

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局

(43) 国際公開日  
2021年11月4日(04.11.2021)



(10) 国際公開番号

WO 2021/220948 A1

- (51) 国際特許分類:  
*A23L 27/00* (2016.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2021/016400
- (22) 国際出願日: 2021年4月23日(23.04.2021)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:  
特願 2020-078392 2020年4月27日(27.04.2020) JP
- (71) 出願人: サントリーホールディングス株式会社(SUNTORY HOLDINGS LIMITED) [JP/JP]; 〒5308203 大阪府大阪市北区堂島浜2丁目1番40号 Osaka (JP).
- (72) 発明者: 三井 亮輝(MITSUI Ryoki); 〒2110067 神奈川県川崎市中原区今井上町13-2 サントリー商品開発センター内 Kanagawa (JP). 浦井 聡一郎(URAI Soichiro); 〒2110067 神奈川県川崎市中原区今井上町13-2 サントリー商品開発センター内 Kanagawa (JP). 横尾 芳明(YOKOO Yoshiaki); 〒2110067 神奈川県川崎市中原区今井上町13-2 サントリー商品開発センター内 Kanagawa (JP).
- (74) 代理人: 小林 浩, 外(KOBAYASHI Hiroshi et al.); 〒1040028 東京都中央区八重洲二丁目8番7号 福岡ビル9階 阿部・井窪・片山法律事務所 Tokyo (JP).
- (81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (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, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

- 一 国際調査報告(条約第21条(3))

(54) Title: PRODUCTION METHOD OF STEVIOL GLYCOSIDE COMPOSITION

(54) 発明の名称: ステビオール配糖体組成物の製造方法

(57) Abstract: Provided are a novel production method of a steviol glycoside composition and a method for increasing the concentration of steviol glycosides in a steviol glycoside-containing solution. Also provided is a food or beverage that contains a steviol glycoside composition produced by this production method. The production method of a steviol glycoside composition comprises preparing a steviol glycoside-containing solution containing a stevia extract and adding an additive to the steviol glycoside-containing solution to give a treated solution, wherein the additive is added so as to adjust the pH of the treated solution to 10-13.

(57) 要約: ステビオール配糖体組成物の新規の製造方法、およびステビオール配糖体含有溶液中のステビオール配糖体の濃度を増加する方法を提供する。また、前記製造方法により製造されたステビオール配糖体組成物を含む飲食品を提供する。ステビア抽出物を含むステビオール配糖体含有溶液を用意することと、前記ステビオール配糖体含有溶液に添加剤を添加して処理液を用意することと、を含み、前記添加剤を、前記処理液がpH10~13となるように添加する、ステビオール配糖体組成物の製造方法。

WO 2021/220948 A1

## 明 細 書

**発明の名称 : ステビオール配糖体組成物の製造方法**

### 技術分野

[0001] 本発明は、ステビオール配糖体組成物の製造方法、およびステビオール配糖体含有溶液中のステビオール配糖体の濃度を増加する方法に関する。また、本発明は、前記製造方法により製造されたステビオール配糖体組成物を含む飲食品にも関する。

### 背景技術

[0002] キク科ステビア(*Stevia rebaudiana*)の葉にはジテルペノイドの一種であるステビオール(Steviol)とよばれる二次代謝産物が含まれており、ステビオール配糖体は砂糖の約300倍もの甘味を呈することからカロリーレスの甘味料として食品産業に利用されている。肥満が深刻な社会問題として国際的に発展しており、健康増進および医療費削減の観点からもカロリーレスの甘味料の要望は日々大きくなっている。現在では人工的に合成されたアミノ酸誘導体のアスパルテーム(Aspartame)やアセスルファムカリウム(Acesulfame Potassium)が人工甘味料として利用されているが、ステビオール配糖体のように天然に存在するカロリーレス甘味料はより安全で消費者理解(Public Acceptance)が得られやすいと期待される。

[0003] これまでステビオール配糖体を含む種々の組成物が報告されている。例えば、特許文献1には、レバウディオサイドMを一般的な相対濃度(common relative concentration)よりも高い濃度で含むステビア(*Stevia rebaudiana*)植物の葉から抽出してステビオール配糖体組成物を得る方法が記載されている。

### 先行技術文献

#### 特許文献

[0004] 特許文献1 : 国際公開第2017/035527号パンフレット

### 発明の概要

## 発明が解決しようとする課題

[0005] 本発明は、ステビオール配糖体組成物の新規の製造方法、およびステビオール配糖体含有溶液中のステビオール配糖体の濃度を増加する方法を提供する。また本発明は、前記製造方法により製造されたステビオール配糖体組成物を含む飲食品を提供する。

## 課題を解決するための手段

[0006] 本発明者らは、鋭意研究を行った結果、ステビア植物の乾燥葉からステビオール配糖体を製造する過程において、pHを所定の範囲に調整することで、ステビオール配糖体含有溶液中のステビオール配糖体組成物の濃度が増加することを見出し、本発明を完成するに至った。本発明は、下記に示すとおりである。

### [1]

ステビア抽出物を含むステビオール配糖体含有溶液を用意することと、前記ステビオール配糖体含有溶液に第1の添加剤（添加剤をさらに加えない場合は、単に「添加剤」ともいう）を添加して第1の処理液（第2の処理液がない場合は、単に「処理液」ともいう）を用意することと、を含み、前記第1の添加剤を、前記第1の処理液がpH10～13となるように添加する、ステビオール配糖体組成物の製造方法。

### [1A]

ステビア抽出物を含むステビオール配糖体含有溶液を用意することと、前記ステビオール配糖体含有溶液に添加剤を添加して処理液を用意することと、を含み、前記添加剤を、前記処理液がpH10～13となるように添加する、ステビオール配糖体組成物の製造方法。

### [2]

前記第1の添加剤が、アルカリ剤である、[1]に記載の製造方法。

### [2A]

前記添加剤が、アルカリ剤である、[1A]に記載の製造方法。

[3]

前記アルカリ剤が、アルカリ金属水酸化物、アルカリ土類金属水酸化物、ケイ酸塩、炭酸塩および炭酸水素塩からなる群から選択される1種以上の化合物を含む、[2]または[2A]に記載の製造方法。

[4]

前記ステビオール配糖体組成物が、レバウジオシドA、レバウジオシドB、レバウジオシドM、レバウジオシドC、レバウジオシドD、ステビオシド、レバウジオシドF、ズルコシドA、レバウジオシドG、レバウジオシドN、ルブソシドおよびステビオールピオシドからなる群から選択される1種以上のステビオール配糖体を含む、[1]～[3]のいずれか一項に記載の製造方法。

[5]

前記第1の処理液を用意した後に前記第1の処理液を1分～3日間保持する、[1]～[4]のいずれか一項に記載の製造方法。

[5A]

前記処理液を用意した後に前記処理液を1分～3日間保持する、[1]～[4]のいずれか一項に記載の製造方法。

[6]

前記第1の処理液に、第2の添加剤を添加して第2の処理液を用意すること、をさらに含み、

前記第2の添加剤を、前記第2の処理液がpH2～10となるように添加する、[1]～[5]のいずれか一項に記載の製造方法。

[6A]

前記処理液に、第2の添加剤を添加して第2の処理液を用意すること、をさらに含み、

前記第2の添加剤を、前記第2の処理液がpH2～10となるように添加する、[1]～[5A]のいずれか一項に記載の製造方法。

[7]

前記第1の処理液および／または第2の処理液に、硫酸アルミニウム、ポリ塩化アルミニウム、塩化鉄(III)またはその水和物、ポリアクリルアミド加水分解物、アルギン酸、キチンおよびキトサンからなる群から選択される1種以上の化合物をさらに添加する、[6]に記載の製造方法。

[7A]

前記処理液および／または第2の処理液に、硫酸アルミニウム、ポリ塩化アルミニウム、塩化鉄(III)またはその水和物、ポリアクリルアミド加水分解物、アルギン酸、キチンおよびキトサンからなる群から選択される1種以上の化合物をさらに添加する、[6A]に記載の製造方法。

[8]

ステビア抽出物を含むステビオール配糖体含有溶液を用意することと、前記ステビオール配糖体含有溶液に第1の添加剤を添加して第1の処理液を用意することと、を含み、

前記第1の添加剤を、前記第1の処理液がpH10~13となるように添加する、ステビオール配糖体含有溶液中のステビオール配糖体の濃度を増加する方法。

[8A]

ステビア抽出物を含むステビオール配糖体含有溶液を用意することと、前記ステビオール配糖体含有溶液に添加剤を添加して処理液を用意することと、を含み、

前記添加剤を、前記処理液がpH10~13となるように添加する、ステビオール配糖体含有溶液中のステビオール配糖体の濃度を増加する方法。

[9]

レバウジオシドA、レバウジオシドC、ステビオシド、レバウジオシドF、レバウジオシドGおよびルブソシドからなる群から選択される1種以上のステビオール配糖体の濃度を増加させる、[8]または[8A]に記載の方法。

[10]

[1] ~ [7 A] のいずれか一項に記載の方法で製造された、ステビオール配糖体組成物。

[11]

[10] に記載のステビオール配糖体組成物を含む、飲食品。

### 発明の効果

[0007] 本発明によれば、ステビオール配糖体組成物の新規の製造方法を提供することができる。また、本発明によれば、ステビオール配糖体含有溶液中のステビオール配糖体組成物の濃度を増加する方法を提供することができる。

### 図面の簡単な説明

[0008] [図1]ステビオール配糖体含有溶液中のステビオール配糖体の濃度変化を示す図である。

[図2]塩基性から中性へ変化させた際のRebAの濃度変化を示す図である。

[図3]アルカリ剤の種類によるRebAの濃度変化を示す図である。

### 発明を実施するための形態

[0009] 以下、本発明を詳細に説明する。以下の実施の形態は、本発明を説明するための例示であり、本発明をこの実施の形態のみに限定する趣旨ではない。本発明は、その要旨を逸脱しない限り、様々な形態で実施をすることができる。なお、本明細書において引用した全ての文献、および公開公報、特許公報その他の特許文献は、参照として本明細書に組み込むものとする。

[0010] 本明細書において、「レバウジオシド」、「Reb」および「Reb.」は同じ意味を表すものであり、いずれも「rebaudioside」を意味するものである。

#### [0011] 1. ステビオール配糖体組成物の製造方法

本発明のステビオール配糖体組成物の製造方法（以下、「本発明の製造方法」とも称する）は、ステビア抽出物を含むステビオール配糖体含有溶液（以下、単に「ステビオール配糖体含有溶液」とも称する）を用意することと、前記ステビオール配糖体含有溶液に第1の添加剤を添加して第1の処理液を用意することと、を含み、前記第1の添加剤を、前記第1の処理液がpH 10~13となるように添加する。

また、本発明の製造方法は、ステビア抽出物を含むステビオール配糖体含有溶液を用意することと、前記ステビオール配糖体含有溶液に添加剤を添加して処理液を用意することと、を含み、前記添加剤を、前記処理液がpH 10～13となるように添加する。

本発明の製造方法によれば、ステビオール配糖体含有溶液のpHを10～13となるように調整することで、結果物として得られるステビオール配糖体組成物中の特定のステビオール配糖体の濃度を増加することができる。

[0012] ステビアの葉は、ステビオール配糖体以外にも多種多様な成分を含んでおり、ステビア抽出物を主たる構成要素としてステビオール配糖体組成物を用意した場合は、そのステビオール配糖体組成物に含まれるステビオール配糖体以外の成分は、他の成分を任意に加えていない限り、実質的にステビア由来の成分である。そのようなステビオール配糖体以外のステビア由来の成分としては、水溶性成分と不溶性成分とがある。水溶性成分としては、水溶性食物繊維などの多糖類、アルカロイドおよびフラボノイドおよびテルペノイドなどの二次代謝産物、メタノール、ポリフェノール、ミネラル、ビタミン、アミノ酸、有機酸、水溶性タンパク質、ならびに様々な他の配糖体が挙げられる。不溶性成分としては、不溶性食物繊維などを含む不溶性多糖類、不溶性タンパク質および脂質が挙げられる。

理論に拘束されるものではないが、本発明の一態様の製造方法によれば、これらのステビア由来の何らかの成分と結合したステビオール配糖体が、pHの上昇によりその結合から解離されることで精製量が増加し、最終的に得られるステビオール配糖体組成物中の濃度が増加するものと考えられる。

[0013] 本明細書において、ステビオール配糖体の濃度が増加するとは、ステビオール配糖体含有溶液を所定のpHに調整せずに得られたステビオール配糖体組成物中のステビオール配糖体の濃度と比較して、ステビオール配糖体の濃度が増加することを意味する。すなわち、当該濃度の増加は、相対的なものであればよく、必ずしもステビオール配糖体の濃度がある特定の数値以上となることを要しない。また、ステビオール配糖体の濃度の増加は、上記の比

較対照を基準とした際の増加率（％）として表すことができる。

- [0014] ステビオール配糖体の濃度は、LC/MSまたはHPLCを用いた方法で測定することができる。
- [0015] 本発明の製造方法により得られるステビオール配糖体組成物は、レバウジオシドA、レバウジオシドB、レバウジオシドM、レバウジオシドC、レバウジオシドD、ステビオシド、レバウジオシドF、ズルコシドA、レバウジオシドG、レバウジオシドN、ルブソシドおよびステビオールピオシドからなる群から選択される1種以上のステビオール配糖体を含む。
- [0016] また、本発明の製造方法により得られるステビオール配糖体組成物は、上記に列挙したステビオール配糖体以外にも、例えば、レバウジオシドE、レバウジオシドI、レバウジオシドJ、レバウジオシドK、レバウジオシドM、レバウジオシドO、レバウジオシドQ、レバウジオシドR、ズルコシドC、ステビオールおよびステビオールモノシドからなる群から選択される1種以上のステビオール配糖体をさらに含んでもよい。
- [0017] 本発明の製造方法により得られるステビオール配糖体組成物は、上記に列挙したステビオール配糖体の中でも、レバウジオシドA、レバウジオシドC、ステビオシド、レバウジオシドF、レバウジオシドGおよびルブソシドからなる群から選択される1種以上の濃度が増加したものである。
- [0018] 本発明の一実施形態において、第1の処理液または処理液を所定のpHに調整した際のレバウジオシドAの濃度の増加率は、101～150%、101～140%、103～140%、105～140%、110～140%、115～140%、120～140%、121～140%、122～140%、123～140%、124～140%、125～140%、126～140%、127～140%、128～140%、129～140%または130～140%等であってもよい。
- [0019] 本発明の一実施形態において、第1の処理液または処理液を所定のpHに調整した際のレバウジオシドCの濃度の増加率は、101～170%、101～165%、101～160%、105～160%、110～160%、

115～160%、120～160%、125～160%、130～160%、131～160%、132～160%、133～160%、134～160%、135～160%、136～160%、137～160%、138～160%、139～160%または140～160%等であってもよい。

[0020] 本発明の一実施形態において、第1の処理液または処理液を所定のpHに調整した際のステビオシドの濃度の増加率は、101～200%、101～190%、101～185%、101～180%、110～180%、120～180%、125～180%、130～180%、135～180%、140～180%、145～180%、150～180%、151～180%、152～180%、153～180%、154～180%、155～180%、156～180%、157～180%、158～180%、159～180%または160%～180%等であってもよい。

[0021] 本発明の一実施形態において、第1の処理液または処理液を所定のpHに調整した際のレバウジオシドFの濃度の増加率は、101～150%、101～140%、103～140%、105～140%、110～140%、115～140%、120～140%、121～140%、122～140%、123～140%、124～140%、125～140%、126～140%、127～140%、128～140%、129～140%または130～140%等であってもよい。

[0022] 本発明の一実施形態において、第1の処理液または処理液を所定のpHに調整した際のレバウジオシドGの濃度の増加率は、101～350%、101～340%、101～330%、110～330%、120～330%、130～330%、140～330%、150～330%、160～330%、170～330%、180～330%、190～330%、200～330%、210～330%、220～330%、230～330%、240～330%または250～330%等であってもよい。

[0023] 本発明の一実施形態において、第1の処理液または処理液を所定のpHに調整した際のルブソシドの濃度の増加率は、101～700%、101～6

90%、101~680%、101~670%、110~670%、120~670%、130~670%、140~670%、150~670%、160~670%、170~670%、180~670%、190~670%または200~670%等であってもよい。

[0024] 本発明の一実施形態において、上記の各ステビオール配糖体の濃度の増加率は、原料となるステビア乾燥葉（含水率：3~4重量%）を、その30倍量のイオン交換水（60℃±5℃）で1回抽出して得たステビア抽出物を含むステビオール配糖体含有溶液を使用した場合のものである。

[0025] (A) ステビア抽出物を含むステビオール配糖体含有溶液を用意すること

本発明の製造方法は、ステビア抽出物を含むステビオール配糖体含有溶液を用意することを含む。ステビア抽出物を得る方法としては、例えば、ステビア植物の乾燥葉を、水性溶媒を用いて抽出し、抽出物（抽出液）を得ることが挙げられる。

[0026] 本明細書において、ステビア植物の乾燥葉とは、ステビア植物の新鮮葉を乾燥させることにより含水量を減らしたものをいう。ステビア植物の乾燥葉の含水率は、好ましくは1~10重量%、より好ましくは2~8重量%、特に好ましくは3~4重量%である。

[0027] 乾燥葉からのステビオール配糖体の抽出は、水やアルコール、あるいはそれらの混合溶液等の溶媒を用いて行うことができる。好ましい抽出溶媒としては、イオン交換水、純水（例えば、ミリQ水）およびエタノール水溶液などが挙げられる。抽出する際には、乾燥葉を破砕してもよく、破砕しなくてもよい。破砕する場合は、ボールミルなどを用いて破砕してもよい。あるいは、ニーダー抽出器（SKN-R100、三友機器株式会社製）等を用いて抽出処理をしてもよい。

[0028] 抽出時には、水性溶媒を加熱することで、より効率的にステビオール配糖体を抽出することができる。抽出する際の温度は、例えば、25~80℃、30~75℃、35~70℃、40~65℃、45~70℃であってもよく、好ましくは45~70℃である。なお、本明細書において、温度の下限值

及び上限値は、例えば、各温度の $\pm 1^{\circ}\text{C}$ 、 $\pm 2^{\circ}\text{C}$ 、 $\pm 3^{\circ}\text{C}$ 、 $\pm 4^{\circ}\text{C}$ 、 $\pm 5^{\circ}\text{C}$ の温度であってもよい。

[0029] 抽出は、1回だけでなく、複数回行ってよい。複数回抽出を行うことで、葉に含まれているステビオール配糖体がより多く抽出される。効率の観点から、抽出は2回程度が好ましい。

[0030] 本発明の一実施形態において、ステビオール配糖体含有溶液は、上記の方法により得られたステビア抽出物それ自体であってもよい。また、ステビオール配糖体含有溶液は、ステビア抽出物を含むものであれば、他の任意の方法（例えば、ステビオール配糖体加水分解酵素を用いる方法等）で生産されたステビオール配糖体組成物がさらに添加されたものであってもよい。

[0031] また、本発明の一実施形態において、得られたステビア抽出物は、固液分離処理したものであってもよい。固液分離処理としては、固体と液体が十分に分離されれば特に限定されないが、例えば、遠心分離器やフィルタープレスを用いた処理や、フィルターやメッシュを用いた重力ろ過が挙げられる。

[0032] 固液分離処理は、複数の手段を用いてもよく、例えば、第1の固液分離処理の後に第2の固液分離処理を行ってもよい。

[0033] (B) ステビオール配糖体含有溶液に第1の添加剤または添加剤を添加して第1の処理液または処理液を用意すること

本発明の製造方法は、上記(A)の方法により用意されたステビオール配糖体含有溶液に第1の添加剤を添加して第1の処理液を用意することを含む。また、本発明の製造方法は、上記(A)の方法により用意されたステビオール配糖体含有溶液に添加剤を添加して処理液を用意することを含む。本発明の一実施形態において、第1の添加剤または添加剤は、アルカリ剤である。アルカリ剤としては、例えば、アルカリ金属水酸化物、アルカリ土類金属水酸化物、ケイ酸塩、炭酸塩、炭酸水素塩等が挙げられる。

[0034] アルカリ金属水酸化物としては、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム等が挙げられる。アルカリ土類金属水酸化物としては、水酸化カルシウム、水酸化マグネシウム等が挙げられる。ケイ酸塩としては、メタケイ酸ナトリウム

、オルソケイ酸ナトリウム、メタケイ酸カリウム、オルソケイ酸カリウム等が挙げられる。炭酸塩としては、炭酸ナトリウム、炭酸カリウム等が挙げられる。炭酸水素塩としては、炭酸水素ナトリウム、炭酸水素カリウム等が挙げられる。その中でも、水酸化ナトリウム、水酸化カリウムおよび水酸化カルシウムが特に好ましい。また、これらのアルカリ剤は、1種を単独で使用してもよく、2種以上を組み合わせ使用してもよい。

[0035] 本発明の好ましい実施形態において、第1の添加剤または添加剤は、第1の処理液または処理液がpH10~13となるようにステビオール配糖体含有溶液に添加する。すなわち、第1の添加剤または添加剤の添加量は、第1の処理液または処理液のpHが上記範囲となれば特に制限されるものではなく、ステビオール配糖体含有溶液の量に応じて、第1の処理液または処理液のpHが10~13となるように適宜調整しながら添加すればよい。

[0036] また、本発明の一実施形態において、第1の処理液または処理液のpHは、pH10~13、pH10~12.5、pH10.1~12.5、pH10.2~12.5、pH10.3~12.5、pH10.4~12.5、pH10.5~12.5、pH10.6~12.5、pH10.7~12.5、pH10.8~12.5、pH10.9~12.5、pH11~13、pH11~12.5、pH11.1~12.5、pH11.2~12.5、pH11.3~12.5、pH11.4~12.5、pH11.5~12.5、pH11.6~12.5、pH11.7~12.5、pH11.8~12.5、pH11.9~12.5、pH11~12.2、pH11.1~12.2、pH11.2~12.2、pH11.3~12.2、pH11.4~12.2、pH11.5~12.2、pH11.6~12.2、pH11.7~12.2、pH11.8~12.2またはpH11.9~12.2等であってもよい。

[0037] 第1の添加剤または添加剤を添加する際のステビオール配糖体含有溶液の温度は、1~60℃、5~60℃、10~60℃、15~60℃、20~60℃、25~60℃、30~60℃、40~60℃、50~60℃、1~5

0℃、5～50℃、10～50℃、15～50℃、20～50℃、25～50℃、30～50℃、1～40℃、5～40℃、10～40℃、15～40℃、20～40℃、25～40℃、30～40℃、1～30℃、5～30℃、10～30℃、15～30℃または20～30℃等であってもよい。

[0038] また、本発明の一実施形態において、第1の処理液または処理液は、後述する第2の処理液を用意する前に所定の時間保持してもよい。本明細書において、第1の処理液または処理液を保持するとは、第1の処理液または処理液を用意した後、後述する第2の処理液を用意するために第2の添加剤を添加するまでの間、所定のpHの値または範囲を維持することを意味する。第1の処理液または処理液を保持する際は、何らの処理を行わずに保持してもよいし、何らかの処理を行ったうえで保持してもよい。

[0039] 第1の処理液または処理液を保持する時間としては、例えば、1分～3日間、1分～2日間、1分～24時間、1分～12時間、1分～10時間、1分～8時間、1分～6時間、1分～4時間、1分～3時間、1分～2時間、2分～2時間、3分～2時間、4分～2時間、5分～2時間、10分～2時間、15分～2時間、20分～2時間、25分～2時間、30分～2時間、35分～2時間、40分～2時間、45分～2時間、50分～2時間、55分～2時間または1～2時間等が挙げられる。本発明の製造方法によれば、ステビオール配糖体含有溶液に第1の添加剤または添加剤を添加してpH10～13の範囲に調整することで、ステビオール配糖体組成物における特定のステビオール配糖体の濃度が増加する。一旦pH10～13の範囲に調整された第1の処理液または処理液は、その後、第2の添加剤を添加するまで保持しても、増加したステビオール配糖体の濃度が減少することなく安定である。

[0040] 第1の処理液または処理液を保持する際の温度は、例えば、室温（約25℃）であってもよい。

[0041] (C) 第1の処理液または処理液に、第2の添加剤を添加して第2の処理液を用意すること

本発明の製造方法は、第1の処理液に、第2の添加剤を添加して第2の処理液を用意することをさらに含む。また、本発明の製造方法は、処理液に、第2の添加剤を添加して第2の処理液を用意することをさらに含む。本発明の一実施形態において、第2の添加剤は、pHを下げる作用を有する添加剤である。このような添加剤は、pHを下げる作用を有するものであれば任意のものを使用することができるが、例えば、クエン酸、乳酸、酢酸等の有機系のpH調整剤、リン酸、塩酸、硫酸、二酸化炭素等の無機系のpH調整剤が挙げられる。また、後述する硫酸アルミニウム、ポリ塩化アルミニウム、塩化鉄(III)またはその水和物等の化合物を使用してもよい。これらの第2の添加剤は、1種を単独で使用してもよく、2種以上を組み合わせで使用してもよい。

[0042] 本発明の好ましい実施形態において、第2の添加剤は、第2の処理液がpH2~10となるように第1の処理液または処理液に添加する。すなわち、第2の添加剤の添加量は、第2の処理液のpHが上記範囲となれば特に制限されるものではなく、第1の処理液または処理液の量に応じて、第2の処理液のpHが2~10となるように適宜調整しながら添加すればよい。また、硫酸アルミニウム、ポリ塩化アルミニウム、塩化鉄(III)またはその水和物等の化合物を使用する場合は、後述する凝集反応も考慮し、添加量を調整すればよい。

[0043] 本発明の製造方法によれば、ステビオール配糖体含有溶液に第1の添加剤または添加剤を添加してpH10~13の範囲に調整することで、ステビオール配糖体組成物における特定のステビオール配糖体の濃度が増加する。一旦pH10~13の範囲に調整された第1の処理液または処理液は、その後、第2の添加剤を添加してpH2~10の範囲に調整されても、増加したステビオール配糖体の濃度が減少することなく安定である。

[0044] また、本発明の一実施形態において、第2の処理液は、pH2~10、pH2.5~9.5、pH3~9、pH3.5~8.5、pH4~8、pH4.5~8またはpH5~8等であってもよい。

- [0045] 第1の処理液または処理液に第2の添加剤を添加する際の温度は、例えば、室温（約25℃）であってもよい。
- [0046] 本発明の好ましい実施形態において、第1の処理液もしくは処理液および／または第2の処理液には、硫酸アルミニウム、ポリ塩化アルミニウム、塩化鉄（III）またはその水和物、ポリアクリルアミド加水分解物、アルギン酸、キチンおよびキトサンからなる群から選択される1種以上の化合物がさらに添加されてもよい。これらの化合物は、1種以上が含まれていればよく、2種以上が組み合わせられて含まれていてもよい。また、これらの化合物は、上記「B」の工程の際に添加されてもよいし、上述のように本工程「C」の際に添加されてもよいし、上記「B」の工程および本工程「C」において添加されてもよい。
- [0047] 上記化合物の添加量は、第1の処理液もしくは処理液および／または第2の処理液において凝集反応が起こる量であれば特に限定されないが、例えば、処理液に含まれる可溶性固形分に対して、3.0～50重量%の量で添加することができる。例えば、塩化鉄（III）六水和物の場合は、処理液中の固形分の15～40重量%に相当する量で添加することができ、好ましくは18～38重量%、より好ましくは20～35重量%の量で添加することができる。0.5%（w/v）キトサン溶液の場合は、処理液に含まれる可溶性固形分の3.0～10重量%に相当する量で添加することができ、好ましくは4.0～8.0重量%、より好ましくは4.5～7.0重量%の量で添加することができる。
- [0048] また、凝集処理を行う際のpHは、上記化合物の種類に応じて、凝集が最適化されるように適宜選択することができる。本発明の一実施形態において、凝集処理時の第1の処理液もしくは処理液および／または第2の処理液のpHは、pH2～13、pH3～13、pH4～13、pH5～13またはpH6～13等であってもよい。
- [0049] また、凝集処理を行う際の温度は、室温（約25℃）で加熱や冷却を行わずに実施してもよい。

[0050] 本発明の一実施形態において、第1の処理液もしくは処理液および／または第2の処理液に含まれる凝集物は、上記凝集処理の後、後述する任意の樹脂精製処理の前に除去してもよい。凝集物の除去は、ろ過等の既知の方法で行うことができる。

[0051] 本発明の製造方法は、所望により、第2の処理液について以下の(D)～(F)の処理をさらに行ってもよい。

[0052] (D) 樹脂精製処理

本発明の一実施形態において、上記の各処理を経て用意された第2の処理液を疎水性多孔質樹脂で処理してもよい。ステビオール配糖体は、分子構造中に親水基と疎水基を持つ両親媒性であり、分子量は1,000前後である。また、pH2.5～9.0において安定であり、酸性・塩基性でもイオン化はしないことが知られている。一方、凝集処理を経た第1の処理液または処理液には、ステビオール配糖体以外の成分も大量に含まれている。理論に拘束されるものではないが、そのような成分には、鉄イオンのように分子量がステビオール配糖体と異なる成分やアミノ酸のようにイオン化する成分があり、これらの成分を疎水性多孔質樹脂の処理によって除去できると考えられる。

[0053] 疎水性のステビオール骨格を有するステビオール配糖体は合成樹脂に疎水結合し、捕捉される。他方、親水性の高い不純物は樹脂と結合せずスルー画分に移行し除去されるため、上記の樹脂を充填させたカラムに凝集処理を経た処理液を投入し、その後、水で洗浄することでステビオール配糖体の純度は向上すると考えられる。また、低極性の溶媒によってステビオール配糖体と合成樹脂の官能基の結合は解離するから、最終的にステビオール配糖体を高収率で回収することができるという利点がある。

[0054] 本発明の一実施形態による製造方法に用いる疎水性多孔質樹脂としては、水への親和性が低い多孔質樹脂であれば特に限定されないが、例えば、スチレンとジビニルベンゼンとの共重合体、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリスチレン、ポリ(メタ)アクリロニトリル、ポリアミドおよびポリカーボ

ネットから選択される1種以上の疎水性樹脂の多孔質樹脂が好ましい。本発明の好ましい実施形態において、スチレンとジビニルベンゼンとの共重合体にイオン交換基の導入処理がなされていないこと(すなわちイオン交換基を持たないこと)が好ましい。一般的に、イオン交換樹脂を製造する際にはスチレンとジビニルベンゼンとを共重合させて立体的網目構造を形成した後、樹脂にイオン交換基を導入するが、「イオン交換基の導入処理がなされていない」とは、このような処理がなされていないことを意味する。

[0055] 本発明の一実施形態において、疎水性多孔質樹脂は疎水性基を有し、疎水性基には、アリール基、アルキル基、アルキルシリル基、エステル基およびエポキシ基から選択される1つ以上が含まれる。本発明の一実施形態において、これらから選択される1つ以上の疎水性基が含まれていれば、他の疎水性基がさらに含まれていてもよい。アリール基としては、例えば、フェニル基、ベンジル基、トリル基、キシリル基等が挙げられ、アルキル基としては、C1~20のアルキル基、例えば、メチル基、エチル基、プロピル基、ブチル基、ペンチル基、オクタデシル基等が挙げられる。

[0056] 本発明の好ましい実施形態において、疎水性多孔質樹脂の最頻度細孔半径は、10~200 Åである。本発明の好ましい実施形態において、最頻度細孔半径は、10~150 Å、15~100 Å、または20~80 Åである。このような細孔特性を有することで、ステビオール配糖体が細孔に効率的に吸着されて、他の成分との効率的に分離されると考えられる。

[0057] なお、疎水性多孔質樹脂で処理を行う前に、陰イオン交換樹脂を用いて処理液をさらに処理してもよい。陰イオン交換樹脂で事前に処理を行うことで、色素やカテキンなどの疎水性樹脂に結合する成分を効果的に除去することができる。そのような陰イオン交換樹脂としては、特に限定されないが、例えば、塩基性陰イオン交換樹脂が挙げられ、そのような塩基性陰イオン交換樹脂としては、官能基として1~2級アミノ基を導入した弱塩基性陰イオン交換樹脂や四級アンモニウム基(例えば、トリメチルアンモニウム基やジメチルエタノールアンモニウム基など)を有する強塩基性陰イオン交換樹脂な

どを用いることができる。

[0058] (E) 濃縮処理

樹脂精製処理を経た溶液は、更に濃縮処理を行って水性溶媒を除去してもよい。そのような処理は特に限定されないが、加熱によって水性溶媒を蒸発させることや、減圧乾燥によって水性溶媒を除去する方法などが挙げられる。

[0059] (F) 任意の追加の工程

本発明の製造方法の後に、更に晶析工程を加えることで、高純度（純度95%以上）のステビオール配糖体組成物を製造することもできる。

[0060] 2. ステビオール配糖体含有溶液中のステビオール配糖体の濃度を増加する方法

本発明は、ステビオール配糖体含有溶液中のステビオール配糖体の濃度を増加する方法（以下、「本発明の方法」とも称する）にも関する。本発明の方法は、ステビア抽出物を含むステビオール配糖体含有溶液を用意することと、前記ステビオール配糖体含有溶液に第1の添加剤を添加して第1の処理液を用意することと、を含み、前記第1の添加剤を、前記第1の処理液がpH10～13となるように添加する。

また、本発明の方法は、ステビア抽出物を含むステビオール配糖体含有溶液を用意することと、前記ステビオール配糖体含有溶液に添加剤を添加して処理液を用意することと、を含み、前記添加剤を、前記処理液がpH10～13となるように添加する。

また、本発明の方法は、レバウジオシドA、レバウジオシドC、ステビオシド、レバウジオシドF、レバウジオシドGおよびルブソシドからなる群から選択される1種以上のステビオール配糖体の濃度を増加させるものである。

なお、本発明の方法は、実質的に本発明のステビオール配糖体組成物の製造方法と同様の構成を有するものである。したがって、上記「1. ステビオール配糖体組成物の製造方法」の説明は、本発明の方法にも妥当する。

[0061] 3. ステビオール配糖体組成物

本発明は、本発明の製造方法により製造されたステビオール配糖体組成物（以下、「本発明のステビオール配糖体組成物」とも称する）にも関する。本発明の一実施形態において、ステビオール配糖体組成物は、甘味料組成物として用いてもよい。

[0062] 甘味料組成物として使用する場合、本発明のステビオール配糖体組成物に加え、ステビオール配糖体以外の甘味料を含んでもよい。そのような甘味料としては、例えば、果糖、砂糖、果糖ぶどう糖液糖、ぶどう糖、麦芽糖、高果糖液糖、糖アルコール、オリゴ糖、はちみつ、サトウキビ搾汁液（黒糖蜜）、水飴、羅漢果末、羅漢果抽出物、甘草末、甘草抽出物、ソーマトコッカスダニエリ種子末、ソーマトコッカスダニエリ種子抽出物などの天然甘味料や、アセスルファムカリウム、スクラロース、ネオテーム、アスパルテーム、サッカリンなどの人工甘味料などが挙げられる。その中でも、すっきりさ、飲みやすさ、自然な味わい、適度なコク味の付与の観点から、天然甘味料を用いることが好ましく、特に、果糖、ぶどう糖、麦芽糖、ショ糖、砂糖が好適に用いられる。これら甘味料は、1種のみを含んでもよく、複数を含んでもよい。

[0063] 4. ステビオール配糖体組成物を含む飲食品

本発明は、本発明の製造方法により製造されたステビオール配糖体組成物を含む飲食品（以下、「本発明の飲食品」とも称する）にも関する。本発明の飲食品は、本発明のステビオール配糖体組成物を含んでいれば特に限定されない。ここで、飲食品とは、飲料および食品を意味する。好ましい実施形態において、飲食品は飲料である。

[0064] 本発明の飲食品に含まれる本発明のステビオール配糖体の量は、具体的な飲食品によって異なるが、飲料の場合、おおむね1質量ppm～800質量ppmであるのが好ましく、例えば、20質量ppm～750質量ppm、20質量ppm～700質量ppm、20質量ppm～650質量ppm、20質量ppm～600質量ppm、20質量ppm～550質量ppm、

25質量ppm～550質量ppm、30質量ppm～550質量ppm、  
35質量ppm～550質量ppm、40質量ppm～550質量ppm、  
45質量ppm～550質量ppm、50質量ppm～550質量ppm、  
55質量ppm～550質量ppm、20質量ppm～540質量ppm、  
25質量ppm～540質量ppm、30質量ppm～540質量ppm、  
35質量ppm～540質量ppm、40質量ppm～540質量ppm、  
45質量ppm～540質量ppm、50質量ppm～540質量ppm、  
55質量ppm～540質量ppm、20質量ppm～530質量ppm、  
25質量ppm～530質量ppm、30質量ppm～530質量ppm、  
35質量ppm～530質量ppm、40質量ppm～530質量ppm、  
45質量ppm～530質量ppm、50質量ppm～530質量ppm、  
55質量ppm～530質量ppm、20質量ppm～520質量ppm、  
25質量ppm～520質量ppm、30質量ppm～520質量ppm、  
35質量ppm～520質量ppm、40質量ppm～520質量ppm、  
45質量ppm～520質量ppm、50質量ppm～520質量ppm、  
55質量ppm～520質量ppm、20質量ppm～510質量ppm、  
25質量ppm～510質量ppm、30質量ppm～510質量ppm、  
35質量ppm～510質量ppm、40質量ppm～510質量ppm、  
45質量ppm～510質量ppm、50質量ppm～510質量ppm、  
55質量ppm～510質量ppm、20質量ppm～505質量ppm、  
25質量ppm～505質量ppm、30質量ppm～505質量ppm、  
35質量ppm～505質量ppm、40質量ppm～505質量ppm、  
45質量ppm～505質量ppm、50質量ppm～505質量ppm、  
55質量ppm～505質量ppm、20質量ppm～500質量ppm、  
25質量ppm～500質量ppm、30質量ppm～500質量ppm、  
35質量ppm～500質量ppm、40質量ppm～500質量ppm、  
45質量ppm～500質量ppm、50質量ppm～500質量ppm、  
55質量ppm～500質量ppm、20質量ppm～495質量ppm、

25質量ppm～495質量ppm、30質量ppm～495質量ppm、  
35質量ppm～495質量ppm、40質量ppm～495質量ppm、  
45質量ppm～495質量ppm、50質量ppm～495質量ppm、  
55質量ppm～495質量ppm、20質量ppm～490質量ppm、  
25質量ppm～490質量ppm、30質量ppm～490質量ppm、  
35質量ppm～490質量ppm、40質量ppm～490質量ppm、  
45質量ppm～490質量ppm、50質量ppm～490質量ppm、  
55質量ppm～490質量ppm、100質量ppm～400質量ppm  
、150質量ppm～400質量ppm、200質量ppm～400質量ppm、  
250質量ppm～400質量ppm、300質量ppm～400質量ppm、  
100質量ppm～150質量ppm、100質量ppm～200質量ppm、  
100質量ppm～250質量ppmまたは100質量ppm～300質量ppm  
であってもよい。含有量をこの範囲とすることで、飲食品に適度な甘みを付与することができるという利点がある。本明細書において「ppm」とは、特に明記しない限り、「質量ppm」を意味する。

[0065] 本発明の飲食品は、ステビオール配糖体以外の甘味料をさらに含んでもよい。そのような甘味料としては、例えば、果糖、砂糖、果糖ぶどう糖液糖、ぶどう糖、麦芽糖、ショ糖、高果糖液糖、糖アルコール、オリゴ糖、はちみつ、サトウキビ搾汁液（黒糖蜜）、水飴、羅漢果末、羅漢果抽出物、甘草末、甘草抽出物、ソーマトコッカスダニエリ種子末、ソーマトコッカスダニエリ種子抽出物などの天然甘味料や、アセスルファムカリウム、スクラロース、ネオテーム、アスパルテーム、サッカリンなどの人工甘味料が挙げられる。その中でも、すっきりさ、飲みやすさ、自然な味わい、適度なコク味の付与の観点から、天然甘味料を用いることが好ましく、特に、果糖、ぶどう糖、麦芽糖、ショ糖、砂糖が好適に用いられる。これら甘味料は、1種のみを用いてもよく、複数を用いてもよい。

[0066] ステビオール配糖体以外の甘味料の含有量は、高甘味度甘味料（例えば、モグロシドV、キシリトールおよび人工甘味料）の場合、本発明のステビオ

ール配糖体組成物とステビオール配糖体以外の甘味料との組成比は、重量比で1：99～99：1、5：99～95：5、10：90～90：10、15：85～85：15、20：80～80：20、25：75～75：25、30：70～70：30、35：65～65：35、40：60～60：40、45：65～65：45または50：50であってよい。本発明のステビオール配糖体組成物と低甘味度甘味料（例えば、ショ糖や果糖ぶどう糖液糖など）が含まれる場合、本発明のステビオール配糖体組成物と低甘味度甘味料との組成比は、重量比で1：1000～1：100、1：800～1：100、1：700～1：100、1：600～1：100、1：500～1：100、1：400～1：100、1：300～1：100、または1：200～1：100であってよい。

[0067] 本発明の食品は、特に限定されるものではないが、例えば、製菓、製パン類、穀粉、麺類、飯類、農産・林産加工食品、畜産加工品、水産加工品、乳・乳製品、油脂・油脂加工品、調味料またはその他の食品素材等が挙げられる。

[0068] 本発明の飲料は、特に限定されるものではないが、例えば、炭酸飲料、非炭酸飲料、アルコール飲料、非アルコール飲料、ビールやノンアルコールビール等のビールテイスト飲料、コーヒー飲料、茶飲料、ココア飲料、栄養飲料、機能性飲料等が挙げられる。

[0069] 本発明の飲料は、加熱殺菌をされ、容器に詰められた状態の容器詰飲料として調製してもよい。容器としては、特に限定されず、例えば、PETボトル、アルミ缶、スチール缶、紙パック、チルドカップ、瓶などを挙げることができる。加熱殺菌を行う場合、その種類は特に限定されず、例えば、UHT殺菌およびレトルト殺菌等の通常の手法を用いて行うことができる。加熱殺菌工程の温度は特に限定されないが、例えば、65～130℃、好ましくは85～120℃で、10～40分である。ただし、上記の条件と同等の殺菌価が得られれば適当な温度で数秒、例えば5～30秒での殺菌でも問題はない。

[0070] 本発明の飲食品の製造方法は、上記の各成分を含む飲食品が得られれば特に限定されない。本発明の一実施形態によれば、本発明の飲食品の製造方法であって、本発明のステビオール配糖体組成物を得ることと、前記ステビオール配糖体組成物を飲食品またはその原料に添加することと、を含む製造方法が提供される。本発明のステビオール配糖体組成物を得ることは、上記「1.ステビオール配糖体組成物の製造方法」に記載のとおりである。本発明のステビオール配糖体組成物を飲食品またはその原料に添加することは、飲食品の製造工程における任意の工程で行うことができ、例えば、飲食品の原料を混合する際や、飲食品の味質の最終調整の際に行ってもよい。

## 実施例

[0071] 以下、本発明を実施例により詳細に説明するが、本発明の内容がこれにより限定されるものではない。

[0072] <製造例>

### 1. 抽出・固液分離

ステビア乾燥葉（含水率：3～4重量％）の15倍量のイオン交換水を60℃±5℃に加熱し、その水にステビア乾燥葉を浸した。その後、ニードル抽出器（SKN-R100、三友機器株式会社製）で8rpmの攪拌棒で攪拌しながら60分間抽出を行った。次に、18メッシュと140メッシュのメッシュを通して濾過し、冷水を用いて熱交換器で冷却し、ろ液をディスク型遠心分離機（9150rpm（11601G）、24L/min）で固液分離して一次抽出液を得た。その間に、濾過後の葉を再び同じ条件下で抽出し、固液分離して透明な二次抽出液を得、一次抽出液に加えることで、ステビオール配糖体組成物含有溶液を用意した。

[0073] 2. 凝集

ステビオール配糖体含有溶液中の可溶性固形分の16.16％に相当する量のCa(OH)<sub>2</sub>（Brix（可溶性固形分濃度）から計算）をステビオール配糖体含有溶液に添加し、調製された第1の処理液（処理液）を15分間攪拌した。その後、ステビオール配糖体含有溶液中の可溶性固形分の28.

28%に相当する量の $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ を第1の処理液（処理液）に添加し、混合液を30分間攪拌し、クエン酸でpHを7に調整して第2の処理液を調製した後、第1の処理液（処理液）中の可溶性固形分（g）の5.63倍に相当する体積（mL）の0.5%（w/v）キトサン溶液をさらに添加した。この混合液を3分間強く攪拌し、2分間弱く攪拌し、そして10分間放置した。その後、電氣的に中性の凝固沈殿物を遠心分離によって除去した。その結果、第2の処理液が清澄化された。

### [0074] 3. 樹脂精製

樹脂精製としては、（i）陰イオン交換樹脂を用いた精製と（ii）疎水性多孔質樹脂（イオン交換基の導入がなされていないもの）を用いた精製とを行った。

#### （i）陰イオン交換樹脂を用いた精製

カラムに高多孔質の塩基性陰イオン交換樹脂（三菱ケミカル社製）を充填し、そのカラムに凝集分離後の第2の処理液を投入して精製を行った。凝集分離後の第2の処理液をカラムに投入したのに次いでカラムの容積の2倍量のイオン交換水で押し出し、精製されたステビオール配糖体組成物を含む溶液を回収した。この精製により、処理液中の黒色不純物や着色成分が除去された。

#### [0075] （ii）疎水性多孔質樹脂を用いた精製

カラムに疎水性多孔質樹脂（三菱ケミカル社製）を充填し、そのカラムに（i）陰イオン交換樹脂を用いた精製後の試料を投入して精製を行った。疎水性多孔質樹脂としては、スチレンとジビニルベンゼンとの共重合体であって、イオン交換基を持たないものであり、最頻度細孔半径が45 Åのものを用いた。上記（i）の精製後の溶液をカラムに投入後、カラムの容積の3倍量の0.01Mクエン酸水溶液、カラムの容積の3倍量の0.01M水酸化ナトリウム水溶液を用いてカラムを洗浄した。その後、カラムの容積の4倍量の60%エタノール水溶液でステビオール配糖体組成物を溶出し、回収した。

[0076] 4. 蒸発濃縮

遠心式薄膜真空蒸発装置エバポール（大川原製作所製）を用いて、溶液を蒸発濃縮しながらエタノールを除去した。蒸発濃縮処理後も水が残存しており、ステビオール配糖体組成物は液状であった。

[0077] <実施例 1 >

ステビア抽出物を含むステビオール配糖体含有溶液中のステビオール配糖体の濃度の pH 依存性を評価した。

[0078] イオン交換水の量をステビア乾燥葉（含水率：3～4 重量%）の 30 倍量とし、抽出回数を 1 回とした以外は上記<製造例>の「1. 抽出・固液分離」と同様の方法で、ステビオール配糖体含有溶液を用意した。ここで、ステビオール配糖体含有溶液の pH を測定したところ、5.7 であった。その後、このステビオール配糖体含有溶液に NaOH（ナカライテスク株式会社製、4 mol/L 水酸化ナトリウム溶液）またはクエン酸（富士フィルム和光純薬株式会社製、品番 038-06925、純度 99.5% 以上）を添加し、pH を約 3～約 12 まで段階的に変化させ、各 pH におけるレバウジオシド A、レバウジオシド D、レバウジオシド M の濃度を測定した。

次に、pH を約 12 に調整したステビオール配糖体含有溶液にクエン酸を添加し、pH を約 7 まで下げ、再度レバウジオシド A の濃度を測定した。

pH を約 12 まで段階的に変化させた際の上記 3 種のステビオール配糖体の濃度の推移を図 1 に、その後 pH を約 7 に下げた際のレバウジオシド A の含有量の変化を図 2 に示す。なお、各ステビオール配糖体の濃度は、以下の表 1 に示す測定条件で液体クロマトグラフィー質量分析（LC/MSMS）法によって求めた。

[0079]

[表1]

[表1]

測定機器	M8050 (UPLC:Nexsera) (島津製作所製)
カラム	ガードカラム: SecurityGurd™ Ultra AJ0-9502 C18 for 2.1 mm ID (Phenomenex製) カラム: Shim-pack XR-ODSII, 2.0 x 150 mm (島津製作所製)
移動相	移動相A: 超純水0.1%(v/v)ギ酸混液 移動相B: アセトニトリル
分析時間	13分
流速	送液モード isocratic 移動相A: 0.34 ml/min 移動相B: 0.16 ml/min
カラムオープン	40 °C
注入量	1 μL
希釈液	30%(v/v)アセトニトリル

[0080] 図1に示すように、pH9付近を境にレバウジオシドAの濃度が増加し、その後pHが約12ではその濃度が著しく増加した。一方、レバウジオシドDおよびレバウジオシドMは、pHを塩基性側に変化させても濃度の増減は認められなかった。

この結果から、ステビオール配糖体含有溶液におけるレバウジオシドAのpH依存的な濃度の増加が確認された。

[0081] また、図2に示すように、約12までpHを上げた後、クエン酸により約7までpHを下げた際のステビオール配糖体含有溶液中のレバウジオシドAの濃度に大きな変化は認められなかった。この結果から、一旦pHを約12に上げた後、再度pHを中性領域に下げても、レバウジオシドAはステビオール配糖体含有溶液中に安定に存在し続けることが確認された。

[0082] <実施例2>

実施例1によりステビオール配糖体含有溶液における濃度の増加が確認されたレバウジオシドAについて、その濃度増加がアルカリ剤の種類によって変わるか否かを評価した。

[0083] 上記<実施例1>と同様の方法でステビオール配糖体含有溶液を用意した。ここで、ステビオール配糖体含有溶液のpHを測定したところ、5.8であった。次に、アルカリ剤の種類を変更した以下の4つのサンプルを用意し

、pHを塩基性側に変化させた。pH調整後の各サンプルのpHを表2に示す。

- ・サンプル1：アルカリ剤なし（pHの変更なし）
- ・サンプル2：NaOH（ナカライテスク株式会社製、4mol/L水酸化ナトリウム溶液）
- ・サンプル3：KOH（ナカライテスク株式会社製、1mol/L水酸化カリウム溶液）
- ・サンプル4：重曹（NaHCO<sub>3</sub>）（関東化学株式会社製、品番58024-17、純度99.0%以上）

その後、pHをそれぞれ調整したサンプル1～4について、実施例1と同様の方法でレバウジオシドAの濃度を測定した。結果を図3に示す。

[0084] [表2]

[表2]

サンプル	条件	処理後pH	備考
1	コントロール	5.8	pH変更なし
2	NaOH	12.2	—
3	KOH	12	—
4	重曹	8.3	—

[0085] 図3に示すように、pHが約12に調整されたサンプル2（NaOH）およびサンプル3（KOH）では、pHを5.8から変更していないサンプル1に比して、レバウジオシドAの濃度が著しく増加した。この結果から、レバウジオシドAの濃度増加は、アルカリ剤の種類に依らず、pHに依存するものであることが確認された。

[0086] <実施例3>

ステビオール配糖体の工業的生産における製造時のパラメータを検討するため、pHおよび保持時間を変更した際のステビオール配糖体の濃度変化を評価した。

[0087] 上記<実施例1>と同様の方法でステビオール配糖体含有溶液を用意した。次に、NaOHを用いてステビオール配糖体含有溶液のpHを9、10、

11、11.8、12、12.2および12.5に調整し、当該pHのまま、表3に示す時間、各pHに調整したサンプルを室温（約25℃）で保持した。その後、クエン酸を用いて各サンプルについてpHを約7に調整し、実施例1と同様の方法でステビオール配糖体の濃度を測定した。pHを各指定の値に調整した直後（0分）のサンプルを基準とし、各pHに調整したサンプルにおけるステビオール配糖体の濃度の増加率を表4～9に示す。なお、表4はレバウジオシドA、表5はレバウジオシドC、表6はステビオシド、表7はレバウジオシドF、表8はレバウジオシドG、表9はルブソシドの濃度の増加率である。

[0088] [表3]

[表3]

保持時間[min]
5
10
15
20
30
40
50
60
90
120

[表4]

[表4：RebA]

Time[min]\pH	9	10	11	11.8	12	12.2	12.5	13	13.5
0	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
5	100%	101%	124%	116%	129%	127%	125%	94%	82%
10	97%	101%	125%	124%	132%	128%	125%	94%	82%
15	99%	103%	126%	128%	131%	124%	125%	94%	79%
20	99%	101%	128%	131%	133%	124%	126%	96%	80%
30	102%	102%	129%	136%	133%	124%	126%	95%	76%
40	107%	102%	131%	137%	133%	123%	130%	95%	74%
50	112%	103%	131%	136%	134%	124%	129%	95%	73%
60	104%	105%	132%	136%	137%	123%	129%	94%	71%
90	106%	104%	132%	137%	131%	124%	127%	94%	65%
120	108%	103%	132%	135%	138%	130%	128%	91%	58%

[表5]

[表 5 : RebC]

Time[min]\pH	9	10	11	11.8	12	12.2	12.5	13	13.5
0	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
5	103%	100%	136%	122%	147%	145%	141%	105%	94%
10	102%	101%	141%	135%	150%	146%	140%	107%	94%
15	100%	105%	141%	144%	150%	140%	140%	107%	91%
20	103%	103%	144%	146%	152%	141%	141%	110%	92%
30	104%	102%	147%	155%	152%	140%	141%	108%	89%
40	109%	104%	149%	158%	151%	140%	144%	109%	87%
50	114%	104%	152%	158%	153%	140%	146%	108%	86%
60	106%	108%	153%	155%	156%	142%	146%	108%	86%
90	109%	107%	152%	158%	149%	144%	144%	107%	80%
120	110%	104%	152%	156%	159%	149%	144%	106%	73%

[表6]

[表 6 : stevioside]

Time[min]\pH	9	10	11	11.8	12	12.2	12.5	13	13.5
0	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
5	100%	100%	152%	133%	164%	162%	161%	123%	108%
10	101%	103%	157%	150%	169%	164%	161%	124%	109%
15	103%	105%	159%	158%	166%	160%	163%	124%	105%
20	102%	103%	164%	167%	168%	159%	165%	127%	108%
30	105%	105%	168%	173%	170%	160%	163%	125%	103%
40	110%	107%	169%	178%	169%	160%	168%	125%	99%
50	111%	107%	170%	180%	171%	162%	171%	127%	97%
60	106%	110%	171%	179%	174%	160%	169%	127%	96%
90	109%	110%	174%	179%	170%	164%	167%	125%	88%
120	111%	111%	176%	178%	177%	170%	168%	123%	78%

[表7]

[表 7 : RebF]

Time[min]\pH	9	10	11	11.8	12	12.2	12.5	13	13.5
0	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
5	100%	100%	124%	116%	130%	128%	124%	94%	81%
10	99%	100%	131%	124%	133%	128%	127%	94%	82%
15	99%	102%	128%	128%	131%	124%	127%	95%	78%
20	99%	101%	130%	134%	134%	123%	128%	96%	77%
30	102%	103%	132%	138%	133%	122%	129%	94%	75%
40	107%	102%	132%	138%	131%	124%	132%	96%	73%
50	109%	104%	134%	137%	135%	125%	130%	94%	72%
60	105%	105%	134%	137%	137%	125%	129%	94%	70%
90	106%	105%	135%	139%	133%	127%	131%	95%	65%
120	107%	102%	136%	136%	138%	130%	127%	94%	58%

[表8]

[表 8 : RebG]

Time[min]\pH	9	10	11	11.8	12	12.2	12.5	13	13.5
0	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
5	121%	110%	263%	189%	258%	254%	217%	184%	157%
10	114%	123%	280%	212%	258%	261%	222%	179%	161%
15	119%	125%	278%	221%	264%	256%	226%	178%	156%
20	123%	121%	287%	237%	278%	245%	225%	189%	152%
30	122%	122%	299%	261%	270%	257%	231%	190%	152%
40	126%	124%	303%	257%	281%	263%	230%	191%	144%
50	136%	133%	306%	263%	279%	268%	238%	187%	144%
60	129%	127%	315%	263%	289%	264%	243%	191%	144%
90	128%	124%	310%	265%	268%	280%	243%	204%	124%
120	130%	128%	327%	276%	285%	308%	242%	192%	126%

[表9]

[表 9 : Rubsosite]

Time[min]\pH	9	10	11	11.8	12	12.2	12.5	13	13.5
0	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
5	92%	85%	464%	175%	570%	227%	304%	157%	158%
10	101%	110%	512%	210%	597%	210%	277%	169%	161%
15	100%	115%	441%	231%	624%	214%	279%	157%	138%
20	96%	115%	513%	208%	614%	232%	280%	146%	142%
30	91%	115%	535%	260%	635%	217%	262%	162%	142%
40	102%	107%	548%	286%	550%	201%	309%	156%	146%
50	109%	131%	565%	292%	600%	200%	320%	93%	143%
60	78%	114%	571%	273%	671%	237%	286%	156%	121%
90	105%	117%	575%	313%	507%	209%	277%	160%	131%
120	104%	112%	613%	276%	641%	250%	332%	144%	95%

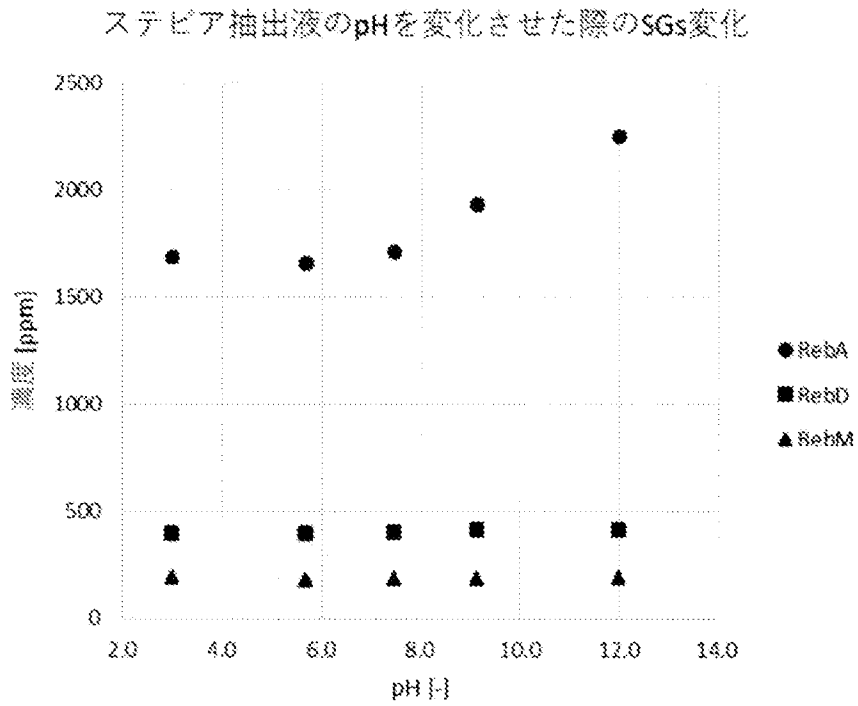
[0089] 表4～9に示すように、いずれのステビオール配糖体においても、pHおよび保持時間に依らず、濃度増加したステビオール配糖体が溶液中に安定に存在し続けることが確認された。また、上記のステビオール配糖体は、いずれもpH10～13に調整したサンプルで大きな濃度増加が認められた。

## 請求の範囲

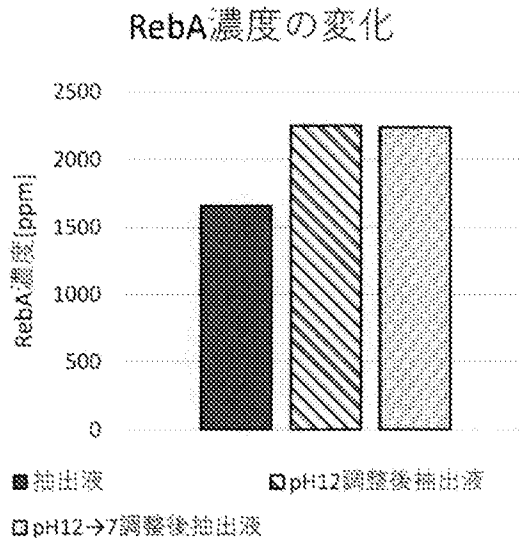
- [請求項1] ステビア抽出物を含むステビオール配糖体含有溶液を用意することと、  
前記ステビオール配糖体含有溶液に添加剤を添加して処理液を用意することと、を含み、  
前記添加剤を、前記処理液がpH10～13となるように添加する、ステビオール配糖体組成物の製造方法。
- [請求項2] 前記添加剤が、アルカリ剤である、請求項1に記載の製造方法。
- [請求項3] 前記アルカリ剤が、アルカリ金属水酸化物、アルカリ土類金属水酸化物、ケイ酸塩、炭酸塩および炭酸水素塩からなる群から選択される1種以上の化合物を含む、請求項2に記載の製造方法。
- [請求項4] 前記ステビオール配糖体組成物が、レバウジオシドA、レバウジオシドB、レバウジオシドM、レバウジオシドC、レバウジオシドD、ステビオシド、レバウジオシドF、ズルコシドA、レバウジオシドG、レバウジオシドN、ルブソシドおよびステビオールピオシドからなる群から選択される1種以上のステビオール配糖体を含む、請求項1～3のいずれか一項に記載の製造方法。
- [請求項5] 前記処理液を用意した後に前記処理液を1分～3日間保持する、請求項1～4のいずれか一項に記載の製造方法。
- [請求項6] 前記処理液に、第2の添加剤を添加して第2の処理液を用意すること、をさらに含み、  
前記第2の添加剤を、前記第2の処理液がpH2～10となるように添加する、請求項1～5のいずれか一項に記載の製造方法。
- [請求項7] 前記処理液および／または前記第2の処理液に、硫酸アルミニウム、ポリ塩化アルミニウム、塩化鉄(III)またはその水和物、ポリアクリルアミド加水分解物、アルギン酸、キチンおよびキトサンからなる群から選択される1種以上の化合物をさらに添加する、請求項6に記載の製造方法。

- [請求項8]           ステビア抽出物を含むステビオール配糖体含有溶液を用意することと、
- 前記ステビオール配糖体含有溶液に添加剤を添加して処理液を用意することと、を含み、
- 前記添加剤を、前記処理液がpH10～13となるように添加する、ステビオール配糖体含有溶液中のステビオール配糖体の濃度を増加する方法。
- [請求項9]           レバウジオシドA、レバウジオシドC、ステビオシド、レバウジオシドF、レバウジオシドGおよびルブソシドからなる群から選択される1種以上のステビオール配糖体の濃度を増加させる、請求項8に記載の方法。
- [請求項10]          請求項1～7のいずれか一項に記載の方法で製造された、ステビオール配糖体組成物。
- [請求項11]          請求項10に記載のステビオール配糖体組成物を含む、飲食品。

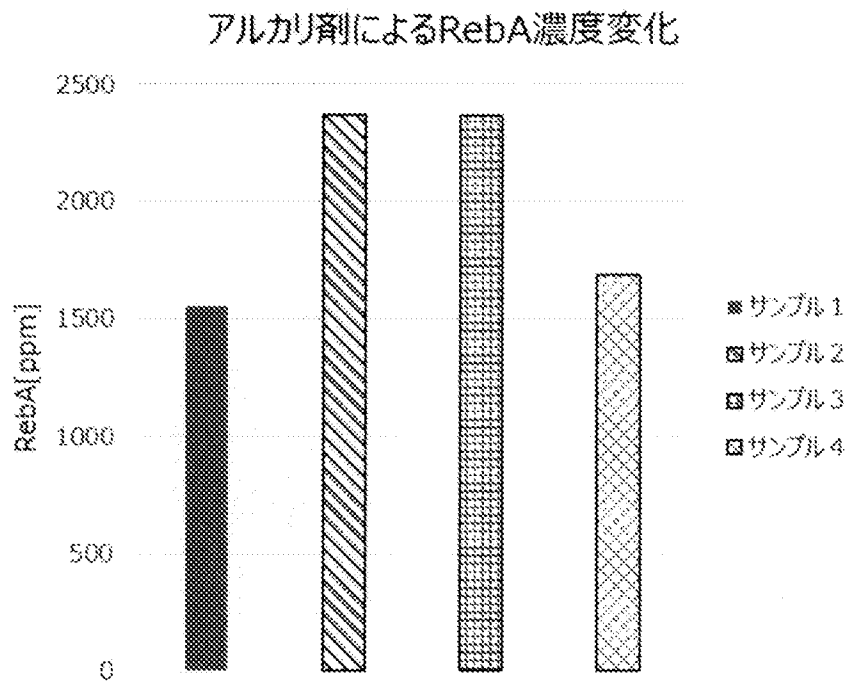
[図1]



[図2]



[図3]



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2021/016400

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b>		
A23L 27/00(2016.01)j FI: A23L27/00 101A		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b>		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A23L27/00		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Published examined utility model applications of Japan 1922-1996 Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2021 Registered utility model specifications of Japan 1996-2021 Published registered utility model applications of Japan 1994-2021		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 54-020000 A (ORGANO CORP.) 15 February 1979 (1979-02-15) claims, page 2, lower right column, lines 16-18, examples	1-6, 8-11
Y		7
X	JP 57-002656 A (SHIN NAKAMURA CHEMICAL CO., LTD.) 08 January 1982 (1982-01-08) claims, page 2, lower left column, line 1 to page 3, upper left column, line 8, examples	1-6, 8-11
Y		7
X	JP 2019-517823 A (TATE & LYLE INGREDIENTS AMERICAS LLC) 27 June 2019 (2019-06-27) claims, paragraphs [0074], [0079], [0132]	1-6, 8-11
Y		7
Y	JP 57-075992 A (TAMA BIOCHEMICAL CO., LTD.) 12 May 1982 (1982-05-12) claims, page 2, lower left column, line 10 to lower right column, line 1, examples	7
<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 application or patent 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 <b>23 June 2021</b>		Date of mailing of the international search report <b>06 July 2021</b>
Name and mailing address of the ISA/JP <b>Japan Patent Office (ISA/JP) 3-4-3 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915 Japan</b>		Authorized officer  Telephone No.

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
**Information on patent family members**

International application No. <b>PCT/JP2021/016400</b>
---

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
JP 54-020000 A	15 February 1979	(Family: none)	
JP 57-002656 A	08 January 1982	(Family: none)	
JP 2019-517823 A	27 June 2019	US 2019/0297932 A1 claims, examples WO 2017/214026 A1 EP 3464607 A1	
JP 57-075992 A	12 May 1982	(Family: none)	

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC）） A23L 27/00(2016.01)i FI: A23L27/00 101A		
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料（国際特許分類（IPC）） A23L27/00 最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの 日本国実用新案公報 1922-1996年 日本国公開実用新案公報 1971-2021年 日本国実用新案登録公報 1996-2021年 日本国登録実用新案公報 1994-2021年		
国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）		
C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X	JP 54-020000 A (オルガノ株式会社) 15.02.1979 (1979-02-15) 特許請求の範囲、第2頁右下欄第16行~18行、実施例	1-6, 8-11
Y		7
X	JP 57-002656 A (新中村化学工業株式会社) 08.01.1982 (1982-01-08) 特許請求の範囲、第2頁左下欄第1行~第3頁左上欄第8行、実施例	1-6, 8-11
Y		7
X	JP 2019-517823 A (テイト アンド ライル イングレディエント アメリカス リ ミテッド ライアビリティ カンパニー) 27.06.2019 (2019-06-27) 特許請求の範囲、[0074]、[0079]、[0132]	1-6, 8-11
Y		7
Y	JP 57-075992 A (タマ生化学株式会社) 12.05.1982 (1982-05-12) 特許請求の範囲、第2頁左下欄第10行~右下欄第1行、実施例	7
<input type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input checked="" type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。		
* 引用文献のカテゴリー “A” 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの “E” 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの “L” 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す） “O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 “P” 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献	“T” 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの “X” 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの “Y” 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの “&” 同一パテントファミリー文献	
国際調査を完了した日 23.06.2021	国際調査報告の発送日 06.07.2021	
名称及びあて先 日本国特許庁(ISA/JP) 〒100-8915 日本国 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	権限のある職員（特許庁審査官） 安田 周史 40 3445 電話番号 03-3581-1101 内線 3461	

国際調査報告  
 パテントファミリーに関する情報

国際出願番号

PCT/JP2021/016400

引用文献	公表日	パテントファミリー文献	公表日
JP 54-020000 A	15.02.1979	(ファミリーなし)	
JP 57-002656 A	08.01.1982	(ファミリーなし)	
JP 2019-517823 A	27.06.2019	US 2019/0297932 A1 claims, examples WO 2017/214026 A1 EP 3464607 A1	
JP 57-075992 A	12.05.1982	(ファミリーなし)	