

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2014-509191
(P2014-509191A)

(43) 公表日 平成26年4月17日(2014.4.17)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
A23L 1/221 (2006.01)	A23L 1/221 C	4B017
A23L 1/22 (2006.01)	A23L 1/22 101A	4B047
A23L 2/00 (2006.01)	A23L 2/00 T	4C083
A23L 2/60 (2006.01)	A23L 2/00 C	
A61K 8/60 (2006.01)	A61K 8/60	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 30 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2013-551961 (P2013-551961)
 (86) (22) 出願日 平成23年10月19日 (2011.10.19)
 (85) 翻訳文提出日 平成25年9月17日 (2013.9.17)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2011/056845
 (87) 国際公開番号 W02012/102769
 (87) 国際公開日 平成24年8月2日 (2012.8.2)
 (31) 優先権主張番号 61/437,390
 (32) 優先日 平成23年1月28日 (2011.1.28)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 513188789
 テート アンド ライル イングリーディ
 エンツ アメリカズ エルエルシー
 アメリカ合衆国 60192 イリノイ州
 ホフマン エステーツ プレイリー ス
 トーン パークウェイ 5450
 (74) 代理人 110000796
 特許業務法人三枝国際特許事務所
 (72) 発明者 ブリッジズ ジョン アール,
 アメリカ合衆国 60192 イリノイ州
 ホフマン エステーツ プレイリー ス
 トーン パークウェイ 5450

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 レバウディオサイドBを含有するステビアブレンド

(57) 【要約】

本発明は、甘味組成物における甘味ステビオール配糖体化合物、特にレバウディオサイドBの使用に関する。選択量のレバウディオサイドBを含む甘味組成物は、他の高甘味度甘味料化合物と比較して風味プロファイルが良好であることが示され、消耗品の調製において有用である。

【選択図】 図3

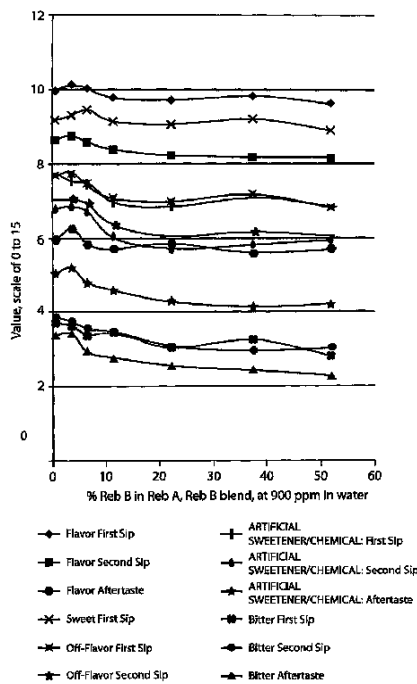


FIG. 3

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

ステビア抽出物であって、該ステビア抽出物の 10 重量% ~ 約 90 重量% の範囲の濃度でレバウディオサイド B を含む、ステビア抽出物。

【請求項 2】

レバウディオサイド B の濃度が、前記ステビア抽出物の約 15 重量% ~ 約 50 重量% の範囲である、請求項 1 に記載のステビア抽出物。

【請求項 3】

レバウディオサイド B の濃度が、前記ステビア抽出物の約 15 重量% ~ 約 30 重量% の範囲である、請求項 1 に記載のステビア抽出物。

【請求項 4】

レバウディオサイド B の濃度が、前記ステビア抽出物の約 20 重量% ~ 約 25 重量% の範囲である、請求項 1 に記載のステビア抽出物。

【請求項 5】

甘味ステビオール配糖体化合物を含む甘味組成物であって、該甘味ステビオール配糖体化合物が、該甘味組成物中の甘味ステビオール配糖体化合物の総量の 10 重量% ~ 約 90 重量% の範囲の濃度でレバウディオサイド B を含む、甘味組成物。

【請求項 6】

前記レバウディオサイド B の濃度が、前記甘味組成物中の甘味ステビオール配糖体化合物の総量の約 15 重量% ~ 約 50 重量% の範囲である、請求項 5 に記載の甘味組成物。

【請求項 7】

前記レバウディオサイド B の濃度が、前記甘味組成物中の甘味ステビオール配糖体化合物の総量の少なくとも約 15 重量% かつ約 30 重量% 以下である、請求項 5 に記載の甘味組成物。

【請求項 8】

前記レバウディオサイド B の濃度が、前記甘味組成物中の甘味ステビオール配糖体化合物の総量の少なくとも約 20 重量% かつ約 25 重量% 以下である、請求項 5 に記載の甘味組成物。

【請求項 9】

甘味ステビオール配糖体化合物を含む甘味組成物を含む消耗品であって、該甘味ステビオール配糖体化合物が、該甘味組成物中の甘味ステビオール配糖体化合物の総量の 10 重量% ~ 約 90 重量% の範囲の濃度でレバウディオサイド B を含む、消耗品。

【請求項 10】

前記甘味ステビオール配糖体の総濃度がその甘味閾値未満である、請求項 9 に記載の消耗品。

【請求項 11】

前記甘味ステビオール配糖体の総濃度が約 50 ppm ~ 約 2000 ppm の範囲であり、前記レバウディオサイド B の総濃度が少なくとも約 20 ppm である、請求項 9 に記載の消耗品。

【請求項 12】

前記レバウディオサイド B の総濃度が少なくとも約 50 ppm かつ約 500 ppm 以下である、請求項 11 に記載の消耗品。

【請求項 13】

前記レバウディオサイド B の総濃度が少なくとも約 100 ppm かつ約 400 ppm 以下である、請求項 11 に記載の消耗品。

【請求項 14】

前記レバウディオサイド B の総濃度が少なくとも約 200 ppm かつ約 300 ppm 以下である、請求項 11 に記載の消耗品。

【請求項 15】

前記消耗品が、炭酸清涼飲料、粉末清涼飲料、缶やペットボトルの茶飲料、スポーツ

10

20

30

40

50

リンク、乳飲料、ヨーグルト含有飲料、アルコール飲料、栄養飲料、フレーバーウォーター、ビタミン飲料、果実飲料及び果汁飲料からなる群から選択される飲料と、焼き菓子、スープ、ソース、加工食肉、果実の缶詰、野菜の缶詰、乳製品、冷凍菓子、砂糖菓子、チューインガム、ケーキ、クッキー、パー及び他の菓子パン類、シリアル、シリアルパー、ヨーグルト、エナジーバー、グラノーラバー、ハードキャンディ、ゼリーキャンディ、チョコレートキャンディ及び他の糖菓類からなる群から選択される食料品と、歯磨き粉、洗口液及びオーラルリンスからなる群から選択されるオーラルケア用品と、嗅ぎタバコ及び噛みタバコからなる群から選択されるタバコ製品と、錠剤、舐剤及び懸濁剤からなる群から選択される医薬品と、サプリメント及びビタミンからなる群から選択される栄養補助食品と、からなる群から選択される、請求項9に記載の消耗品。

10

【請求項16】

消耗品を甘くする方法であって、有効量の甘味組成物を該消耗品に加えることを含み、該甘味組成物が甘味ステビオール配糖体化合物を含み、該甘味ステビオール配糖体化合物が、該甘味組成物中の甘味ステビオール配糖体化合物の総量の10重量%～約90重量%の範囲の濃度でレバウディオサイドBを含む、方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

[関連出願の相互参照]

本願は、2011年1月28日付で出願された米国仮特許出願第61/437,390号(その全体が引用することにより本明細書の一部をなすものとする)の利益を主張する非仮出願である。

20

【0002】

[連邦政府による資金提供を受けた研究開発の記載]

該当なし。

【背景技術】

【0003】

天然のカロリー甘味料(caloric sweeteners)、例えばスクロース、グルコース及びフルクトースは、望ましい味覚特性を有するが、製品のカロリー量を増大させる。したがって、より健康的な代替品と考えられる低カロリー又はノンカロリーの甘味料に対する消費者の関心は高い。天然及び合成のノンカロリーの強力甘味料が既知であるが、殆どの場合、その風味プロファイルは消費者にとって砂糖ほど望ましいものではない。そのため、砂糖の代用とすることができ、味覚プロファイルがより望ましいノンカロリー甘味料を開発することが望まれる。

30

【0004】

ステビア・レバウディアナ(*Stevia rebaudiana*)種(「ステビア」)は、或る特定の自然発生的な甘味ステビオール配糖体の供給源である。ノンカロリー甘味料としてのステビアの甘味ステビオール配糖体の使用を評価するために多数の研究開発が行われている。ステビアから抽出することができる甘味ステビオール配糖体としては、6つのレバウディオサイド(すなわち、レバウディオサイドA～レバウディオサイドF)、ステビオシド(野生型ステビアからの抽出物における主要な配糖体)及びズルコシドが挙げられる。

40

【0005】

レバウディオサイドA及び他のステビオール配糖体をベースとする市販の低カロリー又はノンカロリーの甘味料は、苦い甘草様の後味を有する傾向がある。これらの特性は、約300ppmを超える濃度でとりわけ顕著である。食品用途では、好ましい使用レベル(8%～10%の砂糖相当値)は、通常約500ppm～約1000ppmであり、この範囲を超えると異味が見られ始める。そのため、苦味、望ましくない(例えば甘草様の)風味が減少した若しくはそれを有しない味覚プロファイル、若しくは天然のカロリー甘味料により近い甘味プロファイル、又はかかる性質の組合せを有する甘味ステビオール配糖体を含むカロリーを抑えた、低カロリーの及び/又はノンカロリーの甘味料が依然として必

50

要とされている。

【発明の概要】

【0006】

本発明は、ステビア抽出物であって、該ステビア抽出物の10重量%～約90重量%の範囲の濃度でレバウディオサイドBを含むステビア抽出物に関する。

【0007】

本発明は、甘味ステビオール配糖体化合物を含む甘味組成物であって、該甘味ステビオール配糖体化合物が、該甘味組成物中の甘味ステビオール配糖体化合物の総量の10重量%～約90重量%の範囲の濃度でレバウディオサイドBを含む、甘味組成物にも関する。

10

【0008】

本発明は、上記の甘味組成物を含む飲料、食料品、オーラルケア用品、タバコ製品、医薬品及び栄養補助食品等の消耗品、並びに上記の甘味組成物を用いてそれを甘くする方法にも関する。

【図面の簡単な説明】

【0009】

【図1】レバウディオサイドA及びステビオシドの濃度に応じた、pH3のクエン酸緩衝液中でのレバウディオサイドBの溶解度を示すグラフである。

【図2】ステビオール配糖体の構造を示す図である。

【図3】味パネリストによってスコアリングされる様々な風味属性に対する、レバウディオサイドB含量（水中での総濃度900ppmについてのレバウディオサイドAを含有し、レバウディオサイドBを添加した溶液における）の影響を示すグラフである。

20

【発明を実施するための形態】

【0010】

I. 定義

本明細書中で使用される場合、「甘味ステビオール配糖体化合物」という表現は、1つ又は複数の糖残基が環に化学的に結合した、ステビオールのジテルペン環系の一般構造を有する多数の自然発生的な化合物のいずれかを意味する。

【0011】

II. 概要

甘味ステビオール配糖体を含むステビア抽出物及び甘味組成物にレバウディオサイドBを加え、及び/又はその濃度を制御することが、一般に否定的に考えられる苦味、甘草様の後味等の味覚特性を低減若しくは排除するか、若しくは天然のカロリー甘味料により近い甘味プロファイルをもたらすか、又はかかる性質の組合せをもたらす傾向があることが予期せず発見された。具体的には、上記の利益が、ステビア抽出物及び甘味組成物中の甘味ステビオール配糖体の総濃度に対して比較的高濃度のレバウディオサイドBを選択する（例えば、甘味ステビオール配糖体化合物の総量の少なくとも10重量%をレバウディオサイドBとする）ことによって達成され得ることが発見された。

30

【0012】

上述の本発明のステビア抽出物及び甘味組成物は、食料品、すなわち食用又は咀嚼用の組成物、例えば食品、飲料、薬、キャンディー、チューインガム等におけるカロリーを抑えた、低カロリーの又はノンカロリーの甘味料として有用である。本発明のステビア抽出物及び甘味組成物が、他の甘味ステビオール配糖体の混合物、例えば市販のステビオール配糖体のブレンド及び混合物と比べて、より砂糖に似ており、苦い後味が減少し、（例えば甘草様の）異風味が減少した甘味プロファイルを有し得ることが発見された。試験によって、殆どの場合で本発明の甘味組成物が、同じ濃度で試験した場合に、97%レバウディオサイドAを含む組成物よりも被験体に好まれることが示された。本発明のステビア抽出物及び甘味組成物を食品及び飲料に添加することで、甘味ステビオール配糖体を含有する既知のステビア抽出物及び甘味組成物、例えば97%レバウディオサイドAを含む組成物を用いて調製したものと比較して、より味の良い食品及び飲料が得られることが期待さ

40

50

れる。

【0013】

レバウディオサイドBを他の高甘味度甘味料に添加することも企図される。本発明の実施形態に好適な高甘味度甘味料の代表例としては、

ズルコシドA、ズルコシドB（レバウディオサイドCとしても知られる）、ルブソシド、シアメノシド、モナチン及びその塩（モナチンSS、モナチンRR、モナチンRS、モナチンSR）、クルクリン、グリチルリチン酸及びその塩、タウマチン、モネリン、マピンリン、ブラゼイン、ヘルナンズルシン、フィロズルシン、グリシフィリン、フロリジン、ステビオシド、レバウディオサイドA、レバウディオサイドD、レバウディオサイドE、レバウディオサイドF、ステビア、ステビオールモノシド及びステビオールピオシド等の天然高甘味度甘味料、並びに、

サッカリン、アスパルテーム、スクラロース、ネオテーム、アセスルファムカリウム等の人工高甘味度甘味料、
が挙げられる。

【0014】

さらに、レバウディオサイドBをカロリー甘味料、例えば砂糖（例えば異性化糖、スクロース、フルクトース等）及びポリオール（例えばソルビトール、キシリトール、ラクチトール等）又は他の低カロリー甘味料に添加して、カロリー値の減少した甘味組成物を製造することができることが当業者には認識される。

【0015】

植物からのステビオール配糖体の単純抽出は一般に、レバウディオサイドAがより多い精製抽出物よりも味の点であまり好ましくない抽出物をもたらす。しかしながら、単純抽出物は高純度レバウディオサイドAよりも製造が容易であり、一般に製造にかかる費用が少ない。したがって、本発明の更なる利点は、精製レバウディオサイドAよりも製造にかかる費用が少ないが、同等の又はより優れた風味特性を有する配糖体混合物を得るための、単純抽出物又は部分精製生成物とレバウディオサイドBとの組合せであり得る。レバウディオサイドAの精製において味の良い配糖体が枯渇したステビオール配糖体プロセス流を、レバウディオサイドB含量を増大させることによって味を良くすることも企図される。

【0016】

レバウディオサイドBを含有する組成物を、凝集、噴霧乾燥、ドラム乾燥等の粒径を変更する既知の技術、及び粒径を調整するために一般に適用される他の形態の物理的処理を用いて更に変更し、より良好な流動性、水和性又は溶解性をもたらすことができる。

【0017】

レバウディオサイドBを含有する組成物を、既知の技術を用いて更に変更し、特定の用途における使用性を保った液体形態を提供することができる。

【0018】

レバウディオサイドBを含有する組成物を、マルトデキストリン等の充填剤及び類似の化合物と同時処理する既知の技法を用いて更に変更し、甘味、用量、効力及び取扱性を制御した生成物をもたらすことができる。さらに、レバウディオサイドB及び/又はレバウディオサイドBと他のステビオール配糖体との組合せを、甘味組成物に加えることが望まれ得る他の成分と組み合わせることができることに留意すべきである。例えば、レバウディオサイドBを、レバウディオサイドA又は他のステビオール配糖体上に、及び/又はマルトデキストリン、スクロース等の他の材料、若しくは任意の他の所望の機能的担体とともにスプレーコーティング又はスプレー凝集することができる。

【0019】

III. レバウディオサイドBを含むステビア抽出物及び甘味組成物

甘味ステビオール配糖体の混合物及びブレンド（例えば、ステビオール配糖体の混合物及びブレンド）の味を、本発明に従ってステビオール配糖体組成物中のレバウディオサイドBの濃度を制御し及び/又は増大させることによって改善することができることが発見

10

20

30

40

50

された。味の改善は約 pH 2 ~ 約 pH 8 の pH 値で明らかであると考えられる。

【0020】

レバウディオサイド B の溶解限度を決定した（実施例 5 を参照されたい）。例えば、これまでの実験結果は、(i) レバウディオサイド B が中性 pH 溶液中で比較的高い溶解度を有すること、及び (ii) レバウディオサイド B の溶解度が pH 3 のクエン酸緩衝液中で制限されることを示している。さらに、これまでの実験結果は、溶液中のレバウディオサイド A の存在がレバウディオサイド B の溶解度を増大させることを示している。一方で、これまでの実験結果は、ステビオシドの存在がレバウディオサイド B の溶解度を僅かに低下させることを示している。この溶解度の情報は、レバウディオサイド B の溶液及びレバウディオサイドの混合物を配合する場合に考慮され得る。

10

【0021】

他の甘味料と混合するためのレバウディオサイド B は、様々な方法で得ることができる。例えば、レバウディオサイド B をクロマトグラフィー、沈殿又は結晶化によって植物抽出物から単離することができる。代替的には、レバウディオサイド B は、適当な温度及び pH 条件下でレバウディオサイド A を一価カチオン、二価カチオン及び三価カチオンの様々な水酸化物で処理することによって得ることができる。残存レバウディオサイド A とのレバウディオサイド B の混合物は、別の混合物中のレバウディオサイド B の量を増大させるために使用することができ、又はレバウディオサイド B をレバウディオサイド A / レバウディオサイド B 混合物からクロマトグラフィー、沈殿又は選択的結晶化によって単離することができる。レバウディオサイド B は、レバウディオサイド D をレバウディオサイド A について上記で言及したものと同一水酸化化合物で処理することによっても類似の方法で得ることができる。生成物混合物又は単離レバウディオサイド B を使用して、上記の味が改善したステビオール配糖体混合物を調製することができる。別の代替方法としては、レバウディオサイド B をレバウディオサイド A 又はレバウディオサイド D から酵素的に製造することができる。

20

【0022】

或る特定の実施形態では、ステビア抽出物又は甘味組成物は、レバウディオサイド B と 1 つ又は複数の付加的な甘味配糖体化合物とを含む。甘味配糖体化合物の代表例としては、レバウディオサイド A、レバウディオサイド B、レバウディオサイド C（ズルコシド B）、レバウディオサイド D、レバウディオサイド E、レバウディオサイド F、ステビア、ステビオシド、ズルコシド A 及びルブソシドが挙げられる。或る特定の実施形態では、1 つ又は複数の甘味配糖体は、ステビオールピオシド及びステビオールモノシドを含む甘味ステビオール配糖体であり得る。より具体的には、甘味ステビオール配糖体の代表例としては、レバウディオサイド A、レバウディオサイド B、レバウディオサイド C、レバウディオサイド D、レバウディオサイド E、レバウディオサイド F 及びステビオシドが挙げられる。例えば、植物に由来するステビオール配糖体の部分精製抽出物は、レバウディオサイド B と付加的なステビオール配糖体との混合物を含むことが多い。

30

【0023】

ステビア抽出物又は甘味組成物がレバウディオサイド B と 1 つ又は複数の付加的な甘味ステビオール配糖体化合物とを含む、或る特定の実施形態では、レバウディオサイド B の量は、ステビア抽出物又は甘味組成物中の甘味ステビオール配糖体化合物の総量の少なくとも約 10 重量% という濃度である。或る特定の実施形態では、レバウディオサイド B の濃度は、ステビア抽出物又は甘味組成物中の甘味ステビオール配糖体化合物の総量の少なくとも約 15 重量% である。或る特定の実施形態では、レバウディオサイド B の濃度は、ステビア抽出物又は甘味組成物中の甘味ステビオール配糖体化合物の総量の少なくとも約 20 重量% である。或る特定の実施形態では、レバウディオサイド B の濃度は、ステビア抽出物又は甘味組成物中の甘味ステビオール配糖体化合物の総量の少なくとも約 25 重量% である。或る特定の実施形態では、レバウディオサイド B の濃度は、ステビア抽出物又は甘味組成物中の甘味ステビオール配糖体化合物の総量の少なくとも約 30 重量% である。或る特定の実施形態では、レバウディオサイド B の濃度は、ステビア抽出物又は甘味組

40

50

成物中の甘味ステビオール配糖体化合物の総量の少なくとも約35重量%である。或る特定の実施形態では、レバウディオサイドBの濃度は、ステビア抽出物又は甘味組成物中の甘味ステビオール配糖体化合物の総量の少なくとも約40重量%である。或る特定の実施形態では、レバウディオサイドBの濃度は、ステビア抽出物又は甘味組成物中の甘味ステビオール配糖体化合物の総量の少なくとも約45重量%である。或る特定の実施形態では、レバウディオサイドBの濃度は、ステビア抽出物又は甘味組成物中の甘味ステビオール配糖体化合物の総量の少なくとも約50重量%である。

【0024】

ステビア抽出物又は甘味組成物がレバウディオサイドBと1つ又は複数の付加的な甘味ステビオール配糖体化合物とを含み、レバウディオサイドBの濃度が上記の実施形態のいずれかと一致する濃度である（「一致する」という用語は、下方の範囲の上限よりも大きい上方の範囲の下限が選択される可能性のある組合せを除外するものである）、或る特定の実施形態では、レバウディオサイドBの濃度は、ステビア抽出物又は甘味組成物中の甘味ステビオール配糖体化合物の総量の約90重量%以下の濃度でもあり得る。レバウディオサイドBの濃度が上記の実施形態のいずれかと一致する濃度である、或る特定の実施形態では、レバウディオサイドBの濃度は、ステビア抽出物又は甘味組成物中の甘味ステビオール配糖体化合物の総量の約80重量%以下である。レバウディオサイドBの濃度が上記の実施形態のいずれかと一致する濃度である、或る特定の実施形態では、レバウディオサイドBの濃度は、ステビア抽出物又は甘味組成物中の甘味ステビオール配糖体化合物の総量の約70重量%以下である。レバウディオサイドBの濃度が上記の実施形態のいずれかと一致する濃度である、或る特定の実施形態では、レバウディオサイドBの濃度は、ステビア抽出物又は甘味組成物中の甘味ステビオール配糖体化合物の総量の約60重量%以下である。レバウディオサイドBの濃度が上記の実施形態のいずれかと一致する濃度である、或る特定の実施形態では、レバウディオサイドBの濃度は、ステビア抽出物又は甘味組成物中の甘味ステビオール配糖体化合物の総量の約50重量%以下である。レバウディオサイドBの濃度が上記の実施形態のいずれかと一致する濃度である、或る特定の実施形態では、レバウディオサイドBの濃度は、ステビア抽出物又は甘味組成物中の甘味ステビオール配糖体化合物の総量の約40重量%以下である。レバウディオサイドBの濃度が上記の実施形態のいずれかと一致する濃度である、或る特定の実施形態では、レバウディオサイドBの濃度は、ステビア抽出物又は甘味組成物中の甘味ステビオール配糖体化合物の総量の約35重量%以下である。レバウディオサイドBの濃度が上記の実施形態のいずれかと一致する濃度である、或る特定の実施形態では、レバウディオサイドBの濃度は、ステビア抽出物又は甘味組成物中の甘味ステビオール配糖体化合物の総量の約30重量%以下である。レバウディオサイドBの濃度が上記の実施形態のいずれかと一致する濃度である、或る特定の実施形態では、レバウディオサイドBの濃度は、ステビア抽出物又は甘味組成物中の甘味ステビオール配糖体化合物の総量の約25重量%以下である。

【0025】

或る特定の実施形態では、1つ又は複数の付加的な甘味ステビオール配糖体化合物は、レバウディオサイドAを含む。例えば、ステビオール配糖体の部分精製抽出物がレバウディオサイドBとレバウディオサイドAとの混合物を含み得るか、又はレバウディオサイドBがレバウディオサイドAの精製調製物に組み込まれ得る。レバウディオサイドAを含む或る特定の実施形態では、ステビア抽出物又は甘味組成物中のレバウディオサイドAの量は、ステビア抽出物又は甘味組成物中の甘味ステビオール配糖体化合物の総量の少なくとも約1重量%という濃度である。或る特定の実施形態では、レバウディオサイドAの量は、ステビア抽出物又は甘味組成物中の甘味ステビオール配糖体化合物の総量の少なくとも約5重量%である。或る特定の実施形態では、レバウディオサイドAの量は、ステビア抽出物又は甘味組成物中の甘味ステビオール配糖体化合物の総量の少なくとも約10重量%である。或る特定の実施形態では、レバウディオサイドAの量は、ステビア抽出物又は甘味組成物中の甘味ステビオール配糖体化合物の総量の少なくとも約20重量%である。或る特定の実施形態では、レバウディオサイドAの量は、ステビア抽出物又は甘味組成物中

10

20

30

40

50

の甘味ステビオール配糖体化合物の総量の少なくとも約30重量%である。或る特定の実施形態では、レバウディオサイドAの量は、ステビア抽出物又は甘味組成物中の甘味ステビオール配糖体化合物の総量の少なくとも約40重量%である。或る特定の実施形態では、レバウディオサイドAの量は、ステビア抽出物又は甘味組成物中の甘味ステビオール配糖体化合物の総量の少なくとも約50重量%である。或る特定の実施形態では、レバウディオサイドAの量は、ステビア抽出物又は甘味組成物中の甘味ステビオール配糖体化合物の総量の少なくとも約60重量%である。或る特定の実施形態では、レバウディオサイドAの量は、ステビア抽出物又は甘味組成物中の甘味ステビオール配糖体化合物の総量の少なくとも約70重量%である。

【0026】

レバウディオサイドAの濃度が上記の実施形態のいずれかと一致する濃度である、レバウディオサイドAを含む或る特定の実施形態では、レバウディオサイドAの濃度は、ステビア抽出物又は甘味組成物中の甘味ステビオール配糖体化合物の総量の約95重量%以下である。レバウディオサイドAの濃度が上記の実施形態のいずれかと一致する濃度である、レバウディオサイドAを含む或る特定の実施形態では、レバウディオサイドAの濃度は、ステビア抽出物又は甘味組成物中の甘味ステビオール配糖体化合物の総量の約90重量%以下である。レバウディオサイドAの濃度が上記の実施形態のいずれかと一致する濃度である、レバウディオサイドAを含む或る特定の実施形態では、レバウディオサイドAの濃度は、ステビア抽出物又は甘味組成物中の甘味ステビオール配糖体化合物の総量の約85重量%以下である。レバウディオサイドAの濃度が上記の実施形態のいずれかと一致する濃度である、レバウディオサイドAを含む或る特定の実施形態では、レバウディオサイドAの濃度は、ステビア抽出物又は甘味組成物中の甘味ステビオール配糖体化合物の総量の約80重量%以下である。レバウディオサイドAの濃度が上記の実施形態のいずれかと一致する濃度である、レバウディオサイドAを含む或る特定の実施形態では、レバウディオサイドAの濃度は、ステビア抽出物又は甘味組成物中の甘味ステビオール配糖体化合物の総量の約75重量%以下である。レバウディオサイドAの濃度が上記の実施形態のいずれかと一致する濃度である、レバウディオサイドAを含む或る特定の実施形態では、レバウディオサイドAの濃度は、ステビア抽出物又は甘味組成物中の甘味ステビオール配糖体化合物の総量の約70重量%以下である。レバウディオサイドAの濃度が上記の実施形態のいずれかと一致する濃度である、レバウディオサイドAを含む或る特定の実施形態では、レバウディオサイドAの濃度は、ステビア抽出物又は甘味組成物中の甘味ステビオール配糖体化合物の総量の約65重量%以下である。レバウディオサイドAの濃度が上記の実施形態のいずれかと一致する濃度である、レバウディオサイドAを含む或る特定の実施形態では、レバウディオサイドAの濃度は、ステビア抽出物又は甘味組成物中の甘味ステビオール配糖体化合物の総量の約60重量%以下である。レバウディオサイドAの濃度が上記の実施形態のいずれかと一致する濃度である、レバウディオサイドAを含む或る特定の実施形態では、レバウディオサイドAの濃度は、ステビア抽出物又は甘味組成物中の甘味ステビオール配糖体化合物の総量の約55重量%以下である。レバウディオサイドAの濃度が上記の実施形態のいずれかと一致する濃度である、レバウディオサイドAを含む或る特定の実施形態では、レバウディオサイドAの濃度は、ステビア抽出物又は甘味組成物中の甘味ステビオール配糖体化合物の総量の約50重量%以下である。

【0027】

本発明の甘味組成物は、様々な量の様々なタイプの甘味料の混合物を含み得るが、或る特定の実施形態では、レバウディオサイドBと1つ又は複数の付加的な甘味ステビオール配糖体化合物とを含む甘味組成物は、甘味ステビオール配糖体化合物から本質的になる。例えば、かかる実施形態では、レバウディオサイドB及び組成物中に存在する他の全ての甘味ステビオール配糖体化合物の総濃度が、甘味組成物の本質的に全ての甘味官能性(functionality)をもたらす。レバウディオサイド及び甘味ステビオール配糖体化合物から本質的になる甘味組成物中に含まれ得る他の甘味化合物の量は、問題の他の甘味化合物のタイプ及びその甘味閾値濃度(これを下回れば、その甘味化合物が甘味組成物の甘味に感

10

20

30

40

50

知され得るほど寄与しないと考えられる) に応じて異なる。さらに、或る特定の実施形態では、レバウディオサイド B と 1 つ又は複数の付加的な甘味ステビオール配糖体化合物とを含む甘味組成物は、甘味ステビオール配糖体化合物からなる。

【 0 0 2 8 】

或る特定の実施形態では、レバウディオサイド B と 1 つ又は複数の付加的な甘味ステビオール配糖体化合物とを含むステビア抽出物又は甘味組成物は、ステビオシドを含む。或る特定の実施形態では、ステビオシドの濃度は、ステビア抽出物又は甘味組成物中の甘味ステビオール配糖体化合物の総量の少なくとも約 1 重量% である。或る特定の実施形態では、ステビオシドの濃度は、ステビア抽出物又は甘味組成物中の甘味ステビオール配糖体化合物の総量の少なくとも約 5 重量% である。或る特定の実施形態では、ステビオシドの濃度は、ステビア抽出物又は甘味組成物中の甘味ステビオール配糖体化合物の総量の少なくとも約 10 重量% である。或る特定の実施形態では、ステビオシドの濃度は、ステビア抽出物又は甘味組成物中の甘味ステビオール配糖体化合物の総量の少なくとも約 20 重量% である。或る特定の実施形態では、ステビオシドの濃度は、ステビア抽出物又は甘味組成物中の甘味ステビオール配糖体化合物の総量の少なくとも約 30 重量% である。或る特定の実施形態では、ステビオシドの濃度は、ステビア抽出物又は甘味組成物中の甘味ステビオール配糖体化合物の総量の少なくとも約 40 重量% である。或る特定の実施形態では、ステビオシドの濃度は、ステビア抽出物又は甘味組成物中の甘味ステビオール配糖体化合物の総量の約 95 重量% 以下である。或る特定の実施形態では、ステビオシドの濃度は、ステビア抽出物又は甘味組成物中の甘味ステビオール配糖体化合物の総量の約 90 重量% 以下である。或る特定の実施形態では、ステビオシドの濃度は、ステビア抽出物又は甘味組成物中の甘味ステビオール配糖体化合物の総量の約 80 重量% 以下である。或る特定の実施形態では、ステビオシドの濃度は、ステビア抽出物又は甘味組成物中の甘味ステビオール配糖体化合物の総量の約 70 重量% 以下である。或る特定の実施形態では、ステビオシドの濃度は、ステビア抽出物又は甘味組成物中の甘味ステビオール配糖体化合物の総量の約 60 重量% 以下である。

10

20

【 0 0 2 9 】

I V . 高濃度のレバウディオサイド B 甘味料を含む製品

本発明の或る特定の実施形態は、高濃度のレバウディオサイド B を含むステビア抽出物又は甘味組成物を含む食料品に関する。当業者であれば、任意の食用組成物又は咀嚼用組成物、例えば食料品 (例えばスナック、焼き菓子、スープ、ソース、加工食肉、果物の缶詰、野菜の缶詰、乳製品、冷凍菓子、ケーキ、クッキー、バー及び他の菓子パン類 (sweet bakery items)、シリアル、シリアルバー、ヨーグルト、ヨーグルト含有飲料、エナジーバー、グラノーラバー、ハードキャンディー、ゼリーキャンディー、チョコレートキャンディー及び他の糖菓類 (sweet confections))、飲料 (例えば炭酸清涼飲料、缶やペットボトルの茶飲料 (ready to drink teas)、スポーツドリンク、乳飲料、アルコール飲料、栄養飲料、コーヒー、フレーバーウォーター、ビタミン飲料、果実飲料及び果汁飲料、粉末清涼飲料)、薬又は医薬品 (例えば錠剤、舐剤、懸濁剤等)、栄養補助食品 (例えばサプリメント、ビタミン等)、キャンディー又は砂糖菓子、チューインガム、タバコ製品 (例えば噛みタバコ) 等を本発明に従って甘くすることができることを認識するであろう。レバウディオサイド B、又はレバウディオサイド B と他の任意の甘味料とを含むステビア抽出物若しくは甘味組成物の食料品への添加は、食料品及びその調製によって異なるプロセスである。かかる調製は食料品調製の当業者に既知である。好ましくは、甘味組成物は、食料品に所望の量の甘味を付与するのに有効な量で含まれる。当業者であれば、食料品の調製において添加するのに好ましい甘味料の量を決定することが慣行であることを認識するであろう。

30

40

【 0 0 3 0 】

或る特定の実施形態では、食料品はレバウディオサイド B と、本明細書に記載の 1 つ又は複数の付加的な甘味ステビオール配糖体化合物とを含む甘味組成物を含有する。或る特定の実施形態では、甘味組成物のステビオール配糖体の総濃度は、その甘味閾値 (約 40

50

ppmと考えられる)未満である。かかる実施形態では、甘味ステビオール配糖体は、このような少ない量で甘味料というよりも風味付与剤又は風味増強剤として働くと考えられる。或る特定の実施形態では、甘味組成物の甘味ステビオール配糖体の総濃度は、少なくとも約50ppmである。或る特定の実施形態では、甘味組成物の甘味ステビオール配糖体は、少なくとも約200ppmという総濃度、又は少なくとも約500ppmという濃度、又は少なくとも約1500ppmという濃度である。

【0031】

或る特定の実施形態では、食料品はレバウディオサイドBと、本明細書に記載の1つ又は複数の付加的な甘味ステビオール配糖体化合物とを含む甘味組成物を含有する飲料である。或る特定の実施形態では、飲料のpHは少なくとも約pH2(好ましくは少なくとも約pH4)かつ約pH8以下である。或る特定の実施形態では、甘味組成物の甘味ステビオール配糖体の総濃度は、少なくとも約50ppmである。或る特定の実施形態では、甘味組成物の甘味ステビオール配糖体の総濃度は、少なくとも約200ppm又は少なくとも約500ppm又は少なくとも約1500ppmである。

10

【0032】

V. 甘味組成物の製造

本明細書で説明する原理に従う甘味組成物は、任意の適当な様々な方法に従って製造することができる。かかる方法の1つは、或る特定の量のレバウディオサイドBと、1つ又は複数の付加的な甘味ステビオール配糖体化合物、例えばレバウディオサイドA及び/又は他の甘味ステビオール配糖体化合物とをブレンドすることを含む。例えば、精製レバウディオサイドBと、レバウディオサイドA及び/又は他の甘味ステビオール配糖体化合物とのブレンドは、構成要素の乾燥粉末をブレンドすることによって作製することができる。代替的には、甘味ステビオール配糖体化合物の混合物を溶液又は懸濁液中で調製し、同時乾燥して粉末を製造することができる。

20

【0033】

レバウディオサイドAは通常、例えば80%超のレバウディオサイドA、95%超のレバウディオサイドA又は97%以上のレバウディオサイドAとして特徴付けられる市販の材料である。このようなレバウディオサイドAの精製形態は通常、他のステビオール配糖体の量を溶媒再結晶化、吸着樹脂又はクロマトグラフ分別を用いることによって低減することで達成される。

30

【0034】

レバウディオサイドBは、様々な手段に従って得ることができる。例えば、レバウディオサイドBは、レバウディオサイドAの処理及び精製に伴って発生するプロセス流から、例えば沈殿、再結晶化、クロマトグラフ分別、吸着樹脂を用いて回収することができる。さらに、レバウディオサイドBは、Kohda, et. al., *Phytochemistry*, vol. 15, pp. 981-983 (1975)及び特許第52083731号公報により開示されるようなレバウディオサイドAのアルカリ加水分解又は酸加水分解によって得ることができる。レバウディオサイドBは、Mizukani, H., et al., *Phytochem* vol. 21, pp. 1927-1930 (1982)により開示されるようなレバウディオサイドAの酵素加水分解によっても製造することができる。

40

【0035】

レバウディオサイドBはレバウディオサイドAから形成され得るため、ステビア抽出物のレバウディオサイドB含量は、例えばステビア植物からのステビオール配糖体の抽出に関連するプロセスパラメータを変更することによって増大させることができる。例えば、レバウディオサイドBの量はプロセス流のpH、プロセス流の温度を制御すること、プロセス時間を延長させること、又はかかる変更の組合せによって増大させることができる。

【0036】

必要に応じて、レバウディオサイドBを、他のステビオール配糖体及び関連化合物から任意の適当な方法を用いて分離することができる。例えば、レバウディオサイドBを、溶液のpHを低下させることによって溶液から沈殿させることができる。レバウディオサイドBは通常、pH値が約4.5未満の室温の水中で本質的に不溶性のプロトン化形態へと

50

変換する。

【0037】

レバウディオサイドBは沈殿後、懸濁液を精製する一般的な手段のいずれかによって、溶質化合物を含む溶液から分離することができる。沈殿物を遠心分離して、上清を除去することができる。沈殿物は、真空濾過等の濾過によって又はフィルタプレスを用いて分離することができる。可溶性相と不溶性相とは、膜を用いて分離することができる。濾過ケーキ、遠心分離ペレット又は膜残留物(membrane retentate)を水で洗浄することによって更に精製することができる。代替的には、部分精製し、回収した沈殿物をpHが約7.7超の水に再溶解し、酸を添加してpHを約4.5未満に低下させることによって再沈殿し、上記技法のいずれかによって不純物を含有する液相から再び分離することができる。

10

【0038】

代替的には、レバウディオサイドBを、レバウディオサイドBの溶解度が限られているか、又はレバウディオサイドBが不溶性の溶媒を添加することによって沈殿させることができる。具体的な溶媒、添加量及び温度は、他の化合物ではなく本質的にレバウディオサイドBのみが沈殿するように選択するのが好ましい。

【0039】

水中の中性pHでは、可溶性レバウディオサイドBは、クロマトグラフ分別、再結晶化、レバウディオサイドを保持するが、より小さい分子を通過させる適当な孔径の膜を用いた膜分離、又は全不純物を吸着してレバウディオサイドを溶出するか、若しくはレバウディオサイドを吸着して全不純物を溶出する吸着性樹脂を用いた処理によって他の可溶性化合物から分離することができる。次いで、吸着した材料に対して親和性を有する溶離液で樹脂を洗浄し、樹脂を再生する(1つ目の例)、又はレバウディオサイドを回収する(2つ目の例)。

20

【0040】

分離したレバウディオサイドBは、任意の適当な方法及び関連装置によって、例えばベルト乾燥、ドラム乾燥、トレイ乾燥、噴霧乾燥、凍結乾燥、気流乾燥、又は流動床を用いた乾燥によって乾燥させることができる。代替的には、レバウディオサイドBを乾燥させた後、乾燥させたレバウディオサイドBと、レバウディオサイドA及び/又は他の甘味ステピオシド化合物とをブレンドする代わりに、それらを溶液中でブレンドした後、組成物を乾燥させることができる。

30

【実施例】

【0041】

開示した以下の実施形態は、様々な形態で具体化され得る本発明を代表するものにすぎない。そのため、以下の実施例において開示した具体的な構造、機能及び手順上の詳細は限定的なものとは解釈されない。

【0042】

実施例1 - 市販のステピオール配糖体の混合物及びレバウディオサイドBに富んだ配糖体の混合物の選好性試験

市販のステピオール配糖体のブレンドを、0.0056Mクエン酸緩衝液(pH3.1)に溶解した。97%レバウディオサイドAを含有する市販の甘味組成物を含有する溶液を同様に調製した。

40

【0043】

【表 1】

第 1 表. 97%レバウディオサイドA及び市販のブレンドの組成

配糖体	97%レバウディオサイドA (mg)	市販のブレンド (mg/l)
レバウディオサイドA	473	437
ステビオシド	1	35
レバウディオサイドB	14	17
レバウディオサイドC	0	9
レバウディオサイドD	0	20
合計	498	518

【0044】

10

31人のTate & Lyleの従業員が、甘味及び選好性の対比較検定に参加した。製品を、pH 3.1のクエン酸緩衝液(1L当たり0.9gの無水クエン酸(Tate & Lyle, Decatur, IL)及び0.26gのクエン酸ナトリウム二水和物(Tate & Lyle, Decatur, IL))中で作製し、ランダムな3桁の番号をラベルした2オンスのスフレカップ内で室温で試験した。提示順序は回転させた。より甘く、より好ましい溶液をパネリストに決めさせた。投票用紙を渡し、SIMS官能検査ソフトウェア(sensory software)(Sensory Computer Systems, LLC, Morristown, NJ)を用いてデータを収集した。ミネラルウォーター、2%スクロース溶液及び無塩クラッカーを、パネリストの試験前及び試験中の口直しのために用意した。

【0045】

20

甘味及び選好性に関する質問の結果を、2項検定を用いて分析し、サー斯顿のd'(Thurstonian d')を計算した。片側2項検定に関するp値を、

【数1】

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

(式中、cは成功回数であり、nは試行回数であり、 p_0 は偶然確率である)として計算した。この検定は、p値が事前に設定したリスク未満である場合に統計的に有意とみなされる。両側p値は上で計算した片側p値の2倍である。

30

【0046】

サー斯顿のd'は心理物理学的相違の尺度である。1というd'は一般に、刺激が試行の75%においてより強いと判断される丁度可知差異(JND)と考えられる。サー斯顿のd'は試験方法から独立し、対比較検定については、

【数2】

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

(式中、 p_c は成功の割合であり、 $\Phi(\cdot)$ は標準正規分布の累積分布関数である)として計算される。これらの統計用語は、これに関する標準的な教科書、例えば"Sensory Discrimination Tests and Measurements", Jian Bi (Blackwell Publishing, 2006)においてより十分に定義されている。

40

【0047】

対比較検定に関する指示は以下のとおりとした:

- (i) サンプルの前及びサンプル間で口をすすぐことが重要である。
- (ii) クラッカーを一口食べて口直しする。次いで、砂糖水で口をすすぐ。最後に、水(plain water)で口をすすぐ。
- (iii) 提示の順序で左から右にサンプルを試飲する。
- (iv) 第1のサンプルの少なくとも半分を試飲し、甘味を記入する。

50

- (v) 砂糖水で口をすすぎ、続いて水で口をすすぐ。
 (vi) ここで、第2のサンプルの少なくとも半分を試飲する。
 (vii) 第1のサンプルを再度試飲しないこと。
 (viii) 選好性及び甘味についてサンプルを評価する。より好ましいサンプルを選び、より甘いサンプルを選ぶ。これらは同じサンプルであっても、又はそうでなくてもよい。確信が持てない又は選好性がない場合でもいずれかを選ぶ。

【0048】

一対比較検定に関する質問は以下のとおりとした：

- (i) これら2つのサンプルのどちらがより好ましいか。
 (ii) 2つのサンプルのどちらがより甘いか。

10

【0049】

この検定の結果及び心理物理学的 d' 値を下記第2表に示す。

【0050】

【表2】

第2表. 市販のブレンド対97%レバウディオサイドA

サンプル	#選好性	#甘味
市販のブレンド	11	16
97%レバウディオサイドA	20	15
合計	31	31
両側二項 p 値	0.07	0.72
d' 値	-0.53	0.16

20

【0051】

結果から示されるように、市販のブレンドが97%レバウディオサイドAより僅かに好まれず、97%レバウディオサイドAとほぼ同じ甘味であることが分かった。

【0052】

同様に行われるその後の試験では、上記の市販のブレンドに対してレバウディオサイドBを添加し、甘味ステビオール配糖体の総量に対するレバウディオサイドBの濃度が約21%であり、レバウディオサイドAとレバウディオサイドBとの比率が約3:1である、本発明の実施形態である配糖体混合物を作製した。

30

【0053】

ステビオール配糖体の配糖体ブレンドを、0.0056Mクエン酸緩衝液(pH3.1)に溶解した。97%レバウディオサイドAを含有する市販の甘味組成物を含有する溶液を同様に調製した。

【0054】

【表3】

第3表. 97%レバウディオサイドA及び配糖体混合物の組成

配糖体	97%レバウディオサイドA (mg)	混合物 (mg/l)
レバウディオサイドA	473	350
ステビオシド	1	32
レバウディオサイドB	14	104
レバウディオサイドC	0	10
レバウディオサイドD	0	0
合計	498	496

40

【0055】

この2つの溶液をTate & Lyleの従業員のパネルに提示し、上記に説明したものと同一指示及び質問を用いて、より甘く、より好ましい溶液を決めさせた。甘味及び選好性に関する質問の結果を、2項検定を用いて分析し、上記に説明したようにサー斯顿の d' を計算した。この検定の結果及び心理物理学的 d' 値を下記第4表に示す。

【0056】

【表 4】

第4表. レバウディオサイドBブレンド対97%レバウディオサイドA

サンプル	#選好性	#甘味
レバウディオサイドBブレンド	27	27
97%レバウディオサイドA	11	11
合計	38	38
両側二項 p 値	< 0.01	< 0.01
d' 値	0.79	0.79

【0057】

レバウディオサイドBブレンドが好まれ、かつ97%レバウディオサイドAよりも甘いことが分かった。 10

【0058】

実施例2 - ステビオシドと混合したレバウディオサイドA又はレバウディオサイドBの800ppm混合物の選好性試験

味覚パネルに、レバウディオサイドAとステビオシドとの市販の混合物と、97%レバウディオサイドAの500ppmサンプルとを比較させた。ステビオール配糖体の配糖体ブレンドを、0.0056Mクエン酸緩衝液(pH3.1)に溶解した。97%レバウディオサイドAを含有する市販の甘味組成物を含有する溶液を同様に調製した。サンプル提示順序は回転させ、この2つの溶液のサンプル(室温)をTate & Lyleの従業員のパネルに提示し、実施例1と同じ指示及び質問を用いて、より甘く、より好ましい溶液を決めさせた。甘味及び選好性に関する質問の結果を、2項検定を用いて分析し、実施例1と同様にサーストンのd'を計算した。 20

【0059】

【表 5】

第5表. 97%レバウディオサイドA及びレバウディオサイドAとステビオシドとの混合物の組成

配糖体	97%レバウディオサイドA (mg)	混合物 (mg/l)
レバウディオサイドA	473	374
ステビオシド	1	403
レバウディオサイドB	14	11
レバウディオサイドC	0	0
レバウディオサイドD	0	0
合計	498	789

【0060】

別のパネルにレバウディオサイドBとステビオシドとの混合物を比較させた。ステビオール配糖体の配糖体ブレンドを、0.0056Mクエン酸緩衝液(pH3.1)に溶解した。97%レバウディオサイドAを含有する市販の甘味組成物を含有する溶液を同様に調製した。この2つの溶液をTate & Lyleの従業員のパネルに提示し、実施例1と同じ指示及び質問を用いて、より甘く、より好ましい溶液を決めさせた。 40

【0061】

【表 6】

第6表. 97%レバウディオサイドA及びレバウディオサイドBとステビオシドとの混合物の組成

配糖体	97%レバウディオサイドA (mg)	混合物 (mg/l)
レバウディオサイドA	473	4
ステビオシド	1	397
レバウディオサイドB	14	400
レバウディオサイドC	0	0
レバウディオサイドD	0	0
合計	498	801

【0062】

甘味及び選好性に関する質問の結果を、2項検定を用いて分析し、実施例1と同様にサーションのd'を計算した。2つのパネルの結果及び心理物理学的d'値を第7表及び第8表にそれぞれ示す。

【0063】

【表7】

第7表. レバウディオサイドAとステビオシドとのブレンド対97%レバウディオサイドA

サンプル	#選好性	#甘味
レバウディオサイドA及びステビオシド	4	22
97%レバウディオサイドA	37	19
合計	41	41
両側二項p値	<0.01	0.27
d'値	-1.83	0.13

10

【0064】

結果から示されるように、レバウディオサイドA - ステビオシドブレンドが、97%レバウディオサイドAと比較して殆ど好まれず、甘味がほぼ等しいことが分かった。

【0065】

【表8】

第8表. レバウディオサイドBとステビオシドとのブレンド対97%レバウディオサイドA

サンプル	#選好性	#甘味
レバウディオサイドB及びステビオシド	21	30
97%レバウディオサイドA	22	13
両側二項p値	0.38	<0.01
合計	43	43
d'値	-0.04	0.73

20

【0066】

結果から示されるように、レバウディオサイドB - ステビオシドブレンドが97%レバウディオサイドA (500ppm)と同様に好まれ、レバウディオサイドB - ステビオシドブレンドが97%レバウディオサイドAよりも甘いことが分かった。

【0067】

実施例3 - レバウディオサイドA又はレバウディオサイドBの混合物の選好性試験

味覚パネルに、レバウディオサイドAとレバウディオサイドBとの市販の混合物と、97%レバウディオサイドAの900ppmサンプルとを比較させた。Tate & Lyleの従業員が甘味及び選好性の対比較検定に参加した。ランダムな3桁の番号をラベルした2オンスのスフレカップ内で、サンプルを室温で試験した。900ppmのレバウディオサイドAの異風味が残るため、提示順序は回転させなかった。パネリストは初めに試験サンプルを評価し、次いで対照の900ppmレバウディオサイドAサンプルを評価した。パネリストにサンプルを再び試飲しないよう指示した。さらに、パネリストをサンプルの試験間に1分間待たせ、2%スクロース溶液、無塩クラッカー及びミネラルウォーターで口直しするよう指示した。より甘く、より好ましい溶液をパネリストに決めさせた。投票用紙を渡し、SIMS官能検査ソフトウェア (Sensory Computer Systems, LLC, Morristown, NJ) を用いてデータを収集した。

30

40

【0068】

【表9】

第9表. 97%レバウディオサイドA及びレバウディオサイドAとレバウディオサイドBとの混合物の組成

成分	試験	対照
Hinkley Spring Water	98.88	98.88
レバウディオサイドA	0.0536	0.0900
レバウディオサイドB	0.0310	0.0000
85%リン酸	0.0361	0.0361
合計	100	100

【0069】

50

一対比較検定に関する指示は以下のとおりとした：

- (i) サンプルの前及びサンプル間で口をすすぐことが重要である。
- (i i) クラッカーを一口食べて口直しする。次いで、砂糖水で口をすすぐ。最後に、水で口をすすぐ。
- (i i i) 提示の順序で左から右にサンプルを試飲する。
- (i v) 各サンプルの少なくとも半分を試飲し、甘味を記入する。
- (v) 砂糖水で口をすすぎ、続いて水で口をすすぐ。
- (v i) 選好性及び甘味についてサンプルを評価する。より好ましいサンプルを選び、より甘いサンプルを選ぶ。これらは同じサンプルであっても、又はそうでなくてもよい。確信が持てない又は選好性がない場合でもいずれかを選ぶ。
- (v i i) ここで、左側のサンプルを試飲する。
- (v i i i) 次のサンプルを試飲する前に1分間待つ (S I M S の 6 0 秒タイマーを開始する)
- (i x) ここで、右側のサンプルを試飲する。

10

【 0 0 7 0 】

一対比較検定に関する質問は以下のとおりとした：

- (i) これら2つのサンプルのどちらがより好ましいか。答えをマークする前に3桁の番号を入念に確認すること。これらはサンプルが提示された順序と同じでなくてもよい。
- (i i) 2つのサンプルのどちらがより甘いか。

20

【 0 0 7 1 】

試験の間、S I M S の 1 2 0 秒タイマーを開始した。甘味及び選好性に関する質問の結果を、2項検定を用いて分析し、実施例1と同様にサーストンの d' を計算した。

【 0 0 7 2 】

2つのパネルの結果及び心理物理学的 d' 値を第11表に示す。

【 0 0 7 3 】

【 表 1 0 】

第11表、レバウディオサイドA&レバウディオサイドB対97%レバウディオサイドA

	甘味	両側 p 値	d'	選好性	片側 p 値	d'
試験1 (5 3 6 p p m のレバウディオサイドA、3 1 0 p p m のレバウディオサイドB)	2 3	0 . 1 4	0 . 3 8	3 6	< 0 . 0 1	2 . 2 9
対照 (9 0 0 p p m のレバウディオサイドA)	1 5			2		

30

【 0 0 7 4 】

結果から示されるように、レバウディオサイドA - レバウディオサイドBブレンドが97%レバウディオサイドAと比較して好まれ、甘味がほぼ等しいことが分かった。

【 0 0 7 5 】

実施例4 - ステビオール配糖体混合物の選好性試験

本研究は、レバウディオサイドA単独に対するレバウディオサイドAとレバウディオサイドBとのブレンドの選好性を決定するために、投票に関するパネルリストの混乱を低減するよう変更した、パネルリストテスターにおよそ2オンスの各サンプルを摂取させる官能的方法を用いて、およそ10SEVの甘味で行った。

40

【 0 0 7 6 】

パネルリストに甘味及び選好性の一対比較検定を行った。3桁の番号をラベルした2オンスのスフレカップ内で、製品を冷蔵温度で試験した。サンプルは提供する直前に注いだ。より甘く、より好ましい飲料をパネルリストに決めさせた。ミネラルウォーター、2%スクロース溶液及び無塩クラッカーを、パネルリストの試験前及び試験中の口直しのために用意した。

【 0 0 7 7 】

パネルリストは1回目に試験サンプルを評価し、次いで2回目に対照の900ppmレバウディオサイドAサンプルを評価した。900ppmのレバウディオサイドAの異風味が残るため、本試験における提示順序は回転させなかった。パネルリストに全てのサンプルを

50

摂取し、サンプルを再び試飲しないよう指示した。パネリストには、投票時のサンプルの順序が、サンプルが提示された順序と同じでなくてもよいことを注意した。接着剤付きノートに好ましいサンプルをマークするようパネリストに指示し、これらの結果を投票による結果と比較した。サンプル間に1分間及び試験間に2分間の休憩を設け、パネリストに2%スクロース、クラッカー及び水で口直しするよう指示した。

【0078】

試験した製品は、1部のシロップと4部の炭酸水とを含むレモンライム炭酸清涼飲料であり、シロップは下記第12表に記載の組成を有するものとした。

【0079】

【表11】

第12表. シロップ配合物

成分	試験1	対照
Hinkley Spring Water	98.20	98.18
安息香酸ナトリウム	0.10	0.10
レバウディオサイドA	0.268	0.450
レバウディオサイドB	0.155	0.000
クエン酸ナトリウム二水和物	0.15	0.15
無水クエン酸	0.63	0.63
GivaudanのNatural Lemon Flavor #881337	0.50	0.50
合計	100	100

【0080】

結果を、選好性については片側検定、甘味については両側検定として2項検定を用いてリスク0.05で分析した。試験の結果を下記第13表に記載する。

【0081】

【表12】

第13表. 試験1の飲料と対照飲料との比較

	甘味	両側p値	d'	選好性	片側p値	d'
試験1 (536ppmのレバウディオサイドA、310ppmのレバウディオサイドB)	20	0.76	-0.04	26	0.03	0.48
対照 (900ppmのレバウディオサイドA)	21			15		

【0082】

検定から、試験レモンライム炭酸清涼飲料のどちらも、レバウディオサイドAで甘くしたレモンライム炭酸清涼飲料と甘味が有意に異ならず、レバウディオサイドAで甘くしたレモンライム炭酸清涼飲料よりも有意に好ましかったことが示される。

【0083】

分析から、レバウディオサイドAとレバウディオサイドBとのブレンドが、とりわけ高い甘味レベルでレバウディオサイドA単独よりも好ましいことが示唆される。

【0084】

実施例5 - 溶解度

或る特定の溶液におけるレバウディオサイドA及びレバウディオサイドBの溶解度を決定するために、4つのストック溶液を調製した。10倍濃縮したクエン酸/クエン酸ナトリウム(pH3)ストック緩衝溶液を、0.9gの無水クエン酸及び0.26gのクエン酸ナトリウム二水和物を水に溶解し、100mLの緩衝液(0.047Mクエン酸+0.0088Mクエン酸ナトリウム)を作製することによって調製した。レバウディオサイドAの2500ppm(公称)溶液を、0.125gのGLG RA 97を溶解し、50mLの溶液を作製することによって調製した。ステビオシドの2500ppm(公称)溶液を、0.125gのGLG STV 97を溶解し、50mLの溶液を作製することによって調製した。レバウディオサイドBの1000ppm(公称)溶液を、1790ppmと測定された56mLの溶液を希釈し、100mLの溶液を作製することによって調製した。

【0085】

10

20

30

40

50

これらの溶液を、第14表に示すように、容量(μL)を1.5mL容の微小遠心管にマイクロピペットで量り取ることによって総量1mLとして混合した。得られた3つの配糖体それぞれの公称濃度(ppm)も第14表に挙げる。

【0086】

【表13】

第14表. 試験溶液の概要

試験管	10×クエン酸	水	添加したストック溶液(μL)			PPM(公称)		
			2500ppm レバウデオサイドA	2500ppm ステビオシド	1000ppm レバウデオサイドB	レバウデオサイドA	ステビオシド	レバウデオサイドB
1	100	200	0	200	500	0	500	500
2	100	250	0	150	500	0	375	500
3	100	300	0	100	500	0	250	500
4	100	350	0	50	500	0	125	500
5	100	400	0	0	500	0	0	500
6	100	150	50	200	500	125	500	500
7	100	200	50	150	500	125	375	500
8	100	250	50	100	500	125	250	500
9	100	300	50	50	500	125	125	500
10	100	350	50	0	500	125	0	500
11	100	100	100	200	500	250	500	500
12	100	150	100	150	500	250	375	500
13	100	200	100	100	500	250	250	500
14	100	250	100	50	500	250	125	500
15	100	300	100	0	500	250	0	500
16	100	50	150	200	500	375	500	500
17	100	100	150	150	500	375	375	500
18	100	150	150	100	500	375	250	500
19	100	200	150	50	500	375	125	500
20	100	250	150	0	500	375	0	500
21	100	0	200	200	500	500	500	500
22	100	50	200	150	500	500	375	500
23	100	100	200	100	500	500	250	500
24	100	150	200	50	500	500	125	500
25	100	200	200	0	500	500	0	500

10

20

30

40

50

【0087】

混合の直後、溶液は全て透明であり(相対するものは混濁である)、沈殿を示さなかった。次いで、試験管を実験室内に室温(約25℃)で約100時間静置すると、その時点までに全てが少なくとも幾らかの沈殿を示した。5日間(約100時間)放置した後、試験管を卓上遠心機で回転させ、沈殿物をペレット化した。透明な上清をバイアルに採取し、UV検出(Watersの2487 Dual Absorbance Detectorを備えるWatersの2695 Separations Module、又は同等の機器)による逆相高速液体クロマトグラフィー(HPLC)勾配法を用いて、配糖体についてアッセイした。これについて第15表にまとめる。HPLC条件は以下のとおりとした：
 カラム - WatersのAtlantis T3 4.6×250mm; 4μ、PhenomenexのSecurity Guard AQ C18ガードカートリッジ、4×3.0mm、
 緩衝液 - 0.0284%酢酸アンモニウム、0.0116%酢酸、
 流量 - 1.0mL/分、
 検出器 - 203nmでの分析を用いたUV検出器、

注入量 - 20 μ L 又は必要に応じて標準濃度に適合する量、及び、
 カラム温度 - 40 。

【0088】

【表14】

第15表. HPLC勾配法：移動相：アセトニトリル／緩衝液勾配

時間 (分)	水 (%)	緩衝液 (%)	Waters 曲線
0	70	30	n a
15	65	35	6
20	65	35	6
25	20	80	6
30	20	80	1
35	70	30	1

10

【0089】

HPLCにより収集した上清のデータを、DESIGN EXPERT 8ソフトウェアを用いて処理した。簡潔に述べると、データをプログラムに公称データとしての2要因5水準の一般要因計画である「要因」データとして入力し、これを次いで数値データに変換し、実際のHPLC結果に置き換えた。次いで、ソフトウェアによって、上清中のレバウディオサイドA及びステピオシドの濃度に応じてレバウディオサイドBの濃度（溶解度）を予測するモデルを選択した。ソフトウェアによってモデルパラメータの有意性を示す多数の統計的要因も計算した。この場合、モデル化によって、小さなレバウディオサイドA - ステピオシド相互作用パラメータを含むモデルと含まないモデルとが、ほぼ等しく有効であることが示されたため、より単純な（非干渉）モデルを更なる処理に選択した。このプログラムによって得られたモデルの分散分析（ANOVA）を第16表に示す。

20

【0090】

【表 15】

第16表. ANOVA結果-Design Expert

レバウディオサイドB		分散分析表 (部分平方和-タイプ III)				
ソース	平方和	自由度	平均平方	F値	p値 (Prob>F)	
モデル	61253.89	2	30626.95	443.84	<0.0001	
A-レバウディオサイド						
A	61056.01	1	61056.01	884.81	<0.0001	
B-ステビオシド	363.55	1	363.55	5.27	0.0316	
残余	1518.11	22	69.00			
全体 (修正済み)	62772.00	24				
標準偏差	8.31			R平方	0.9758	
平均	301.80			調整R平方	0.9736	
C.V. %	2.75			予測R平方	0.9691	
PRESS	1939.25			適切な精度	52.665	
係数推定			標準誤差	95%CI	95%CI	VIF
要因		自由度		低	高	
切片	297.61	1	1.67	294.15	301.08	
A-レバウディオサイド						
A	78.09	1	2.63	72.65	83.54	1.00
B-ステビオシド	-5.66	1	2.47	-10.78	-0.55	1.00
符号化要因に関する最終方程式:						
レバウディオサイドB =						
+ 297.61						
+ 78.09 * A						
- 5.66 * B						
実要因に関する最終方程式:						
レバウディオサイドB =						
+ 225.17918						
+ 0.31238 * レバウディオサイドA						
- 0.02264 * ステビオシド						

10

20

30

【0091】

第17表は、各々の試験溶液に由来する上清の実験的に決定された組成を示す。

【0092】

【表 16】

第 17 表. HPLCによる生アッセイデータ

HPLCによってアッセイした配糖体の濃度 (ppm)				
試験管	レバウディオサイドA	ステビオシド	レバウディオサイドB	ステビオールピオシド
1	38.8	478	234	4.39
2	38.5	351	231	3.61
3	37.6	241	229	2.28
4	36.2	112	233	1.59
5	34.9	0	226	0.73
6	154	480	265	5.03
7	154	360	255	3.35
8	151	241	284	2.86
9	149	121	273	2.03
10	146	0	271	0.77
11	274	476	300	5.1
12	273	363	293	4.51
13	269	248	305	3.38
14	260	119	286	1.49
15	260	0	308	0
16	375	473	336	4.87
17	381	357	344	3.78
18	372	245	340	2.61
19	370	125	342	2
20	365	0	342	0
21	487	475	361	4.74
22	477	356	363	4.35
23	481	245	358	2.72
24	498	120	375	1.25
25	484	0	391	0

10

20

30

【0093】

本研究に使用したレバウディオサイドBは、試験管1～試験管5に見られるレバウディオサイドAを説明する、約6%～7%のレバウディオサイドAを含有していた。サンプル中のステビオシド及びレバウディオサイドAの濃度は、これらの化合物がこの濃度でこの緩衝液に完全に可溶性である、すなわち、レバウディオサイドBのみが実験中に沈殿したという考えと一致することもデータから明らかである。第18表に示すデータをDESIGN EXPERT 8に入力し、2要因線形回帰モデルを生成した。これを下記方程式1に記載する。

40

【数3】

$$\text{ConcB} = 225.18 + 0.312 * \text{concA} - 0.02264 * \text{concSs} \quad (\text{方程式1})$$

【0094】

この方程式から示されるように、上清中のBの濃度 (concB、すなわち溶解限度) が、レバウディオサイドAの濃度 (concA) 及びステビオシドの濃度 (concSs) の両方に影響されることが分かった。レバウディオサイドBの溶解度は、レバウディオサイドAの濃度を増大させることによって実質的に増大し、ステビオシドの濃度を増大させることによって僅かに減少した。

【0095】

50

図 1 に示されるように、方程式 1 によって表される線形 - 線形モデルを、3Dプロットにおいて平面としてプロットする。平面はクエン酸緩衝液 (pH 3.1) におけるレバウディオサイド B の最大溶解度を表し、478 ppm のステビオシドにおける場合 (モデルによる) の約 225 ppm という低い溶解度から 480 ppm のレバウディオサイド A における約 380 ppm までの範囲である。

【0096】

溶解限度 (方程式 1) と、質量分率の総和が 1 でなければならないという制約とを用いることで、溶解限度でのレバウディオサイド B の質量分率 (X_B) を、レバウディオサイド A の質量分率 (X_A)、総レバウディオサイド濃度 (レバウディオサイド B + レバウディオサイド A + ステビオシド = C_{tot})、及び回帰方程式 (下記方程式 2) の係数 ($\alpha_0 = 225.18 \text{ ppm}$ 、 $\alpha_1 = 0.312$ 、 $\alpha_2 = -0.0226$) に関連付ける方程式を見出すことができる。

10

【数 4】

$$X_B = \frac{\left[\frac{\alpha_0}{C_{tot}} + \alpha_2 \right]}{(1 + \alpha_2)} + \left[\frac{\alpha_1 - \alpha_2}{1 + \alpha_2} \right] X_A \quad (\text{方程式 2})$$

【0097】

したがって、方程式 2 がレバウディオサイド A と、ステビオシドと、レバウディオサイド B との三成分混合物における安定な溶液の溶解度領域の端を規定すると考えられる。そのため、安定な領域の大きさは総濃度 (C_{tot}) によって異なる。

20

【0098】

本研究から、レバウディオサイド B が中性 pH 溶液中で高い溶解度を有するにもかかわらず、レバウディオサイド B の溶解度が pH 3 のクエン酸緩衝液において制限されることが明らかに示される。また、レバウディオサイド A の存在はレバウディオサイド B の溶解度を増大させるが、ステビオシドの存在はレバウディオサイド B の溶解度を僅かに低減する。この溶解度の情報は、レバウディオサイド B の溶液及びレバウディオサイドの混合物の配合を試みる場合に留意すべきである。

【0099】

実施例 6 - レバウディオサイド B 含量に応じた甘味料の味の評価

30

記述的パネルを使用して、レバウディオサイド A (純度 97% であり、0.62% レバウディオサイド B を含有していた) に添加した様々なレベルのレバウディオサイド B の風味属性及び風味の強さを定量化した。具体的には、900 ppm のレバウディオサイド A + レバウディオサイド B 溶液で甘味料をパネリストに評価させた。ここで、レバウディオサイド B の添加量は、レバウディオサイド B の総含量が 0.6%、3.6%、6.5%、11.4%、22.3%、37.5% 及び 52% となる量とした。8% スクロース溶液を対照として使用した。溶液は中性 pH 水中で調製した。試験対象に含まれる他の高甘味度甘味料は 500 ppm のアスパルテム、750 ppm の ASK、250 ppm のスクラロース及び 500 ppm のステビアであった。

【0100】

40

試験を行う前に、10 人のパネリストに、サンプルを甘味、苦味、異風味、化学薬品又は人工甘味料の風味、アニス味 (anise) 及び口内での広がり (mouth coating) について格付けするために、多様な製品の外観、香り、風味及び質感を表す標準用語の使用について十分に教え込んだ。かかる属性の各々を一口目及び二口目及び後味について評価した。試験は、パネリストにサンプルを試飲させ、風味特性について考察させることから開始した。参照についても試飲を行い、「甘味」、「苦味」及び「アニス味」について考察させた。風味用語の定義を下記第 18 表に記載する。

【0101】

【表 17】

第 18 表. 定義

用語	定義
全体的な風味	製品の全ての香り又は風味の総合的な強さ。
甘味	主に舌先で認識される基本的な 4 つの味の 1 つ；スクロース及び他の糖に共通する。
全体的な異風味	甘味ではなく、サンプルにおいて意図されないと考えられ得るサンプルの全ての風味。
人工甘味料／化学薬品の味	サンプル中の食品及び飲料に存在することが意図されない人工甘味料又は化学薬品の味を連想させる風味。
真の苦味	主に舌の奥で認識される 4 つの基本的な味の 1 つ；カフェイン及びキニーネに共通する。
アニス味	アニス又は甘草を連想させる全体的な風味。
口内での広がり	口の軟組織を覆う任意の種類の感覚。

10

【0102】

試験の 2 日目及び 3 日目に、パネリストにサンプルを様々な属性について評価させ、甘味料だけでなく全ての食品成分製品を含む、「なし」から「最大」までのスケールで格付けさせた。第 19 表に記載の製品及び溶液を、パネリストのスケールの「基準 (anchor)」として使用した。

【0103】

【表 18】

第 19 表. 風味の基準

風味	スケール値	参照
アニス味	NR	吸い取り紙上のアニス
甘味	5.0	水中の 5% スクロース
	10.0	水中の 10% スクロース
苦味	2.0	水中の 0.025% カフェイン
	5.0	水中の 0.04% カフェイン

20

【0104】

1 セッション当たり 8 つのサンプルを評価した。7 分間の休憩時間を各サンプル間に設け、15 分間の休憩を最初の 4 つのサンプルを評価した後に設けた。各製品について各パネリストから 2 回の評価 (すなわち反復) を得た。したがって、合計で 20 回の判定を各製品について行った。データ収集の際には、パネリストに 15 cm の目盛線上に縦線を引くことによって各々の官能特性の強さを示すよう指示した。提供順序は、製品がほぼ等しい回数で各々の可能な位置に見られるように均等にした。待合室では、アルハンブラ周辺の (ambient Alhambra) 飲用水、無塩ソーダクラッカー及びセロリを、サンプル間の口直しのために用意した。

30

【0105】

目盛線上の縦線を、コンピュータ化官能データ収集システムである SIMS によって 1 ~ 15 の範囲の数値に変換した。各々の官能特性について平均強さを計算した。必要に応じて、分散分析及びダンカンの多重範囲検定を用いて、各属性に関するサンプル間の有意差を決定した。パネリストと製品との相互作用が有意である場合、誤差項の平均平方の代わりに相互作用項の平均平方を、製品の F 値の計算に使用した。結果を下記の第 20 表及び第 21 表に記載する。

40

【0106】

【表 19】

第 20 表. 苦味マスキング剤の定量的記述評価

n = 18 (9 人のパネリスト、各 2 回の評価)

	スクロース	0.6% レバウ ディオ サイド B	3.6% レバウ ディオ サイド B	6.5% レバウ ディオ サイド B	11.4% レバウ ディオ サイド B	22.3% レバウ ディオ サイド B	37.5% レバウ ディオ サイド B	52% レバウ ディオ サイド B	P 値	信頼度
全体的な風味:										
一口目	d 8.67	a b c 9.94	a 10.16	a b 10.04	b c 9.69	b c 9.61	a b c 9.76	c 9.47	0.0008	**
二口目	c 7.86	a b 8.62	a 8.79	a b 8.56	b c 8.28	c 8.07	c 8.00	c 7.97	0.0047	**
後味	d 4.32	a b 5.96	a 6.34	b c 5.77	b c 5.59	b c 5.80	c 5.45	b c 5.63	0.0001	**
甘味:										
一口目	d 8.06	a b c 9.15	a b 9.34	a 9.56	a b c 9.13	b c 9.01	a b c 9.21	c 8.80	0.0057	**
二口目	7.43	7.27	7.66	7.36	7.40	6.92	6.91	7.02	0.2088	NSD
後味	c 3.92	b c 4.44	a 5.15	a b 4.70	a b 4.58	a b 5.01	a b 4.61	a b 4.75	0.0184	**
全体的な異風味:										
一口目	e 0.89	a b 7.69	a 7.79	a b c 7.34	c d 6.83	c d 6.72	b c d 6.98	d 6.48	0.0001	**
二口目	c 0.49	a 7.01	a 7.02	a 6.88	b 6.09	b 5.67	b 5.83	b 5.68	0.0001	**
人工甘味料/化学 薬品の味:										
一口目	d 0.59	a 7.74	a b 7.45	a b 7.37	c 6.67	c 6.54	b c 6.87	c 6.52	0.0001	**
二口目	c 0.41	a 6.79	a 6.88	a 6.71	b 5.73	b 5.31	b 5.48	b 5.64	0.0001	**
後味	f 0.12	a b 5.00	a 5.22	b c 4.66	c d 4.39	d e 3.99	e 3.79	d e 3.91	0.0001	**

・分散分析の信頼度: * = 90%、** = 95%

・NSD: 90%以上の信頼度で有意差なし

・異なる上付き文字の平均格付けは、90%の信頼度で有意差がある (ダンカンの多重範囲検定)

10

20

30

【0107】

【表 20】

第 21 表. 苦味マスキング剤の定量的記述評価 (続き)

n = 18 (9 人のパネリスト、各 2 回の評価)

	スクロース	0.6 % レバウ ディオ サイド B	3.6 % レバウ ディオ サイド B	6.5 % レバウ ディオ サイド B	11. 4% レバウ ディオ サイド B	22. 3% レバウ ディオ サイド B	37. 5% レバウ ディオ サイド B	52% レバウ ディオ サイド B	P 値	信頼度
真の苦味:										
一口目	e 0.29	a 3.78	a b 3.63	a b c 3.28	a b 3.37	c d 2.80	b c 3.11	d 2.49	0.0001	**
二口目	d 0.24	a 3.89	a b 3.71	a b 3.46	b 3.36	c 2.81	c 2.62	c 2.74	0.0001	**
後味	e 0.15	a 3.39	a 3.45	b 2.78	b c 2.57	b c d 2.26	c d 2.08	d 1.89	0.0001	**
アニス味:										
一口目	c 0.52	a b 1.73	a b 1.73	a b 1.45	a 1.79	a b 1.59	a b 1.58	b 1.34	0.0001	**
二口目	b 0.41	a 1.53	a 1.64	a 1.36	a 1.62	a 1.34	a 1.36	a 1.29	0.0001	**
後味	d 0.13	a 1.42	a 1.46	a b c 1.27	a b 1.34	c 0.98	a b c 1.12	b c 1.03	0.0001	**
口内での広がり:										
一口目	c 0.76	b 1.47	b 1.48	b 1.40	a 1.74	b 1.49	b 1.49	b 1.37	0.0001	**
二口目	b 0.69	a 1.48	a 1.46	a 1.29	a 1.56	a 1.42	a 1.40	a 1.42	0.0001	**

・分散分析の信頼度: * = 90%、** = 95%

・NSD: 90%以上の信頼度で有意差なし

・異なる上付き文字の平均格付けは、90%の信頼度で有意差がある (ダンカンの多重範囲検定)

【0108】

図 3 は、レバウディオサイド B 含量に応じて統計的有意差を測定した各々の風味属性のパネリストの平均応答の大きさを示す。使用したスケールは「母集団」を包含するため、97%レバウディオサイド A 溶液と漸増レベルのレバウディオサイド B との差の大きさは、他の非公式試験によって決定されるほど大きくはない。例えば、数人の非公式テスターが、約 20% のレバウディオサイド A の添加によって苦味が約 80% 低減したと考えたが、上記テスターパネルによる結果は、約 20% のレバウディオサイド A の添加によって苦味が約 30% 低減したことを示している。

【0109】

風味属性もサンプル間で比較した。サンプルの属性が他の全てのサンプルよりも有意に高いか又は低い場合に、その属性を「最高」又は「最低」と述べる。サンプルの属性が最高又は最低であるが、他の全てのサンプルよりも有意に高いか又は低くはない場合、その属性をそれぞれ「高い」又は「低い」と述べる。本明細書中で論考する属性は、95% 信頼度で有意であることが分かった。

【0110】

高甘味度甘味料サンプルと比較して、スクロースは以下の点で最低であった: 全体的な風味 (ただし、二口目については 22.3%、37.5% 及び 52% のレバウディオサイド B に対して有意ではない)、一口目及び後味の甘味 (ただし、苦味対照よりも有意に低くはない)、全体的な異風味、人工甘味料 / 化学薬品の味、真の苦味、アニス味及び口内での広がり。

【0111】

高甘味度甘味料サンプルの中でも、0.6%レバウディオサイド B を含む 97%レバウディオサイド A が以下の点で高かった: 二口目の全体的な異風味、一口目及び二口目の人工甘味料 / 化学薬品の味、真の苦味並びに後味のアニス味。

【0112】

高甘味度甘味料サンプルの中でも、3.6%のレバウディオサイド B を添加したサンプル

10

20

30

40

50

ルが以下の点で高かった：全体的な風味、後味の甘味、全体的な異風味、二口目及び後味の人工甘味料／化学薬品の味、後味の真の苦味並びに後味のアニス味。

【0113】

高甘味度甘味料サンプルの中でも、6.5%のレバウディオサイドBを添加したサンプルが以下の点で高かった：一口目の甘味、二口目の全体的な異風味及び二口目の人工甘味料／化学薬品の味。

【0114】

高甘味度甘味料サンプルの中でも、11.4%のレバウディオサイドBを添加したサンプルが、二口目の全体的な異風味並びに一口目及び二口目の人工甘味料／化学薬品の味の点で低く、一口目のアニス味及び一口目の口内での広がりの中で高かった。

10

【0115】

高甘味度甘味料サンプルの中でも、22.3%のレバウディオサイドBを添加したサンプルが以下の点で低かった：二口目の全体的な風味、二口目の全体的な異風味、一口目及び二口目の人工甘味料／化学薬品の味、二口目の真の苦味並びに後味のアニス味。

【0116】

高甘味度甘味料サンプルの中でも、37.5%のレバウディオサイドBを添加したサンプルが以下の点で低かった：二口目及び後味の全体的な風味、二口目の全体的な異風味、二口目及び後味の人工甘味料／化学薬品の味、並びに二口目の真の苦味。

【0117】

高甘味度甘味料サンプルの中でも、52%のレバウディオサイドBを添加したサンプルが以下の点で低かった：一口目及び二口目の全体的な風味、一口目の甘味、一口目及び二口目の全体的な異風味、一口目及び二口目の人工甘味料／化学薬品の味、真の苦味並びに一口目のアニス味。

20

【0118】

結果から、3.6%のレバウディオサイドBの添加が風味属性の悪化をもたらし、6.5%のレバウディオサイドBの添加が、全体的な異風味及び人工甘味料／化学薬品の風味に殆ど影響を与えないことが示される。より大量のレバウディオサイドBの添加は、殆どの特性において、異風味、特に苦味が低減している、よりスクロースに似たサンプルのスコアリングをもたらす傾向がある。しかしながら、結果から、レバウディオサイドB含量を約20%超まで増大させることが、望ましくない風味属性に対して更なる影響を殆ど与えないことが示される。驚くべきことに、甘味はレバウディオサイドB含量によって殆ど影響を受けず、このことは、レバウディオサイドBの甘味がレバウディオサイドAの2分の1～3分の2であると見出したレバウディオサイドBに関する以前の報告に反している。高甘味度甘味料溶液の甘味及び全体的な風味は、8%スクロース溶液に類似し、また互いに類似しており、人工甘味料／化学薬品の味はスクロース溶液よりもはるかに高く、高甘味度甘味料サンプルにより広まる。このことは、レバウディオサイドB濃度が、これらの味に対して顕著な影響を有することを示している。

30

【0119】

有利には、本発明を用いて、多くの用途に必要とされる「本格的な」甘味をもたらすために使用することのできる高甘味度甘味料組成物を製造することができる。これは、約200ppmを超える濃度でのその苦味のために、通常はレバウディオサイドA単独では達成することができない。より具体的には、本発明によって、消耗品が許容し難いレベルの苦味を有することなく、約800ppm～約1000ppmのレバウディオサイドを含むように消耗品に添加することのできる高甘味度甘味料の製造が可能となるため、本発明の甘味料組成物を用いて、多くの消耗品（食品用途）に必要とされる完全な甘味をもたらすことができる。

40

【 図 1 】

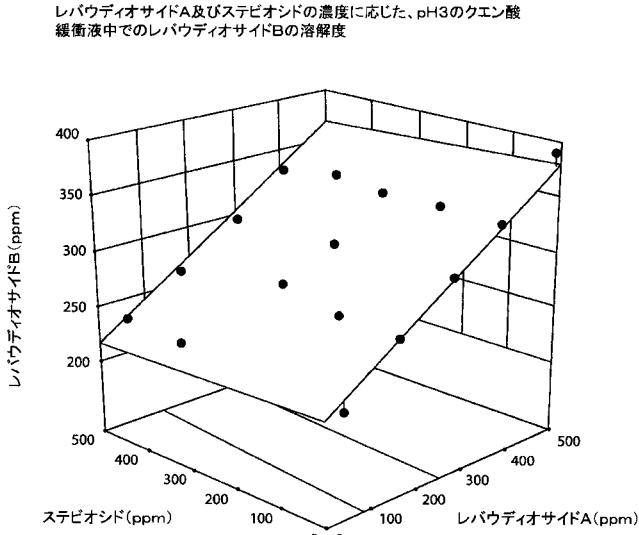
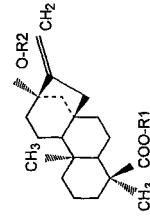


FIG. 1

【 図 2 】



化合物名	CAS番号	R1	R2
1 ステビオール	471-80-7	H	H
2 ステビオール	41093-60-1	H	β -Glc- β -Glc(2 \rightarrow 1)
3 ステビオシド	57817-89-7	β -Glc	β -Glc- β -Glc(2 \rightarrow 1)
4 レバウディオサイドA	58543-16-1	β -Glc	β -Glc- β -Glc(2 \rightarrow 1)
5 レバウディオサイドB	58543-17-2	H	β -Glc(3 \rightarrow 1)
6 レバウディオサイドC (ズルコシドB)	63550-99-2	β -Glc	β -Glc- α -Rha(2 \rightarrow 1)
7 レバウディオサイドD	63279-13-0	β -Glc- β -Glc(2 \rightarrow 1)	β -Glc- β -Glc(2 \rightarrow 1)
8 レバウディオサイドE	63279-14-1	β -Glc- β -Glc(2 \rightarrow 1)	β -Glc(3 \rightarrow 1)
9 レバウディオサイドF	438045-89-7	β -Glc	β -Glc- β -Glc(2 \rightarrow 1)
10 ルブソシド (ズルコシドA)	63849-39-4	β -Glc	β -Glc(3 \rightarrow 1)
11	64432-06-0	β -Glc	β -Glc- α -Rha(2 \rightarrow 1)

FIG. 2

【 図 3 】

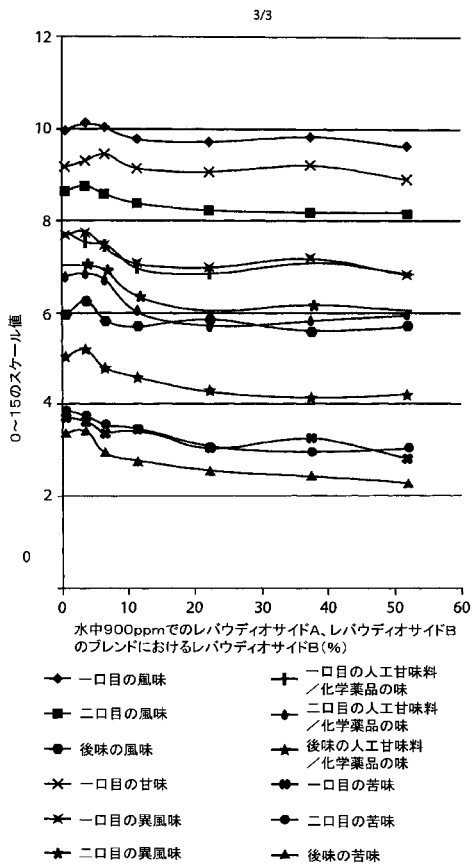


FIG. 3

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2011/056845

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. A23L1/236 A23L2/60 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A23L		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2009/071277 A1 (DSM IP ASSETS BV [NL]; FOWLER ANN [CH]; GORALCZYK REGINA [DE]; KILPERT) 11 June 2009 (2009-06-11) claims 1-11; example 11 -----	1-10,15
A,P	WO 2011/094423 A1 (CARGILL INC [US]; ERICKSON ARON [US]; HAHN JOHN JOSEPH [US]; MYERSON A) 4 August 2011 (2011-08-04) the whole document -----	1-16
A	US 2008/107775 A1 (PRAKASH INDRA [US] ET AL) 8 May 2008 (2008-05-08) -----	1-16
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
12 January 2012		20/01/2012
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Adechy, Miriam

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2011/056845

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2009071277	A1	11-06-2009	
		AU 2008333570 A1	11-06-2009
		CN 101883568 A	10-11-2010
		EP 2214681 A1	11-08-2010
		JP 2011505344 A	24-02-2011
		KR 20100099243 A	10-09-2010
		US 2011038957 A1	17-02-2011
		WO 2009071277 A1	11-06-2009

WO 2011094423	A1	04-08-2011	NONE

US 2008107775	A1	08-05-2008	
		AU 2007317459 A1	15-05-2008
		CN 101557726 A	14-10-2009
		EP 2091358 A2	26-08-2009
		JP 2010508822 A	25-03-2010
		US 2008107775 A1	08-05-2008
		WO 2008057964 A2	15-05-2008

フロントページの続き

(51) Int. Cl. F I テーマコード (参考)
A 6 1 K 8/97 (2006.01) A 6 1 K 8/97

(81) 指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, T
 J, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, R
 O, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA,
 BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, H
 U, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI
 , NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US,
 UZ, VC, VN

(72) 発明者 カールソン アルフレッド
 アメリカ合衆国 6 0 1 9 2 イリノイ州 ホフマン エステーツ プレイリー ストーン パー
 クウェイ 5 4 5 0

(72) 発明者 パットン ペネロペ エー .
 アメリカ合衆国 6 0 1 9 2 イリノイ州 ホフマン エステーツ プレイリー ストーン パー
 クウェイ 5 4 5 0

F ターム (参考) 4B017 LC02 LG15 LK04 LL02
 4B047 LB03 LF01 LF02 LF04 LF05 LF07 LF08 LF09 LF10
 4C083 AA111 AA112 AD211 BB55 CC41 EE06 FF01