



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 103402374 B

(45) 授权公告日 2015. 08. 26

(21) 申请号 201280010780. 7

(22) 申请日 2012. 01. 24

(30) 优先权数据

61/437, 399 2011. 01. 28 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2013. 08. 28

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2012/022339 2012. 01. 24

(87) PCT国际申请的公布数据

WO2012/103074 EN 2012. 08. 02

(73) 专利权人 泰特 & 莱尔组分美国公司

地址 美国伊利诺斯州

(72) 发明人 J·R·布里奇斯 A·卡尔森

B·T·波里特 M·昆兰

T·C·雄克 E·F·特哈达 S·Y·周

(74) 专利代理机构 永新专利商标代理有限公司

72002

代理人 过晓东

(51) Int. Cl.

A23L 1/236(2006. 01)

(56) 对比文件

CN 101854814 A, 2010. 10. 06, 说明书第 115、120、216、225 段、实施例 1、表 2.

CN 101327244 A, 2008. 12. 24, 第 2 页第 3、7-8 段.

CN 101690573 A, 2010. 04. 07, 说明书第 10-18、21、22 段.

CN 101854814 A, 2010. 10. 06, 说明书第 115、120、216、225 段、实施例 1、表 2.

审查员 卢建伟

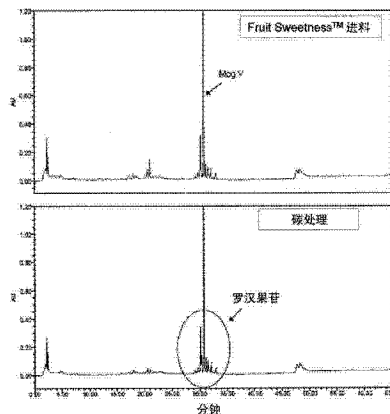
权利要求书2页 说明书16页 附图6页

(54) 发明名称

新蛇菊苷 - 罗汉果苷 V 混合物

(57) 摘要

一种组合物, 包含重量比 $\geq 1:1$ 和 $\leq 6:1$ 的罗汉果苷 V 和新蛇菊苷组分, 其中所述新蛇菊苷组分由选自新蛇菊苷 A、新蛇菊苷 B 和新蛇菊苷 D 的一种或多种化合物组成。纯化罗汉果提取物的方法包括使所述罗汉果提取物与活性炭以及大孔聚合吸附树脂、离子交换树脂或这两者接触。一种组合物, 包含罗汉果提取物, 其中罗汉果苷 V 占所述罗汉果提取物的 50wt%-75wt%, 并且所述组合物包含相对于所述罗汉果苷 V 总计 0-13wt% 的芳香糖苷, 以及相对于所述罗汉果苷 V 0-15ppm 的半挥发性有机化合物。



1. 一种组合物,其包含

a) 罗汉果提取物,其已经用活性炭处理并且包含至少 40wt%的罗汉果苷 V ;和

b) 新蛇菊苷组分,

其中罗汉果苷 V 和新蛇菊苷组分以 $\geq 1:1$ 且 $\leq 6:1$ 的重量比存在于所述组合物中,并且

其中所述新蛇菊苷组分由选自新蛇菊苷 A、新蛇菊苷 B 和新蛇菊苷 D 的一种或多种化合物组成。

2. 权利要求 1 的组合物,其中所述重量比为 $\geq 1.5:1$ 。

3. 权利要求 1 或 2 的组合物,其中所述新蛇菊苷组分以包含甜味甜菊糖苷的甜叶菊提取物的组分提供,其中所述新蛇菊苷组分占所述甜味甜菊糖苷的至少 70wt%。

4. 权利要求 1 或 2 的组合物,其中所述罗汉果苷 V 占所述罗汉果提取物的 45wt% -60wt%。

5. 权利要求 1 或 2 的组合物,其中相对于罗汉果苷 V 的量计算,所述组合物包含总计 0-13wt%的芳香糖苷。

6. 权利要求 1 或 2 的组合物,其中相对于罗汉果苷 V 的量计算,所述组合物包含总计 0-13wt%的分子量为 502 道尔顿的芳香糖苷。

7. 权利要求中 1 或 2 的组合物,其中相对于罗汉果苷 V 的量计算,所述组合物包含总计 0-13wt%的式 $C_{26}H_{30}O_{10}$ 的芳香糖苷。

8. 权利要求 1 或 2 的组合物,其中相对于罗汉果苷 V 的量计算,所述组合物包含总计 0-15ppm wt 的半挥发性有机化合物,所述半挥发性有机化合物具有超过 120 道尔顿的分子量以及在 1atm 压力下大于 150°C 且最高 350°C 的沸点。

9. 权利要求 1 或 2 的组合物,其中所述罗汉果提取物已经额外地与大孔聚合吸附树脂、离子交换树脂或这两者接触。

10. 权利要求 1 或 2 的组合物,其中所述罗汉果提取物已经与大孔聚合吸附树脂、离子交换树脂和活性炭接触。

11. 权利要求 1 或 2 的组合物,其中所述罗汉果提取物已经与大孔聚合吸附树脂、离子交换树脂和活性炭接触,并且以所列的顺序进行接触。

12. 权利要求 1 或 2 的组合物,其中用活性炭处理降低所述罗汉果提取物中芳香糖苷和半挥发性有机化合物的水平。

13. 权利要求 1 或 2 的组合物,其中通过用活性炭处理从所述罗汉果提取物除去农药残留物。

14. 权利要求 1 或 2 的组合物,其还包含热量甜味剂。

15. 权利要求 1 或 2 的组合物,其还包含额外的高强度甜味剂。

16. 一种饮料、食品、口腔护理产品、烟草产品、医药产品或保健品,其包含权利要求 1-15 中任一项的组合物。

17. 一种纯化罗汉果提取物以除去所述罗汉果提取物中存在的芳香糖苷和半挥发性有机化合物杂质以及农药残留物的方法,所述方法包括使所述罗汉果提取物与活性炭接触,接触时间足以有效地降低所述罗汉果提取物中存在的芳香糖苷和半挥发性有机化合物杂质以及农药残留物的水平,

其中进行接触的罗汉果提取物是之前已经与大孔聚合吸附树脂或离子交换树脂中的至少一种接触的罗汉果提取物，

其中所述罗汉果提取物为水溶液的形式，

其中水是所述罗汉果提取物与所述活性炭接触期间存在的唯一载体，并且

其中相对于固体基础的罗汉果提取物使用 2wt% -15wt% 的活性炭。

18. 权利要求 17 的方法，其中进行接触的罗汉果提取物是之前已经与大孔聚合吸附树脂接触的罗汉果提取物。

19. 权利要求 17 或 18 的方法，其中进行接触的罗汉果提取物是之前已经与大孔聚合吸附树脂和离子交换树脂接触的罗汉果提取物。

20. 权利要求 17 或 18 的方法，其中进行接触的罗汉果提取物是之前已经首先与大孔聚合吸附树脂接触，然后与离子交换树脂接触的罗汉果提取物。

21. 权利要求 17 或 18 的方法，其中使所述水溶液通过颗粒活性炭的柱。

22. 权利要求 17 或 18 的方法，其中所述活性炭为粉末、颗粒或珠的形式。

23. 权利要求 17 或 18 的方法，其中进行接触的罗汉果提取物是之前已经与离子交换树脂接触的罗汉果提取物，所述离子交换树脂为阴离子树脂。

24. 权利要求 17 或 18 的方法，其中与活性炭接触的罗汉果提取物通过将罗汉果果实的粉状干提取物溶于水以获得溶解的提取物来制备。

25. 权利要求 24 的方法，其中将溶解的提取物进行微滤。

26. 权利要求 17 或 18 的方法，其中所述活性炭的表面积超过 100m²/g。

27. 权利要求 17 或 18 的方法，其中使所述水溶液通过颗粒活性炭的柱以获得洗脱液，并且随后将所述洗脱液浓缩。

28. 权利要求 27 的方法，其中所述洗脱液通过蒸发或膜浓缩来浓缩。

29. 权利要求 27 的方法，其中通过使用纳滤膜或反渗透膜的膜浓缩来浓缩所述洗脱液。

30. 权利要求 27 的方法，其中在浓缩后将所述洗脱液干燥。

31. 权利要求 30 的方法，其中利用喷雾干燥单元或喷雾团聚单元来干燥所述洗脱液。

32. 一种制备甜味组合物的方法，其中在浓缩后，使通过权利要求 27 的方法获得的洗脱液与选自新蛇菊苷 A、新蛇菊苷 B、新蛇菊苷 D、甜菊糖苷和纯化的甜叶菊提取物的一种或多种组分组合，然后干燥。

新蛇菊苷 - 罗汉果苷 V 混合物

背景技术

[0001] 天然热量甜味剂如蔗糖、葡萄糖和果糖具有理想的口味特征,但是它们增加产品的热量。因此,消费者对视为更健康的替代品的低热量或无热量的甜味剂有很大兴趣。已知无热量的天然或合成的高效甜味剂,但是它们大部分通常具有不像糖那样令消费者满意的风味特征谱。因此,期望开发可以取代糖并具有更理想的味道特征谱的无热量甜味剂。

[0002] 物种甜叶菊 (*Stevia rebaudiana*) (“甜叶菊 (*Stevia*)”) 是某些天然存在的甜味甜菊糖苷的来源。已进行相当多的研究和开发以评价甜叶菊的甜味甜菊糖苷作为无热量甜味剂的用途。可以从甜叶菊提取的甜味甜菊糖苷包括 6 种新蛇菊苷 (即,新蛇菊苷 A-F)、甜菊苷 (来自野生型甜叶菊的提取物中的主要糖苷)、甜菊双糖苷 (*steviolbioside*)、甜叶悬钩子苷 (*rubusoside*) 和甜苷 (*dulcoside*)。

[0003] 基于新蛇菊苷 A 和其他甜味甜菊糖苷的商业低热量或无热量甜味剂往往具有苦味和甘草回味。这些特征在约 300ppm 以上的浓度时特别值得注意。在食品应用中,优选使用水平 (8-10% 糖当量值) 通常为约 500ppm- 约 1000ppm,这高于在首先注意到后味的范围。因此持续需要包括甜味甜菊糖苷在内的减少热量、低热量和 / 或无热量的甜味剂,其具有减少的或者没有苦味、不期望的口味 (例如,甘草) 的味道特征谱,或者更像天然热量甜味剂的甜味特征谱,或者这类特性的组合。

发明内容

[0004] 在一方面,本发明提供一种组合物,其包含重量比 $\geq 1:1$ 且 $\leq 6:1$ 的罗汉果苷 (*mogroside*)V 和新蛇菊苷组分,其中所述新蛇菊苷组分由选自新蛇菊苷 A、新蛇菊苷 B 和新蛇菊苷 D 的一种或多种化合物组成。

[0005] 在另一方面,本发明提供一种纯化罗汉果 (*Luo Han Guo*) 提取物的方法,所述方法包括使罗汉果提取物与活性炭以及大孔聚合吸附树脂、离子交换树脂或这两者接触。

[0006] 在另一方面,本发明提供一种包含罗汉果提取物的组合物,其中罗汉果苷 V 占所述罗汉果提取物的 50wt%-75wt%,并且所述组合物包含相对于所述罗汉果苷 V 总计 0-13wt% 的芳香糖苷,以及相对于所述罗汉果苷 V 0-15ppm 的半挥发性有机化合物。

附图说明

[0007] 图 1 分别在上方和下方的色谱图中示出示例性干罗汉果提取物的 HPLC 分析以及已根据本发明进行碳处理的相同物质的分析。

[0008] 图 2 示出图 1 所示的色谱图的放大视图。

[0009] 图 3 示出罗汉果样品中存在的半挥发性化合物的气相色谱图,一个在用活性炭处理之前进行,并且一个在根据本发明用活性炭处理之后进行。

[0010] 图 4 示出包含产生霉味的组分的罗汉果部分的 HPLC 色谱图。

[0011] 图 5 示出罗汉果部分的 ATR-FTIR 谱,显示出与芳香糖苷的存在一致的特征带。

[0012] 图 6 示出图 4 中的主要组分的飞行时间 (ToF) 准确质谱。

具体实施方式

[0013] 定义

[0014] 如本文所用,短语“甜味甜菊糖苷”表示具有甜菊醇 (steviol) 二萜环系统的一般结构的任何天然存在的化合物,其含有一个或多个化学连接至该环的糖残基。

[0015] 如本文所用,短语“新蛇菊苷组分”表示存在的新蛇菊苷 A、B 和 D 的总和,应理解可能事实上仅存在这些中的一种或两种。

[0016] 包含新蛇菊苷-罗汉果苷 V 混合物的甜味组合物

[0017] 现在公开罗汉果苷 V 与由新蛇菊苷 A、B 和 D 中的一种或多种组成的新蛇菊苷组分的混合物提供优异的口味特征,在许多情况下,当在相同水平的甜度比较时,优于单独的新蛇菊苷组分或罗汉果苷 V。在一些系统中,改良的味道在约 pH2- 约 pH8 的 pH 值下最明显。

[0018] 罗汉果苷 V 可以获得自罗汉果提取物,其可商购自许多来源。制备这类提取物的示例性方法描述于美国专利第 5,411,755 号和美国公开号 2006/0003053,两者援引加入本文用于所有目的。罗汉果提取自原产于中国南部和泰国北部的草本多年生藤本植物罗汉果 (*Siraitia grosvenorii*) 的果实。它是罗汉果 (*Siraitia*) 属中的 4 个物种之一。植物学同义词包括罗汉果 (*Momordica grosvenorii*) 和罗汉果 (*Thladiantha grosvenorii*)。所述提取物比蔗糖甜约 200-300 倍。

[0019] 通常,罗汉果苷 V 是罗汉果提取物的最丰富的单一罗汉果苷组分,伴随有其他罗汉果苷如罗汉果苷 I、II、III、IV 和 VI 以及其他提取的物质,例如多酚、类黄酮、类黑精、萜、蛋白质、糖类、芳香糖苷和半挥发性有机化合物。在本发明的一些实施方案中,以罗汉果提取物的形式提供罗汉果苷 V (未加工的或者纯化和 / 或浓缩以增加罗汉果苷 V 含量)。在一些实施方案中,罗汉果苷 V 占所述提取物的至少 40wt%,或者至少 45wt%,或者至少 50wt%。通常,其占所述提取物的最多 95wt%,所述提取物的最多 85wt%,所述提取物的最多 75wt%,所述提取物的最多 70wt%,或者最多 65wt%,或者最多 60wt%。

[0020] 在一些本发明的甜味组合物中,罗汉果苷 V 比新蛇菊苷组分的重量比为至少 1:1,或者至少 1.3:1,或者至少 1.5:1。所述重量比通常为最多 5:1,或者最多 4:1,或者最多 3.5:1,或者最多 3:1,或者最多 2.5:1,或者最多 2:1,或者最多 1.9:1,或者最多 1.8:1,或者最多 1.7:1。

[0021] 新蛇菊苷组分由新蛇菊苷 A、B 和 / 或 D 中的一种或多种组成。新蛇菊苷组分通常占存在的总甜味甜菊糖苷的至少 65wt%,或者至少 70wt%,或者至少 75wt%,或者至少 80wt%,或者至少 90wt%,或者至少 97wt%。如果存在,甜味甜菊糖苷的剩余部分 (balance) 可以包含一种或多种新蛇菊苷 C、E 和 / 或 F、甜菊苷以及不是新蛇菊苷组分部分的任何其他甜味甜菊糖苷。通常,新蛇菊苷 A 占存在的甜味甜菊糖苷的至少 50wt%,或者至少 60wt%,或者至少 70wt%,或者至少 80wt%,或者至少 90wt%,或者至少 95wt%。新蛇菊苷 A、B 和 D 可以获得自甜叶菊的提取物,其可商购自许多来源。已知并且已在文献中描述制备这类提取物以及从所述提取物获得相对纯的新蛇菊苷 A、B 或 D 的许多不同方法。在一典型方法中,将甜叶菊植株干燥并进行水提取方法。这种粗提取物包含约 50% 新蛇菊苷 A。通常使用乙醇或甲醇作为溶剂,通过结晶技术分离提取物中的各种糖苷分子,允许分离纯新蛇菊苷 A、B 和 D。然后将各纯化的糖苷组合使用以提供可用于本发明的新蛇菊苷组分。

[0022] 虽然本发明的甜味组合物可以包含不同量的各种类型甜味剂的混合物,但是在一些实施方案中,所述组合物基本上由任选地纯化和 / 或浓缩的罗汉果提取物以及任选地纯化和 / 或浓缩的甜叶菊提取物组成。

[0023] 去除罗汉果的异味组分

[0024] 在广泛研究之后,现在还发现罗汉果提取物中某些杂质的存在导致一些味道测试者描述为“霉味”的异味。具体地,已鉴定芳香糖苷和半挥发性有机化合物产生这种不期望的口味,虽然还可能存在额外的霉味或其他异味组分。一种特别的芳香糖苷的分子量为 502 道尔顿,并且看来特别地产生霉味。这种化合物的分子式为 $C_{26}H_{30}O_{10}$, 并且根据本发明,所有具有这种分子式的化合物在一些实施方案中是受限的。实现足够低水平的这种化合物的任何方法适合本发明的目的。一种合适的方式是使罗汉果苷 V 的水溶液(例如任选地纯化和 / 或浓缩的罗汉果提取物的形式)通过颗粒活性炭的柱。还可以使用活性炭的其他形式,例如粉末。碳处理通常还去除额外的霉味或其他异味组分以及农药残留和一般在用于人食用的成分中不期望的其他这类物质。通常,水是碳处理期间存在的唯一载体,并且不加入有机溶剂。在一些实施方案中,将罗汉果提取物用大孔聚合吸附树脂、离子交换树脂和活性炭处理。通常处理会按照这个顺序,但不是必须如此。一种示例性大孔聚合树脂可商购自 Rohm and Haas, Philadelphia, PA, 商品名为 AMBERLITE[®] XAD1180N。一种示例性合适的离子交换树脂为阴离子树脂,商品名为 AMBERLITE[®] FPA90CL, 也可获得自 Rohm and Haas。

[0025] 处理必须使用足量的活性炭,并且必须进行足够长的接触时间以将一种或多种芳香糖苷以及半挥发性有机化合物杂质的水平减少至可接受的水平。在本发明的一些实施方案中,甜味组合物包含总计 0-13wt% 的芳香糖苷,或者 0-11wt%, 或者 0-10wt%, 或者 0-9wt%, 所有均相对于罗汉果苷 V。芳香糖苷可以为苯基糖苷,或更具体地为酚糖苷,或者它们可以为香豆素糖苷,或更具体地为呋喃香豆素糖苷。在一些实施方案中,这些相同的限制也适合分子量 502 的化合物,并且更具体地适合式 $C_{26}H_{30}O_{10}$ 的化合物,在每种情况下指分子量 502 或式 $C_{26}H_{30}O_{10}$ 的所有化合物的总量。

[0026] 在本发明的一些实施方案中,甜味组合物包含总计 0-15ppm wt 的半挥发性有机化合物,或者 0-11ppm wt, 或者 0-7ppm wt, 或者 0-3ppm wt, 所有均相对于罗汉果苷 V。如本文所用,术语“半挥发性”表示这样的化合物,其具有超过 120 道尔顿的分子量以及在 1atm 压力下大于 150°C 且最高 350°C 的沸点。这类半挥发性有机化合物可以包含但不限于表 7 所列的化合物。所述半挥发性有机化合物可以例如包括脂肪族呋喃、不饱和脂肪族化合物(aliphatics)、酯、多环烃和 / 或萜类化合物。

[0027] 可以将通常包含至少 40% 罗汉果苷 V(d. s. b) 的可商购罗汉果粉状果实提取物用活性炭如下处理。将干提取物以至少约 1wt% 且通常最多约 70wt% 的浓度溶于去离子水。将水加热至足以促进粉状物质溶解的温度,通常在环境温度和 160° F(71.1°C) 之间的范围内,并且任选地使用微滤膜或者使用具有不反应性助滤剂的滤纸过滤。微滤的目的是去除可以使产品变坏的不溶性蛋白和 / 或微生物。用活性炭(active carbon)(也称作活性炭(activated carbon))吸附所得的滤液。碳可以是可用的活性炭的任何形式,并且可以例如源自木材、烟煤、褐煤、椰子、骨炭或任何其他来源。在一实施方案中,使用的活性炭是通过

蒸汽活化褐煤而制备的活性炭。通常,碳为颗粒形式,但是也可以使用其他物理形式如粉末或珠活性炭。一般使用高度多孔并具有高表面积(例如,超过 $100\text{m}^2/\text{g}$,超过 $200\text{m}^2/\text{g}$,或者超过 $300\text{m}^2/\text{g}$)的活性炭是有利的。引起异味的不期望的组分(以及其他不期望的物质如农药)被吸附至碳,但是改良的味道物质不被吸附并继续洗脱。该方法允许50%-99.9%的回收率(干物质基础)。使用的活性炭的量可以为0.05%-150%(罗汉果果实提取物的水溶液中存在的干物质的百分比)。更典型地,为了实现足够低水平的异味组分,在固体基础上使用相对于罗汉果果实提取物的至少2wt%或至少5wt%的活性炭。在某些实施方案中,至少6wt%或至少10wt%给出最佳结果。通常,最多使用15wt%。

[0028] 在一典型方法中,用期望量的活性炭(通常为颗粒形式)填充柱,并且使去离子水以1-10床体积/小时范围的流速从顶部至底部或从底部至顶部(下流或上流方向)通过该柱。通过的水的量可以为2-5床体积。水在与活性炭接触的时候可以为升高的温度(例如, 135°F - 185°F),这有助于在随后罗汉果果实提取物的水溶液通过柱的时候减少不期望的物质如重金属从碳渗出。一旦水置换剩余的空气和来自碳的一些细微颗粒,将罗汉果果实提取物的水溶液以1-10床体积/小时范围的流速向柱进样。应当给柱装夹套,并且夹套温度应当维持在与进料溶液相同的温度,通常在室温至 71°C 的范围中。最初,进料置换柱中的水。一旦柱洗脱液显示出存在物质的迹象,则将洗脱液收集为改良的味道物质。洗脱液中固体的存在可以通过测量折射率(RI)来评价。为了这个目的通常建立RI与干物质之间的关系。

[0029] 将罗汉果果实提取物进样至柱直至达到靶处理水平。一旦进样结束,将柱中仍存在的剩余罗汉果果实提取物用去离子水或反渗透水洗脱(chase),以置换罗汉果物质。持续收集流出液直至流出液的折射率接近单独水的折射率。

[0030] 任选地,如果期望,可以将回收的改良的味道物质浓缩以将DS%(干物质)提高至任何合适的水平用于随后的干燥。可以通过蒸发或膜,或者通过任何其他合适的方法来完成浓缩。通过使用纳滤膜(200Da. M. W. C. O.)或反渗透膜(脱盐测定 $>98\%$)膜浓缩是可能的。两种膜均可以单独使用而不损失显著量的罗汉果苷至渗透液。然后通过使用常规喷雾干燥单元或通过使用常规喷雾团聚单元或其他方法干燥该物质。或者该物质可以直接使用。在一实施方案中,在干燥之前,将回收的改良的味道物质与一种或多种其他组分如新蛇菊苷A、B和/或D或者纯化的包含甜味甜菊糖苷的甜叶菊提取物混合。

[0031] 包含新蛇菊苷-罗汉果苷V混合物的甜味组合物的用途

[0032] 可以利用已知的方法加工包含新蛇菊苷-罗汉果苷V混合物的组合物以改变粒径和物理形态。诸如团聚、喷雾干燥、滚筒干燥和其他形式的物理加工的方法可以用来调整粒径以提供更好的流动、水合或溶解特性。所述组合物可以液体形式提供,任选地包含一种或多种防腐剂和/或加工助剂,以在特定应用中便于使用。可以将包含新蛇菊苷-罗汉果苷V混合物的组合物与填充剂如麦芽糖糊精和相似的化合物共同加工以提供具有受控的甜度、剂量、效力和操作特性的产物。

[0033] 本发明的甜味组合物在食品,即可食用或咀嚼的组合物如食物、饮料、药物、糖果、口香糖等中可用作减少热量、低热量或无热量甜味剂。已发现本发明的甜味组合物可以具有更像糖的甜味特征谱,并且具有与仅包含甜味甜菊糖苷的甜味剂相比减少的苦的后味和减少的异味(例如,甘草)。测试显示,在大多数情况下,当在提供相等甜度的浓度下测试

时,受试个体认为本发明的甜味组合物优于包含 97% 新蛇菊苷 A 的组合物。具体地,所述甜味组合物提供即时的甜味和延迟的甜味,导致更令人满意的味道。预期将本发明的甜味组合物加入食物和饮料会导致与用已知的包含甜味甜菊糖苷的甜味组合物(如具有 97% 新蛇菊苷 A 作为甜味剂的组合物)制备的食物和饮料相比更美味的食物和饮料。

[0034] 除了新蛇菊苷-罗汉果苷 V 混合物,本发明的甜味剂组合物可以包含其他高强度甜味剂。例如,可以包含甜味甜菊糖苷。合适的高强度甜味剂的具体实例包括天然高强度甜味剂,例如:

[0035] 甜苷 A、甜苷 B(也称作新蛇菊苷 C)、甜叶悬钩子苷、罗汉果苷 III、罗汉果苷 IV、罗汉果苷 VI、赛门苷(siamenoside)、莫纳甜(monatin)及其盐(莫纳甜 SS、RR、RS、SR)、仙茅甜蛋白、甘草酸及其盐、奇异果甜蛋白、应乐果甜蛋白、马槟榔甜蛋白、brazzein、hernandulcin、叶甜素、菝葜苷和根皮苷;以及

[0036] 人工高强度甜味剂,例如:

[0037] 糖精、阿斯巴甜、三氯蔗糖、纽甜(neotame)、甜蜜素和丁磺酸钾。

[0038] 根据本发明,新蛇菊苷-罗汉果苷 V 混合物还可以与热量甜味剂如糖(例如,高果糖玉米糖浆、蔗糖、果糖等)和多元醇(例如,山梨醇、木糖醇、乳糖醇等)和/或其他低热量甜味剂组合以产生具有减少的热量值的甜味组合物。

[0039] 在一些实施方案中,本发明提供包含甜味组合物的食品,所述甜味组合物具有高浓度的新蛇菊苷-罗汉果苷 V 混合物。基本上任何可食用或咀嚼的组合物可以根据本发明增甜。非限制性实例包括食品(例如,烘培食品、汤、调味汁、加工的肉类、罐头水果、罐头蔬菜、乳制品、冷冻甜点);饮料(例如,碳酸饮料、茶饮料、运动饮料、乳制品饮料、酒精性饮料、能量饮料、风味水、维生素饮料、果汁饮料、和果汁、粉状软饮料),药物或医药产品(例如,片剂、锭剂、混悬剂等),保健品(例如,补品、维生素等),糖果或甜点;口香糖;烟草制品(例如,嚼烟);等等。包含的甜味组合物的量有效地赋予增甜产品期望的甜度。在一些实施方案,增甜产品的 pH 为至少约 2 且不大于约 8。

[0040] 在一些实施方案中,食品包含如本文所述的甜味组合物,所述甜味组合物包含新蛇菊苷-罗汉果苷 V 混合物以及一种或多种额外的甜味甜菊糖苷。在一些实施方案中,包含新蛇菊苷组分、额外的甜菊糖苷组分和罗汉果苷 V 组分的甜味组合物以至少约 50ppm,或者至少约 200ppm,或者至少约 500ppm,或者至少约 1000ppm,或者至少约 1500ppm,或者至少约 3500ppm,或者至少约 5000ppm 的总浓度存在于食品中。

[0041] 实施例

[0042] 实施例 1:甜叶菊-罗汉果苷 V 混合物比新蛇菊苷 A 偏好测试

[0043] 将包含 50wt% 罗汉果苷 V 的固体罗汉果提取物与主要包含新蛇菊苷 A 的甜叶菊产物的混合物在甜度和偏好组测试中与 97wt% 新蛇菊苷比较。罗汉果提取物是可获得自 Biovittoria(Guilin, People's Republic of China) 的商品名为 Fruit Sweetness™ 的商业产品的纯化形式,其中纯化通过如本文其他地方所述用活性炭处理以去除产生异味的芳香糖苷和半挥发性有机化合物。这种产品在下文中作为样品 A 进行鉴定。甜叶菊产品是可获得自 GLG Life Tech Corporation of Vancouver, B. C., Canada 的商品名为 BlendSure™7.5 的商业产品,其由约 75wt% 新蛇菊苷 A 和 25wt% 甜菊苷组成。

[0044] 偏好测试

[0045] 通过一组味道测试者,对在 pH3 柠檬酸缓冲液 (0.045% 柠檬酸和 0.013% 柠檬酸钠) 中具有等于 97% 新蛇菊苷 A 的甜度的 BlendSure7.5 和样品 A 的混合物的甜度和偏好进行成对比较测试。用 24-46 个评价的完全区组设计进行测试。轮换呈现顺序。溶液在室温下于用 3 位数编码标记的 2 盎司梳芙厘 (soufflé) 杯中提供。使小组成员饮用每个样品的至少一半。测试之间有 1 分钟的强制等待期以清理 (clear) 小组成员的味觉。让小组成员鉴定更甜并且他们更喜欢的溶液。在测试之前和期间,小组成员可用瓶装水、2% 蔗糖溶液和无盐饼干清理他们的味觉。如下文所示,用二项检验以 0.05 的 α 风险如双尾检验分析甜度结果。

[0046] 通过二项检验和计算的 Thurstonian d' 分析甜度和偏好问题的结果。一尾二项检验的 p - 值计算为

$$[0047] \quad 1 - \sum_{k=0}^c \binom{n}{k} p_0^k (1-p_0)^{n-k}$$

[0048] 其中 c 为成功的次数, n 为试验的次数, 并且 p_0 为机会概率。当 p - 值小于先验设置的 α 风险时, 认为测试是统计学显著的。双尾 p - 值是如上文计算的一尾 p - 值的两倍。

[0049] Thurstonian d' 是心理生理差异的线性量度。当在 75% 的试验中判断刺激更强时, 一般认为 $d' = 1$ 为最小可辨差异 (JND)。Thurstonian d' 独立于测试方法, 并且对于成对比较测试, 其计算为

$$[0050] \quad p_c = \Phi(d' / \sqrt{2})$$

[0051] 其中 p_c 为成功的比例, 并且 $\Phi(\cdot)$ 为标准正态分布的累积分布函数。这些统计学计算的完整处理可以在关于该主题的标准教科书中找到 (Bi J., "Sensory Discrimination Tests and Measurements," Blackwell Publishing, 2006, 第 2 和 9 章)。

[0052] 合并的重复测试结果如下文表 1 所示。

[0053] 表 1

[0054]

样品				偏好			甜度		
Ppm 混合 物样品 A	Ppm 混合物 BlendSure	分数 样品 A	Ppm 对照 Reb A	Reb A 计数	混合物 计数	p-值 一尾	Reb A 计数	混合物 计数	p-值 双尾
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

[0055] 在 pH3 柠檬酸缓冲液中且在无显著差异 (p- 值 >0.05 双尾) 的甜度水平下, 上述数据表明对包含某些范围内的罗汉果苷 V 比新蛇菊苷 A 比例的混合物的偏好。具体地, 可以看到以下内容。

[0056] 675ppm 样品 A 和 225BlendSure7.5 的混合物 (75% 样品 A, 总计 900ppm) 显著优于 900ppm 的 97% 新蛇菊苷 A。

[0057] 825ppm 样品 A 和 275BlendSure7.5 的混合物 (75% 样品 A, 总计 1100ppm) 显著优于 1000ppm 的 97% 新蛇菊苷 A。

[0058] 444ppm 样品 A 和 296BlendSure7.5 的混合物 (60% 样品 A, 总计 740ppm) 与 605ppm 的 97% 新蛇菊苷 A 没有明显不同。

[0059] 547ppm 样品 A 和 365BlendSure7.5 的混合物 (60% 样品 A, 总计 912ppm) 显著优于 705ppm 的 97% 新蛇菊苷 A。

[0060] 660ppm 样品 A 和 440BlendSure7.5 的混合物 (60% 样品 A, 总计 1100ppm) 在偏好上与 1000ppm 的 97% 新蛇菊苷 A 没有明显不同。

[0061] 相对于 97% 新蛇菊苷 A, 包含 75% 样品 A 的样品 A 和 BlendSure7.5 的混合物比包含 60% 样品 A 的混合物表现更好。

[0062] 随着甜度水平的升高, 样品 A 和 BlendSure7.5 的混合物更优于 97% 新蛇菊苷 A。

[0063] 实施例 2: 甜叶菊 - 罗汉果苷 V 混合物比甜叶菊偏好测试

[0064] 将 pH3 柠檬酸缓冲液 (0.045% 柠檬酸和 0.013% 柠檬酸钠) 中的包含 50wt% 罗汉果苷 V 的固体罗汉果提取物和主要包含新蛇菊苷 A 的甜叶菊产物的混合物与甜叶菊产物在甜度和偏好组测试中进行比较。混合物和甜叶菊产物如实施例 1 所述。通过构建等效图 (异效应曲线) 可以检测到协同作用, 其中将具有相同效果 (在这种情况下为甜度) 的两种物质的浓度绘制在图表上, 轴为所述物质的浓度。当两种物质之间没有协同作用时为线性等效图结果。当两种物质之间有协同作用时为具有向下弯曲结果的等效图。等效图和协同作用的完整讨论可以参见 Berenbaum, "What is Synergy", *Pharmacological Reviews*, Vol. 1989, No. 41 pages 93-129. 从线性等效图预测具有等于 500ppm、700ppm 和 900ppm

BlendSure7.5 的甜度的 BlendSure7.5 和样品 A 的混合物没有甜度协同作用。

[0065] 用一组味道测试者对与 500ppm、700ppm 和 900ppm BlendSure7.5 的水平一样甜的 BlendSure7.5 和样品 A 的混合物的甜度和偏好进行成对比较测试。用 34-44 个评价的完全区组设计进行测试。轮换呈现顺序。溶液在室温下于用 3 位数编码标记的 2 盎司梳芙厘杯中提供。使小组成员饮用每个样品的至少一半。测试之间有 1 分钟的强制等待期以清理小组成员的味觉。让小组成员鉴定更甜并且他们更喜欢的溶液。在测试之前和期间,小组成员可用瓶装水、2%蔗糖溶液和无盐饼干清理他们的味觉。如实施例 1 中分析结果,并且在表 2 中总结。

[0066] 表 2

[0067]

样品				偏好			甜度		
Ppm 混合 物样品 A	Ppm 混合物 BlendSure	分数 样品 A	Ppm 对照 BlendSure	BlendSure 计数	混合物 计数	p-值 一尾	BlendSure 计数	混合物 计数	p-值 双尾
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

[0068] 可以从上述数据看到,没有 BlendSure7.5 与样品 A 之间的甜度协同作用的证据。但是,随着样品 A 比 BlendSure7.5 的比例增加,与单独 BlendSure7.5 相比,对 BlendSure7.5 和样品 A 的混合物的偏好增加,并且甜度也增加。

[0069] 实施例 3:从罗汉果提取物去除芳香糖苷和半挥发性化合物

[0070] 将容量为约 115ml 的 3' x1/2" ID 夹套玻璃柱 (Ace 玻璃掺入) 用已用沸水新鲜洗涤的约 57g 天然粒状活性炭 (来自 Calgon Corporation 的 CAL12x40) 填充。将柱夹套加热至 60°C 并且在实验持续期间维持在该温度。填充柱之后,使约 500mL 去离子水以 2.5mL/min 的流速通过碳床以置换和去除碳细粒。通过将 1.241kg 的 Biovittoria Fruit Sweetness™ 溶于 3.318kg 的 Milli-Q 水 (Milli-Q 反渗透水纯化系统提供的水,可获得自 Millipore Corp.) 来制备 Biovittoria Fruit Sweetness™ 的 27%wt 溶液 (约 50wt% 罗汉果苷 V 干固体基础 (dsb))。然后将该溶液加热至 60°C,使其通过 Millipore Optiseal Durapore0.22 μm 亲水折叠筒式过滤器至无菌进料瓶,并且在运行期间维持在 60°C。

[0071] 利用 MASTERFLEX® 管 13 和蠕动泵 (MASTERFLEX® 泵) 使该溶液以 2.6g/min (等于 1.25 床体积 / 小时) 的速度通过柱。在 90 分钟部分中收集洗脱液, 平均质量为 234 克 / 部分。部分 19 (运行时间: 28.5 小时) 之后, 品尝洗脱液, 并且非正式地确定其具有比进样物质显著更好的味道。因此, 将额外的 355.5g 的 Biovittoria Fruit Sweetness™ 溶于 945.3g 的 Milli-Q 水, 使其达到 60°C, 通过 Millipore Optiseal Durapore 0.22 μm 亲水折叠筒式过滤器, 并且将其加入进料瓶中。37.5 小时之后, 通过将柱进料变为 Milli-Q 水 (@60°C) 来开始除甜 (术语“除甜”理解为洗涤柱以置换剩余的 Fruit Sweetness™ 溶液)。将柱除甜 6 小时直至洗脱液的折射率与水的折射率相似。在所有部分中收集的物质对应于进样至该装置的干物质的约 98wt% 总质量收率。进样至该装置的总物质的处理水平 (1241g+335g) 计算为 3.61wt%。通过比较 Fruit Sweetness™ 的水溶液、部分 1-5 的复合物、部分 1-10 的复合物、部分 1-15 的复合物、部分 1-20 的复合物以及部分 1-25 的复合物, 圆桌的 8 位有经验的品尝员比较了关于减少的异味的可接受性。发现 1-5、1-10 和 1-15 的复合物表现出与 Fruit Sweetness™ 进料物质相比显著水平的味道改良。1-15 的复合物包含 947g 干物质, 因此对应于 6.0wt% 的碳处理水平。此后部分 1-15 的复合物鉴定为样品 A (286683)。

[0072] HPLC 用来确定 Biovittoria Fruit Sweetness™ 进料以及碳处理后味道更好的罗汉果洗脱液的芳香糖苷组成。Waters2695 分离模块配备 Waters2487 双 λ 吸光度检测器以及具有 Phenomenex Gemini C18 安全筒, 4x3mm 的 Phenomenex Gemini C18 柱, 5 μm, 150x4.6mm。在 1.0mL/min 的流速和 40°C 的柱温下, 将下文列出的乙腈 / 水梯度用作流动相。使用 203nm 下的 UV 检测, 并且进样体积为 40 μL。

[0073] 流动相: 乙腈 / 水体积 % 线性分段梯度

[0074]

时间 [min]	乙腈	H ₂ O
0	20	80
15	30	70
20	50	50
25	50	50
30	20	80

[0075] 纯罗汉果苷 V 标准品 (ChomaDex, Inc.) 用于在 203nm 下检测的所有组分的校准定量。表 3 总结了在干固体基础 (d. s. b) 上以罗汉果苷 V 计的组分的 wt%。在 Biovittoria Fruit Sweetness™ 进料和碳洗脱液之间, 在上述限定条件下于 3.5-4.5 分钟的范围中, 观察到从 HPLC 柱洗脱的芳香糖苷的显著减少, 并且这种减少对应于注意到的显著味道改良。

[0076] 表 3

[0077]

样品 ID	总样品的 Mog V wt%, dsb	以 Mog V 计的总样品的芳香糖苷 wt%	相对于 Mog V 的芳香糖苷 wt%
Biovittoria Fruit Sweetness™ 进料(284178)	49.1%	7.3%	14.8%
罗汉果样品 A (286683)	50.9%	4.2%	8.3%

[0078] 通过以下条件限定,用火焰离子化检测 (FID) 的顶空 GC 用来确定罗汉果进料以及碳处理后回收的味道更好的罗汉果中的半挥发性有机化合物的组成。

[0079] Combi PAL 自动进样器

[0080] 模式 : 顶空

[0081] 注射器体积 : 1mL

[0082] 注射器温度 : 85℃

[0083] 搅拌器温度 : 80℃

[0084] 预温育时间 : 30 分钟

[0085] 预温育搅拌器速度 : 500rpm (5sec 开, 2sec 关)

[0086] 柱塞填充速度 : 200 μ L/sec

[0087] 粘度延迟 : 12sec

[0088] 预进样延迟 : 0sec

[0089] 柱塞进样延迟 : 100 μ L/sec

[0090] 进样后延迟 : 10sec

[0091] 注射器冲洗时间 : 3min

[0092] GC 循环时间 : 54min

[0093] Varian3800GC

[0094] 烤箱 :

[0095] 初始温度 : 40℃

[0096] 初始维持时间 : 5 分钟

[0097] 斜坡 : 7.5℃ /min

[0098] 最终温度 : 235℃

[0099] 最终维持时间 : 14 分钟

[0100] 前进气道 (1177) :

[0101] 温度 : 250℃

[0102] 模式 : 无分流

[0103] 柱 :

[0104] 类型 : Rtx-624 (30m x0.25mm x1.4 μ m) - Restek Cat#10968

[0105] 模式 : 恒流

[0106] 流速 : 1.0mL/min (Helium)

[0107] 中阀烤箱 :

[0108] 温度 : 250℃

[0109] Varian4000FID

- [0110] 温度 :250℃
- [0111] 补气 :2mL/min(He)
- [0112] H₂流速 :40mL/min
- [0113] 空气流速 :450mL/min
- [0114] Varian4000 离子阱 MS
- [0115] 扫描类型 :完全
- [0116] 质量范围 :25-275m/z
- [0117] 扫描时间 :0.00-45.00 分钟
- [0118] 离子化类型 :EI
- [0119] 靶 TIC :20000 计数
- [0120] 最大离子时间 :25000 μ sec
- [0121] 发射电流 :10 μ amps
- [0122] 平均扫描 :3 μ 扫描 (0.60sec/ 扫描)
- [0123] 数据传输速率 :1.67Hz
- [0124] 倍增器偏移 :0V
- [0125] 将纯 D- 苧烯标准品 (Sigma-Aldrich) 用于图 3 所示的半挥发性有机化合物组分的校准定量。表 4 总结在干固体基础 (dsb) 上以 D- 苧烯计的组分的总半挥发性有机化合物 ppm wt。观察到从 Biovittoria Fruit Sweetness™ 进料 (284178) 到碳处理的罗汉果 (样品 A286683) 的半挥发性有机化合物的显著减少, 这对应于罗汉果味道的显著改良。
- [0126] 表 4
- [0127]

样品 ID	总样品的 Mog V wt%, dsb	总样品的以 D-苧烯计的半挥发性有机化合物 ppm wt	相对于 Mog V 的半挥发性有机化合物 ppm wt
Biovittoria Fruit Sweetness™ 进料(284178)	49.1%	8.9	18
罗汉果样品 A(286683)	50.9%	0.6	1.2

- [0128] 实施例 4 :罗汉果提取物中的异味组分的鉴定
- [0129] 感官评价发现水溶液中通过碳的罗汉果物质具有比进料罗汉果物质更好、更容易接受的味道。具有约 50wt% 的罗汉果苷 V 含量的示例性干罗汉果提取物 (Biovittoria Fruit Sweetness™) 的 HPLC 分析以及已进行碳处理和喷雾干燥的相同物质的分析分别在图 1 中的上方和下方的色谱图中示出。HPLC 方法参数如实施例 3, 具有以下修改的线性分段梯度。
- [0130] 流动相 :乙腈 / 水体积 % 线性梯度
- [0131]

时间[min]	乙腈	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

[0132] HPLC 分析显示碳处理后,剩余的罗汉果苷异构体的特征谱基本上未改变。图 1 的色谱图的极性较大区域的放大视图在图 2 中示出,其中下方色谱图中示出的处理产物显示 21min 附近的峰(用箭头标记)相对于上方色谱图中的未处理产物大大减少。为了确定 21min 附近洗脱的组分与“霉味”异味减少的关系,将一系列提取和纯化步骤用于与实施例 3 相似的方式用来处理罗汉果的用过的碳。在整个研究中,每个提取纯化步骤之后,专家组的品尝员评价加有~ 5-10X 原始水平的回收组分的碳处理的罗汉果,以鉴定表现出 Fruit Sweetness™的特征性“霉味”异味的样品。

[0133] 为了回收罗汉果水溶液的碳处理去除的组分,将已用于罗汉果精制的约 500g 用过的碳在水洗涤后用多个 350mL 等份的溶剂顺序提取。用乙醇然后用丙酮洗涤碳。将提取物通过 0.45 μm 尼龙滤器过滤并在环境温度下于氮气流下蒸干以回收约 2.0g 固体。上述专家组的品尝员观察到来自丙酮提取的残余物包含 Fruit Sweetness™的显著“霉味”异味特征。如下文所述,还证实 21min HPLC 组分(图 1 和 2)包含在丙酮部分中,并且还包含在所有随后的“霉味”异味部分中。

[0134] 完全干燥后,将 50mL 水和 50mL 氯仿之间的液-液萃取用于最初丙酮提取的部分。“霉味”异味保留在水溶性部分中(回收约 1.8g 固体)。随后,使用 4 个叠层式 Waters Sep-Pak C18SPE 筒(Waters Corp., WAT020515)的固相萃取用来进一步分级分离异味残余物。用 5mL 甲醇和 10mL 的 Milli-Q 水预处理后,一次将 10mL 水中的约 10mg/mL 残余物装在筒上。然后使用如下的一系列 10mL SPE 洗涤获得回收的部分:100%水、2%乙腈(MeCN)/98%水、5%MeCN、10%MeCN、20%MeCN、25%MeCN、30%MeCN、40%MeCN、50%MeCN 和 100%MeCN。将所有萃取物在氮气流下干燥并通过感官组评价。从用过的碳至 SPE 分级分离的整个分离过程重复三次,具有相同感官结果。

[0135] 如专家组品尝员所证实的,当加入碳处理的罗汉果的水溶液时,确定特征性“霉味”异味在从 20%MeCN/80%水洗脱的 SPE 部分(288054)回收的约 250mg 固体中显著浓缩。这个部分的 HPLC 再次显示 21min 洗脱组分,图 4。进行相对于 SPE 空白(10mL 水+10mL50%MeCN+10mL100%MeCN)的这种分离物的主要组分的化学分析,使用 Antek 总氮、Folin-Ciocalteu 酚比色测试、茚三酮蛋白比色测试、酸消化物的离子色谱氨基酸分析、干

固体的 ATR-FTIR、LC-MS 以及 NMR。结果在表 5 和 6 中总结,并且与芳香糖苷类的化合物一致。

[0136] 表 5

[0137]

测试	288054 - SPE20%MeCN
表示为没食子酸当量的 Folin-Ciocalteu 酚	17.6mg/mL
茚三酮蛋白颜色测试	黄色 (最小蛋白)
Antek 总氮	0.4%wt
IC 氨基酸	以蛋白计 2.4%wt
ATR-FTIR	图 5
LC-MS	图 6
H-NMR, ¹³ C-NMR, COSY-45, DEPT-135	表 5

[0138] 图 5 示出部分 288054 的基线校正的 ATR-FTIR 谱。可以看到 OH、脂肪族 CH、CO 和弱苯基吸光度的特征性条带,全部均与芳香糖苷的存在一致。未观察到 C=O 吸光度。图 6 示出对应于图 4 中样品 288054 的主要组分的飞行时间 (ToF) 精确质谱,保留时间 21.0 分钟。图 6 中插入的表列出了质量离子 503 道尔顿的最可能的化学计量式。据显示具有 1.6ppm 质量精度的最可能的精确物质为 C₂₆H₃₀O₁₀ 电中性化合物。

[0139] 表 6

[0140]

样品 288054 的 NMR 测量	NMR 位移共振	结构亚基信息
¹ H-NMR	异头质子上典型的 5.6 ppm 和 5.1 ppm 双峰; 3.9 ppm 和 3.3 ppm 之间的多重共振	糖苷亚基
¹ H-NMR	6.85 和 7.10 ppm 之间的多重共振	取代的芳香环
COSY-45		与糖苷质子共振一致的连接性
COSY-45	3.75, 3.8 ppm	甲氧基亚基
¹³ C/DEPT-135	次甲基的共振, 101, 75-70 ppm; 以及亚甲基 61-63 ppm.	糖苷亚基
¹³ C/DEPT-135	次甲基的共振 119、116、111 ppm; 苯氧基甲基共振 53.7 ppm	取代的芳香环; 芳香甲氧基亚基

[0141] 利用 5% 水溶液的顶空,通过如实施例 3 定义的气相色谱与质谱检测 (GC-MS) 评价各种半挥发性组分的分布和建议的性质。图 3 示出 Fruit Sweetness™ 进料 (284178) 和样

品 A 的半挥发性组分特征谱的比较。表 7 示出匹配对应于图 3 中标记的化合物的 28 种半挥发性有机化合物的最佳 MS 文库的列表。列出已知的对这些化合物的味道和气味感官反应用于比较（参见例如，Mosciano, G., *Perfumer and Flavorist* 25, No. 6, 26, (2000)）。

[0142] 表 7

[0143]

峰参考 (图 3)	组分名称(CAS#)	已知的感官反应
A	2-戊基-呋喃(3777-69-3)	绿色, 蜡状, 具有霉味, 煮过的 caramellic 细微差别(nuances)
B	丁酸丁酯(109-21-7)	甜味, 新鲜, 果味, 略带脂肪
C	D-苧烯(5989-27-5)	甜味, 橙色, 柑橘和 terpy
D	叔丁苯(98-06-6)	---
E	γ -萜品烯(99-85-4)	Terpy, 柑橘, 酸橙样, 油状, 绿色, 具有热带水果细微差别
F	丁烯酸丁酯(7299-91-4)	---
G	异松油烯(586-62-9)	柠檬, 酸橙, 松木, 塑料
	壬醛(75718-12-6)	---
H	均四甲苯(95-93-2)	---
I	孟三烯(1,3,8-p-menthatriene) (21195-59-5)	---
J	对异丙基苯甲烷(99-87-6)	Terpy 和发臭, 具有轻微木质氧化的柑橘香
K	丁酸己酯(2639-63-6)	苹果, 果味, 绿色, 肥皂状, 甜味
L	1,1,5,6-四甲基茛满 (942-43-8)	---
M	萹(275-51-4)	---
N	α -紫罗烯(475-03-6)	---
O	1-甲基-萘(90-12-0)	萘样, 具有药物的细微差别
P	2-甲基-萘(91-57-6)	---
Q	脱氢-ar-紫罗烯(30364-38-6)	甘草
R	(-)- α -柏木烯(469-61-4)	木本雪松
S	Z- β -法呢烯(28973-97-9)	柠檬绿
T	(+)- β -柏木烯(546-28-1)	---
U	反式- α -香柠檬烯(13474-59-4)	木质
V1	顺式-红没药烯(29837-07-8)	---
V2	α -法呢烯(502-61-4)	新鲜绿色植物, 具有芹菜和干草的细微差别 以及一些脂肪和和热带水果后味
W	(-)- β -红没药烯(495-61-4)	香油
X	(+)- α -长叶蒎烯(5989-08-2)	---
Y	2-己基-1-十二烷醇(2425-77-6)	---
Z	(E)-橙花叔醇(40716-66-3)	绿色花卉木本水果柑橘甜瓜

[0144] 实施例 5

[0145] 在 500-mL 烧杯中将 40g 量的 Fruit Sweetness™溶于 200g 的 Milli-Q 水中, 并

且将 30g 活性炭（来自 Calgon Carbon Corporation 的 BG-HHM）加入 Fruit Sweetness™ 溶液中。将活性炭浆搅拌 2 小时，同时在 0、5、15、30、60、90 和 120 分钟采集无菌过滤溶液的 50 μL 样品。将样品在 Milli-Q 水中稀释 20 倍，并且通过 HPLC 分析时间点之间罗汉果苷的相对丰度。2 小时后，将活性炭浆通过 Whatman#2 滤纸过滤，并且将滤液无菌过滤至已称重的冷冻干燥瓶中。一旦已将无菌滤液冷冻干燥，记录其质量并用 HPLC 分析罗汉果苷 V 含量。将冷冻干燥的物质命名为样品 B。然后由 48-50 位小组成员将样品 B（碳浆处理的 Fruit Sweetness™）的 550ppm 中性 pH 水溶液针对中性 pH 水中的 500ppm Reb A97 测试味道偏好。为了比较，还在中性 pH 水中将 Fruit Sweetness™ 针对 500ppm Reb A97 测试偏好。如完全区组设计进行测试。轮换呈现顺序。溶液在室温下于 2 盎司梳芙厘杯中提供。使小组成员饮用所有样品。不允许小组成员重新品尝样品。让小组成员鉴定更甜并且他们优选的溶液。在测试之前和期间，小组成员可用瓶装水、2% 蔗糖溶液和无盐饼干清理他们的味觉。

[0146] 用二项检验以 0.05 的 α 风险分析数据，对于甜度为双尾测试，对于偏好为一尾测试。

[0147] 表 8

[0148]

	偏好		甜度	
	计数	一尾 p-值	计数	双尾 p-值
500 ppm Reb A 97	22	0.24	22	0.47
550 ppm Fruit Sweetness™	26		26	

[0149] 表 9

[0150]

	偏好		甜度	
	计数	一尾 p-值	计数	双尾 p-值
500 ppm Reb A 97	6	<0.01	21	0.20
550 ppm 样品 B	44		29	

[0151] 表 8 显示在相等甜度水平下，商业产品 Fruit Sweetness™ 并不显著优于 Reb A。但是，在相等甜度水平下，浆碳处理的 Fruit Sweetness™ 样品 B 显著优于 BlendSure7.5（表 9）。

[0152] 虽然本文参考具体实施方式说明并描述了本发明，但是本发明并不限于显示的细节。相反，在权利要求的等同物的领域和范围内可以在细节上进行各种修改而不背离本发明。

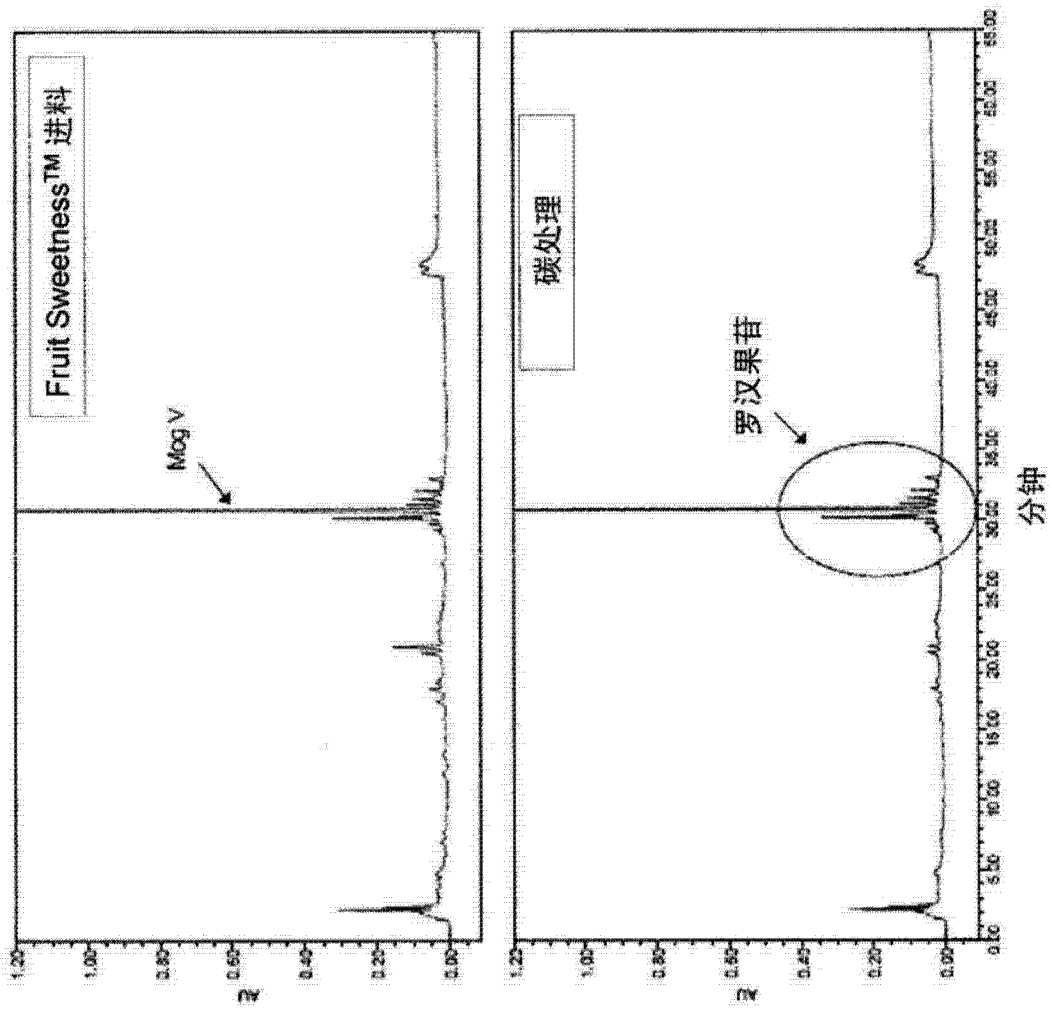


图 1

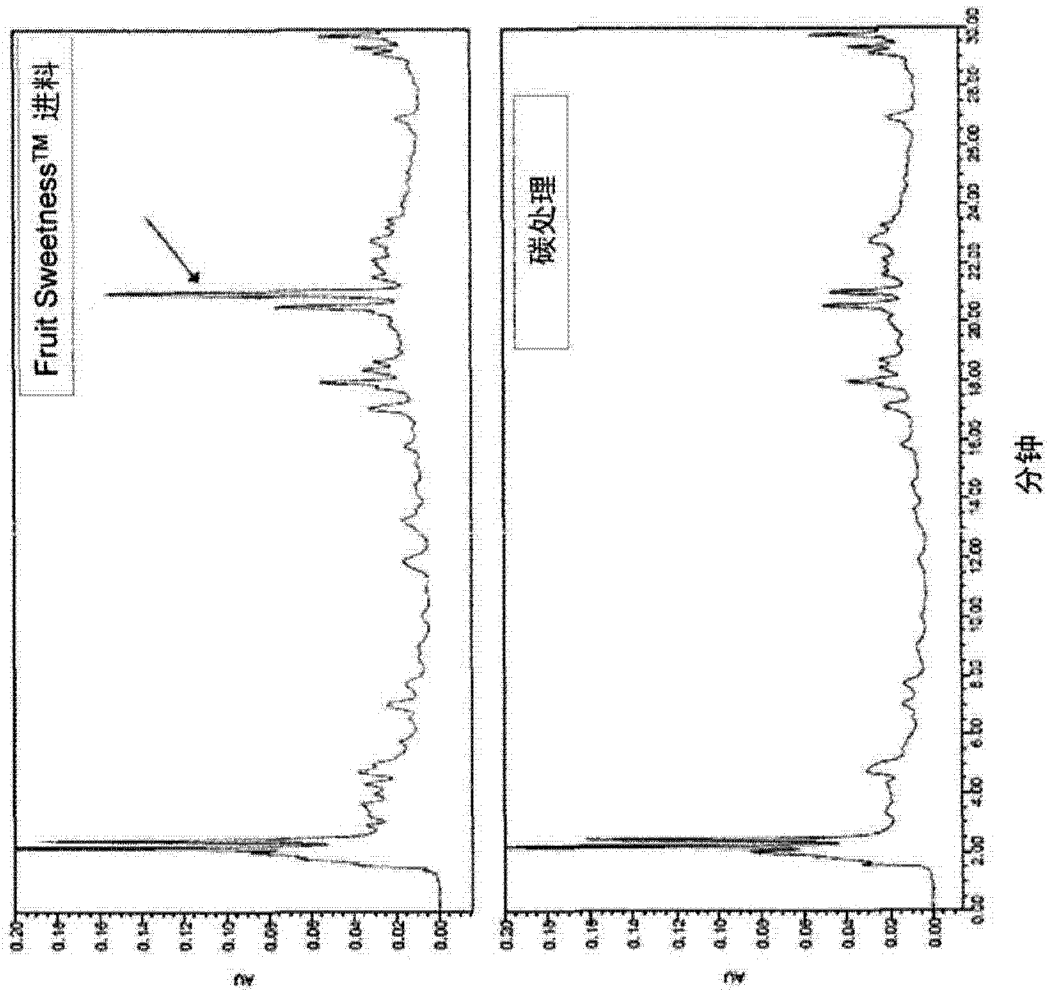


图 2

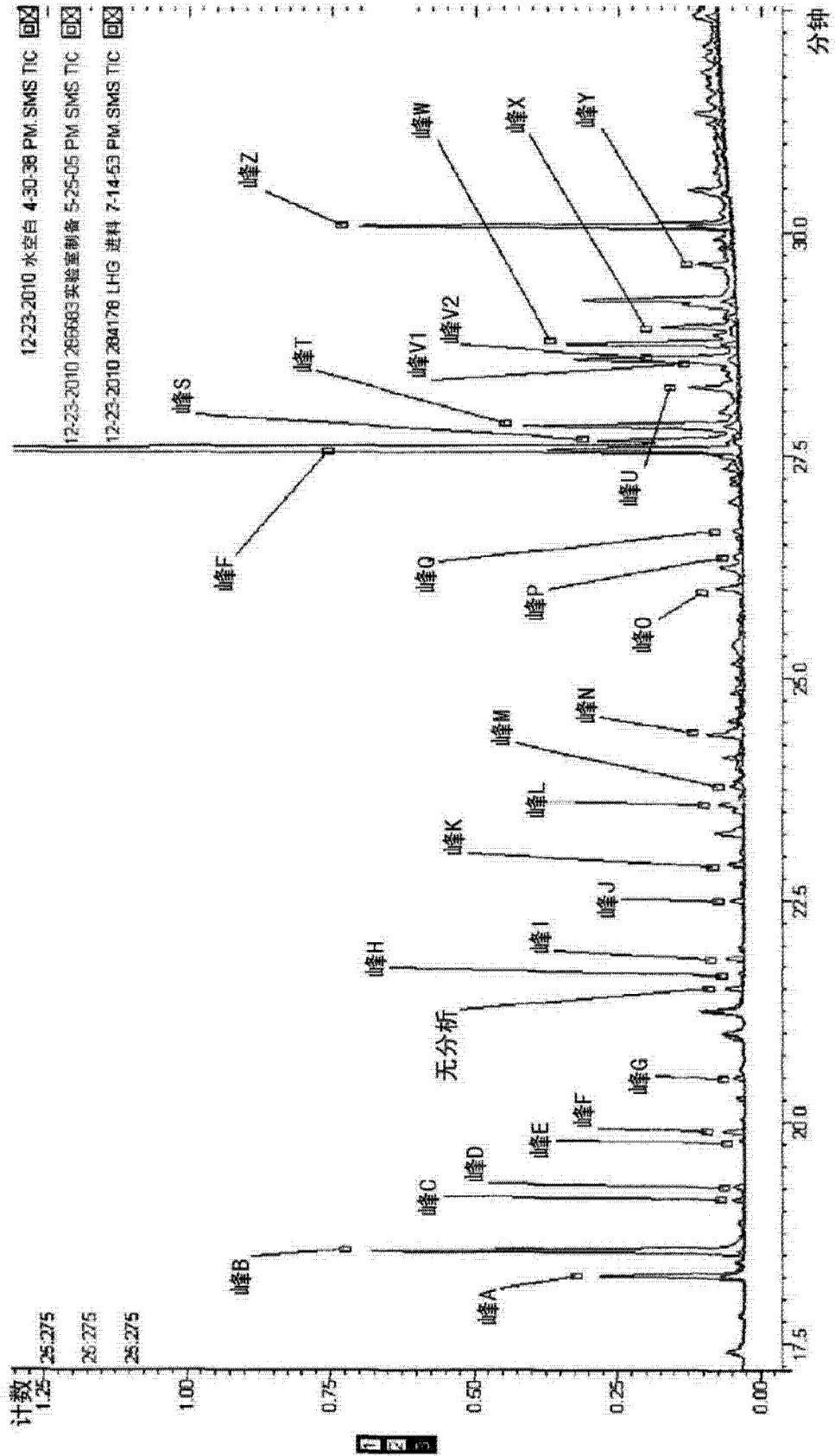


图 3

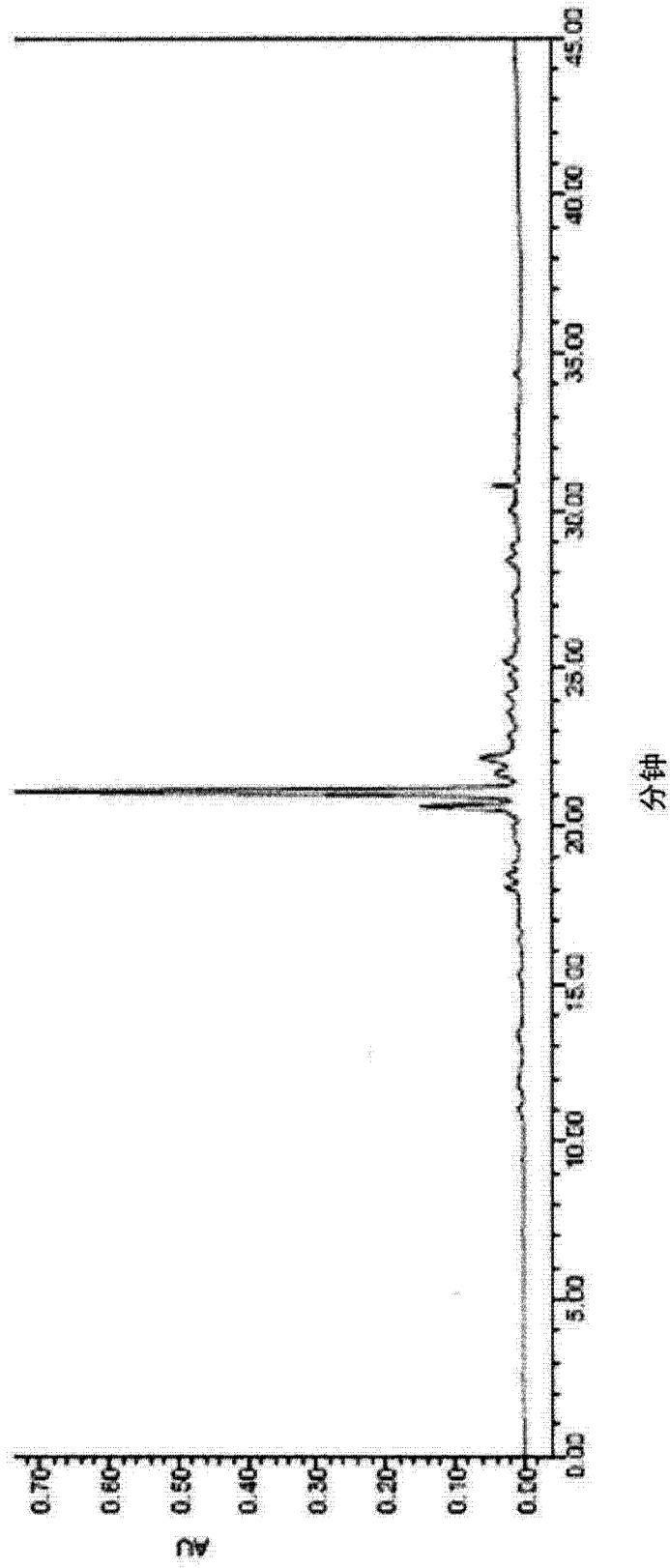


图 4

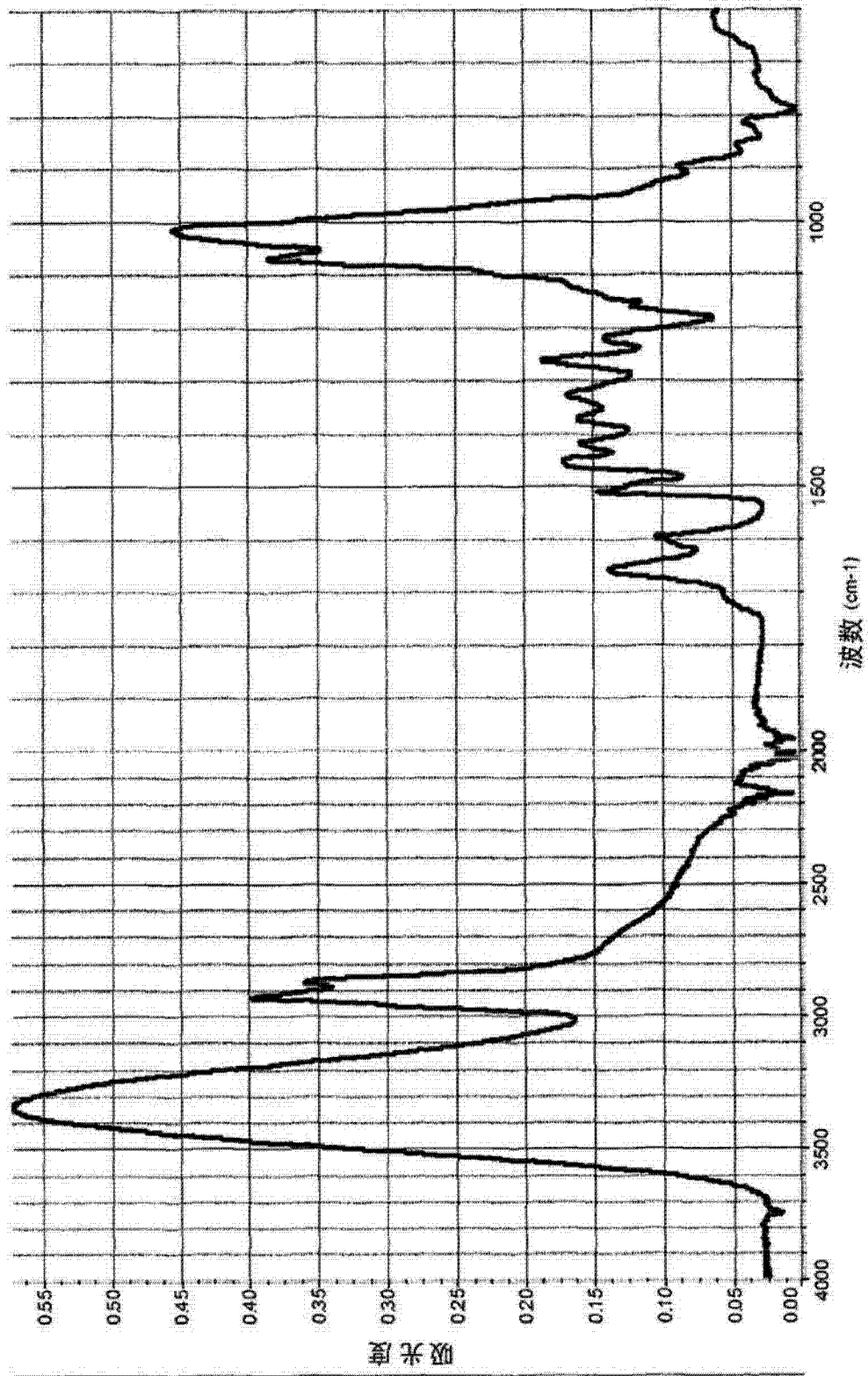


图 5

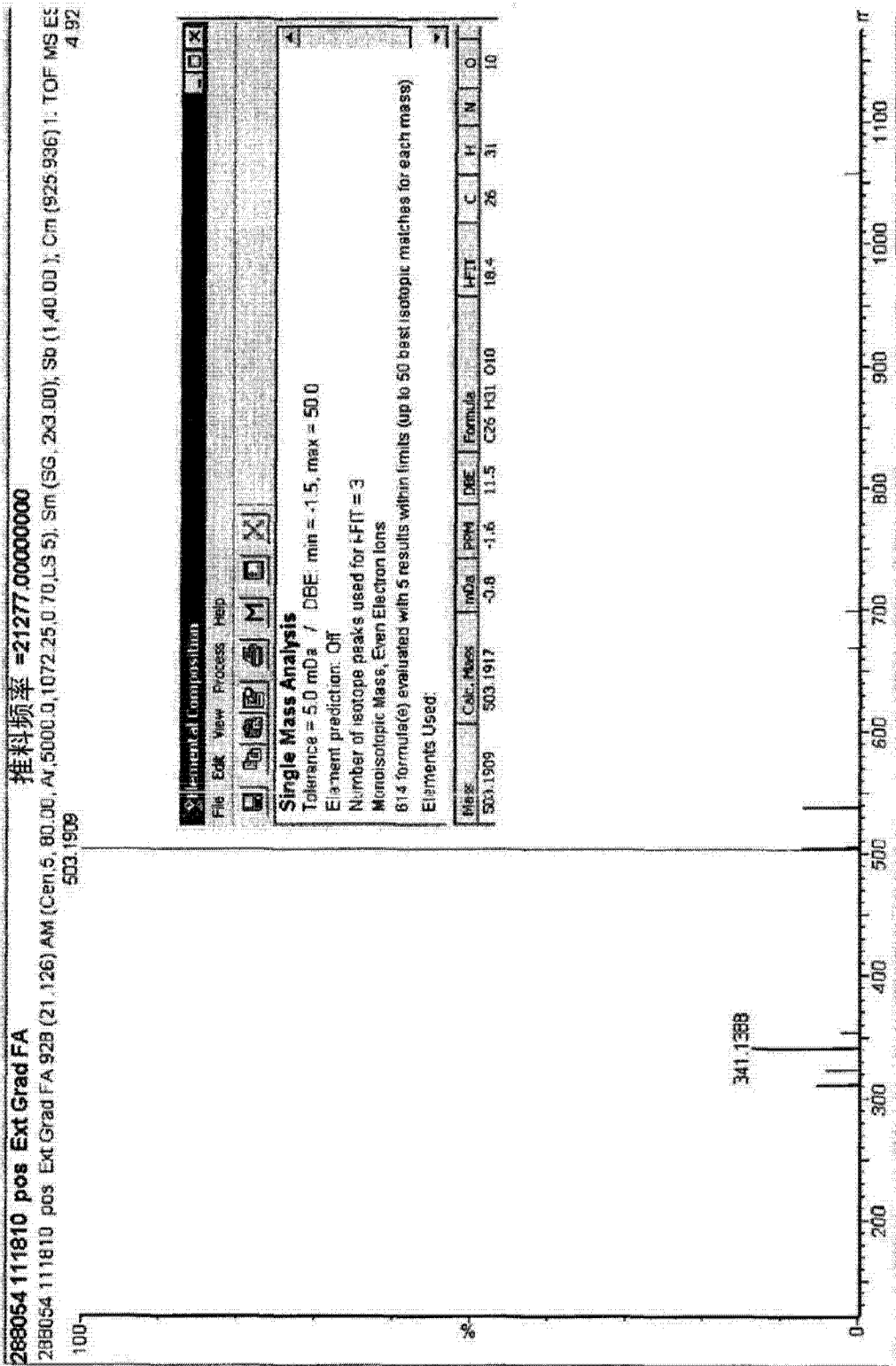


图 6