты галиевой кислоты	17,6 мг/мл
Цветной тест с нингидрином на белок	Желтый (минимальный белок)
Общий азот/Суммарный азот Antek	0,4 масс.%
IC аминокислоты	2,4 масс.% как белок
ATR-FTIR	фиг. 5
ЖХ-МС	фиг. 6
Н-ЯМР, ¹³ С-ЯМР, COSY-45, DEPT-135	таблица 5

На фиг. 5 показаны базовые линии, скорректированные по спектру ATR-FTIR фракции 288054. Можно видеть характерные полосы для ОН, алифатических СН, СО и слабые абсорбции фенила, все согласуется с присутствием ароматического гликозида. Не наблюдалось абсорбции С=О. На фиг. 6 показано время пролета (ToF) точно измеренной массы при масс-спектрометрии основного компонента фиг. 4 с задержкой времени 21,0 минут. В таблице, вставленной на фиг. 6, приведена наиболее вероятная стехиометрическая формула для ионов с массой 503 Дальтон. Наиболее вероятная точная масса при 1,6 частей на миллион точно измеренной массы приведена, как соединение с формулой C₂₆H₃₀O₁₀ с нейтральным зарядом.

ЯМР измерения образца 288054	Сдвиг сигналов ЯМР	Структурная субъединица
¹ H-ЯМР	5,6 частей на миллион и 5,1 частей на миллион типичных дублетов аномерных протонов; множество сдвигов между 3,9 и 3,3 частями на миллион	Субъединицы гликозида
¹ H-ЯМР	множество сдвигов между 6,85 и 7,10 частями на миллион	Замещенные ароматические кольца
COSY-45		Связанность, сопоставимая/указывающая/совместимая с гликозидным сдвигом протонов

	COSY-45	3,75, 3,8 частей на миллион	Субъединицы метокси
	¹³ C/DEPT-135	Сдвиг по метинам 101, от 75 до 70 частей на миллион; и метиленам от 61 до 63 частей на миллион	Субъединицы гликозида
5	¹³ C/DEPT-135	Сдвиг по метинам 119, 116, 111 частей на миллион; сдвиг по феноксиметилу 53,7 частей на миллион	Субъединицы ароматических колец; ароматические метокси субъединицы

Распределение и предполагаемую идентичность множества полуволетучих компонентов оценивали при использовании газовой хроматографии и масс-спектрометрии (ГХ-МС) фазы над жидкостью 5% водных растворов по Примеру 3. На фиг. 3 приведено сравнение 10 профиля поданного полуволетучего компонента Fruit SweetnessTM (284178) и Образца А. В таблице 7 приведены наибольшие совпадения с МС библиотекой для 28 органических полуволетучих соединений, соответствующих таковым, обозначенным на фиг. 3. Известные вкусовые и ароматические отклики на эти соединения приведены для сравнения (см., например, Mosciano, G., Perfumer and Flavorist 25, No. 6, 26, (2000)).

15

Пик (фиг. 3)	Название компонента (CAS#)	Известные органолептические отклики
A	2-пентил-фуран (3777-69-3)	Зеленый, восковый, с плесенью, с оттенком карамели
B	Бутилбутаноат (109-21-7)	Сладкий, свежий, фруктовый, немного жирный
C	D-лимонен (5989-27-5)	Сладкий, апельсиновый, цитрусовый и терпеновый
D	t-бутилбензол (98-06-6)	---
E	Гамма-терпинен (99-85-4)	Терпеновый, цитрусовый, лаймоподобный, маслянистый, зеленый с оттенками тропических фруктов
F	Бутилбутаноат (7299-91-4)	---
G	Терпинолен (586-62-9)	Цитрусовый, лаймовый, сосновый, пластиковый
	Нонаналь (75718-12-6)	---
H	Дурен (95-93-2)	---
I	1,3,8-р-ментатриен (21195-59-5)	---
J	р-цимен (99-87-6)	Терпеновый и прогорклый с немного древесными окисленными цитрусовыми нотами
K	Гексилбутират (2639-63-6)	Яблочный, фруктовый, зеленый, мыльный, сладкий
L	1,1,5,6-тетрметилиндан (942-43-8)	---
M	Азулен (275-51-4)	---
N	α-ионен (475-03-6)	---
O	1-метил-нафтален (90-12-0)	Нафтилоподобный с лекарственными нотами
P	2-метил-нафтален (91-57-6)	---
Q	Дегидро-ар-ионен (30364-38-6)	Лакрица
R	(-)-α-цедрен (469-61-4)	Кедровая древесина
S	Z-β-фарнезен (28973-97-9)	Цитрусовый, зеленый
T	(+)-β-цедрен (546-28-1)	---
U	Транс-α-бергамотен (13474-59-4)	Древесный
V1	Цис-α-бисаболен (29837-07-8)	---
V2	α-фарнезен (502-61-4)	Свежий, зеленый, растительный, с нотами сельдерея и сена и с некоторым шлейфом жирности и тропических фруктов

45

W	(-)-β-бисаболен (495-61-4)	Бальзамический
X	(+)-α-лонгипинен (5989-08-2)	---
Y	2-гексил-1-додеканол (2425-77-6)	---
Z	(E)-неролидол (40716-66-3)	Зеленый, цветочный, древесный, фруктовый, цитрусовый, дынный

Пример 5

40 г Fruit Sweetness™ растворили в 200 г воды Milli-Q в 500 мл лабораторном стакане и добавили 30 г активированного угля (BG-ННМ от Calgon Carbon Corporation) в раствор Fruit Sweetness™. Суспензию активированного угля перемешивали в течение 2 часов с забором при этом 50 мкл образцов стерильного фильтрованного раствора на 0, 5, 15, 30, 60, 90 и 120 минуте. Образцы разводили 20-кратно водой Milli-Q и проводили анализ ВЭЖХ на относительное изобилие могозида между точками времени. Через 2 часа суспензию активированного угля фильтровали через фильтровальную бумагу Whatman #2 и фильтрат стерильно фильтровали в тарированную емкость для лиофильной сушки. Как только стерильный фильтрат прошел лиофильную сушку, его массу фиксировали и проводили ВЭЖХ на содержание могозида V. Прошедший лиофильную сушку материал обозначили, как Образец В. Затем провели тестирование на предпочтение вкуса 550 частей на миллион с нейтральным рН водного раствора Образца В (угольная суспензия для обработки Fruit Sweetness™) по сравнению с 500 частями на миллион Реб А 97 с нейтральным рН водного раствора при участии комиссии квалифицированных дегустаторов из от 48 до 50 дегустаторов. Для сравнения также проводили тестирование на предпочтение вкуса Fruit Sweetness™ по сравнению с 500 частями на миллион Реб А 97 в воде с нейтральным рН. Тесты проводили, как полноблочный план. Порядок презентации чередовали. Растворы подавали в двух унциевых чашках типа soufflé cups, помеченных ярлычком со случайным трехзначным кодом, при комнатной температуре. Дегустаторы были проинструктированы потреблять весь образец. Дегустаторам воспрещалось проводить повторное тестирование образцов. Квалифицированных дегустаторов просили определить, какой раствор слаще и какой раствор им нравится больше. Для очистки вкусовых рецепторов перед, во время и после тестирования дегустаторам была доступна бутилированная вода, 2% раствор сахарозы и несоленые крекеры.

Результаты двухсторонних тестов на сладость и одностороннего теста на предпочтение анализировали при использовании биномиального теста при альфа-риске 0,05.

Таблица 8

	Предпочтение		Сладость	
	Число	р-Показатель для одностороннего биномиального теста	Число	р-Показатель для двухстороннего биномиального теста
500 частей на миллион Реб А 97	22	0,24	22	0,47
500 частей на миллион Fruit Sweetness™	26		26	

Таблица 9

	Предпочтение		Сладость	
	Число	р-Показатель для одностороннего биномиального теста	Число	р-Показатель для двухстороннего биномиального теста
500 частей на миллион Реб А 97	6	<0,01	21	0,20

500 частей на миллион Образец В	44	29	
------------------------------------	----	----	--

Из таблицы 8 видно, что коммерческий продукт Fruit SweetnessTM не имел значительного предпочтения по сравнению с Реб А при равных уровнях сладости.

Однако обработанный суспензией угля Fruit SweetnessTM Образец В имел значительное предпочтение по сравнению с BlendSure 7.5 при равном уровне сладости (таблица 9).

Хотя настоящее изобретение описано здесь со ссылкой на конкретные варианты его осуществления, эти варианты осуществления не ограничивают объем притязаний настоящего изобретения. Более того, могут быть сделаны различные модификации в деталях, не выходящие за рамки настоящего изобретения, и эквиваленты приведенного в формуле изобретения не выходят за рамки настоящего изобретения.

Формула изобретения

1. Подслащивающая композиция, содержащая а) экстракт Ло Хань Го, прошедший обработку активированным углем и содержащий по меньшей мере 40 масс. % могорзида V, и б) компонент ребаудиозида, где могорзид V и компонент ребаудиозида присутствуют в композиции в массовом соотношении $\geq 1:1$ и $\leq 6:1$ и компонент ребаудиозида состоит из одного или более соединений, выбираемого из группы, состоящей из ребаудиозида А, ребаудиозида В и ребаудиозида D.

2. Композиция по п. 1, где массовое соотношение составляет $\geq 1,5:1$.

3. Композиция по п. 1 или 2, где компонент ребаудиозида находится в форме экстракта стевии, содержащего сладкие стевииол-гликозиды, причем компонент ребаудиозида составляет по меньшей мере 70 масс. % сладких стевииол-гликозидов.

4. Композиция по п. 1 или 2, где могорзид V составляет от 45 до 60 масс. % экстракта Ло Хань Го.

5. Композиция по п. 1 или 2, где композиция содержит от 0 до 13 масс. % ароматических гликозидов от общей массы могорзида V.

6. Композиция по п. 1 или 2, где композиция содержит от 0 до 13 масс. % ароматических гликозидов с молекулярной массой 502 Дальтон от общей массы могорзида V.

7. Композиция по п. 1 или 2, где композиция содержит от 0 до 13 масс. % ароматических гликозидов с формулой $C_{26}H_{30}O_{10}$ от общей массы могорзида V.

8. Композиция по п. 1 или 2, где композиция содержит от 0 до 15 частей на миллион в конкретной массе общих полуволетучих органических соединений с молекулярной массой более 120 Дальтон и с температурой кипения от 150 до 350°C при давлении 1 атм от общей массы могорзида V.

9. Композиция по пп. 1 или 2, где экстракт Ло Хань Го дополнительно контактировал с адсорбентом, представляющим собой макропористую полимерную смолу, ионообменной смолой и активированным углем.

10. Композиция по п. 1 или 2, где экстракт Ло Хань Го контактировал с адсорбентом, представляющим собой макропористую полимерную смолу, ионообменной смолой и активированным углем.

11. Композиция по п. 1 или 2, где экстракт Ло Хань Го контактировал с адсорбентом, представляющим собой макропористую полимерную смолу, ионообменной смолой и активированным углем в указанной последовательности.

12. Композиция по п. 1 или 2, где обработка активированным углем приводит к уменьшению уровней содержания ароматических гликозидов и полуволетучих органических соединений в экстракте Ло Хань Го.

13. Композиция по п. 1 или 2, где в результате обработки активированным углем из экстракта Ло Хань Го удалены остатки пестицидов.

14. Композиция по п. 1 или 2, дополнительно содержащая калорийный подсластитель.

15. Композиция по п. 1 или 2, дополнительно содержащая дополнительный высокоинтенсивный подсластитель.

16. Напиток, пищевой продукт, продукт по уходу за полостью рта, табачное изделие, фармацевтический продукт илинутрицевтический продукт, содержащий композицию по любому из п. 1-15.

17. Способ очистки экстракта Ло Хань Го для удаления ароматических гликозидов и примесей в виде полунлетучих органических соединений, а также остатков пестицидов, присутствующих в экстракте Ло Хань Го, включающий контактирование экстракта Ло Хань Го с активированным углем в течение времени контакта, которое эффективно для снижения уровня содержания ароматических гликозидов и примесей в виде полунлетучих органических соединений, а также остатков пестицидов, присутствующих в экстракте Ло Хань Го,

где подвергаемый контактированию экстракт Ло Хань Го представляет собой таковой, контактировавший ранее по меньшей мере с одним соединением, выбранным из ионообменной смолы или адсорбента, представляющего собой макропористую полимерную смолу,

где экстракт Ло Хань Го находится в форме водного раствора,

где вода представляет собой единственный носитель, присутствующий во время контактирования экстракта Ло Хань Го с активированным углем, и

где используют от 2 до 15 масс. % активированного угля от экстракта Ло Хань Го в расчете на твердое вещество.

18. Способ по п. 17, где подвергаемый контактированию экстракт Ло Хань Го представляет собой таковой, контактировавший ранее с адсорбентом, представляющим собой макропористую полимерную смолу.

19. Способ по п. 17 или 18, где подвергаемый контактированию экстракт Ло Хань Го представляет собой таковой, контактировавший ранее как с адсорбентом, представляющим собой макропористую полимерную смолу, так и с ионообменной смолой.

20. Способ по п. 17 или 18, где подвергаемый контактированию экстракт Ло Хань Го представляет собой таковой, контактировавший ранее сначала с адсорбентом, представляющим собой макропористую полимерную смолу, а затем с ионообменной смолой.

21. Способ по п. 17 или 18, где водный раствор пропускают через колонну с гранулированным активированным углем.

22. Способ по п. 17 или 18, где активированный уголь находится в виде порошка, гранул или шариков.

23. Способ по п. 17 или 18, где подвергаемый контактированию экстракт Ло Хань Го представляет собой таковой, контактировавший ранее с ионообменной смолой, представляющей собой анионную смолу.

24. Способ по п. 17 или 18, где экстракт Ло Хань Го, контактировавший с активированным углем, получен растворением порошкообразного сухого экстракта плода Ло Хань Го в воде с получением растворенного экстракта.

25. Способ по п. 24, где растворенный экстракт подвергают микрофилтрации.

26. Способ по п. 17 или 18, где активированный уголь имеет площадь поверхности более 100 м²/г.

27. Способ по п. 17 или 18, где водный раствор пропускают через колонну с гранулированным активированным углем с получением выходящего потока, и выходящий поток затем концентрируют.

5 28. Способ по п. 27, где выходящий поток концентрируют методом выпаривания или методом мембранной концентрации.

29. Способ по п. 27, где выходящий поток концентрируют методом мембранной концентрации с использованием нанофильтрационной мембраны или обратноосмотической мембраны.

30. Способ по п. 27, где выходящий поток после концентрации подвергают сушке.

10 31. Способ по п. 30, где выходящий поток подвергают сушке с использованием устройства распылительной сушки или устройства распылительной агломерации.

32. Способ получения подслащивающей композиции, где выходящий поток, полученный способом по п. 27, после концентрации смешивают с одним или несколькими компонентами, выбираемыми из группы, состоящей из ребаудиозида А, ребаудиозида
15 В, ребаудиозида D, стевиол-гликозида и очищенного экстракта стевии, и затем подвергают сушке.

20

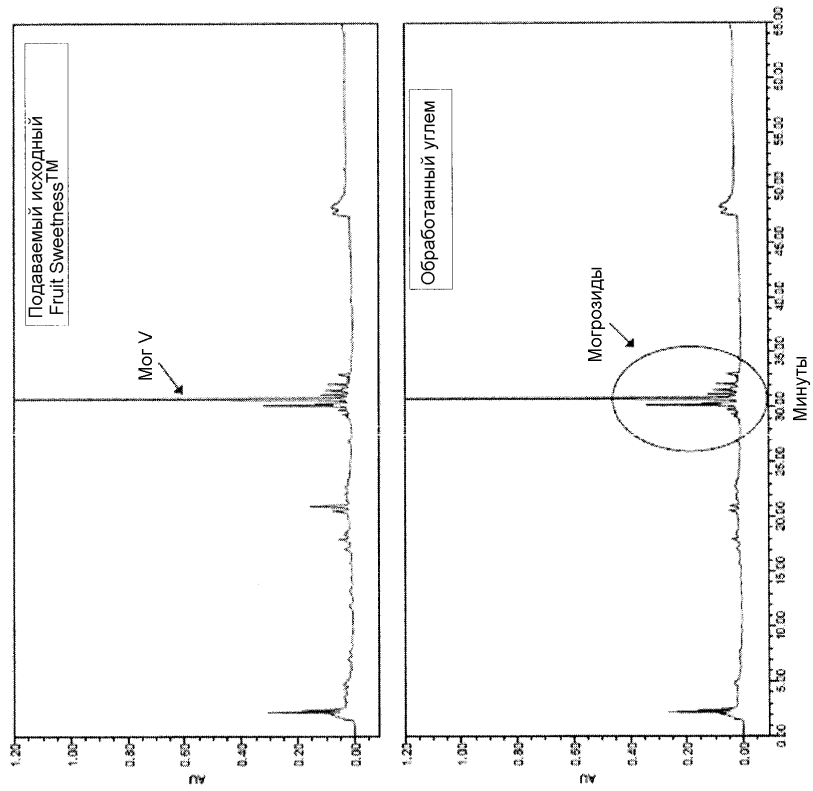
25

30

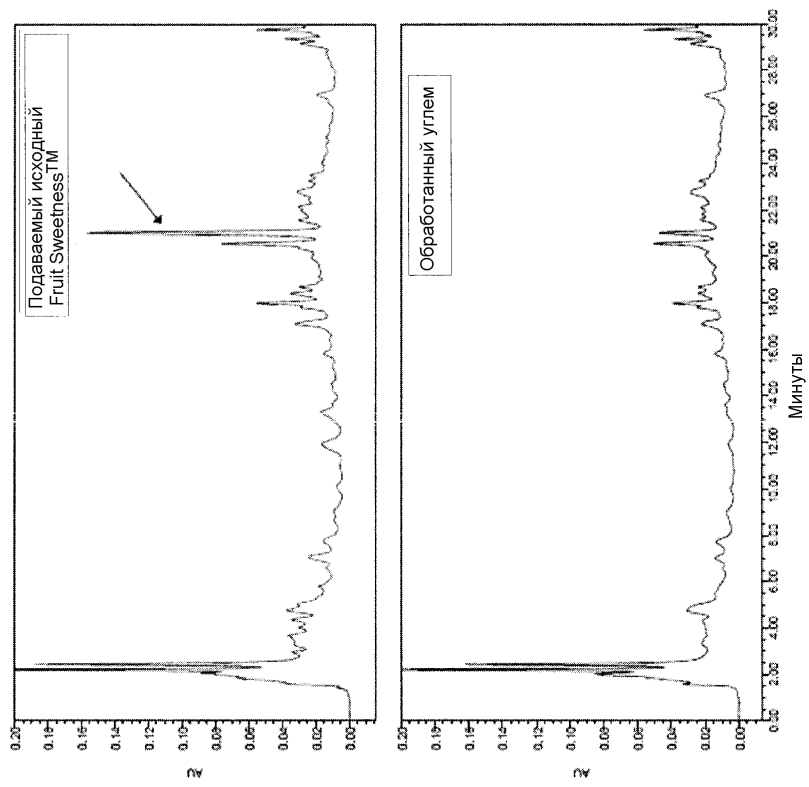
35

40

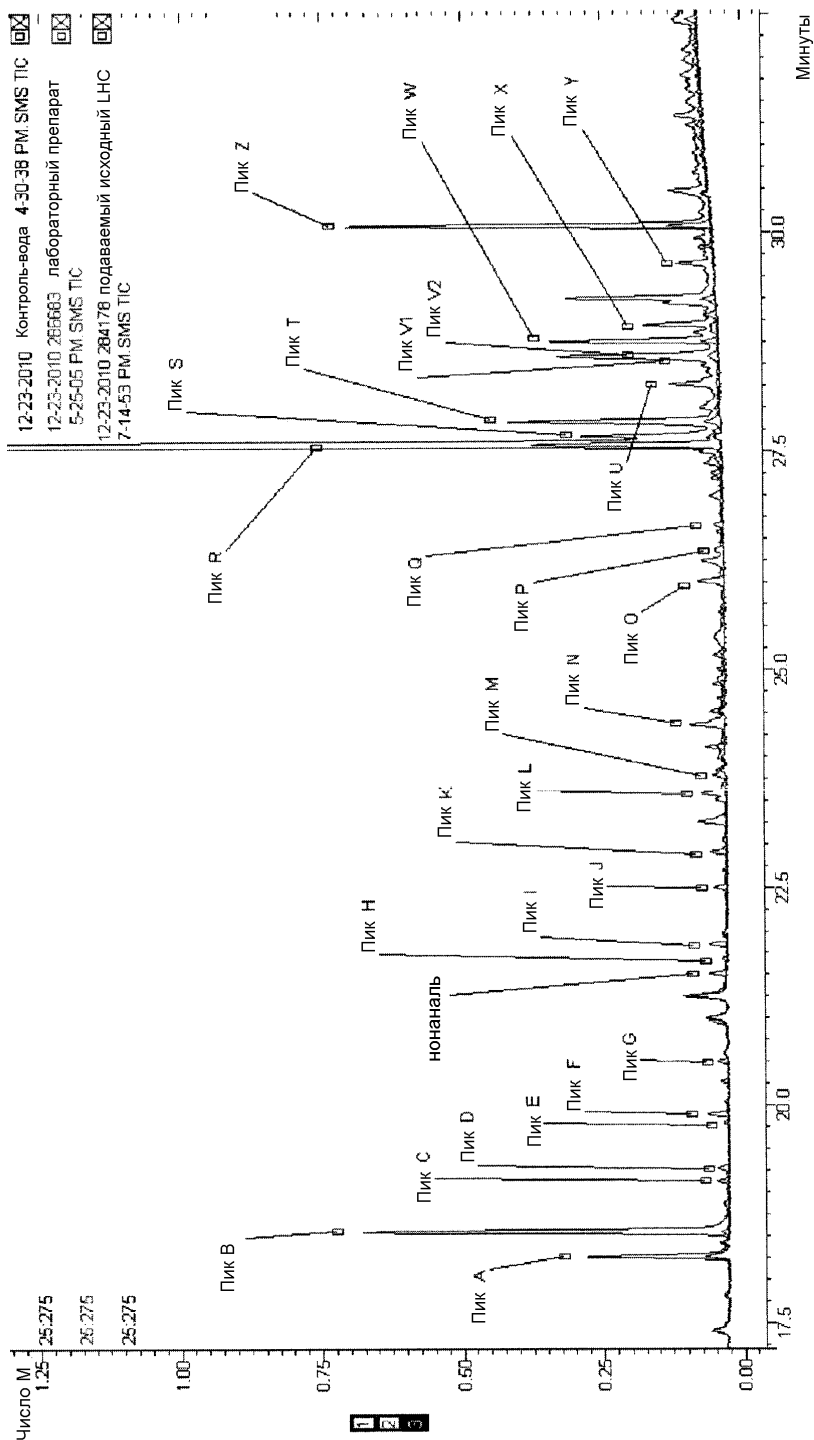
45



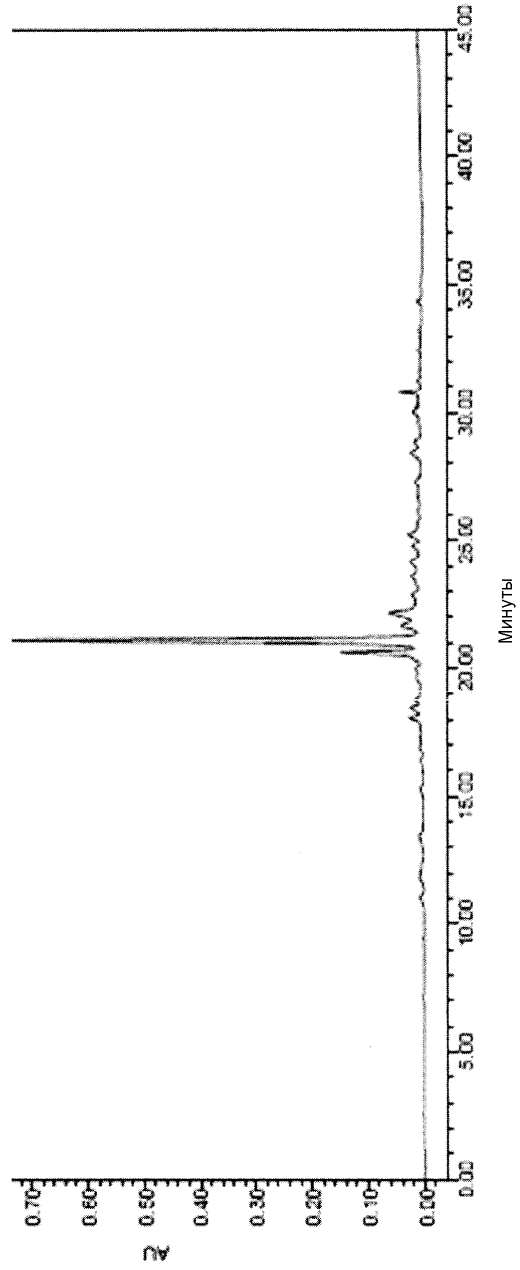
ФИГ.1



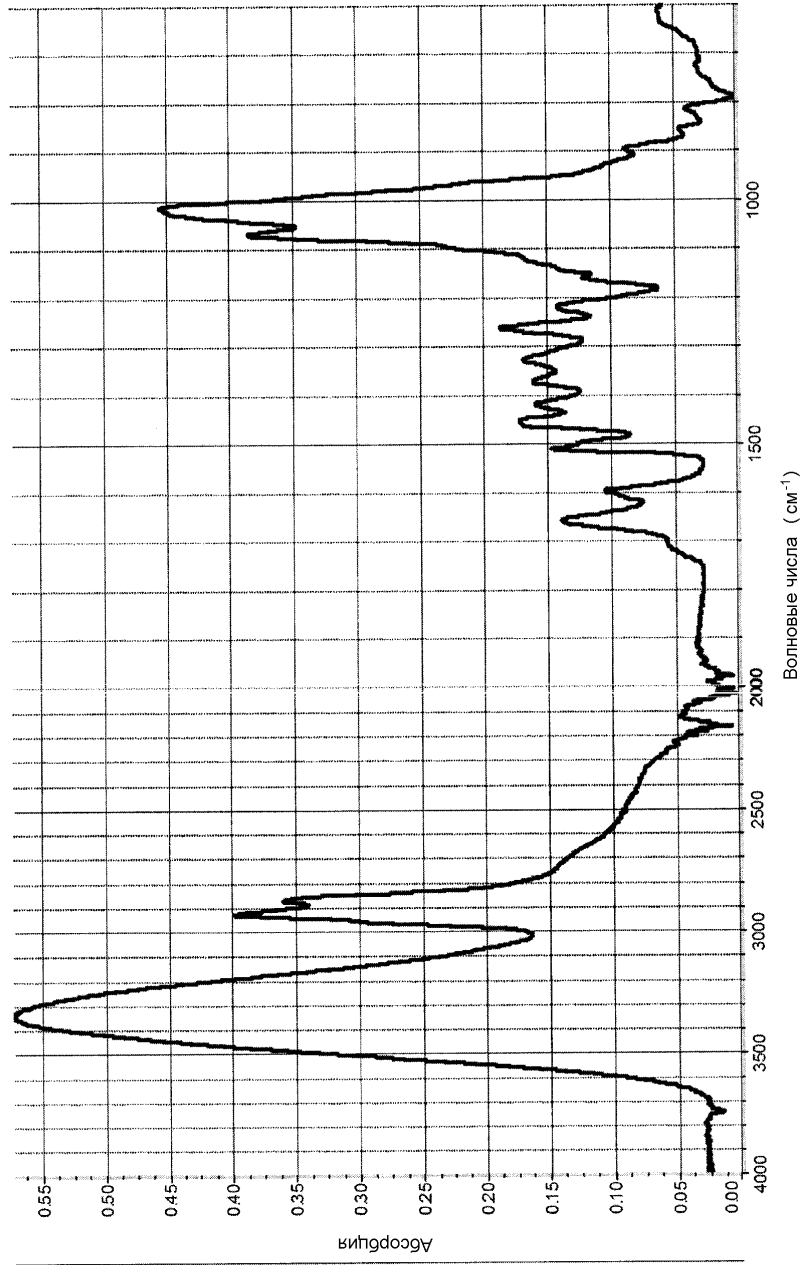
ФИГ.2



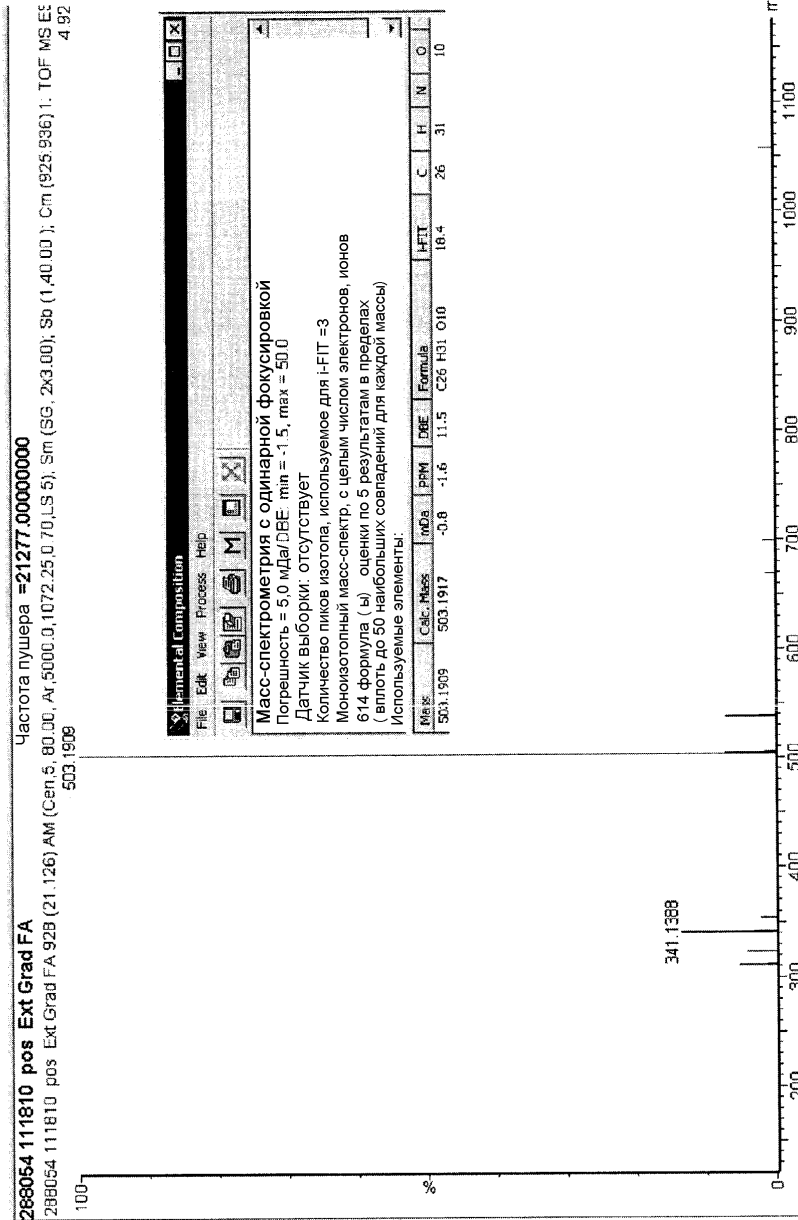
ФИГ.3



ФИГ. 4



ФИГ.5



ФИГ. 6