



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(19) **RU** (11) **2 596 190** (13) **С9**

(51) МПК

<i>C07H</i>	<i>1/08</i>	(2006.01)	<i>A61K</i>	<i>31/704</i>	(2006.01)
<i>A23L</i>	<i>27/30</i>	(2016.01)	<i>A23C</i>	<i>9/13</i>	(2006.01)
<i>A23G</i>	<i>1/42</i>	(2006.01)	<i>A23L</i>	<i>2/02</i>	(2006.01)
<i>A23L</i>	<i>2/60</i>	(2006.01)			
<i>A21D</i>	<i>2/08</i>	(2006.01)			
<i>A23G</i>	<i>9/36</i>	(2006.01)			
<i>A61K</i>	<i>8/60</i>	(2006.01)			
<i>A21D</i>	<i>13/08</i>	(2006.01)			
<i>A23L</i>	<i>27/50</i>	(2016.01)			

(см. прод.)

(12) **СКОРРЕКТИРОВАННОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ**

Примечание: библиография отражает состояние при переиздании

(21)(22) Заявка: 2011115775/04, 13.10.2010

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
13.10.2010

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:

15.10.2009 US 12/580,233;
24.05.2010 US 12/785,501;
24.05.2010 US 12/785,504;
24.05.2010 US 12/785,506;
24.05.2010 US 12/785,507;
24.05.2010 US 12/785,508;
24.05.2010 US 12/786,392;
24.05.2010 US 12/786,402;
24.05.2010 US 12/786,413;
24.05.2010 US 12/786,416;

(см. прод.)

(43) Дата публикации заявки: 10.11.2012 Бюл. № 31

(45) Опубликовано: 27.08.2016

(15) Информация о коррекции:
Версия коррекции №1 (W1 C2)

(48) Коррекция опубликована:
20.10.2016 Бюл. № 29

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: WO 2007061872 A2, 31.05.2007. (см. прод.)

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на национальной фазе: 05.05.2011

(86) Заявка РСТ:
МУ 2010/000207 (13.10.2010)

(87) Публикация заявки РСТ:
ВО 2011/046423 (21.04.2011)

Адрес для переписки:

(72) Автор(ы):

АБЕЛЯН Варужан (МУ),
МАРКОСЯН Аветик (МУ),
АБЕЛЯН Лидия (МУ)

(73) Патентообладатель(и):

ПЬЮСЁРКЛ ЭсДиЭн БиЭйчДи (МУ)

С
9
2
5
9
6
1
9
0
С
9
R
U

R
U
2
5
9
6
1
9
0
С
9

(54) РЕБАУДИОЗИД D ВЫСОКОЙ СТЕПЕНИ ЧИСТОТЫ И ЕГО ПРИМЕНЕНИЕ

(57) Реферат:

Настоящее изобретение относится к способу очистки Ребаудиозида D и композиции на его основе. Предложенный способ включает обеспечение экстракта растения *Stevia rebaudiana* Bertoni; растворение указанного экстракта в первом водном растворе органического растворителя с получением первой смеси стевиолгликозидов, где указанный органический растворитель выбран из группы, состоящей из метанола, этанола и смеси указанных веществ, и концентрация указанного органического растворителя составляет 75-99 об.%; индуцирование кристаллизации в первой смеси; фильтрование указанной смеси с получением первого осадка и первого фильтрата; растворение первого осадка во втором водном растворе органического растворителя с получением второй смеси, где указанный органический растворитель выбран из группы, состоящей из метанола, этанола и смеси указанных веществ, и концентрация указанного органического растворителя составляет 70-80 об.%; индуцирование кристаллизации во второй смеси;

фильтрование указанной смеси с получением второго осадка и второго фильтрата; растворение второго осадка в третьем водном растворе органического растворителя с получением третьей смеси, где указанный органический растворитель выбран из группы, состоящей из метанола, этанола и смеси указанных веществ, и концентрация указанного органического растворителя составляет 10-80 об.%; индуцирование кристаллизации в третьей смеси и фильтрование указанной смеси с получением третьего осадка и третьего фильтрата с получением очищенного Ребаудиозида D. Предложенная композиция подсластителя содержит Ребаудиозид D 81,6-95,7 мас.%, Ребаудиозид А 3,8-16,2 мас.%, Стевиозид 0,1-0,8 мас.%, Ребаудиозид С 0,1-0,7 мас.%, Ребаудиозид Е 0,2-0,5 мас.%, Ребаудиозид F 0,1-0,2 мас.%. Предложен новый эффективный способ получения Ребаудиозида D и эффективная композиция подсластителя на его основе. 2 н. и 17 з.п. ф-лы, 6 ил., 12 табл., 13 пр.

(30) (продолжение):

24.05.2010 12/786,419 US;
24.05.2010 12/786,427 US;
24.05.2010 12/786,430 US

(51) МПК (продолжение)

(56) (продолжение):

WO 2007061898 A1, 31.05.2007. WO 2008112872 A1, 18.09.2008. WO 2009086049 A2, 09.07.2009. WO 2002060419 A2, 08.08.2002. WO 2007061796 A2, 31.05.2007. US 5962678 A, 05.10.1999. RU 2448533 C2, 14.03.2007. RU 2514407 C2, 15.05.2008. RU 2505244 C2, 27.01.2014. RU 2406415 C2, 20.12.2010. RU 2400109 C1, 27.09.2010. RU 2427285 C2, 27.08.2011. RU 2412620 C2, 27.02.2011. RU 2469608 C2, 20.12.2012. RU 2444900 C2, 20.03.2012.

RU 2596190 C9

RU 2596190 C9

RUSSIAN FEDERATION



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(19) **RU** (11) **2 596 190** (13) **C9**

(51) Int. Cl.

<i>C07H</i>	<i>1/08</i>	(2006.01)	<i>A61K</i>	<i>31/704</i>	(2006.01)
<i>A23L</i>	<i>27/30</i>	(2016.01)	<i>A23C</i>	<i>9/13</i>	(2006.01)
<i>A23G</i>	<i>1/42</i>	(2006.01)	<i>A23L</i>	<i>2/02</i>	(2006.01)
<i>A23L</i>	<i>2/60</i>	(2006.01)			
<i>A21D</i>	<i>2/08</i>	(2006.01)			
<i>A23G</i>	<i>9/36</i>	(2006.01)			
<i>A61K</i>	<i>8/60</i>	(2006.01)			
<i>A21D</i>	<i>13/08</i>	(2006.01)			
<i>A23L</i>	<i>27/50</i>	(2016.01)			

(to be continued)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

Note: Bibliography reflects the latest situation

(21)(22) Application: **2011115775/04, 13.10.2010**

(24) Effective date for property rights:
13.10.2010

Priority:

(30) Convention priority:

- 15.10.2009 US 12/580,233;
- 24.05.2010 US 12/785,501;
- 24.05.2010 US 12/785,504;
- 24.05.2010 US 12/785,506;
- 24.05.2010 US 12/785,507;
- 24.05.2010 US 12/785,508;
- 24.05.2010 US 12/786,392;
- 24.05.2010 US 12/786,402;
- 24.05.2010 US 12/786,413;
- 24.05.2010 US 12/786,416;

(to be continued)

(43) Application published: **10.11.2012 Bull. № 31**

(45) Date of publication: **27.08.2016**

(15) Correction information:
Corrected version no1 (W1 C2)

(48) Corrigendum issued on:
20.10.2016 Bull. № 29

(85) Commencement of national phase: **05.05.2011**

(86) PCT application:
MY 2010/000207 (13.10.2010)

(87) PCT publication:
WO 2011/046423 (21.04.2011)

Mail address:
**190000, Sankt-Peterburg, ul. Malaja Morskaja, 15,
ofis 5, VOKH 1125, OOO "PATENTIKA",
M.I.Nilovoj**

(72) Inventor(s):

**ABELYAN Varuzhan (MY),
MARKOSYAN Avetik (MY),
ABELYAN Lidiya (MY)**

(73) Proprietor(s):

PYUSERKL EsDiEn BiEjchDi (MY)

RU 2 596 190 C9

RU 2 596 190 C9

(54) **REBAUDIOSIDE D OF HIGH PURITY AND USE THEREOF**

(57) Abstract:

FIELD: chemistry.

SUBSTANCE: present invention relates to a method

of purifying Rebaudioside D and compositions based thereon. Proposed method comprises providing extract of Stevia rebaudiana Bertoni; dissolving said extract in first aqueous solution of an organic solvent to obtain a first mixture of steviol glycosides, where said organic solvent is selected from a group consisting of methanol, ethanol and mixture of said substances, and concentration of said organic solvent is 75-99 vol%; induction crystallisation in first mixture; filtering said mixture to produce first precipitate and first filtrate; dissolution of first precipitate in second aqueous solution of an organic solvent to obtain a second mixture, where said organic solvent selected from a group consisting of methanol, ethanol and mixture of said substances, and concentration of said organic solvent is 70-80 vol%; induction crystallisation in second mixture; filtering of said mixture to produce second precipitate and second filtrate; dissolution of

(30) Convention priority:
24.05.2010 12/786,419 US;
24.05.2010 12/786,427 US;
24.05.2010 12/786,430 US

(51) Int. Cl.

second precipitate in third aqueous solution of an organic solvent to produce a third mixture, where said organic solvent is selected from a group consisting of methanol, ethanol and mixture of said substances, and concentration of said organic solvent is 10-80 vol%; induction crystallisation in third mixture and filtration of said mixture to produce third precipitate and third filtrate to obtain purified Rebaudioside D. Proposed sweetener composition contains Rebaudioside D 81.6-95.7 wt%, Rebaudioside A 3.8-16.2 wt%, Stevioside 0.1-0.8 wt%, Rebaudioside C 0.1-0.7 wt%, Rebaudioside E 0.2-0.5 wt%, Rebaudioside F 0.1-0.2 wt%.

EFFECT: novel efficient method of producing Rebaudioside D and effective sweetener composition based thereon.

19 cl, 6 dwg, 12 tbl, 13 ex

R U 2 5 9 6 1 9 0 C 9

R U 2 5 9 6 1 9 0 C 9

Область техники

[0001] Настоящее изобретение относится к способу выделения и очистки индивидуальных сладких гликозидов из экстракта растения *Stevia rebaudiana* Bertoni и, в частности, к выделению и очистке Ребаудиозида D из экстракта растения *Stevia rebaudiana* Bertoni, а также к продуктам, подслащенным высокоинтенсивным подсластителем.

Описание уровня техники

[0001] Подсластители представляют собой ключевые компоненты пищевого сырья. Спрос на полезные низкокалорийные напитки и продукты питания приводит к увеличению потребления подсластителей; таким образом, существует необходимость в снижении количества калорий, приносимого подсластителями. Данная цель может быть достигнута путем применения высокоинтенсивных подсластителей.

[0002] Высокоинтенсивные подсластители обладают уровнем сладости, во много раз превышающим уровень сладости сахарозы. Они по существу некалорийны и находят широкое применение в производстве диетических продуктов питания и продуктов питания со сниженной калорийностью. Несмотря на то, что натуральные калорийные подсластители, такие как сахароза, фруктоза и глюкоза, обеспечивают наиболее приятный для потребителей вкус, они являются калорийными. Высокоинтенсивные подсластители не влияют на уровень глюкозы в крови и обеспечивают небольшую питательную ценность или не обладают питательной ценностью.

[0003] Однако высокоэффективные подсластители, которые обычно используются в качестве заменителей сахарозы, обладают вкусовыми характеристиками, отличающимися от вкусовых характеристик сахара, такими как сладкий вкус с другим по сравнению с сахаром временным профилем, максимальным ответом, вкусовым профилем, вкусовым ощущением и/или адаптивным поведением. Например, сладкий вкус некоторых высокоэффективных подсластителей медленнее проявляется и длится дольше, чем у сахара и, таким образом, изменяет вкусовой баланс пищевой композиции. Вследствие данных отличий применение высокоэффективного подсластителя для замены сыпучего подсластителя, такого как сахар, в продукте питания или напитке приводит к несбалансированности временного и/или вкусового профиля. При возможности модифицировать вкусовой профиль высокоэффективных подсластителей для придания необходимых вкусовых характеристик возможно получение низкокалорийных напитков и продуктов питания со вкусовыми характеристиками, более приятными для потребителей.

[0004] С другой стороны, высокоэффективные подсластители могут обладать некоторыми ценовыми и функциональными преимуществами по сравнению с сахаром. Конкуренция между сахаром и высокоэффективными несахарными подсластителями является жесткой при производстве безалкогольных напитков в странах, где разрешено их использование и производство, а также в странах с завышенными ценами на сахар.

[0005] В настоящее время высокоинтенсивные подсластители используются во всем мире. Они могут быть как синтетического, так и природного происхождения.

[0006] Неограничивающие примеры синтетических подсластителей включают сукралозу, ацесульфам калия, аспартам, алитам, сахарин, синтетические производные неогесперицина дигидрохалкона, цикламат, неотам, дульцин, суосан, 1-метилловый эфир N-[N-[3-(3-гидрокси-4-метоксифенил)пропил]-L- α -аспартил]-L-фенилаланина, 1-метилловый эфир N-[N-[3-(3-гидрокси-4-метоксифенил)-3-метилбутил]-L- α -аспартил]-L-фенилаланина, 1-метилловый эфир N-[N-[3-(3-метокси-4-гидроксифенил)пропил]-L- α -аспартил]-L-фенилаланина, их соли и т.д. и комбинацию указанных веществ.

[0007] Неограничивающие примеры натуральных высокоинтенсивных подсластителей включают Стевиозид, Ребаудиозид А, Ребаудиозид В, Ребаудиозид С, Ребаудиозид Е, Ребаудиозид F, Стевиолбиозид, Дулькозид А, Рубузозид, могозиды, браззеин, неогесперицина дигидрохалкон (NHDC), глицирризиновую кислоту и ее соли, тауматин, перилартин, пернандульцин (permandulcin), мукурозиозиды (mukuroziosides), байюнозид, фломизозид-I (phlomisozide-I), диметилгексагидрофлуорендикарбоновую кислоту, абрузозиды, периандрин, карносифлозиды (camosiflosides), циклокариозид, птерокариозиды, полиподозид А, бразилин, гернандульцин, филлодульцин, глицифиллин (glycyphyllin), флоризин, трилобатин (trilobatin), дигидрофлавонол, дигидрокверцетин-3-ацетат, неоастилин (neoastilbin), транс-коричный альдегид, монатин и его соли, селигван А (selliguanin А), гематоксилин, монеллин, осладин, птерокариозид А, птерокариозид В, мабинлин, пентадин, миракулин, куркулин, неокулин, хлорогеновую кислоту, цинарин, сиаменозид и другие.

[0008] Высокоинтенсивные подсластители могут быть получены в результате модификации натуральных высокоинтенсивных подсластителей, например, путем ферментации, ферментативной обработки или получения производных.

[0009] В настоящее время во всем мире используются около одиннадцати высокоинтенсивных подсластителей. Такими подсластителями являются ацесульфам-К, алитам, аспартам, цикламат, глицирризин, NHDC, сахарин, Стевиозид, сукралоза, тауматин, неотам и Ребаудиозид А.

[0010] Указанные высокоинтенсивные подсластители могут быть разделены на три поколения. Первое поколение, представленное цикламатом, глицирризином и сахарином, в течение долгого времени использовались в продуктах питания. Второе поколение включает ацесульфам-К, аспартам, NHDC и тауматин. Алитам, неотам, сукралоза, Стевиозид и Ребаудиозид А относятся к третьему поколению.

[0011] Стандартный коэффициент сладости для каждого высокоинтенсивного подсластителя приведен в ТАБЛИЦЕ 1. Однако если подсластители используют в смесях, коэффициент сладости может значительно меняться.

ТАБЛИЦА 1	
Подсластитель	Коэффициент сладости
Сахароза	1
Ацесульфам-К	200
Алитам	2000
Аспартам	200
Цикламат	30
Глицирризин	50
NHDC	1000
Сахарин	300
Стевиозид	200
Ребаудиозид А	450
Тауматин	3000
Сукралоза	600

[0012] С другой стороны, «натуральные» и «органические» продукты питания и напитки стали «областью наибольшей активности» в пищевой промышленности. Сочетание пожеланий потребителей, достижений в технологии продуктов питания, новых исследований, связывающих питание с заболеванием и предупреждением заболеваний, создало беспрецедентную возможность для решения вопросов, связанных со здравоохранением, с помощью питания и образа жизни.

[0013] Все большее число потребителей осознает способность контролировать свое

здоровье путем улучшения текущего состояния здоровья и/или ограждения себя от будущих заболеваний. Это создает спрос на продукты питания, обладающие улучшенными характеристиками и, соответственно, пользой для здоровья, в частности, тенденцию продовольственного и потребительского рынка, направленную в сторону образа жизни, характеризуемого целостным подходом к заботе о здоровье («whole health solutions»). Термин «натуральный» является высокоэмоциональным в отношении подсластителей и был идентифицирован в качестве одного из ключевых слов, вызывающих доверие, наряду с «цельными зёрнами», «полезный для сердца» и «с низким содержанием соли». Термин «натуральный» тесно связан со словом «более полезный для здоровья».

[0014] В этом отношении натуральные высокоинтенсивные подсластители могут обладать лучшим коммерческим потенциалом.

[0015] Натуральные калорийные сахара, такие как сахароза, фруктоза и глюкоза, широко используются в производстве напитков, продуктов питания, зубных средств, средств гигиены полости рта и косметической промышленности благодаря их приятному вкусу. В частности, сахароза придает вкус, приятный для потребителей. Несмотря на то, что сахароза обеспечивает наилучшие характеристики сладости, она калорийна. Несмотря на то, что калории необходимы для нормального функционирования организма, на рынке существует необходимость в получении альтернативных некалорийных или низкокалорийных подсластителей с сахароподобным вкусом для потребителей с малоподвижным образом жизни или для тех, кто следит за количеством калорий. Необходимы новые составы напитков, продуктов питания и соусов с нулевым или низким содержанием сахара. Однако, как правило, некалорийные или низкокалорийные подсластители обладают соответствующими неприятными для потребителей вкусовыми характеристиками, такими как замедленное проявление сладости; длительное сладкое послевкусие; горький вкус; металлический привкус; вяжущий вкус; охлаждающий вкус; подобный лакрице вкус и/или т.д. При возможности модифицировать вкусовой профиль натуральных и синтетических высокоэффективных подсластителей для того, чтобы конкретные необходимые вкусовые характеристики стали более приближены к характеристикам сахара, вид и разнообразие композиций, которые могут быть получены с данным подсластителем, будут значительно расширены. Соответственно, необходимо селективно модифицировать вкусовые характеристики натуральных и синтетических высокоэффективных подсластителей. Также очень важно, чтобы диабетические (без сахара) продукты или продукты со сниженным содержанием калорий обладали минимальными отличиями от традиционных продуктов.

[0016] Разработка новых составов, например, с использованием подсластителей, ароматизаторов, агентов, усиливающих вкус, наполнителей и т.д., сталкивается с проблемами, связанными с сопутствующим горьким вкусом и/или другими посторонними привкусами и текстурой. Кроме того, указанные проблемы, как правило, свойственны составам, разработанным для улучшения характеристик и/или вкусовых профилей при сохранении тех же характеристик текстуры. Также существует необходимость в разработке новых составов, которые могут удовлетворительно решать комплекс задач, включая питательную ценность, вкус, срок годности и другие задачи.

[0017] Задачей настоящего изобретения является получение продукта, обладающего отличными вкусовыми и физическими характеристиками. Указанный продукт содержит по меньшей мере один не имеющий питательной ценности натуральный подсластитель в количестве, достаточном для обеспечения ощутимого подслащивания. Композиция обеспечивает более приближенные к сахару характеристики сладости за счет применения

нового натурального высокоинтенсивного подсластителя, такого как ребаудиозид D.

[0018] *Stevia Rebaudiana* Bertoni представляет собой многолетний кустарник семейства Asteraceae (Compositae) родом из некоторых областей Южной Америки. Листья данного растения содержат от 10 до 20% дитерпеновых гликозидов, которые примерно в 150-450 раз слаще сахара. Листья традиционно использовали на протяжении сотен лет в Парагвае и Бразилии для подслащивания местных видов чая и лекарственных средств.

[0019] В настоящее время существует более 230 видов Стевии (*Stevia*), обладающих значительными подслащивающими свойствами. Данное растение с успехом выращивали в широком диапазоне условий, от родных субтропиков до холодных северных широт.

[0020] Стевиол-гликозиды имеют нулевую калорийность и могут быть применены в любой области, где применяют сахар. Они идеально подходят для диабетического и низкокалорийного питания. Кроме того, сладкие стевиол-гликозиды обладают функциональными и органолептическими свойствами, превосходящими указанные свойства многих высокоэффективных подсластителей.

[0021] Экстракт растения *Stevia rebaudiana* содержит смесь разных сладких дитерпеновых гликозидов, имеющих одно основание - стевиол и отличающихся присутствием углеводных остатков в положениях C13 и C19. Данные гликозиды накапливаются в листьях Стевии и составляют приблизительно 10%-20% от общей массы сухого вещества. Как правило, на основе массы сухого вещества четыре основные гликозида, обнаруженные в листьях Стевии, представляют собой Дулькозид А (0,3%), Ребаудиозид С (0,6%), Ребаудиозид А (3,8%) и Стевиозид (9,1%). Другие гликозиды, идентифицированные в экстракте Стевии, включают Ребаудиозид В, С, D, Е и F, Стевиолбиозид и Рубузозид (Фиг.1). Среди стевиол-гликозидов только Стевиозид и Ребаудиозид А доступны в промышленном масштабе.

[0022] Химические структуры дитерпеновых гликозидов *Stevia rebaudiana* Bertoni представлены на Фиг.2.

[0023] Физические и органолептические свойства хорошо изучены только для Стевиозида и Ребаудиозида А. Сила сладости Стевиозида примерно в 210 раз выше, чем у сахарозы, Ребаудиозида А - в 200-400 раз, и Ребаудиозида С и Дулькозида - примерно в 30 раз. Считается, что Ребаудиозид А обладает наиболее благоприятными органолептическими характеристиками из четырех основных стевиол-гликозидов (ТАБЛИЦА 2).

[0024] Гликозиды из листьев могут быть экстрагированы посредством экстракции либо водой, либо органическим растворителем. Также были описаны сверхкритическая флюидная экстракция и перегонка с водяным паром. Также описаны способы извлечения дитерпеновых сладких гликозидов из *Stevia rebaudiana* с применением мембранной технологии и воды или органических растворителей, таких как метанол и этанол.

ТАБЛИЦА 2

Название	Формула	T _{плав.} , °C	Молек. мас-са	Оптическое вращение [α] ²⁵ (H ₂ O, 1%, масс./об.)	Растворимое в воде, %	Относительная сладость	Качество вкуса
Стевиол	C ₂₀ H ₃₀ O ₃	212-213	318,45	Не опред.	Не опред.	Не опред.	Очень горький
Стевиолмоно-зил	C ₂₆ H ₄₀ O ₈	Не опред.	480,58	Не опред.	Не опред.	Не опред.	Не опред.
Стевиозид	C ₃₈ H ₆₀ O ₁₈	196-198	804,88	-39,3	0,13	210	Горький
Ребаудиозид А	C ₄₄ H ₇₀ O ₂₃	242-244	967,01	-20,8	0,80	200-400	Менее горький
Ребаудиозид В	C ₃₈ H ₆₀ O ₁₈	193-195	804,88	-45,4	0,10	150	Горький
Ребаудиозид С	C ₄₄ H ₇₀ O ₂₂	215-217	951,01	-29,9	0,21	30	Горький
Ребаудиозид D	C ₅₀ H ₈₀ O ₂₈	248-249	1129,15	-29,5 (этанол)	1,00	220	Как сахароза

Ребаудиозид Е	C ₄₄ H ₇₀ O ₂₃	205-207	967,01	-34,2	1,70	170	Как сахароза
Ребаудиозид F	C ₄₃ H ₆₈ O ₂₂	Не опред.	936,99	-25,5 (метанол)	Не опред.		
Дулькозид А	C ₃₈ H ₆₀ O ₁₇	193-195	788,87	-50,2	0,58	30	Очень горький
Стевиолбиозид	C ₃₂ H ₅₀ O ₁₃	188-192	642,73	-34,5	0,03	90	Неприятный
Рубузозид	C ₃₂ H ₅₀ O ₁₃	Не опред.	642,73	642,73	Не опред.	110	Очень горький

[0025] Существует несколько публикаций по очистке некоторых индивидуальных стевиол-гликозидов.

[0026] Как правило, получение экстракта включает экстракцию растительного материала водой или смесью вода-органический растворитель, осаждение высокомолекулярных веществ, деионизацию и обесцвечивание, очистку на специфичных макропористых полимерных адсорбентах, концентрированно и сушку.

[0027] В патенте США 3723410 предложена экстракция Стевиозидов из *Stevia rebaudiana* Bertoni. Указанный способ включал обезжиривание листьев Стевии путем обработки хлороформом в течение более 150 часов при температурах кипения и обработку диоксаном три раза в присутствии карбоната кальция в течение двух часов при температурах кипения. После фильтрования фильтраты диоксана смешивали и концентрировали до состояния сиропа при пониженном давлении при 50°C. Затем к указанному сиропу добавляли равный объем метанола, и полученный раствор оставляли на ночь для кристаллизации. Кристаллы собирали путем фильтрования и тщательно промывали ледяным метанолом. Остаточный раствор концентрировали, добавляли равный объем метанола и смесь оставляли на ночь для кристаллизации. Кристаллы отделяли путем фильтрования и сушили под вакуумом при 100°C. Выход Стевиозида составлял 6,5% от высушенных на воздухе листьев. Данный способ очень сложен применением токсичных органических растворителей. Нет информации о чистоте Стевиозида, однако в описанных условиях Ребаудиозиды будут осажаться вместе со Стевиозидом. Данный способ трудно применять в промышленном масштабе.

[0028] Способ получения экстракта Стевии с последующим выделением Ребаудиозида А разработан в патенте США 4082858. Высушенные на воздухе листья Стевии экстрагировали горячей водой и экстракт сушили под вакуумом. Полученную смесь экстрагировали метанолом и из смешанных экстрактов удаляли метанол путем перегонки при пониженном давлении. Полученный сироп подвергали хроматографическому разделению на колонке с силикагелем с использованием смеси н-пропанола, воды и этилацетата в качестве подвижной фазы. Данный способ подходит для применения только в лабораторном масштабе и обладает различными недостатками в промышленном масштабе.

[0029] В патенте США 4171430 предложена очистка Стевиозида из экстракта стевии. Данный способ включал экстрагирование листьев Стевии водой, концентрированно раствора и экстрагирование метанолом. Стевиозид кристаллизовали из раствора метанола и очищали на геле стирольного типа с применением тетрагидрофурана в качестве подвижной фазы. Данный способ подходит для применения только в лабораторном масштабе. Указанный способ трудно применять в промышленном масштабе.

[0030] В патенте США 4361697 предложена экстракция, разделение и извлечение дитерпеновых гликозидов из *Stevia rebaudiana*. Данный способ включал этапы последовательного экстрагирования растительного материала сначала растворителем промежуточной полярности (таким как хлороформ), а затем вторым растворителем высокой полярности (таким как метанол). Полученный экстракт подвергали разделению путем жидкостной хроматографии. Стевиол-гликозиды содержались в метанольной

фракции. Основным недостатком являлось применение различных токсичных растворителей для экстракции и обработки сладких гликозидов. Конечную очистку гликозидов осуществляли путем колоночной хроматографии с применением сорбентов, таких как силикагель, в качестве неподвижной фазы и элюирования колонки двумя растворителями, последовательно проходящими через колонку. Способ не является экологически безопасным и его трудно осуществлять в крупном масштабе.

[0031] Усовершенствованный способ извлечения стевииоли-гликозидов из растения *Stevia rebaudiana* Bertoni, не требующий применения специального оборудования для разделения, такого как ионообменные и/или хроматографические колонки, был описан в патенте США 4599403. Экстракцию осуществляли водой. Полученный водный раствор обрабатывали лимонной кислотой с удалением металлических и других примесей, а также с понижением pH до примерно 3,0. Смесь фильтровали через целит и доводили pH фильтрата до 10,5 оксидом кальция. Полученный осадок удаляли путем фильтрования. Фильтрат концентрировали и экстрагировали n-бутанолом. Затем извлекали очищенные кристаллы Стевиозида путем охлаждения водной фазы, полученной в результате этапа экстракции растворителем. Основными недостатками данного способа являются потери гликозидов в ходе экстракции n-бутанолом, а также низкий выход кристаллов Стевиозида из водного раствора. Содержание соли в конечном продукте может быть высоким. Нет данных о конечной чистоте Стевиозида. Данный способ трудно применять в промышленном масштабе.

[0032] В патенте США 4892938 и JP 01-131191 предложен способ очистки, в котором экстракт растения получали посредством обработки в воде при температуре в диапазоне от комнатной до примерно 65°C при перемешивании и последующей фильтрации, и центрифугирования. Полученный экстракт обрабатывали гидроксидом кальция и удаляли осадок путем фильтрования или центрифугирования. Фильтрат обрабатывали с применением сильнокислой ионообменной смолы, а затем слабоосновной ионообменной смолы. Сладкие гликозиды оставались в воде и их извлекали путем испарения воды. Недостатком является довольно низкая чистота конечного продукта. Содержание сладких гликозидов в конечном продукте составляло только примерно 70%.

[0033] В патенте США 5112610 предложен способ получения натурального подсластителя на основе *Stevia rebaudiana*. Данный способ включал экстрагирование растительного материала *Stevia rebaudiana* органическим растворителем и подвергание раствора экстракции сверхкритическим газом (CO₂) с получением остатка, который не содержал нежелательных и портящих вкус компонентов. В сущности, данный способ относился к удалению восков кутикулы, хлорофилла, других пигментов и, в частности, ухудшающих вкус компонентов из листьев или экстракта Стевии. Однако для обработки листьев напрямую было необходимо большое количество исходного материала, так что применение листьев экономически невыгодно даже при увеличении объемной плотности высушенных или измельченных листьев путем спрессовывания в брикеты перед экстракцией. Обработка порошкообразного экстракта, полученного из листьев традиционным способом, позволяла удалять ухудшающие вкус компоненты только в меньшей степени, и без применения азеотропообразователей (низкомолекулярных спиртов, подходящего углеводорода или смеси растворителей) не позволяет достигать полностью удовлетворительных результатов. Кроме того, нет количественных данных о фактической чистоте экстракта. Данный способ трудно применять в промышленном масштабе.

[0034] В патенте США 5962678 описан многостадийный способ экстракции и очистки

Ребаудиозида А из растения *Stevia rebaudiana*. Экстракт указанного растения получали посредством обработки в воде при температуре в диапазоне от температуры окружающей среды до примерно 65°C при перемешивании и последующем
 5 фильтровании, и центрифугирования. Полученный экстракт обрабатывали гидроксидом кальция и осадок удаляли путем фильтрования или центрифугирования. Фильтрат обрабатывали сильнокислой ионообменной смолой, а затем слабоосновной ионообменной смолой. Сладкие гликозиды оставались в воде и их извлекали путем испарения воды. Содержание стевиол-гликозидов в экстракте на данном этапе составляло только 70%. Для дополнительной очистки продукт пропускали через колонку
 10 с Амберлитом XAD-7 (Amberlite XAD-7), который способен адсорбировать стевиол-гликозиды. После промывки водой гликозиды десорбировали метанолом. Чистота экстракта составляла примерно 95% с содержанием значительного количества так называемого желтого масла. Для выделения индивидуального Стевиозида и Ребаудиозида А высушенное твердое вещество нагревали с обратным холодильником
 15 в растворе безводного метанола, а затем охлаждали с осаждением Стевиозида, чистота которого составляла 91,6%. Однако выход Стевиозида составлял только 15% из экстракта Стевии, содержащего 60% Стевиозида. Стевиозид может быть дополнительно очищен путем нагревания с обратным холодильником в растворе метанол-вода. Чистота продукта составляла примерно 99%.

[0035] Более чистый продукт может быть получен путем комбинированного применения микрофильтрации, ультрафильтрации и нанофильтрации, как описано в патенте США 5972120. Экстракцию непрерывно осуществляли в колонках с непрерывным потоком. Оптимальный средний размер частиц листьев должен был
 20 составлять примерно 20 мм. При использовании более мелких частиц скорость фильтрации существенно снижалась из-за засорения колонки. Исходную воду добавляли в количестве, равном 0,05 части на одну часть сухих листьев (по массе). Температуру колонки устанавливали не более 4°C и осуществляли экстракцию водой при рН в диапазоне 2,0-4,0 (доведенном фосфорной кислотой). При низких температурах и рН происходила более селективная экстракция, и получали почти бесцветный раствор.
 25 Далее экстракт фильтровали через трубчатые керамические мембраны, а затем через ультрафильтрационные мембраны. Полученный фильтрат отделяли от низкомолекулярных примесей на наномембранах при повышенных температурах.

[0036] Способ получения экстракта Стевии представлен в патентах США 6031157 и 6080561. Сухие листья экстрагировали 10-20 частями воды несколько раз. Полученные
 35 экстракты смешивали и медленно пропускали через колонку, заполненную катионообменной смолой, а затем через колонку, заполненную анионообменной смолой. Затем обработанный раствор пропускали через колонку, заполненную смолой (Амберлит XAD-2) для адсорбции подслащивающих компонентов, а затем промывали водой. После выхода воды из колонки осуществляли элюирование тремя объемами
 40 метанола с выделением указанных подслащивающих компонентов. Элюат концентрировали, а затем сушили при пониженном давлении с получением бледно-желтого порошка. Основным недостатком указанного способа является низкое качество экстракта. Обработка только ионообменными смолами и специфичными адсорбентами не может приводить к получению экстракта Стевии высокого качества, белого цвета
 45 и с высоким содержанием стевиол-гликозидов.

[0037] В опубликованной заявке на патент США 2006/0142555 предложен способ получения Стевиозидов из растения *Stevia rebaudiana*. Данный способ включал экстракцию растительного порошка путем закачивания пара напрямую в экстрактор

с последующей фильтрацией с получением водного экстракта и обработкой гидроксидом кальция с удалением примесей в форме осадка. Фильтрат обрабатывали сильной катионообменной смолой, а затем слабоосновной анионообменной смолой. Водный элюат, содержащий Стевиозиды, концентрировали с получением очищенных

5 Стевиозидов с содержанием Стевиозидов, составляющим 45,47-65,5% в конечном продукте. Предложенный способ подходит для получения экстракта Стевии с различным содержанием Стевиозидов, но не для высокоочищенных стевиол-гликозидов.

[0038] В публикации заявки на патент США 2006/0083838 описан способ выделения и очистки Ребаудиозида А из коммерчески доступного исходного материала *Stevia rebaudiana*. Данный способ включал: (1) этап приготовления ЕЮН с получением

10 выбранного растворителя EtOH, (2) первый этап нагревания с обратным холодильником с использованием исходного материала Стевии и, возможно, дополнительные этапы нагревания с обратным холодильником с использованием ретентата, выделенного из нагретой с обратным холодильником смеси или перемешанной смеси для промывки,

15 (3) возможно, один или более этапов промывки перемешанной смеси и (4) этап очистки этанолом и сушки. В вариантах реализации, в которых использовали исходный материал Стевии более низкого качества, второй этап нагревания с обратным холодильником, как правило, проводили перед этапом промывки перемешанной смеси, чтобы

20 максимально увеличить чистоту конечного продукта Ребаудиозида А. В описанном способе этап приготовления ЕЮН осуществляли для того, чтобы получить необходимый растворитель для нагревания с обратным холодильником для применения на этапе (этапах) нагревания с обратным холодильником. Как правило, растворитель для

нагревания с обратным холодильником представлял собой смесь этанола и воды с примерно 5-15% воды по объему. Данный способ дополнительно включал один или

25 более энергоемких этапов нагревания с обратным холодильником, которые, как правило, проводили при температуре примерно 89 -90°C в течение примерно 1 часа. По приведенным данным в результате данного способа получали 100% чистый, водорастворимый Ребаудиозид А.

[0039] В заявке на патент США 2006/0134292 описан способ извлечения сладких

30 гликозидов из растительного материала *Stevia rebaudiana*. Высушенные и измельченные в порошок листья обрабатывали водой в присутствии пектиназы, целлюлазы и альфа-амилазы. Сообщали, что применение указанных ферментов значительно увеличивает скорость экстракции и облегчает следующие этапы очистки. Полученный экстракт очищали путем обработки гидроксидом кальция и ультрафильтрации. Пермеат

35 пропускали через колонку, заполненную бентонитом, и концентрировали до состояния сиропа под вакуумом. Обработка этанолом позволяла отделять практически чистый Ребаудиозид А от смеси. Ребаудиозид А высокой чистоты получали после промывки кристаллов 88-95% этанола.

[0040] В заявке на патент США 2007/0082103 описан способ получения экстракта

40 Стевии и высокоочищенного Стевиозидов и Ребаудиозида А. Высушенные и измельченные в порошок листья подвергали экстракции водой, и полученный экстракт очищали путем обработки основанием, таким как гидроксид кальция, а затем хлоридом железа. Фильтрат деионизировали с применением ионообменных смол, концентрировали под вакуумом и сушили распылением. Высокоочищенные Ребаудиозид А и Стевиозид

45 получали путем растворения экстракта в метаноле с осаждением Стевиозидов. Оставшийся раствор после выделения Стевиозидов сушили и выделяли Ребаудиозид А путем обработки этанолом. Конечную очистку Ребаудиозида А проводили путем обработки раствором этанол-вода. Чистота составляла по меньшей мере 98%.

[0041] В опубликованной заявке на патент США 20070292582 предложена очистка Ребаудиозида А. Способ включал этапы смешивания неочищенного Ребаудиозида А и водно-органического растворителя с получением раствора Ребаудиозида А, водно-органического раствора, содержащего воду в количестве от примерно 10% до примерно 25% по массе, и кристаллизации из раствора неочищенного Ребаудиозида А, на одном этапе, по существу чистого Ребаудиозида А с чистотой более 95%. В случае смеси этанол-метанол-вода выход Ребаудиозида А с чистотой более 97% составил 32,5% от исходного материала, содержащего 77,4% Ребаудиозида А. Выход из исходного материала, содержащего 80,37% Ребаудиозида А, находился в диапазоне 54,6-72,0%. Другие соразтворители, применяемые совместно с этанолом, такие как этилацетат, 1-бутанол, 2-бутанол, трет-бутанол, втор-бутанол, ацетонитрил, изопропанол и 1-пропанол, не подходили для получения Ребаудиозида А с чистотой более 97%. В случае применения этанола с различными количествами воды в качестве растворителя для кристаллизации, выход Ребаудиозида А находился в диапазоне 39,6%-76,4% от исходного материала, содержащего 80,37% Ребаудиозида А. В данном способе применяли смесь двух органических растворителей, извлечение и очистка которых в крупном масштабе были очень сложными. Кроме того, в промышленном масштабе, если центрифугирование может занимать относительно длительное время, может происходить соосаждение Стевиозида, Ребаудиозида С и Ребаудиозида D.

[0042] В заявке на патент США 2008/0300402 и патенте Китая 101200480 описан способ получения очищенного Ребаудиозида А, включающий следующие этапы: отделение Ребаудиозида А на хроматографической колонке, заполненной силикагелем, с применением смеси этилацетата, этанола и воды в качестве подвижной фазы. Фракции Ребаудиозида А объединяли и сушили. Твердое вещество обрабатывали этанолом, содержащим от 2 до 10% воды, и кристаллизовали Ребаудиозид А путем охлаждения смеси при минус 20°C. Чистота Ребаудиозида А может достигать более 99%. Для очистки Ребаудиозида А фильтрат после отделения Стевиозида концентрировали и охлаждали до 0°C в течение ночи примерно 16 часов. Полученный осадок Ребаудиозида А фильтровали, промывали небольшим объемом холодного метанола и сушили с получением Ребаудиозида А с чистотой 79,0% и выходом, составляющим 3,3%, из исходного экстракта. Затем данный неочищенный Ребаудиозид А очищали путем нагревания с обратным холодильником в безводном метаноле или смеси метанол-вода. Из исходного материала, содержащего 90,2% Ребаудиозида А, выход продукта составлял примерно 67% с чистотой 98,6%. Однако данный способ не подходит для повышения чистоты Ребаудиозида А с 79% до 90,2%. Основным недостатком указанного способа являются низкие выходы конечных высокоочищенных продуктов, что делает данный способ не подходящим для промышленного получения высокоочищенного Стевиозида и Ребаудиозида А.

[0043] Различные патенты Японии также относятся к получению экстракта из *Stevia rebaudiana* Bertoni.

[0044] В JP 52-100500 описана очистка и концентрирование водного экстракта Стевиозида путем обработки указанного экстракта конкретной ионообменной смолой, обладающей высокой обесцвечивающей способностью, с последующей обработкой специфичным адсорбентом типа Амберлит XAD. Обработка только ионообменными смолами и адсорбция/десорбция не позволяет получить экстракт высокого качества.

[0045] В JP 52-136200 представлено получение раствора Стевиозида путем экстракции горячей водой или водным спиртом с последующим мембранным разделением. Молекулярные массы сладких гликозидов и стеребинов очень близки, и мембранные

системы не могут приводить к удовлетворительному разделению данных соединений, что будет влиять на чистоту экстракта. Содержание солей в конечном продукте будет высоким.

5 [0046] В JP 52-005800 предложен способ получения очищенного Стевиозида из листьев *Stevia rebaudiana* путем экстракции и обработки катионообменной смолой. Такая обработка приведет к получению желтого порошка с, по-видимому, низким содержанием сладких гликозидов.

10 [0047] В патенте Японии JP54030199 предложен способ получения подсластителя из Стевии, не обладающего характерным запахом и горьким вкусом, путем экстрагирования листьев *Stevia rebaudiana* Bertoni водой, обработки экстракта неполярной синтетической адсорбирующей смолой с последующей десорбцией, а затем путем обработки ионообменной смолой. Данный способ очень схож с традиционной китайской технологией, позволяющей получать экстракт Стевии с содержанием стевиол-гликозидов не более 85-86%.

15 [0048] В JP 54-132599 предложены разделение и очистка Стевиозида путем экстрагирования листьев Стевии горячей водой, обработки экстракта неполярным синтетическим адсорбентом, промывки смолы водным раствором гашеной извести и элюирования Стевиозида из смолы гидрофильным органическим растворителем или гидрофильным водно-органическим растворителем. Обработка только неполярным
20 синтетическим адсорбентом не позволяет получить экстракт высокого качества; при этом измерения остаточного содержания солей и цвета продукта не произведены.

[0049] JP 55-159770 относится к экстракции и очистке Стевиозида путем экстрагирования листьев Стевии водой или водным спиртом. Экстракт концентрировали до содержания твердого вещества от 10 до 50%, добавляли 0,1-5,0% хлорида кальция,
25 в результате чего происходила коагуляция и осаждение коллоидных примесей, присутствующих в экстракте. Из концентрированного раствора с применением CaCl_2 большинство примесей не могут быть удалены. Нет этапов обессоливания и обесцвечивания.

30 [0050] JP 55-162953 относится к получению Стевиозида путем экстрагирования листьев Стевии 10-15 объемами воды при 60-80°C. Экстракт обрабатывали гашеной известью при аэрации и доводили рН суспензии до примерно 8,0 путем добавления серной или лимонной кислоты. Полученную малорастворимую соль отфильтровывали и затем фильтрат приводили в контакт с полиамидной смолой с удалением примесей. Затем фильтрат экстрагировали н-бутанолом и органическую фазу перегоняли под
35 вакуумом с извлечением Стевиозида в виде белых кристаллов. Содержание солей в указанном продукте будет высоким. Способ очистки с применением экстракции н-бутанолом трудно применять в промышленном масштабе.

[0051] В JP 55-081567 описана экстракция и очистка Стевиозида. Экстракт листьев Стевии, полученный путем экстракции водой или водным спиртом, концентрировали
40 и к концентрату добавляли один или более видов водорастворимых солей Ca, Fe и Al, и водорастворимый органический растворитель, например, этанол или ацетон, для осаждения и удаления коллоидных примесей. Полученную жидкость с рН 3-7 пропускали через сильную катионообменную смолу и слабую анионообменную смолу. Полученный раствор пропускали через специфичный адсорбент. Смешивали фракции Стевиозида.

45 Данный способ схож с традиционной китайской технологией, которая позволяет получить желтый порошок с содержанием стевиол-гликозидов только 85-86%.

[0052] JP 55-120770 относится к очистке раствора Стевиозида. Листья и стебли *Stevia rebaudiana* Bertoni экстрагировали водой или спиртовым раствором, к которому

добавляли водорастворимую соль олова, например, хлорид олова (II), сульфат олова (II), сульфат олова (IV) и т.д. и растворяли. К полученному раствору добавляли щелочное вещество, например, гидроксид натрия или известь, в результате чего значение рН доводили до примерно 5-10. Образовавшийся осадок отделяли. Данный способ позволяет

5 получить экстракт, не содержащий соли и другие низкомолекулярные примеси.

[0053] В JP 55-138372 описана очистка раствора Стевиозида. Стевиозид экстрагировали из листьев и стеблей *Stevia rebaudiana* водой, горячей водой или водным спиртом, и экстракт или его концентрат смешивали с гашеной известью или известковым

10 водорастворимого соединения железа, например сульфата железа (II), и перемешивали с осаждением ионов железа в виде труднорастворимого гидроксида, который удаляли с красящими веществами, адсорбированными на нем. Данный способ не позволяет получить экстракт, не содержащий соль и другие низкомолекулярные примеси.

[0054] JP 55-039731 относится к экстракции Стевиозида. 1 кг высушенных листьев

15 *Stevia rebaudiana* экстрагировали 3-10 объемами воды или водного спирта. Экстракт концентрировали до содержания сухих веществ, составляющего 10-50%, и добавляли 0,1-5% хлорида металла, например, хлорида кальция, алюминия или железа. Осадок примесей удаляли путем фильтрования. Последующие процедуры очистки с помощью ионообменных смол, адсорбента и ультрафильтрационных мембран также могут быть

20 осуществлены. Большинство примесей не может быть удалено из концентрированного раствора с использованием солей. Содержание низкомолекулярных примесей может быть высоким.

[0055] В JP 56-160962 предложена очистка раствора, содержащего Стевиозид, путем экстрагирования листьев Стевии водой, концентрирования полученного экстракта до

25 содержания сухих веществ, равного 25-50%, смешивания концентрата с низкомолекулярным алифатическим спиртом и удаления осажденных примесей из смеси. Количество спирта составило по меньшей мере в 5 раз больше объема водного экстракта или в 3-6 раз больше объема концентрата. Указанная обработка не подходит для удаления низкомолекулярных примесей. Нет этапов обесцвечивания. Способ трудно

30 применять в промышленном масштабе.

[0056] В JP 56-109568 предложена очистка подслащивающих веществ, содержащихся в Стевии, путем экстрагирования листьев Стевии водой или гидрофильным органическим растворителем. Экстракт обрабатывали органическим растворителем, выбранным из

35 группы, состоящей из 4-8С эфира, 4-7С эфира и 1-4С органического соединения хлора, и отделяли компонент, растворимый в указанном растворителе. Диэтиловый эфир, диизопропиловый эфир, этилацетат, метилхлорид, тетрахлорид углерода и т.д. могут быть приведены в качестве очищающего растворителя. Горький вкус может быть эффективно устранен с одновременным обесцвечиванием. Однако применяемые вредные растворители могут оставаться в конечном продукте. Способ трудно применять в

40 промышленном масштабе.

[0057] JP 56-099768 относится к получению стевиол-гликозидов. Раствор, содержащий стевиол-гликозиды, например, водный экстракт *Stevia rebaudiana* Bertoni, обрабатывали силикат-алюминатом магния для адсорбции примесей, например, пигментов или белков. Однако содержание солей в конечном продукте может быть высоким. Нет этапов

45 обесцвечивания и дополнительной очистки. Содержание стевиол-гликозидов в конечном продукте может быть низким.

[0058] JP 57-002656 относится к обесцвечиванию и очистке экстракта Стевии. Экстракт Стевии обрабатывали водным раствором соединения бария, которое легко растворимо

в воде, а затем нейтрализовали серной кислотой. Добавляли гидроксид бария до pH, равного 7-9, и на суспензию снова действовали серной кислотой до pH, равного 3-4. Осадок отделяли. Основными недостатками является то, что содержание солей в конечном продукте может быть высоким, нет этапов обесцвечивания и дополнительной
5 очистки, и в результате содержание стевииоли-гликозидов в конечном продукте может быть низким.

[0059] JP 57-005663 относится к очистке Стевиозида посредством экстракции. Экстрагированный раствор листьев Стевии, содержащий воду или водосодержащий спирт, концентрировали до содержания твердых веществ 10-50%. Добавляли соль или
10 основание кальция, железа или алюминия и осадок удаляли путем фильтрования. pH фильтрата доводили до 5-7 и образовавшийся осадок удаляли. На фильтрат действовали катионообменной и анионообменной смолой и выпаривали досуха. Основным недостатком данного способа является низкое качество экстракта. Обработки только щелочью и ионообменными смолами не достаточно для получения экстракта Стевии
15 белого цвета и с высоким содержанием стевииоли-гликозидов.

[0060] JP 57-046998 относится к получению Стевиозида. Необработанные листья *Stevia rebaudiana* экстрагировали 10-20 объемами воды и на фильтрат действовали гидроксидом кальция в количестве 10-30% от массы необработанных листьев. Затем
20 pH суспензии доводили до 4-6 серной кислотой или лимонной кислотой. После фильтрования экстракт пропускали через колонку с полиамидом для адсорбции гликозидов и удаления примесей. Затем очищенный экстракт концентрировали при пониженном давлении, pH доводили до 8-9 водным раствором аммиака и экстрагировали н-бутанолом с получением неочищенного Стевиозида, который затем перекристаллизовывали из метанола. Однако содержание остаточных солей может
25 быть высоким; нет этапа обесцвечивания; экстракция н-бутанолом и перекристаллизация из метанола неосуществима в промышленном масштабе.

[0061] JP 57-075992 относится к очистке Стевиозида. Водный экстракт *Stevia rebaudiana* Bertoni смешивали с флокулянтами (например, хлоридом алюминия или полиалюминия) для флокулирования и удаления коллоидных примесей, а затем обрабатывали его
30 неполярной смолой (например, Дуолит ES-861 (Duolite ES-861)) для адсорбции подслащивающего вещества. Адсорбированные вещества элюировали органическим растворителем (например, метанолом, ацетоном и т.д.) и раствор обесцвечивали и очищали активированным углем и активированной глиной. Активированный уголь может прочно адсорбировать Стевиозид из водного раствора и обесцвечивающему и
35 очищающему действию активированного угля способствует комбинированное применение активированного угля с активированной глиной. Однако применяют вредные растворители, которые могут присутствовать в конечном продукте. Способ трудно применять в промышленном масштабе.

[0062] JP 57-086264 относится к выделению основного подслащивающего компонента
40 Стевии. Высушенные стебли и листья Стевии экстрагировали холодной водой, горячей водой, водным спиртом и т.д. Экстракт коагулировали или осаждали с применением адсорбента, и осадок удаляли путем фильтрования или центрифугирования с получением прозрачной жидкости, содержащей подслащивающие компоненты. Указанные компоненты адсорбировали синтетическим полимерным адсорбентом, очищали до
45 чистоты, составляющей 80-90%, концентрировали, сушили и растворяли в 3-8 объемах горячего метанола или горячего этанола. Стевиозид и Ребаудиозид А кристаллизовали из раствора одновременно. После полного удаления растворителя смешанные кристаллы нагревали совместно с 3-6 объемами спирта и разделяли на часть раствора и твердую

часть путем горячего фильтрования. Стевиозид может быть получен из раствора и Ребаудиозид А может быть получен путем промывки и сушки твердой части. Способ может позволяет получить очищенные Стевиозид и Ребаудиозид А; однако качество экстракта может быть низким из-за отсутствия этапов деионизации и обесцвечивания.

5 Содержание низкомолекулярных примесей может быть высоким.

[0063] В JP 58-212759 и 58-212760 описана очистка подслащивающего вещества Стевии. Листья *Stevia rebaudiana* Bertoni экстрагировали водой или спиртом при рН 4. Экстракт обрабатывали гидроксидом кальция и образовавшийся осадок отфильтровывали. К фильтрату добавляли водорастворимый органический растворитель, такой как метанол,
10 и осадок удаляли. Количество водорастворимого органического растворителя составляло от 5% до 50% от фильтрата. Полученный фильтрат очищали ионообменными смолами или адсорбционной смолой. Основным недостатком является применение вредного растворителя, который может присутствовать в конечном продукте. Способ трудно применять в промышленном масштабе.

15 [0064] В JP 58-028246 описано получение Стевиозида. Необработанный лист Стевии экстрагировали водой, горячей водой или смесью вода-спирт и при необходимости затем концентрировали экстракт. Смесью гидроксида кальция с хлоридом кальция в количестве в 0,5-2,0 раза превышающем содержание твердого вещества в экстракте добавляли к указанному экстракту или концентрированному экстракту предпочтительно
20 во время продувания газообразным диоксидом углерода. Примеси осаждали в форме коллоидного вещества, которое отделяли путем фильтрования. Однако качество экстракта может быть низким из-за высокого содержания солей и низкомолекулярных соединений.

[0065] JP 58-028247 относится к способу очистки раствора Стевиозида.

25 Необработанные листья Стевии экстрагировали водой, горячей водой или смесью вода-спирт и концентрировали экстракт. Гидроксид кальция и водорастворимый высокомолекулярный флокулянт, например, полиакриламидный высокомолекулярный полимер, в количестве в 1-2,5 раза превышающем содержание твердого вещества в
30 экстракте добавляли к экстракту или концентрированному экстракту с осаждением примесей, которые затем отфильтровывали. Получали прозрачный и почти бесцветный раствор Стевиозида. Однако качество экстракта может быть низким из-за высокого содержания солей и низкомолекулярных соединений.

[0066] JP 59-045848 относится к получению подсластителя Стевии с высоким содержанием Ребаудиозида А. Высушенные листья вида Стевии, содержащие в 1,57
35 раза больше Ребаудиозида А, чем Стевиозида, экстрагировали водой или водосодержащим растворителем. Полученный экстрагированный раствор обрабатывали катионообменной смолой и анионообменной смолой. Раствор адсорбировали на адсорбционной смоле, элюировали гидрофильным растворителем, и раствор концентрировали с получением натурального подсластителя. Данный способ схож с
40 традиционной китайской технологией, которая может приводить к получению желтого порошка с содержанием стевиол-гликозидов только до 85-86%.

[0067] JP 62-166861 относится к экстракции и очистке подслащивающего компонента из сухих листьев Стевии. Высушенные листья *Stevia rebaudiana* Bertoni экстрагировали
45 7-14 объемами воды при 50-70°C в течение 3-6 часов при перемешивании с получением коричневого жидкого экстракта с общим содержанием твердых веществ, составляющим 2-3%, и содержащего 0,7-0,8% Стевиозида. Экстракт концентрировали 7-8 раз при примерно 60°C при пониженном давлении. На концентрированную жидкость действовали 0,5-2% CaCl₂ с отделением примесей в виде хлопьевидного осадка. Раствор

обрабатывали оксидом Al, Mg в количестве, соответствующем 15-20% от содержания твердого вещества, при 40-55°C при энергичном перемешивании. Затем осадок удаляли путем фильтрования. Стевиозид может быть дополнительно очищен на специфичных адсорбентах. Однако данный способ трудно применять в промышленности; количество солей, используемое для очистки экстракта, высокое, и отсутствуют этапы деионизации и обесцвечивания. Содержание низкомолекулярных соединений может быть высоким.

[0068] JP 06-007108 относится к способу экстрагирования и разделения сладких веществ *Stevia rebaudiana* Bertoni. Листья *Stevia rebaudiana* Bertoni экстрагировали смешивающимся с водой спиртом, таким как метанол. Экстрагированный раствор смешивали с водой и пропускали через ультрафильтрационные мембраны, обладающие пропускной способностью 20-150 кДа, а затем через ультрафильтрационные мембраны, обладающие пропускной способностью 1-10 кДа. Однако используют вредные растворители, которые могут присутствовать в конечном продукте. Способ трудно применять в промышленном масштабе.

[0069] JP 52083731 относится к выделению и очистке Ребаудиозида А и Ребаудиозида В путем колоночной хроматографии на силикагеле. Дополнительную очистку осуществляют путем кристаллизации из органических растворителей, таких как метанол или этанол.

[0070] JP 55-092400 относится к получению Стевиозида. Водный раствор, содержащий Стевиозид, экстрагировали 1Н, 1Н, 5Н-октафтор-1-пентанолом. После разделения растворитель отгоняли и остаток сушили. Осадок перекристаллизовывали из метанола. Чистота Стевиозида составляла более 95%.

[0071] JP 56-121453, JP 56-121454 и JP 56-121455 относятся к разделению Стевиозида и Ребаудиозида А. Смесь Стевиозида и Ребаудиозида А, экстрагированную из листьев *Stevia rebaudiana* Bertoni, смешивали с 75% водным раствором метанола и выдерживали при температуре окружающей среды в течение примерно 3 часов. Полученные кристаллы с содержанием 65% Стевиозида и 25,2% Ребаудиозида А отделяли путем фильтрования и сушили. В случае применения 90% водного раствора этанола конечная смесь содержит 57,4% Стевиозида и 31,9% Ребаудиозида А. Дальнейшая перекристаллизация из 90% водного раствора этанола позволила получить продукт с более высоким содержанием Ребаудиозида А. Чистота продукта составляла примерно 80%. Стевиозид может быть дополнительно очищен до 86,1% путем дополнительной промывки водой. Получали кристаллы Стевиозида α -типа и кристаллы Ребаудиозида А α -типа.

[0072] JP 57-046998 относится к получению Стевиозида. Необработанные листья *Stevia rebaudiana* экстрагировали 10-20 объемами воды и фильтрат обрабатывали гидроксидом кальция в количестве, составляющем 10-30% от массы необработанных листьев. Затем рН суспензии доводили до 4-6 серной кислотой или лимонной кислотой. После фильтрации экстракт пропускали через колонку с полиамидом для адсорбции гликозидов и удаления примесей. Затем очищенный экстракт концентрировали при пониженном давлении, рН доводили до 8-9 водным раствором аммиака и экстрагировали н-бутанолом с получением неочищенного Стевиозида, который затем перекристаллизовывали из метанола.

[0073] JP 57-086264 относится к выделению основного подслащающего компонента Стевии. Высушенные стебли и листья Стевии экстрагировали холодной водой, горячей водой, водным спиртом и т.д. Экстракт коагулировали или осаждали с применением адсорбента, и осадок удаляли путем фильтрования или центрифугирования с получением прозрачной жидкости, содержащей подслащающие компоненты. Указанные компоненты адсорбировали синтетическим полимерным адсорбентом, очищали до

чистоты, составляющей 80-90%, концентрировали, сушили и растворяли в 3-8 объемах горячего метанола или горячего этанола. Стевиозид и Ребаудиозид А кристаллизовывали из раствора одновременно. После полного удаления растворителя, смешанные кристаллы нагревали совместно с 3-6 объемами спирта и отделяли твердые вещества от раствора путем горячего фильтрования. Стевиозид может быть получен из раствора, а Ребаудиозид А может быть получен путем промывки и сушки твердой части.

[0074] В JP 06-192283 и JP 08-000214 предложена очистка Ребаудиозид А путем гель-фильтрации на Тойоперл HW-40 (Toyo Perli HW-40). Ребаудиозид С и Дулькозид получали путем ВЭЖХ. Способ подходит для применения только в лабораторном масштабе.

[0075] В JP 63173531 описан способ экстракции сладких гликозидов из растения *Stevia rebaudiana*. Первый этап данного способа заключался в экстрагировании жидкого раствора сладких гликозидов из растения *Stevia rebaudiana*. На втором этапе указанный жидкий раствор сладких гликозидов пропускали через неполярную пористую смолу и элюировали водорастворимым органическим растворителем, предпочтительно метанолом. На третьем этапе элюированный раствор концентрировали и сушили с получением порошкообразного вещества. Данная процедура позволяет выделить смесь сладких гликозидов, но не позволяет выделить отдельный чистый сладкий гликозид, такой как Ребаудиозид А.

[0076] В JP 07-143860 предложена очистка Ребаудиозид А посредством кристаллизации и перекристаллизации из 10-20% водного раствора метанола. Чистота Ребаудиозид А составляла примерно 90%.

[0077] В JP 07-177862 предложена очистка Ребаудиозид А и Стевиозид А. На очищенный экстракт Стевии действовали низкими концентрациями спирта с получением кристаллов с примерно 75% содержанием Стевиозид А и Ребаудиозид А. Указанные кристаллы дополнительно перекристаллизовывали из воды с получением малорастворимого в воде подсластителя с отношением Стевиозид А и Ребаудиозид А, составляющим примерно 1:2 масс./масс..

[0078] В JP 2002262822 предложен подсластитель, экстрагированный из высушенных листьев растения Стевии, и способ его экстракции. В данном способе использовали воду или водный растворитель для экстрагирования гликозидов Стевии из высушенных листьев. В полученном продукте содержание Ребаудиозид А в 2,56 раза превышает количество Стевиозид А.

[0079] Выделение Стевиолбиозид А, Ребаудиозид А, Ребаудиозид В осуществляли Кохда с соавторами (Kohda et al.), 1976. Высушенные листья экстрагировали горячим метанолом и фильтрат концентрировали досуха. Остаток экстрагировали н-бутанолом и после сушки остаток перекристаллизовывали из метанола. Маточный раствор подвергали хроматографическому разделению на силикагеле с использованием смеси хлороформ-метанол-вода в качестве подвижной фазы. Дополнительную очистку осуществляли путем тонкослойной хроматографии. Данный способ можно применять только в лабораторном масштабе для получения небольших количеств указанных выше сладких гликозидов.

[0080] Дулькозид А и В выделяли и идентифицировали с использованием кристаллизации из смеси метанол-этанол и дополнительно очищали путем хроматографии на силикагеле (Kobayashi et al., 1977).

[0081] Комбинацию ультрафильтрации, диафильтрации, обратного осмоса и обработки методом ионного обмена использовали для очистки экстракта Стевии (Fuh and Chiang, 1990). Пропускная способность ультрафильтрационных мембран составляла 25000 и 100000 Дальтон, Смеси сильных и слабых катионо- и анионообменных смол

использовали в качестве ионообменных смол. Извлечение общих стевиол-гликозидов составляло примерно 90%; однако окончательная чистота продукта составляла только 46%.

[0082] Способ очистки стевиол-гликозидов посредством мембранной технологии описан Liu et al. (1991) и Zhang et al. (2000). Высушенные листья помещали в стандартную стеклянную колонку и осуществляли экстракцию водой, очищенной обратным осмосом. Экстракт предварительно очищали с помощью трубчатой керамической мембраны, а затем ультрафильтрационной мембраны в режиме диафильтрации. Пермеат промывали от примесей, имеющих более низкую молекулярную массу, с помощью нанофильтрационной мембраны в режиме диафильтрации при повышенных температурах. Добавление извести и/или другого флокулянта при подаче на ультрафильтрацию значительно улучшало поток. Данным способом можно получать концентрат подсластителя относительно высокой чистоты. Однако нет данных о чистоте экстракта и извлечении стевиол-гликозидов. Для низких значений pH, используемых для экстракции, были необходимы специальные кислотоустойчивые реакторы. Низкие температуры в ходе экстракции повышали эксплуатационные расходы производства. Оба этих фактора (низкие температуры и pH) приводили к большому количеству разбавленного исходного экстракта. Разбавление экстракта происходило также во время микрофильтрации и ультрафильтрации. Для конечной очистки необходима обработка методом ионного обмена. Данные факторы существенно увеличивают стоимость производства и уменьшают выход конечного продукта в единицу времени. Начальные инвестиции также высоки.

[0083] Ряд полярных смол на основе полистирола с карбонильными группами использовали для адсорбции стевиол-гликозидов и частичного отделения Стевиозида и Ребаудиозида А (Chen et al., 1998; 1999). Соотношение Ребаудиозида А и Стевиозида может увеличиваться с 0,72 до 2,24.

[0084] Исследовали сорбционную емкость и селективность нового адсорбента с пиридинной группой в отношении стевиол-гликозидов (Chen et al., 1999). Подробно исследовали влияние полярности и физической структуры указанного сорбента на селективность. Использовали два способа разделения для обогащения Ребаудиозида А. Указанные способы представляли собой селективное элюирование с использованием раствора метанола или этанола в качестве растворителя и динамическое хроматографическое разделение с использованием пиридинной смолы, обладающей высокой селективностью. Результаты показывают, что метод хроматографического разделения может эффективно обогащать Ребаудиозид А из экстракта Стевии с высоким содержанием Стевиозида. Соотношение Ребаудиозида и Стевиозида может увеличиваться с 0,75 до 3,94. Дополнительная очистка Ребаудиозида А была возможна путем кристаллизации из метанола.

[0085] Способ осветления экстракта Стевии с применением модифицированных цеолитов описан Moraes с соавторами (2001) и Montovaneli с соавторами (2004). Синтетические или природные цеолиты модифицировали путем обработки ионами кальция или бария и экстракт Стевии без какой-либо предварительной обработки приводили в контакт с модифицированным цеолитом. Это приводило к 70-80% осветления в периодическом и только 55-60% в непрерывном режиме. Процесс осветления предназначался для адсорбции пигментов, которые делают экстракт коричневатым, а не гликозидов, ответственных за сладкий вкус. Однако нет данных о содержании стевиол-гликозидов в конечном продукте. Очевидно, что только данный вид обработки не может приводить к получению высокоочищенного экстракта, в

частности, из-за полисахаридов, тяжелых металлов и стербинов, которые остаются в осветленном экстракте. Кроме того, нет данных о времени полужизни и сорбционной емкости носителя, что имеет очень важное значение при осуществлении способа в непрерывном режиме.

5 [0086] Получали полимерные адсорбенты с группами $-N^+(CH_3)_3$ и применяли их для очистки стевиол-гликозидов и обогащения Ребаудиозида А (Shi et al., 2002). В ряду из пяти колонок содержание Ребаудиозида А увеличивалось от продукта первой колонки к продукту пятой колонки. В то же время указанный адсорбент демонстрировал

10 способность обесцвечивать. [0087] Старратт с соавторами (Starratt et al., 2002) выделяли Ребаудиозид F путем жидкостной хроматографии на силикагеле, функционализированном 3-аминопропилом. Фракции с высоким содержанием Ребаудиозида С и Ребаудиозида F смешивали и разделяли путем ВЭЖХ колонке Waters для углеводов с линейным градиентом

15 ацетонитрила и воды. [0088] Получение экстракта Стевии путем сверхкритической флюидной экстракции описано Йода с соавторами (Yoda et al.), 2003. Это двухэтапный способ: (i) экстракция CO_2 при 200 бар и $30^\circ C$ и (ii) экстракция CO_2 + вода. Извлекали приблизительно 72% растворимых в CO_2 соединений, и основное соединение представляло собой

20 аустроинулин (austroinulin). Система Стевия + CO_2 + вода была способна извлекать приблизительно 50% исходного Стевиозида и примерно 72% Ребаудиозида А. Основными недостатками указанного способа являются необходимость высокого давления и низкая скорость экстракции сладких соединений. Кроме того, нет информации о содержании второстепенных соединений и общем содержании стевиол-гликозидов в

25 конечном экстракте. Данный способ трудно применять в промышленном масштабе. [0089] Экстракцию жидкостью под давлением с использованием воды или метанола применяли для экстракции Стевиозида из *Stevia rebaudiana* Bertoni (Pol et al., 2007). Определено, что температура $110^\circ C$ оптимальна для экстракции Стевиозида из листьев *Stevia rebaudiana* с использованием либо воды, либо метанола. Повышенная температура

30 приводила к значительному распаду Стевиозида в средах обоих растворителей или к снижению выхода в воде. Оба растворителя демонстрировали экстракцию Стевиозида с очень схожей воспроизводимостью, и предлагаемые параметры экстракции были одинаковыми для обоих способов. Вода представляет собой более экологически безопасную и более дешевую альтернативу метанолу. [0090] Способ получения и очистки экстракта Стевии описан Ковыляевой с

35 соавторами (Kovylyayeva et al., 2007). Данный способ включал экстракцию сухих листьев 14 объемами дистиллированной воды в течение 1 часа при температурах кипения, фильтрацию и концентрированно фильтрата до состояния сиропа. Сироп разбавляли, добавляли $AlCl_3 \cdot 6H_2O$ и перемешивали до растворения. Смесь перемешивали и

40 обрабатывали водным раствором NaOH. Осадок фильтровали и фильтрат пропускали через колонку, заполненную Al_2O_3 . Колонку элюировали дистиллированной водой с получением светло-коричневого раствора. Дополнительную очистку Стевиозида, Ребаудиозида А и Ребаудиозида С осуществляли путем экстракции н-бутанолом и

45 колоночной хроматографии на Al_2O_3 и силикагеле. Данный способ не позволяет получить экстракт Стевии высокой чистоты. Для предварительной обработки используют большое количество солей. Способ очистки трудно применять в промышленном масштабе.

[0091] Эффективный способ экстракции Стевиозида и Ребаудиозида А с помощью микроволнового воздействия описан Бандна с соавторами (Bandna et al., 2009).

Высушенные и измельченные в порошок листья *S. rebaudiana* экстрагировали методом традиционной ультразвуковой экстракции и экстракции с помощью микроволнового воздействия с использованием метанола, этанола и воды в качестве отдельных растворителей, а также в качестве бинарных смесей. Традиционную холодную экстракцию осуществляли при 25°C в течение 12 часов, тогда как ультразвуковую экстракцию осуществляли при температуре, составляющей 35±5°C, в течение 30 минут. Экстракцию с помощью микроволнового воздействия осуществляли на уровне мощности 80 Вт в течение 1 минуты при 50°C. В результате экстракция с помощью микроволнового воздействия приводила к выходу, составляющему 8,64% и 2,34% Стевиозида и Ребаудиозида А, соответственно, в то время как традиционные и ультразвуковые методы приводили к выходу, составляющему 6,54 и 1,20%, и 4,20 и 1,98% Стевиозида и Ребаудиозида А, соответственно.

[0092] Эффективное выделение стевиол-гликозидов достигалось также с применением экстракции горячей водой под давлением (Teo et al., 2009).

[0093] Все существующие способы относятся к выделению и очистке одного или другого стевиол-гликозида из исходного экстракта и не демонстрируют способ дополнительной обработки остаточного раствора или очистки второстепенных соединений. Таким образом, существует необходимость в разработке эффективного и экономичного способа комплексной переработки экстракта, полученного из растения *Stevia rebaudiana* Bertoni.

[0094] Однако отсутствуют опубликованные данные о промышленном выделении и очистке Ребаудиозида D, который обладает отличными органолептическими свойствами.

[0095] Содержание Ребаудиозида D в экстракте очень низкое, и поэтому его очистка очень затруднительна.

[0096] Соответственно, существует необходимость в разработке эффективного и экономичного способа получения Ребаудиозида D высокой чистоты, который может быть применен в качестве подсластителя в производстве продуктов питания, напитков, в фармацевтической, косметической и других отраслях промышленности.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0097] Настоящее изобретение относится к способу выделения и очистки индивидуальных сладких гликозидов из растения *Stevia rebaudiana* Bertoni и, в частности, к выделению и очистке Ребаудиозида D и его применению в качестве подсластителя.

[0098] Основной решаемой технической проблемой и основной задачей настоящего изобретения является обеспечение высокоэффективного способа выделения и очистки различных стевиол-гликозидов, в частности, Ребаудиозида D, из экстракта Стевии.

[0099] Согласно настоящему изобретению предложен способ переработки экстракта растения *Stevia rebaudiana* Bertoni с выделением и очисткой высокоочищенных индивидуальных сладких гликозидов, в частности, Ребаудиозида D.

[00100] Высокоочищенный Ребаудиозид D отдельно или в комбинации с другими подсластителями и/или другими компонентами подходит для применения в качестве некалорийного подсластителя в пищевых и жевательных композициях, таких как любые напитки, кондитерские изделия, хлебобулочные изделия, печенья, жевательные резинки и т.п.

[00101] Согласно настоящему изобретению разработаны выделение и очистка Ребаудиозида D из экстракта Стевии. В одном из вариантов реализации способ

выделения и очистки Ребаудиозида D включает обработку экстракта Стевии первым спиртовым или водно-спиртовым раствором с получением первой смеси, получение первого осадка, содержащего Ребаудиозид A и Ребаудиозид D, из указанной первой смеси, обработку первого осадка вторым спиртовым или водно-спиртовым раствором с получением второй смеси, получение из указанной второй смеси второго осадка, содержащего высокоочищенный Ребаудиозид A, и фильтрата с высоким содержанием Ребаудиозида D, при этом второй осадок сушат с получением Ребаудиозида A высокой чистоты и концентрируют фильтрат с получением Ребаудиозида D высокой чистоты. Возможно, указанный способ дополнительно включает обработку очищенного Ребаудиозида D третьим спиртовым или водно-спиртовым раствором с повышением качества Ребаудиозида D высокой чистоты.

[00102] Задачей настоящего изобретения является получение продукта, обладающего отличным вкусом и физическими характеристиками. Указанный продукт содержит по меньшей мере один не имеющий питательной ценности натуральный подсластитель в количестве, достаточном для обеспечения ощутимого подслащивания. Композиция обеспечивает вкусовой профиль, более сходный с профилем сахара, за счет применения Ребаудиозида D в качестве не имеющего питательной ценности натурального подсластителя в количестве, достаточном для обеспечения ощутимого подслащивания

[00103] Следует понимать, что как приведенное выше общее описание, так и следующее подробное описание носят иллюстративный и поясняющий характер и предназначены для дополнительного пояснения заявленного изобретения.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

[00104] Прилагаемые чертежи включены для обеспечения дополнительного понимания настоящего изобретения. Указанные чертежи иллюстрируют варианты реализации настоящего изобретения и вместе с описанием служат для пояснения сущности указанных вариантов реализации настоящего изобретения.

[00105] На Фиг.1 представлена химическая структура стевиола и стевиол-гликозидов, присутствующих в листьях *Stevia rebaudiana* Bertoni.

[00106] На Фиг.2 представлены химические структуры стевиол-гликозидов, присутствующих в *Stevia rebaudiana* Bertoni.

[00107] На Фиг.3 представлена схема одноэтапной очистки Ребаудиозида A с использованием систем этанол-вода в соответствии с одним из вариантов реализации настоящего изобретения.

[00108] На Фиг.4 представлены хроматограммы ВЭЖХ Ребаудиозида D на различных этапах очистки.

[00109] На Фиг.5 представлена схема очистки Ребаудиозида D в соответствии с одним из вариантов реализации настоящего изобретения.

[00110] На Фиг.6 представлен инфракрасный Фурье-спектр Ребаудиозида D.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[00111] Согласно настоящему изобретению предложен способ выделения и очистки индивидуальных сладких гликозидов из экстракта растения *Stevia rebaudiana* Bertoni и, в частности, выделения и очистки Ребаудиозида D из экстракта растения *Stevia rebaudiana* Bertoni и его применение в различных продуктах.

[00112] Преимущества настоящего изобретения станут более очевидны из следующего ниже подробного описания. Однако следует понимать, что подробное описание и конкретные примеры, несмотря на указание предпочтительных вариантов реализации настоящего изобретения, приведены только в качестве иллюстрации, поскольку различные изменения и модификации в рамках настоящего изобретения очевидны для

специалиста в данной области техники, исходя из данного подробного описания.

[00113] Среди сладких гликозидов, присутствующих в Стевии, только Стевиозид и Ребаудиозид А доступны по умеренной цене с чистотой <80% и по высокой цене с чистотой >80%. Самая высокая чистота коммерческого продукта обычно составляет более 97%. На рынке нет коммерческих количеств Ребаудиозида В, Ребаудиозида D и Ребаудиозида С. Аналитические стандарты Ребаудиозидов Е и F в малых количествах по-прежнему недоступны.

[00114] Ребаудиозид D представляет собой высокоэффективный подсластитель на основе дитерпеноидного гликозида, обладающий химической структурой, представленной на Фиг.2.

[00115] Ребаудиозид D выделяют и экстрагируют совместно с другими стевиол-гликозидами из растения *Stevia rebaudiana* Bertoni («Стевия»), которое в настоящее время культивируют в промышленных масштабах в Японии, Тайване, Малайзии, Южной Корее, Китае, Израиле, Индии, Бразилии, Австралии и Парагвае. Он представляет собой идеальный некалорийный подсластитель с функциональными и органолептическими свойствами, превосходящими указанные свойства многих высокоэффективных подсластителей. Переработанные формы Стевии могут быть в 30-400 раз более эффективными, чем сахар. Среди сладких дитерпеноидных гликозидов Стевии Ребаудиозид D наименее горький и обладает наименее стойким послевкусием.

[00116] В настоящее время нет опубликованной промышленной технологии, относящейся к выделению и очистке Ребаудиозида D и, несомненно, существует необходимость в разработке эффективного и экономичного способа полного выделения и очистки индивидуальных сладких гликозидов из экстракта Стевии.

[00117] Согласно настоящему изобретению предложен способ получения высокоочищенного Ребаудиозида D из экстракта Стевии и его дальнейшее применение.

[00118] Далее в настоящем описании термин «высокоочищенный» относится к композиции Ребаудиозида D, содержащей по меньшей мере примерно 91-100% Ребаудиозида D в расчете на массу сухого вещества.

[00119] Типичные варианты реализации настоящего изобретения подробно описаны ниже и проиллюстрированы на Фиг.3-6.

[00120] Однако в подробном описании приведены и описаны только некоторые типичные варианты реализации настоящего изобретения в качестве иллюстрации. Для специалиста в данной области техники очевидно, что настоящее изобретение может быть реализовано во многих различных формах и не должно рассматриваться как ограничиваемое вариантами реализации, указанными в настоящем описании.

[00121] Дитерпеновые гликозиды, включая сладкие на вкус вещества, обнаружены в стеблях, семенах и листьях растения *S.rebaudiana* Bertoni, при этом они присутствуют в самой высокой концентрации в листьях. Следовательно, листья представляют собой предпочтительный исходный материал для извлечения сладких гликозидов.

[00122] Очистку Ребаудиозида D осуществляют, начиная с коммерческого экстракта Стевии. Содержание Ребаудиозида D в указанном экстракте может варьироваться в зависимости от вида растения Стевии или технологической схемы получения экстракта.

[00123] Экстракт Стевии, содержащий Стевиозид - 25,40%, Ребаудиозид А - 59,14%, Ребаудиозид С - 9,71%, Ребаудиозид D - 2,03%, Ребаудиозид В - 0,56%, Ребаудиозид Е - 0,68%, Ребаудиозид F - 1,02%, Стевиолбиозид - 0,11% и Дулькозид А - 1,35%, применяли в качестве типичного исходного вещества при иллюстрации очистки Ребаудиозида D.

[00124] Со ссылкой на фиг.3, предложена одноэтапная очистка Ребаудиозида А высокой чистоты с относительно высоким содержанием Ребаудиозида D в соответствии

с одним из вариантов реализации настоящего изобретения. Экстракт Стевии растворяли в первом растворе этанол-вода при 50-70°C, предпочтительно 55-60°C, в течение примерно 10-30 минут, предпочтительно 15-20 минут, а затем при 15-40°C, предпочтительно 20-22°C, в течение примерно 18-48 часов, предпочтительно 20-24 часа при перемешивании. Когда температура достигала 22°C, 1-2% (масс./об.) высокоочищенного Ребаудиозида А добавляли к реакционной смеси в качестве инициатора для начала кристаллизации. Соотношение экстракта и первого раствора этанол-вода зависело от содержания второстепенных гликозидов и составляло 1,0: 2,5-1,0: 10,0 масс./об., предпочтительно 1,0: 3,0-5,0 масс./об.

[00125] За это время получали первый осадок, который отделяли путем фильтрования или центрифугирования.

[00126] Концентрация этанола в первом растворе этанол-вода составляет 75-99%, предпочтительно 82-88%. Содержание Ребаудиозида А и Ребаудиозида D в первом осадке находится в диапазоне 79-99% и 0,8-4,0% соответственно.

[00127] Чистота и выход Ребаудиозида А зависели от соотношения экстракта и раствора этанол-вода и от концентрации этанола. Данные при различных концентрациях этанола обобщены в ТАБЛИЦЕ 3. Соотношение экстракт: метанол составляло 1:3,0 масс./об.

[00128] Степень очистки и выход Ребаудиозида А при различных объемах 88% раствора этанола обобщены в ТАБЛИЦЕ 4.

Этанол, %	Стевиол-гликозиды, %									Выход, %
	Ст	РебА	РебС	РебD	РебВ	РебЕ	РебF	СтБио	ДулА	
75	0,1	98,9	0,2	0,8	0	0	0	0	0	19,2
78	0,1	98,6	0,2	1,0	0,1	0	0	0	0	21,3
80	0,1	98,2	0,2	1,4	0,1	0	0	0	0	23,4
82	0,1	97,8	0,2	1,8	0,1	0	0	0	0	23,7
85	0,1	97,6	0,2	2	0,1	0	0	0	0	24,1
87	0,3	96,7	0,4	2,5	0,1	0	0	0	0	25,6
88	0,4	95,6	0,3	3,5	0,1	0,1	0	0	0	33,0
89	0,8	94,2	0,7	3,5	0,2	0,1	0,2	0	0,3	35,4
90	1,4	93,4	1,2	3,0	0,2	0,1	0,2	0,1	0,4	35,7
95	3,2	90,0	3,1	2,5	0,2	0,2	0,2	0,1	0,5	41,6
99	7,2	78,8	10,3	2,1	0,2	0,3	0,2	0,2	0,7	48,3

Соотношение экстракт/ этанол, масс./об.	Стевиол-гликозиды, %									Выход, %
	Ст	РебА	РебС	РебD	РебВ	РебЕ	РебF	СтБио	ДулА	
1:5,0	0,2	98,0	0,2	1,5	0	0,1	0	0	0	26,5
1:4,0	0,2	97,5	0,2	2,0	0	0,1	0	0	0	31,3
1:3,5	0,3	96,9	0,1	2,6	0	0,1	0	0	0	32,4
1:3,0	0,4	95,6	0,3	3,5	0,1	0,1	0	0	0	33,0
1:2,5	2,5	91,7	1,7	3,3	0,2	0,2	0,1	0	0,3	35,6
1:2,0	3,3	89,8	2,5	3,2	0,2	0,3	0,1	0,1	0,5	41,4

[00129] Содержание Ребаудиозида D увеличивается по мере увеличения концентрации этанола до 88-90% и по мере уменьшения соотношения раствора этанол-вода и экстракта. В то же время чистота Ребаудиозида А увеличивалась при использовании более разбавленных растворов этанола и более высоких соотношений раствора этанол-вода и экстракта.

[00130] Выход продукта на данном этапе для экстрактов Стевии с различным содержанием Ребаудиозида А после обработки соотношениями 1:3 (масс./об.) 88%

этанол обобщен в ТАБЛИЦЕ 5. Как можно было ожидать, выход продукта увеличивается по мере увеличения содержания Ребаудиозида А в исходном экстракте.

Содержание Ребаудиозида А в исходном экстракте, %	Выход Ребаудиозида А на этапе осаждения из исходного экстракта, %
42,0-43,0	22,0-25,0
45,0-46,0	22,0-25,0
50,0-53,0	24,0-27,0
55,0-59,0	28,0-31,0
60,0-62,0	32,0-36,0

[00131] Осадок отделяли путем фильтрования или центрифугирования, промывали примерно двумя объемами абсолютного этанола и сушили. Любой вид оборудования, позволяющий отделять осадок от жидкости, такой как центрифуги различных видов или системы фильтрации, может быть использован на данном этапе. Сушилки разных видов, такие как роторная вакуумная сушилка, сушилка с псевдоожиженным слоем, роторная туннельная сушилка или тарельчатая сушилка, подходят для получения очищенных стевиол-гликозидов в форме порошка.

[00132] В случае, если исходный экстракт содержит большое количество Ребаудиозида В и Ребаудиозида D, для очистки Ребаудиозида А, а затем Ребаудиозида D предпочтительно применять более низкие концентрации этанола и более высокое соотношение раствора этанол-вода и экстракта (ТАБЛИЦА 6; ТАБЛИЦА 7). В данной серии экспериментов содержание Ребаудиозида А в исходном экстракте составляло 48,7%.

[00133] Выход продукта с высоким содержанием Ребаудиозида А и Ребаудиозида D может быть увеличен с применением этанола для последующего осаждения. Для данной цели в конце кристаллизации к смеси добавляли 0,5-1,0 об./масс., предпочтительно 0,5-0,8 об./масс., абсолютного этанола по отношению исходному твердому веществу и процесс продолжали в течение еще 2-3 часов. Выход и чистота продукта из экстракта с 48,7% содержанием Ребаудиозида А суммированы в ТАБЛИЦЕ 8.

Этанол, %	Соотношение этанола и твердого вещества, об./масс.	Чистота продукта при различном содержании Ребаудиозида В, % (содержание Ребаудиозида D составляло 0,4%)			
		0%	0,4%	0,8%	1,1%
81,0	2,5	98,7	98,5	98,2	97,9
	3,0	98,9	98,7	98,4	98,1
	3,5	99,2	98,9	98,6	98,4
83,0	2,5	98,1	98,2	98,0	97,7
	3,0	98,5	98,4	98,2	97,9
	3,5	98,8	98,6	98,4	98,2
85,0	2,5	97,7	97,6	97,4	97,2
	3,0	98,2	97,9	97,6	97,4
	3,5	98,5	98,2	97,8	97,6
87,0	2,5	96,3	97,2	96,6	96,4
	3,0	97,5	97,6	97,4	97,0
	3,5	97,9	97,9	97,6	97,2
88,0	2,5	96,1	95,9	95,5	95,1
	3,0	97,3	97,1	96,4	95,8
	3,5	97,7	97,5	97,2	96,8
90,0	2,5	94,6	94,1	92,3	90,5
	3,0	96,3	95,8	92,8	91,2
	3,5	97,3	96,8	93,7	91,9

ТАБЛИЦА 7

Этанол, %	Соотношение этанола и твердого вещества, об./масс.	Чистота продукта при различном содержании Ребаудиозида D, % (содержание Ребаудиозида В составляло 0,1%)				
		0,5%	1,2%	1,7%	2,6%	
5	81,0	2,5	98,7	98,0	97,5	97,1
		3,0	98,9	98,3	98,0	97,4
		3,5	99,2	98,5	98,2	97,7
10	83,0	2,5	98,1	97,7	97,3	97,0
		3,0	98,5	98,1	97,8	97,4
		3,5	98,8	98,4	98,0	97,6
15	85,0	2,5	97,7	97,5	97,1	96,8
		3,0	98,2	97,8	97,6	97,1
		3,5	98,5	98,1	97,8	97,2
20	87,0	2,5	96,3	96,2	95,8	94,2
		3,0	97,5	97,3	96,7	96,1
		3,5	97,9	97,6	97,4	96,9
25	88,0	2,5	96,1	95,7	95,2	93,7
		3,0	97,3	97,1	96,5	95,6
		3,5	97,7	97,4	97,0	96,6
30	90,0	2,5	94,6	94,2	93,5	93,0
		3,0	94,8	94,8	93,9	93,3
		3,5	95,7	95,4	94,4	93,5

ТАБЛИЦА 8

Дополнительный объем этанола об./масс. к твердым веществам	Выход и чистота РебА при различных концентрациях этанола (соотношение этанола и экстракта = 1:3,5, масс./об.)							
	85%		86%		87%		88%	
	Выход, %	РебА, %	Выход, %	РебА, %	Выход, %	РебА, %	Выход, %	РебА, %
0	29,5	98,5	30,6	98,3	32,7	97,9	33,3	97,8
0,5	31,4	98,5	31,6	98,2	33,4	97,9	33,8	97,6
0,6	32,3	98,2	32,7	98,2	34,3	97,8	34,7	97,6
0,7	33,5	97,9	33,9	97,7	35,4	97,6	35,9	97,5
0,8	34,1	97,9	35,2	97,7	36,3	97,6	36,7	97,4
0,9	34,3	97,8	35,4	97,6	36,7	97,5	37,4	97,4
1,0	34,5	97,8	35,7	97,5	36,9	97,4	37,7	97,2

[00134] Для получения Ребаудиозида А высокой чистоты способ может быть осуществлен при 30-50°C без этапа охлаждения. Несмотря на то, что чистота Ребаудиозида А была выше, это приводило к более низкому выходу продукта. Качество продукта повышалось при более высоких температурах промывки. Результаты, полученные с использованием 3,5 объемов 85% этанола к одной части экстракта после 24 часов и с этапом последующего осаждения и без него, обобщены в ТАБЛИЦЕ 9.

ТАБЛИЦА 9

Температура, °С	Выход, %		Содержание Ребаудиозида А	
	Без последующего осаждения	С последующим осаждением (0,8 об. EtOH)	Без последующего осаждения	С последующим осаждением (0,8 об. EtOH)
22,0	29,6	33,5	98,2	98,5
30,0	28,7	32,8	98,4	98,6
35,0	27,5	32,2	98,7	98,9
40,0	27,0	31,4	98,8	99,2
45,0	25,4	28,9	99,0	99,4
50,0	24,3	25,6	99,2	99,5

Содержание Ребаудиозида А, Ребаудиозида В и Ребаудиозида D составляло 51,3, 0,2% и 0,7% соответственно.

[00135] Когда содержание Ребаудиозида А в конечном продукте составляло менее 97%, главным образом, вследствие высокого содержания Ребаудиозида В и/или Ребаудиозида D, продукт дополнительно промывали водным раствором этанола. Для

этого Ребаудиозид А, полученный после осаждения, суспендировали в смеси этанол-вода при комнатной температуре в течение 30-40 минут. После получения гомогенной суспензии температуру повышали до 35-50°C, предпочтительно 38-42°C, и перемешивали в течение примерно 10-20 часов, предпочтительно 12-15 часов, а затем при 10-25°C, предпочтительно 20-22°C, в течение примерно 3-20 часов, предпочтительно 5-10 часов. Соотношение Ребаудиозид А и этанола составляло 1,0:2,0-1,0:5,0 масс./об., предпочтительно 1,0:2,5-4,0 масс./об. Концентрации этанола составляла 85-93%, предпочтительно 88-90%.

[00136] В случае, если чистота Ребаудиозид А была ниже 97% вследствие высокого содержания Стевиозид, продукт промывали абсолютным этанолом тем же способом, как описано выше для загрязненного Ребаудиозидом В и Ребаудиозидом D продукта. Соотношение Ребаудиозид А и этанола составляло 1,0:2,0-1,0:5,0 масс./об., предпочтительно 1,0:2,5-4,0 масс./об.

[00137] Со ссылкой на Фиг.5, предложена функциональная схема очистки Ребаудиозид А и Ребаудиозид D в соответствии с одним из вариантов реализации настоящего изобретения.

[00138] Очистку Ребаудиозид D из кристаллов/осадков с содержанием Ребаудиозид А и Ребаудиозид D, равным примерно 75-80% и 2,0-3,5%, соответственно, осуществляли следующим образом. Следует отметить, что кристаллы с Ребаудиозидом А и Ребаудиозидом D могут быть получены в результате способа, описанного применительно к Фиг.3.

[00139] Осадок с высоким содержанием Ребаудиозид А и Ребаудиозид D смешивали со вторым раствором этанол-вода и инкубировали при 45-65°C, предпочтительно 50-55°C, в течение 2-6 часов, предпочтительно 3-4 часов при перемешивании. Затем смесь охлаждали до комнатной температуры в течение 1-3 часов, предпочтительно 0,5-1,0 часа. Осадок отделяли путем фильтрования.

[00140] Предпочтительное соотношение твердых веществ и водного раствора этанола составляло 1 к 5 масс./об. и оптимальная концентрация этанола составляла 78%. Однако концентрация этанола может быть в пределах 70-80%, а соотношение 1:2,5-1,7 масс./об.

[00141] Для облегчения фильтрования осадка с высоким содержанием Ребаудиозид D, к смеси добавляли активированный уголь в количестве 0,5-3,0 об.%, предпочтительно 1,0-1,5 об.%, перед фильтрацией. Затем осадок смешивали с 3-5 объемами 30-50% метанола. Суспензию выдерживали при перемешивании при 45-65°C, предпочтительно 57-62°C, в течение 1-5 часов, предпочтительно 2-3 часов, и подвергали фильтрации. Элюирование адсорбированных на активированном угле гликозидов осуществляли метанолом.

[00142] Оба осадка, полученные без использования и с использованием угля, содержат 19-22,1% Ребаудиозид D в оптимальных условиях (ТАБЛИЦА 10).

ТАБЛИЦА 10

Этанол, %	Соотношение этанола и твердого вещества, об./масс.	Чистота РебА, %	Чистота РебD, %
75,0	4,0	98,5	18,4
	5,0	99,2	18,6
	6,0	99,4	18,6
77,0	4,0	98,4	18,7
	5,0	99,1	20,1
	6,0	99,2	20,3
78,0	4,0	98,4	19,2

	5,0	99,2	22,0
	6,0	99,4	22,1
79,0	4,0	98,1	19,0
	5,0	98,8	19,7
	6,0	99,0	19,8
80,0	4,0	98,0	17,3
	5,0	98,4	17,9
	6,0	98,9	18,2
82,0	4,0	97,7	15,2
	5,0	98,1	15,8
	6,0	98,7	16,4

[00143] В основном, чем больше используемый объем метанола, тем быстрее может происходить процесс элюирования. Процесс может быть завершен в более короткий период времени при использовании водного раствора метанола.

[00144] Метанольную фракцию выпаривали досуха.

[00145] Когда исходное вещество, содержащее 95,6% Ребаудиозида А и 3,5% Ребаудиозида D (Фиг.4а), смешивали с 3,5 объемами 78,0% этанола, смесь кипятили в течение 10-15 минут и нерастворенное вещество отделяли путем горячего фильтрования, выход осадка был в пределах 6-7,0% с содержанием Ребаудиозида А и Ребаудиозида D (Фиг.4b), равным 52-53,0% и 43-45,0% соответственно.

[00146] Для дополнительной очистки осадок суспендировали в 50% этаноле при соотношении 1:2 масс./об. и при 30-40°C, предпочтительно 33-37°C, и выдерживали в течение 2-15 часов, предпочтительно 10-12 часов, при перемешивании. Суспензию фильтровали и сушили. Выход осадка с содержанием примерно 15-17,0% Ребаудиозида А и 80-82% Ребаудиозида D, находился в диапазоне 42-46,0%. В принципе, на данном этапе может быть использовано до пяти объемов водного этанола. Концентрация этанола может быть в пределах 10-80%, предпочтительно 45-52%.

[00147] Осадок подвергали аналогичной обработке. Осадок отделяли путем фильтрования, промывали примерно двумя объемами безводного метанола и сушили. Любой вид оборудования, позволяющий отделять осадок от жидкости, такой как центрифуги различных видов или системы фильтрации, может быть использован на данном этапе. Сушилки разных видов, такие как роторная вакуумная сушилка, сушилка с псевдооживленным слоем, роторная туннельная сушилка или тарельчатая сушилка, подходят для получения очищенного Ребаудиозида D в форме порошка.

[00148] Чистота Ребаудиозида D составляла примерно 95-99% содержания (Фиг.4с). Выход продукта составил примерно 58-60%.

[00149] Оставшийся объединенный раствор после выделения Ребаудиозида D смешивали с небольшим количеством Ребаудиозида А в качестве инициатора и оставляли для кристаллизации при 20-22°C в течение 20-24 часов. Содержание Ребаудиозида А в кристаллах находилось в диапазоне 97,7-99,4%.

[00150] Оставшийся раствор после первого осаждения может быть использован для выделения Ребаудиозида А или высокоочищенной смеси стевиол-гликозидов.

[00151] Ребаудиозид D высокой чистоты, получаемый согласно настоящему изобретению, имеет молекулярную массу, равную 1129,15, молекулярную формулу $C_{50}H_{80}O_{28}$ и структуру, представленную на Фиг.2, и находится в форме белого порошка без запаха. Указанное соединение примерно в 180-200 раз слаще сахара при сравнении с 10% раствором сахарозы. Инфракрасный спектр поглощения представлен на Фиг.6. Ребаудиозид D демонстрирует характерный максимум поглощения при примерно 1730 см^{-1} . Другие свойства чистого Ребаудиозида D следующие:

[00152] Температура плавления: 248-249°C.

[00153] Удельное вращение: $[\alpha]_D^{25}$ -29.5° в 50% этаноле (C=1.0).

[00154] Растворимость в воде составляет примерно 0,2%, увеличиваясь с повышением температуры. Снова осаждается при охлаждении раствора. Растворим в высокой степени в ходе этапа хроматографического разделения и до кристаллизации.

[00155] Растворим в разбавленных растворах метанола, этанола, н-пропанола и изопропанола.

[00156] Нерастворим в ацетоне, бензоле, хлороформе и эфире.

[00157] Ребаудиозид D, получаемый согласно настоящему изобретению, устойчив к нагреванию и pH.

[00158] Ребаудиозид D, получаемый согласно настоящему изобретению, может быть включен в качестве высокоинтенсивного натурального подсластителя в продукты питания, напитки, фармацевтические композиции, косметические средства, жевательные резинки, столовые продукты, крупы, молочные продукты, зубные пасты и другие композиции для полости рта, и т.д. Последующие примеры показывают типичные соотношения, которые могут быть применены.

[00159] Кроме того, Ребаудиозид D может быть применен в качестве подсластителя не только для напитков, продуктов питания и других продуктов, предназначенных для потребления человеком, но также в корме для животных и корме для скота с улучшенными характеристиками.

[00160] В ходе производства продуктов питания, напитков, фармацевтических препаратов, косметических средств, столовых продуктов, жевательной резинки могут быть использованы традиционные способы, такие как смешивание, растирание, растворение, консервирование, инфильтрация, перколяция, опрыскивание, распыление, настаивание и другие способы.

[00161] Подсластитель, получаемый согласно настоящему изобретению, может быть применен в сухих или жидких формах. Он может быть добавлен до или после термической обработки продуктов питания. Количество подсластителя зависит от цели применения. Подсластитель может быть добавлен отдельно или в комбинации с другими соединениями.

[00162] В одном из конкретных вариантов реализации настоящего изобретения Ребаудиозид D в качестве подслащивающего соединения может быть применен в качестве единственного подсластителя или может быть использован совместно с другими встречающимися в природе высокоинтенсивными подсластителями.

[00163] В настоящем описании термин «натуральные высокоинтенсивные подсластители» относится к любым композициям, встречающимся в природе и обладающим силой сладости выше, чем у сахарозы, фруктозы или глюкозы.

[00164] Неограничивающие примеры натуральных высокоинтенсивных подсластителей включают Стевиозид, Ребаудиозид А, Ребаудиозид В, Ребаудиозид С, Ребаудиозид Е, Ребаудиозид F, Стевиолбиозид, Дулькозид А, Рубузозид, могозиды, браззеин, глицирризиновую кислоту и ее соли, тауматин, перилартин, пернандульцин (pernandulcin), мукурозиозиды (mukuroziosides), байюнозид, фломиозид-1 (phlomisioside-I), диметилгексагидрофлуорендикарбоновую кислоту, абрузозиды, периандрин, карносифлозиды (camosiflosides), циклокариозид, птерокариозиды, полиподозид А, бразилин, гернандульцин, филлодульцин, глицифиллин (glycyphyllin), флоризин, трилобатин (trilobatin), дигидрофлавонол, дигидрокверцетин-3-ацетат, неоастилибин (neoastilibin), отранс-коричный альдегид, монатин и его соли, селигван А (selligueain А), гематоксилин, монеллин, осладин, птерокариозид А, птерокариозид В, мабинлин,

пентадин, миракулин, куркулин, неокулин, хлорогеновую кислоту, цинарин, подсластитель Luo Han Guo, сиаменозид и т.д., и их комбинации.

5 [00165] В другом конкретном варианте реализации Ребаудиозид D в качестве подслащающего соединения может быть применен совместно с синтетическими или искусственными высокоинтенсивными подсластителями.

[00166] В настоящем описании термин «синтетические» или «искусственные высокоинтенсивные подсластители» относится к любым композициям, не встречающимся в природе и обладающим силой сладости выше, чем у сахарозы, фруктозы или глюкозы.

10 [00167] Неограничивающие примеры синтетических или искусственных высокоинтенсивных подсластителей включают сукралозу, ацесульфам калия, аспартам, алитам, сахарин, неогесперицина дигидрохалкон, цикламат, неотам, дульцин, суосан, 1-метилловый эфир N-[N-[3-(3-гидрокси-4-метоксифенил)пропил]-L- α -аспартил]-L-фенилаланина, 1-метилловый эфир N-[N-[3-(3-гидрокси-4-метоксифенил)-3-метилбутил]-L- α -аспартил]-L-фенилаланина, 1-метилловый эфир N-[N-[3-(3-метокси-4-гидроксифенил)пропил]-L- α -аспартил]-L-фенилаланина, их соли и т.д., и комбинации указанных веществ.

[00168] В одном из вариантов реализации Ребаудиозид D может быть применен в комбинации с натуральными подавляющими подсластители веществами, такими как джимнемовая кислота, ходульцин (hodulcin), зизифин, лактизол и т.д.

20 [00169] В другом варианте реализации Ребаудиозид D может быть комбинирован с различными усилителями вкуса юмами.

[00170] В конкретном варианте реализации Ребаудиозид D может быть введен в состав совместно с аминокислотами, включающими, но не ограничиваемыми ими, аспарагиновую кислоту, аргинин, глицин, глутаминовую кислоту, пролин, треонин, 25 теанин, цистеин, цистин, аланин, валин, тирозин, лейцин, изолейцин, аспарагин, серин, лизин, гистидин, орнитин, метионин, камитин, аминокислотную кислоту (альфа-, бета- или гамма-изомеры), глутамин, гидроксипролин, таурин, норвалин, саркозин и их солевые формы, такие как соли натрия или калия, или кислые соли. Аминокислотные добавки также могут находиться в D- или L-конфигурации и в моно-, ди- или три-форме 30 тех же или других аминокислот. Кроме того, аминокислоты могут представлять собой α -, β -, γ -, δ - и ϵ -изомеры при необходимости. Комбинации указанных выше аминокислот и их соответствующих солей (например, соли натрия, калия, кальция, магния или соли других щелочных или щелочноземельных металлов, или кислые соли) также представляют собой подходящие добавки. Аминокислоты могут быть природными 35 или синтетическими. Аминокислоты также могут быть модифицированы. Термин «модифицированные аминокислоты» относится к любой аминокислоте, в которой по меньшей мере один атом был добавлен, удален, замещен, или к их комбинации (например, N-алкиламинокислота, N-ациламинокислота или N-метиламинокислота). Неограничивающие примеры модифицированных аминокислот включают производные 40 аминокислот, такие как триметилглицин, N-метилглицин и N-метилаланин. В настоящем описании термин «аминокислоты» включает как модифицированные, так и немодифицированные аминокислоты. В настоящем описании модифицированная аминокислота также может включать пептиды и полипептиды (например, дипептиды, трипептиды, тетрапептиды и пентапептиды), такие как глутатион и L-аланил-L-глутамин.

45 [00171] В одном из конкретных вариантов реализации Ребаудиозид D может быть введен в состав совместно с полиаминокислотными добавками, включающими поли-L-аспарагиновую кислоту, поли-L-лизин (например, поли-L- α -лизин или поли-L- ϵ -лизин), поли-L-орнитин (например, поли- α -орнитин или поли-L- ϵ -орнитин), поли-L-аргинин,

другие полимерные формы аминокислот и их солевые формы (например, соли магния, кальция, калия или натрия, такие как моонатриевая соль L-глутаминовой кислоты). Полиаминокислотные добавки также могут находиться в D- или L-конфигурации. Кроме того, полиаминокислоты могут представлять собой α -, β -, γ -, δ - и ϵ -изомеры при необходимости. Комбинации указанных выше полиаминокислот и их соответствующих солей (например, соли натрия, калия, кальция, магния или соли других щелочных или щелочноземельных металлов, или кислые соли) также представляют собой подходящие улучшающие сладкий вкус добавки в вариантах реализации настоящего изобретения. Полиаминокислоты, указанные в настоящем описании, также могут включать сополимеры разных аминокислот. Полиаминокислоты могут быть природными или синтетическими. Полиаминокислоты также могут быть модифицированы таким образом, что по меньшей мере один атом был добавлен, удален, замещен или подвергнут комбинации указанных действий (например, N-алкилполиаминокислота или N-ацилполиаминокислота). В настоящем описании термин «полиаминокислоты» включает как модифицированные, так и немодифицированные полиаминокислоты. В соответствии с конкретными вариантами реализации, модифицированные полиаминокислоты включают, но не ограничиваются ими, полиаминокислоты с различной молекулярной массой (ММ), такие как поли-L- α -лизин с ММ 1500, ММ 6000, ММ 25200, ММ 63000, ММ 83000 или ММ 300000.

[00172] В другом конкретном варианте реализации Ребаудиозид D может быть комбинирован с полиолами или сахарными спиртами. Термин «полиол» относится к молекуле, содержащей более одной гидроксильной группы. Полиол может представлять собой диол, триол или тетраол, которые содержат 2, 3 и 4 гидроксильных группы соответственно. Полиол также может содержать более четырех гидроксильных групп, например, пентаол, гексаол, гептаол и т.д., содержащие 5, 6 или 7 гидроксильных групп соответственно. Кроме того, полиол также может представлять собой сахарный спирт, многоатомный спирт или полиспирт, представляющий собой восстановленную форму углевода, в которой карбонильная группа (альдегидная или кетонная, восстанавливающий сахар) была восстановлена до первичной или вторичной гидроксильной группы.

[00173] Неограничивающие примеры полиолов включают эритритол, мальтитол, маннитол, сорбитол, лактитол, ксилитол, инозитол, изомальт, пропиленгликоль, глицерин, треитол, галактитол, гидрогенизированную изомальтулозу, восстановленные изомальтоолигосахариды, восстановленные ксилоолигосахариды, восстановленные гентиоолигосахариды, восстановленный сироп мальтозы, восстановленный сироп глюкозы, гидрогенизированные гидролизаты крахмала, полиглицитолы (polyglycitols) и сахарные спирты или любые другие углеводы, которые могут быть восстановлены и которые отрицательно не влияют на вкус композиции подсластителя, и их комбинации.

[00174] В одном из конкретных вариантов реализации Ребаудиозид D может быть комбинирован с подсластителями со сниженным содержанием калорий, такими как D-тагатоза, L-сахара, L-сорбоза, L-арабиноза и другие и их комбинациями.

[00175] В другом конкретном варианте реализации Ребаудиозид D может быть комбинирован с различными углеводами. Термин «углевод» в целом относится к альдегидным или кетонным соединениям, содержащим в качестве заместителей многочисленные гидроксильные группы, общей формулы $(\text{C}_n\text{H}_{2n}\text{O})_n$, где «n» составляет 3-30, а также к их олигомерам и полимерам. Кроме того, углеводы согласно настоящему изобретению могут содержать заместители или быть дезоксигенированы по одному или более положениям. В настоящем описании термин «углеводы» включает

немодифицированные углеводы, производные углеводов, углеводы, содержащие заместители, и модифицированные углеводы. В настоящем описании термины «производные углеводов», «углеводы, содержащие заместители» и «модифицированные углеводы» являются синонимами. Термин «модифицированный углевод» означает

любой углевод, в котором по меньшей мере один атом был добавлен, удален, замещен или подвергнут комбинации указанных действий. Таким образом, производные углеводов или углеводы, содержащие заместители, включают содержащие заместители и не содержащие заместители моносахариды, дисахариды, олигосахариды и полисахариды. Производные углеводов или содержащие заместители углеводы могут

быть дезоксигенированы по любому соответствующему С-положению и/или содержать в качестве заместителей одну или более групп, таких как водород, галоген, галогеналкил, карбоксил, ацил, ацилокси, amino, амидо, карбоксильные производные, алкиламино, диалкиламино, ариламино, алкокси, арилокси, нитро, циано, сульфо, меркапто, имино, сульфонил, сульфенил, сульфенил, сульфамойл, карбоалкокси, карбоксамидо, фосфонил, фосфинил, фосфорил, фосфино, сложный тиоэфир, простой тиоэфир, оксимино, гидразино, карбамил, фосфо, фосфонато, или любую другую подходящую функциональную группу, придающую указанному производному углевода или содержащему заместители углеводу функции для улучшения сладкого вкуса композиции подсластителя.

[00176] Неограничивающие примеры углеводов в вариантах реализации настоящего изобретения включают тагатозу, трегалозу, галактозу, рамнозу, различные циклодекстрины, циклические олигосахариды, различные виды мальтодекстринов, декстран, сахарозу, глюкозу, рибулозу, фруктозу, треозу, арабинозу, ксилозу, ликсозу, аллозу, альтрозу, маннозу, идозу, лактозу, мальтозу, инвертный сахар, изотрегалоу, неотрегалоу, изомальтулозу, эритрозу, дезоксирибозу, гулозу, идозу, талозу, эритролозу, ксилулозу, психозу, туранозу, целлобиозу, амилопектин, глюкозамин, маннозамин, фукозу, глюкуроновую кислоту, глюконовую кислоту, глюконолактон, абеквозу, галактозамин, олигосахариды свеклы, изомальтоолигосахариды (изомальтозу, изомальтотриозу, панозу и т.д.), ксилоолигосахариды (ксилотриозу, ксилобиозу и т.д.), ксило-концевые олигосахариды, гентиоолигосахариды (гентиобиозу, гентиотриозу, гентиотетраозу и т.д.), сорбозу, нигероолигосахариды, палатинозные олигосахариды, фруктоолигосахариды (кестозу, нистозу и т.д.), мальтотетраол, мальтотриол, мальтоолигосахариды (мальтотриозу, мальтотетраозу, мальтопентаозу, мальтогексаозу, мальтогептаозу и т.д.), крахмал, инулин, инулоолигосахариды, лактулозу, мелибиозу, раффинозу, рибозу, изомеризованные жидкие сахара, такие как кукурузные сиропы с высоким содержанием фруктозы, связывающие сахара и олигосахариды соевых бобов.

Кроме того, в настоящем описании углеводы могут находиться либо в D-, либо в L-конфигурации. В составах могут быть использованы любые комбинации соединений.

[00177] В конкретном варианте реализации Ребаудиозид D может быть получен совместно с сахарными кислотами, которые включают, но не ограничиваются ими, альдоновую, уроновую, альдаровую, альгиновую, глюконовую, глюкуроновую, глюкаровую, галактаровую, галактуроновую кислоту и их соли (например, соли натрия, калия, кальция, магния или другие физиологически приемлемые соли), и их комбинации.

[00178] В конкретном варианте реализации Ребаудиозид D может быть использован в комбинации с различными физиологически активными веществами или функциональными компонентами, функциональные компоненты, как правило, подразделяют на категории, такие как каротиноиды, пищевая клетчатка, жирные кислоты, сапонины, антиоксиданты, нутрицевтики, флавоноиды, изотиоцианаты,

фенолы, растительные стеролы и станолаы (фитостеролы и фитостанолаы); полиолы; пребиотики, пробиотики; фитоэстрогены; соевый белок; сульфиды/тиолы; аминокислоты; белки; витамины и минералы. Функциональные компоненты также могут быть классифицированы на основе их пользы для здоровья, например сердечно-сосудистые, снижающие холестерин и противовоспалительные.

[00179] Композиция с Ребаудиозидом D может содержать ароматизатор, который может иметь природное или искусственное происхождение. В настоящем описании, если не указано иное, термин «ароматизатор» означает любое пищевое вещество, которое может быть добавлено к настоящим композициям для придания необходимого аромата продукту питания. Ароматизаторы, подходящие согласно настоящему изобретению, включают, например, эфирное масло, такое как масло, полученное из растения или фруктов, масло мяты перечной, масло мяты кудрявой, другие мятные масла, гвоздичное масло, коричное масло, винтергриновое масло, лавровое масло, тимьяновое масло, масло кедровых листьев, масло мускатного ореха, масло душистого перца, шалфейное масло, мускатное масло и миндальное масло. Ароматизатор может представлять собой экстракт растения или фруктовую эссенцию, такую как яблочная, банановая, арбузная, грушевая, персиковая, виноградная, клубничная, малиновая, вишневая, сливовая, ананасовая, абрикосовая, и их смеси. Ароматизатор может представлять собой цитрусовый ароматизатор, такой как экстракт, эссенция или масло лимона, лайма, апельсина, мандарина, грейпфрута, цитрона или кумквата. Ароматизаторы, подходящие согласно настоящему изобретению, также могут включать сливки, лесной орех, ваниль, шоколад, корицу, орех пекан, лимон, лайм, малину, персик, манго, ванилин, масло, ириски, чай, апельсин, мандарин, карамель, клубнику, банан, виноград, сливу, вишню, голубику, ананас, ягоды бузины, арбуз, жевательную резинку, канталупу, гуаву, киви, папайю, кокосовый орех, мяту, мяту кудрявую, их производные и комбинации.

[00180] Композиция с Ребаудиозидом D может содержать ароматический компонент. В настоящем описании, если не указано иное, термин «ароматический компонент» означает любое пищевое летучее вещество, которое может быть использовано для получения необходимого запаха, например, при смешивании с продуктом питания. Ароматические компоненты, подходящие согласно настоящему изобретению, включают, например, эфирные масла (цитрусовое масло), полученные прессованием масла (апельсиновое масло), перегнанные масла (розовое масло), экстракты (фрукты), анетол (лакрица, семена аниса, узо, фенхель), анизол (семена аниса), бензальдегид (марципан, миндаль), бензиловый спирт (марципан, миндаль), камфара (коричник камфорный), коричный альдегид (корица), цитраль (цитронелловое масло, лимонное масло), d-лимонен (апельсин), этилбутаноат (ананас), эвгенол (гвоздичное масло), фуранеол (клубника), фурфураль (карамель), линалоол (кориандр, розовое дерево), ментол (мята перечная), метилбутаноат (яблоко, ананас), метилсалицилат (винтергриновое масло), нераль (цветы апельсинового дерева), неролин (цветы апельсинового дерева), пентилбутаноат (груша, абрикос), пентилпентаноат (яблоко, ананас), сотолон (кленовый сироп, карри, пажитник), клубничный кетон (клубника), замещенные пиразины, например, 2-этокси-3-изопропилпиразин; 2-метокси-3-втор-бутилпиразин и 2-метокси-3-метилпиразин (жареные семена пажитника, тмина и кориандра), туйон (можжевельник, шалфей обыкновенный, нуткинский кипарис и полынь), тимол (камфароподобный), триметиламин (рыба), ванилин (ваниль) и их комбинации. Предпочтительные ароматические компоненты согласно настоящему изобретению включают эфирные масла (цитрусовое масло), полученные прессованием масла (апельсиновое масло),

перегнанные масла (розовое масло), экстракты (фрукты), бензальдегид, d-лимонен, фурфураль, ментол, метилбутаноат, пентилбутаноат, их соли, производные и комбинации.

[00181] Композиции с Ребаудиозидом D могут содержать нуклеотидную добавку для применения в вариантах реализации настоящего изобретения. Указанные добавки включают, но не ограничиваются ими, инозинмонофосфат, гуанозинмонофосфат, аденозинмонофосфат, цитозинмонофосфат, урацилмонофосфат, инозиндифосфат, гуанозиндифосфат, аденозиндифосфат, цитозиндифосфат, урацилдифосфат, инозинтрифосфат, гуанозинтрифосфат, аденозинтрифосфат, цитозинтрифосфат, урацилтрифосфат и их соли щелочных или щелочноземельных металлов, и комбинации.

Нуклеотиды, указанные в настоящем описании, также могут включать родственные нуклеотидам добавки, такие как нуклеозиды или основания нуклеиновых кислот (например, гуанин, цитозин, аденин, тимин, урацил).

[00182] Композиции с Ребаудиозидом D могут содержать добавку органической кислоты. Органические кислоты представляют собой соединения, содержащие группу -COOH. Подходящие добавки органических кислот для применения в вариантах реализации настоящего изобретения включают, но не ограничиваются ими, карбоновые кислоты C2-C30, замещенные гидроксикарбоновые кислоты C1-C30, бензойную кислоту, замещенные бензойные кислоты (например, 2,4-дигидроксибензойная кислота), замещенные коричные кислоты, гидроксикислоты, замещенные гидроксibenзойные кислоты, замещенные циклогексилкарбоновые кислоты, дубильную кислоту, молочную кислоту, винную кислоту, лимонную кислоту, глюконовую кислоту, глюкогоптоновые кислоты, адипиновую кислоту, гидроксипимонную кислоту, яблочную кислоту, фрутаровую кислоту (fruitaric acid) (смесь яблочной, fumarовой и винной кислот), fumarовую кислоту, малеиновую кислоту, янтарную кислоту, хлорогеновую кислоту, салициловую кислоту, креатин, глюкозамина гидрохлорид, глюконо-дельта-лактон, кофеиновую кислоту, холевые кислоты, уксусную кислоту, аскорбиновую кислоту, альгиновую кислоту, эриторбиновую кислоту, полиглутаминовую кислоту и их производные соли щелочных или щелочноземельных металлов. Кроме того, добавки органических кислот также могут находиться либо в D-, либо L-конфигурации.

[00183] Композиции с Ребаудиозидом D могут содержать добавку соли органической кислоты. Указанные добавки включают, но не ограничиваются ими, натриевые, кальциевые, калиевые и магниевые соли всех органических кислот, такие как соли лимонной кислоты, яблочной кислоты, винной кислоты, флаунаровой кислоты (flumaric acid), молочной кислоты (например, лактат натрия), альгиновой кислоты (например, альгинат натрия), аскорбиновой кислоты (например, аскорбат натрия), бензойной кислоты (например, бензоат натрия или бензоат калия) и адипиновой кислоты. Примеры описанных улучшающих сладкий вкус добавок солей органических кислот могут содержать в качестве заместителей одну или более следующих групп, выбранных из группы, включающей водород, алкил, алкенил, алкинил, галоген, галогеналкил, карбоксил, ацил, ацилокси, аминоксид, амидо, карбоксильные производные, алкиламино, диалкиламино, ариламино, алкокси, арилокси, нитро, циано, сульфо, тиол, имин, сульфенил, сульфенил, сульфенил, сульфамил, карбоксиалкокси, карбоксамидо, фосфонил, фосфинил, фосфорил, фосфино, сложный тиоэфир, простой тиоэфир, ангидрид, оксимино, гидразине», карбамил, фосфо, фосфонато и любую другую подходящую функциональную группу, придающую указанной добавке соли органической кислоты, содержащей заместители, функции для улучшения сладкого вкуса композиции подсластителя.

[00184] Композиции с Ребаудиозидом D могут содержать добавку неорганической кислоты для применения в вариантах реализации настоящего изобретения. Указанные добавки включают, но не ограничиваются ими, фосфорную кислоту, фосфористую кислоту, полифосфорную кислоту, соляную кислоту, серную кислоту, угольную кислоту, дигидрофосфат натрия и их соответствующие соли щелочных или щелочноземельных металлов (например, инозитгексафосфат Mg/Ca).

[00185] Композиции с Ребаудиозидом D могут содержать добавку горького соединения для применения в вариантах реализации настоящего изобретения, включающую, но не ограничивающуюся ими, кофеин, хинин, мочевины, масло горького апельсина, нарингин, кассию и их соли.

[00186] Композиции с Ребаудиозидом D могут содержать искусственные или натуральные усилители сладости и их комбинации.

[00187] Состав Ребаудиозида D может содержать полимерные добавки для применения в вариантах реализации настоящего изобретения, включающие, но не ограничивающиеся ими, хитозан, пектин, пектовую, пектиновую, полиуроновую, полигалактуроновую кислоту, крахмал, пищевой гидроколлоид или его неочищенные экстракты (например, камедь сенегальской акации (Fibergum.TM.), камедь акации Seyal, каррагинан), поли-L-лизин (например, поли-L- α -лизин или поли-L- ϵ -лизин), поли-L-орнитин (например, поли-L- α -орнитин или поли-L- ϵ -орнитин), полиаргинин, полипропиленгликоль, полиэтиленгликоль, поли(этиленгликоля метиловый эфир), полиаспарагиновую кислоту, полиглутаминовую кислоту, полиэтиленмин, альгиновую кислоту, альгинат натрия, альгинат пропиленгликоля, гексаметафосфат натрия (SHMP) и его соли, и полиэтиленгликольальгинат натрия и другие катионные и анионные полимеры.

[00188] Состав Ребаудиозида D может содержать белковые добавки или добавки белковых гидролизатов для применения в вариантах реализации настоящего изобретения, включающие, но не ограничивающиеся ими, бычий сывороточный альбумин, белок молочной сыворотки (включая его фракции или концентраты, такие как 90% быстрорастворимый изолят белка молочной сыворотки, 34% белок молочной сыворотки, 50% гидролизованый белок молочной сыворотки и 80% концентрат белка молочной сыворотки), растворимый рисовый белок, соевый белок, изоляты белка, гидролизаты белка, продукты реакции гидролизатов белка, гликопротеины и/или протеогликаны содержащие аминокислоты (например, глицин, аланин, серин, треонин, аспарагин, глутамин, аргинин, валин, изолейцин, лейцин, норвалин, метионин, пролин, тирозин, гидроксипролин и т.д.), коллаген (например, желатин), частично гидролизованый коллаген (например, гидролизованый коллаген рыб) и гидролизаты коллагена (например, гидролизаты коллагена свиньи).

[00189] Состав Ребаудиозида D может содержать добавки поверхностно-активных веществ для применения в вариантах реализации настоящего изобретения, включающие, но не ограничивающиеся ими, полисорбаты (например, полиоксиэтилена сорбитанмоноолеат (полисорбат 80), полисорбат 20, полисорбат 60), додецилбензолсульфонат натрия, диоктилсульфосукцинат или диоктилсульфосукцинат натрия, додецилсульфат натрия, хлорид цетилпиридиния (хлорид гексадецилпиридиния), бромид гексадецилтриметиламмония, холат натрия, карбамоил, холинхлорид, гликохолат натрия, тауродеокихолат натрия, аргинат лауриновой кислоты, стеароиллактат натрия, таурохолат натрия, лецитины, олеат эфиры сахарозы, стеарат эфиры сахарозы, пальмитат эфиры сахарозы, лаурат эфиры сахарозы и другие эмульгаторы, и т.д.

[00190] Состав Ребаудиозида D может содержать добавки флавоноидов для

применения в вариантах реализации настоящего изобретения. Указанные добавки, как правило, классифицируют на флавонолы, флавоны, флаваноны, флаван-3-олы, изофлавоны или антоцианидины. Неограничивающие примеры добавок флавоноидов включают катехины (например, экстракты зеленого чая), полифенолы, рутины, неогесперидин, нарингин, неогесперидина гидрохалкон и т.д.

[00191] Состав может содержать спиртовые добавки для применения в вариантах реализации настоящего изобретения, включающие, но не ограничивающиеся им, этанол.

[00192] Состав может содержать добавки вяжущего соединения, включающие, но не ограничивающиеся ими, дубильную кислоту, хлорид европия (EuCl_3), хлорид гадолиния (GdCl_3), хлорид тербия (TbCl_3), квасцы, дубильную кислоту и полифенолы (например, полифенолы чая).

[00193] Состав может содержать витамин. Витамины представляют собой органические соединения, которые необходимы для организма человека в небольших количествах для нормального функционирования. Организм использует витамины, не расщепляя их, в отличие от других питательных веществ, таких как углеводы и белки. Витамины для применения в варианте реализации включают, но не ограничиваются ими, витамин А (ретинол, ретинальдегид, ретиноевая кислота, ретиноиды, ретиналь, ретиноевая кислота), витамин D (витамины D1-D5; холекальциферол, люмистерол, эргокальциферол, дигидротахистерол, 7-дегидрохолестерол), витамин Е (токоферол, токотриенол), витамин К (филлохинон, нафтохинон), витамин В1 (тиамин), витамин В2 (рибофлавин, витамин G), витамин В3 (ниацин, никотиновая кислота, витамин РР), витамин В5 (пантотеновая кислота), витамин В6 (пиридоксин, пиридоксаль, пиридоксамин), витамин В7 (биотин, витамин Н), витамин В9 (фолиевая кислота, фолат, фолацин, витамин М, птероил-L-глутаминовая кислота), витамин В12 (кобаламин, цианокобаламин) и витамин С (аскорбиновая кислота).

[00194] Различные другие соединения были отнесены некоторыми специалистами к витаминам. Данные соединения могут быть названы псевдовитаминами и они включают, но не ограничиваются ими, соединения, такие как убихинон (кофермент Q10), пангамовую кислоту, диметилглицин, таэстрил (taestriple), амигдалин, флавоноиды, парааминобензойную кислоту, аденин, адениловую кислоту и S-метилметионин. В настоящем писании термин «витамин» включает псевдовитамины.

[00195] Состав с Ребаудиозидом D может содержать пищевое волокно. Пищевое волокно, также известное как масса или грубая пища, представляет собой часть пищи, устойчивую к гидролизу под действием пищеварительных ферментов человека, и, как правило, содержит неперевариваемую часть растительных веществ, которая движется по пищеварительной системе и стимулирует перистальтику кишечника.

[00196] Многочисленные полимерные углеводы, обладающие значительно отличающимися структурами как по составу, так и по связям, входят в определение пищевого волокна. Указанные соединения хорошо известны специалисту в данной области техники, и их неограничивающие примеры включают некрахмальные полисахариды, лигнин, целлюлозу, метилцеллюлозу, гемицеллюлозы, β -глюканы, пектины, смолы, клейкое вещество, воски, инулин, олигосахариды, фруктоолигосахариды, циклодекстрины, хитины и их комбинации.

[00197] Пищевые источники пищевого волокна, включают, но не ограничиваются ими, зерна, бобовые, фрукты и овощи. Зерна, обеспечивающие пищевым волокном, включают, но не ограничиваются ими, овес, рожь, ячмень, пшеницу. Бобовые, обеспечивающие пищевым волокном, включают, но не ограничиваются ими, горох и бобы, такие как соевые бобы. Фрукты и овощи, служащие источником волокна,

включают, но не ограничиваются ими, яблоки, апельсины, груши, бананы, ягоды, помидоры, зеленую фасоль, брокколи, цветную капусту, морковь, картофель, сельдерей. Продукты питания растительного происхождения, такие как отруби, орехи и семена (например, семена льна), также представляют собой источники пищевого волокна.

5 Части растений, обеспечивающие пищевым волокном, включают, но не ограничиваются ими, стебли, корни, листья, семена, мякоть и кожуру.

[00198] Несмотря на то, что пищевое волокно, как правило, получают из источников растительного происхождения, неперевариваемые продукты животного происхождения, такие как хитины, также относят к пищевому волокну. Хитин представляет собой
10 полисахарид, состоящий из звеньев ацетилглюкозамина, соединенных связями $\beta(1-4)$, подобными связям целлюлозы.

[00199] Состав, содержащий Ребаудиозид D, может содержать антиоксидант. Примеры подходящих антиоксидантов для вариантов реализации настоящего изобретения включают, но не ограничиваются ими, витамины, кофакторы витаминов, минералы,
15 гормоны, каротиноиды, каротиноидные терпеноиды, некаротиноидные терпеноиды, флавоноиды, флавоноидные полифенолы (например, биофлавоноиды), флавонолы, флавоны, фенолы, полифенолы, эфиры фенолов, эфиры полифенолов, нефлавоноидные фенолы, изотиоцианаты и их комбинации. В некоторых вариантах реализации антиоксидант может включать витамин А, витамин С, витамин Е, убихинон, минерал
20 селен, марганец, мелатонин, α -каротин, β -каротин, ликопин, лютеин, зеантин (zeanthin), крипоксантин, резерватол, эвгенол, кверцетин, катехин, госсипол, гесперетин, куркумин, феруловую кислоту, тимол, гидрокситирозол, куркуму, тимьян, оливковое масло, липоевую кислоту, глутатион, гуламин (gulamine), щавелевую кислоту, получаемые из токоферола соединения, бутилированный гидроксианизол, бутилированный
25 гидрокситолуол, этилендиаминтетрауксусную кислоту, трет-бутилгидрохинон, уксусную кислоту, пектин, токотриенол, токоферол, кофермент Q10, зеаксантин, астаксантин, кантаксантин, сапонины, лимонноиды, кемпферол, мирицетин, изорамнетин, проантоцианидины, кверцетин, рутин, лютеолин, апигенин, тангеритин, гесперетин, нарингенин, эриодиктиол, флаван-3-олы (например, антоцианидины), галлокатехины,
30 эпикатехин и его галлатные формы, эпигаллокатехин и его галлатные формы, теафлавин и его галлатные формы, теарубигины, изофлавоновые фитоэстрогены, генистеин, даидзеин, глицитеин, антоцианины, цианидин, дельфинидин, мальвидин, пеларгонидин, пеонидин, петунидин, эллаговую кислоту, галловую кислоту, салициловую кислоту, розмариновую кислоту, коричную кислоту и ее производные (например, феруловая
35 кислота), хлорогеновую кислоту, цикориевую кислоту, галлотанины, эллагитаннины, антоксантины, бетацианины и другие пигменты растений, силимарин, лимонную кислоту, лигнан, антипитательные вещества, билирубин, мочевую кислоту, R-альфа-липоевую кислоту, N-ацетилцистеин, эмбликанин, экстракт яблока, экстракт кожуры яблока (эпплефенон (applephenon)), экстракт ройбуша красного, экстракт ройбуша, экстракт
40 ягод боярышника зеленого, экстракт малины красной, антиоксидант сырых зерен кофе, экстракт черноплодной рябины, 20% экстракт виноградных косточек, экстракт какао, экстракт хмеля, экстракт мангустина, экстракт кожуры мангустина, экстракт клюквы, экстракт граната, экстракт кожуры граната, экстракт зерен граната, экстракт ягод боярышника, экстракт граната romella, экстракт коры коричневого дерева, экстракт
45 кожуры винограда, экстракт черники, экстракт коры сосны, пикногенол, экстракт ягод бузины, экстракт корня тутового дерева, экстракт дерезы (gogi), экстракт ежевики, экстракт голубики, экстракт листьев голубики, экстракт малины, экстракт куркумы, цитрусовые биофлавоноиды, черную смородину, имбирь, порошок асаи, экстракт

сырых кофейных бобов, экстракт зеленого чая и фитиновую кислоту или их комбинации. В альтернативных вариантах реализации антиоксидант может включать синтетический антиоксидант, такой как бутилированный гидрокситолуол или бутилированный гидроксианизол, например. Другие источники подходящих антиоксидантов для вариантов реализации настоящего изобретения включают, но не ограничиваются ими, фрукты, овощи, чай, какао, шоколад, специи, травы, рис, субпродукты скота, дрожжи, цельные зерна или зерна хлебных злаков.

[00200] Некоторые антиоксиданты относятся к классу фитодобавок, называемых полифенолами, которые представляют собой группу химических веществ, обнаруживаемых в растениях, характеризующихся наличием более одной фенольной группы в молекуле. Полифенолы могут давать различную пользу для здоровья, включая предупреждение рака, заболевания сердца и хронического воспалительного заболевания и повышение умственной устойчивости и физической силы, например. Подходящие полифенолы для вариантов реализации настоящего изобретения включают катехины, проантоцианидины, процианидины, антоцианины, кверцетин, рутин, резерватрол, изофлавоны, куркумин, пуникалагин, эллагитаннин, гесперидин, нарингин, цитрусовые флавоноиды, хлорогеновую кислоту, другие подобные вещества и их комбинации.

[00201] Подходящие источники катехинов для вариантов реализации настоящего изобретения включают, но не ограничиваются ими, зеленый чай, белый чай, черный чай, оолонг, шоколад, какао, красное вино, виноградные косточки, кожуру красного винограда, кожуру фиолетового винограда, сок красного винограда, сок фиолетового винограда, ягоды, пикногенол и кожуру красного яблока. Подходящие источники таких антиоксидантов как проантоцианидины и процианидины для вариантов реализации настоящего изобретения включают, но не ограничиваются ими, красный виноград, фиолетовый виноград, какао, шоколад, виноградные косточки, красное вино, какао-бобы, клюкву, кожуру яблока, сливу, голубику, черную смородину, черноплодную рябину, зеленый чай, сорго, корицу, ячмень, красную фасоль, фасоль Пинто, хмель, миндаль, лесные орехи, орех-пекан, фисташки, пикногенол и ягоды яркого цвета.

Подходящие источники антоцианинов для вариантов реализации настоящего изобретения включают, но не ограничиваются ими, красные ягоды, голубику, чернику, клюкву, малину, вишню, гранат, клубнику, ягоды бузины, черноплодную рябину, кожуру красного винограда, кожуру фиолетового винограда, виноградные косточки, красное вино, черную смородину, красную смородину, какао, сливу, кожуру яблока, персик, красную грушу, красную капусту, красный лук, красный апельсин и ежевику.

Подходящие источники кверцетина и рутина для вариантов реализации настоящего изобретения включают, но не ограничиваются ими, красные яблоки, лук, капусту, голубику, бруснику, черноплодную рябину, клюкву, ежевику, голубику, клубнику, малину, черную смородину, зеленый чай, черный чай, сливу, абрикос, петрушку, лук-порей, брокколи, перец чили, ягодное вино и гинкго. Подходящие источники

ресвератрола для вариантов реализации настоящего изобретения включают, но не ограничиваются ими, красный виноград, арахис, клюкву, голубику, чернику, тутовую ягоду, японский чай Itadori и красное вино. Подходящие источники изофлавонов для вариантов реализации настоящего изобретения включают, но не ограничиваются ими, соевые бобы, соевые продукты, бобовые, рыльца люцерны, нут, арахис и красный клевер.

Подходящие источники куркумина для вариантов реализации настоящего изобретения включают, но не ограничиваются ими, куркуму и горчицу. Подходящие источники пуникалагина и эллагитаннина для вариантов реализации настоящего изобретения включают, но не ограничиваются ими, гранат, малину, клубнику, грецкий

орех и выдержанное в дубовой бочке красное вино. Подходящие источники цитрусовых флавоноидов, таких как гесперидин или нарингин, для вариантов реализации настоящего изобретения включают, но не ограничиваются ими, апельсины, грейпфруты и цитрусовые соки. Подходящие источники хлорогеновой кислоты для вариантов реализации настоящего изобретения включают, но не ограничиваются ими, сырые зерна кофе, мате, красное вино, виноградные косточки, кожуру красного винограда, кожуру фиолетового винограда, сок красного винограда, сок фиолетового винограда, яблочный сок, клюкву, гранат, голубику, клубнику, подсолнечник, эхинацею, пикногенол и кожуру яблока.

10 [00202] Композиция Ребаудиозида D может содержать жирные кислоты. В настоящем описании термин «жирная кислота» относится к любой монокарбоновой кислоте с линейной цепью и включает насыщенные жирные кислоты, ненасыщенные жирные кислоты, длинноцепочечные жирные кислоты, среднецепочечные жирные кислоты, короткоцепочечные жирные кислоты, предшественники жирных кислот (включая предшественников жирной кислоты омега-3) и этерифицированные жирные кислоты. В настоящем описании термин «длинноцепочечная полиненасыщенная жирная кислота» относится к любой полиненасыщенной карбоновой кислоте или органической кислоте с длинным алифатическим хвостом. В настоящем описании термин «жирная кислота омега-3» относится к любой полиненасыщенной жирной кислоте, содержащей первую двойную связь в качестве третьей связи углерод-углерод с терминального метильного конца углеродной цепи. В конкретных вариантах реализации жирная кислота омега-3 может включать длинноцепочечную жирную кислоту омега-3. В настоящем описании термин «жирная кислота омега-6» относится к любой полиненасыщенной жирной кислоте, содержащей первую двойную связь в качестве шестой связи углерод-углерод с терминального метильного конца углеродной цепи.

[00203] Композиция с Ребаудиозидом D может содержать соль. Термин «соль» также относится к комплексам, которые поддерживают необходимую химическую активность улучшающих сладкий вкус композиций согласно настоящему изобретению и безопасны для употребления человеком или животным в общеприемлемом диапазоне. Также могут быть получены соли щелочных металлов (например, натрия или калия) или щелочноземельных металлов (например, кальция или магния). Соли также могут включать комбинации щелочных и щелочноземельных металлов. Неограничивающими примерами указанных солей являются (а) соли присоединения кислоты, образованные неорганическими кислотами и соли, образованные органическими кислотами; (б) соли присоединения основания, образованные катионами металлов, таких как кальций, висмут, барий, магний, алюминий, медь, кобальт, никель, кадмий, натрий, калий и т.д., или катионом, образованным из аммиака, N,N-добензилэтилендиамина, D-глюкозамина, тетраэтиламмония или этилендиамина; или (с) комбинации (а) и (б). Таким образом, любые формы соли, которые могут быть получены из улучшающих сладкий вкус композиций, могут быть использованы согласно вариантам реализации настоящего изобретения, при условии, что соли улучшающих сладкий вкус добавок не оказывают отрицательного влияния на вкус композиций подсластителя, содержащих по меньшей мере один натуральный и/или синтетический высокоэффективный подсластитель. Солевые формы добавок могут быть добавлены в композицию натурального и/или синтетического подсластителя в тех же количествах, что и их кислотные или основные формы.

[00204] В конкретных вариантах реализации подходящие неорганические соли, применяемые в вариантах реализации настоящего изобретения, включают, но не

ограничиваются ими, хлорид натрия, хлорид калия, сульфат натрия, цитрат калия, хлорид европия (EuCl_3), хлорид гадолиния (GdCl_3), хлорид тербия (TbCl_3), сульфат магния, квасцы, хлорид магния, моно-, ди-, триосновные натриевые или калиевые соли фосфорной кислоты (например, неорганические фосфаты), соли соляной кислоты (например, неорганические хлориды), карбонат натрия, бисульфат натрия и бикарбонат натрия. Кроме того, в конкретных вариантах реализации подходящие органические соли, подходящие в качестве улучшающих сладкий вкус добавок, включают, но не ограничиваются ими, холинхлорид, натриевую соль альгиновой кислоты (альгинат натрия), натриевую соль глюкогептоновой кислоты, натриевую соль глюконовой кислоты (глюконат натрия), калиевую соль глюконовой кислоты (глюконат калия), гуанидин HCl , глюкозамин HCl , амилорид HCl , глутамат мононатрия, соль аденозинмонофосфат, глюконат магния, тартрат калия (моногидрат) и тартрат натрия (дигидрат).

[00205] Композиция Ребаудиозида D, полученная согласно настоящему изобретению, может быть применена в качестве высокоинтенсивного подсластителя для получения некалорийных, со сниженным содержанием калорий или диабетических напитков и продуктов питания, обладающих улучшенными вкусовыми характеристиками. Также она может быть использована в напитках, продуктах питания, фармацевтических препаратах и других продуктах, в которых сахар не может быть использован.

[00206] Кроме того, композиция Ребаудиозида D может быть применена в качестве подсластителя не только для напитков, продуктов питания и других продуктов, предназначенных для потребления человеком, но также в корме для животных и корме для скота с улучшенными характеристиками.

[00207] Примерами продуктов, в которых композиции Ребаудиозида D могут быть применены в качестве подслащивающего соединения, могут быть алкогольные напитки, такие как водка, вино, пиво, ликер, sake и т.д.; натуральные соки, прохладительные напитки, газированные безалкогольные напитки, диетические напитки, бескалорийные напитки, напитки и продукты питания со сниженным содержанием калорий, йогуртовые напитки, быстрорастворимые соки, растворимый кофе, порошкообразные виды быстрорастворимых напитков, консервированные продукты, сиропы, ферментированная соевая паста, соевый соус, уксус, соусы, майонез, кетчупы, карри, суп, быстрорастворимый бульон, порошкообразный соевый соус, порошкообразный уксус, виды печенья, рисовое печенье, крекеры, хлеб, шоколадные конфеты, карамель, конфеты, жевательная резинка, желе, пудинг, консервированные фрукты и овощи, свежие сливки, джем, мармелад, цветочная паста, сухое молоко, мороженое, шербет, овощи и фрукты в бутылках, консервированные и отварные бобы, сваренные в подслащенном соусе мясо и продукты, сельскохозяйственные растительные продукты питания, морепродукты, ветчина, колбаса, рыбная ветчина, рыбная колбаса, рыбный паштет, жареные во фритюре рыбные продукты, сушеные морепродукты, замороженные продукты питания, консервированные морские водоросли, консервированное мясо, табак, лекарственные средства и многие другие. В принципе, указанная композиция может иметь неограниченное применение.

[00208] Подслащиваемая композиция включает напиток, неограничивающие примеры которого включают негазированные и газированные напитки, такие как колы, имбирные эли, рутбир, сидр, безалкогольные напитки с ароматом фруктов (например, безалкогольные напитки с ароматом цитрусовых, такие как напитки лимон-лайм или апельсиновые напитки), порошкообразные безалкогольные напитки и т.д.; фруктовые соки из фруктов или овощей, фруктовые соки, включающие полученные прессованием

соки и т.д., фруктовые соки, содержащие частицы фруктов, фруктовые напитки, напитки с фруктовым соком, напитки, содержащие фруктовые соки, напитки с фруктовыми ароматизаторами, овощные соки, соки, содержащие овощи, и смешанные соки, содержащие фрукты и овощи; спортивные напитки, энергетические напитки, напитки near water (минеральная вода + сладкая вода) и подобные напитки (например, вода с натуральными или синтетическими ароматизаторами); вид чая или любимые виды напитков, такие как кофе, какао, черный чай, зеленый чай, оолонг и т.д.; напитки, содержащие молочные компоненты, такие как молочные напитки, кофе, содержащий молочные компоненты, кофе с молоком, чай с молоком, фруктовые молочные напитки, 5 питьевой йогурт, напитки с молочнокислыми бактериями и т.д., и молочные продукты.

[00209] Как правило, количество подсластителя, присутствующее в подслащенной композиции, широко варьируется в зависимости от конкретного вида подслащенной композиции и необходимой сладости. Специалист в данной области техники может легко определить подходящее количество подсластителя для включения в 15 подслащиваемую композицию.

[00210] В подробном описании приведены и описаны только некоторые типичные варианты реализации настоящего изобретения в качестве иллюстрации. Для специалиста в данной области техники очевидно, что настоящее изобретение может быть реализовано во многих различных формах и не должно рассматриваться как ограничиваемое 20 вариантами реализации, указанными в настоящем описании.

[00211] Подсластитель, получаемый согласно настоящему изобретению, может быть применен в сухих или жидких формах. Он может быть добавлен до или после термической обработки продуктов питания. Количество подсластителя зависит от цели применения. Он может быть добавлен отдельно или в комбинации с другими 25 соединениями.

[00212] В ходе производства пищевых продуктов, напитков, фармацевтических препаратов, косметических средств, столовых продуктов, жевательной резинки могут быть использованы традиционные способы, такие как смешивание, растирание, 30 растворение, консервирование, инфильтрация, перколяция, опрыскивание, распыление, настаивание и другие способы.

[00213] Таким образом, композиции согласно настоящему изобретению могут быть получены любым способом, известным специалисту в данной области, обеспечивающим 35 гомогенные или однородные смеси компонентов. Данные способы включают сухое смешивание, сушку распылением, агломерацию, влажную грануляцию, компактирование, со-кристаллизацию и т.д.

[00214] В твердой форме подслащивающая композиция согласно настоящему изобретению может быть предложена потребителям в любой форме, подходящей для доставки в подслащиваемый пищевой продукт, включая саше, пакеты, мешки для сыпучих веществ или коробки, кубики, таблетки, аэрозоли или растворимые пластины. 40 Композиция может быть доставлена в виде разовой дозы или в объемном виде.

[00215] Для жидких систем и композиций подсластителя должны быть разработаны удобные варианты жидких, полужидких, пастообразных и кремообразных форм, подходящая упаковка с использованием соответствующего упаковочного материала в любом виде или форме, которая удобна для переноса или дозирования, или хранения, 45 или транспортировки любой комбинации, содержащей любой из указанных выше продуктов подсластителей или комбинацию продукта, полученного выше.

[00216] Проводимые исследования продемонстрировали, что комбинация Ребаудиозида D с другими стевииол-гликозидами, натуральными высокоинтенсивными

подсластителями и искусственными высокоинтенсивными подсластителями позволяет получать подслащивающую композицию, обладающую улучшенным вкусовым профилем.

5 [00217] Ребаудиозид D и другие высокоинтенсивные подсластители смешивали в различных смесях, в которых вклад Ребаудиозид D в сладость композиции составлял от 10% до 90%.

[00218] Чем выше было содержание Ребаудиозид D в смеси, тем значительнее было улучшающее действие.

10 [00219] Композиция может содержать различные наполнители, функциональные компоненты, красители, ароматизаторы.

[00220] Следующие примеры иллюстрируют предпочтительные варианты реализации настоящего изобретения для выделения и очистки Ребаудиозид D и родственных соединений и их применения в продуктах питания и фармацевтических препаратах. Очевидно, что настоящее изобретение не ограничивается веществами, соотношениями, 15 условиями и процедурами, указанными в примерах, которые носят только иллюстративный характер.

ПРИМЕР 1

Очистка Ребаудиозид D

[00221] Один кг экстракта Стевии, содержащего Стевиозид - 25,40%, Ребаудиозид А 20 - 59,14%, Ребаудиозид С - 9,71%, Ребаудиозид D - 2,03%, Ребаудиозид В - 0,56%, Ребаудиозид Е - 0,68%, Ребаудиозид F - 1,02%, Стевиолбиозид - 0,11% и Дулькозид А - 1,35%, растворяли в 3000 мл 95% этилового спирта и выдерживали при 80°C, в течение 35 минут, а затем при 15°C в течение 12 часов при перемешивании. Когда температура достигала 22°C, 1,0% высокоочищенного Ребаудиозид А добавляли к реакционной 25 смеси в качестве инициатора для начала кристаллизации.

[00222] Осадок отделяли путем фильтрования и промывали примерно двумя объемами 99,5% этанола.

[00223] Выход кристаллического вещества составлял 47,1% с содержанием Стевиозид (8,8%), Ребаудиозид А (81,7%), Ребаудиозид С (5,1%), Ребаудиозид D (3,3%), 30 Ребаудиозид В (0,1%), Ребаудиозид Е (0,3%), Ребаудиозид F (0,4%) и Дулькозид А (0,3%).

[00224] Оставшийся раствор содержит Стевиозид (40,2%), Ребаудиозид А (39,1%), Ребаудиозид С (13,8%), Ребаудиозид D (0,9%), Ребаудиозид В (1,0%), Ребаудиозид Е (1,0%), Ребаудиозид F (1,6%), Стевиолбиозид (0,2%) и Дулькозид А (2,3%), и может быть 35 применен для выделения Ребаудиозид А или высокоочищенной смеси стевиолгликозидов.

[00225] Осадок смешивали с 3,5 объемами 77,7% этанола и инкубировали при 50°C в течение 3 часов при перемешивании. Затем смесь охлаждали до комнатной температуры и осадок отделяли путем фильтрования. Выход кристаллов составлял 40 примерно 14%, и получали 65,9 г продукта с содержанием Стевиозид (1,4%), Ребаудиозид А (72,8%), Ребаудиозид С (1,5%), Ребаудиозид D (21,4%), Ребаудиозид В (0,1%), Ребаудиозид Е (2,1%) и Ребаудиозид F (0,7%).

[00226] Содержание различных гликозидов в фильтрате было следующим: Стевиозид (10,0%), Ребаудиозид А (83,15%), Ребаудиозид С (5,69%), Ребаудиозид D (0,35%), 45 Ребаудиозид В (0,1%), Ребаудиозид Е (0,01%), Ребаудиозид F (0,35%) и Дулькозид А (0,35%).

[00227] Для дополнительной очистки Ребаудиозид D осадок суспендировали в 50% этаноле в соотношении 1:2 масс./об. и выдерживали в течение 12 часов при 35°C при

перемешивании. Суспензию фильтровали и осадок сушили. Выход осадка составлял примерно 23% и осадок содержал Стевиозид (0,8%), Ребаудиозид А (16,2%), Ребаудиозид С (0,7%), Ребаудиозид D (81,6%), Ребаудиозид Е (0,5%) и Ребаудиозид F (0,2%). На данном этапе получали примерно 15,2 г сухого вещества.

5 [00228] Содержание различных гликозидов в полученном фильтрате было следующим: Стевиозид (1,6%), Ребаудиозид А (89,7%), Ребаудиозид С (1,7%), Ребаудиозид D (3,4%), Ребаудиозид В (0,1%), Ребаудиозид Е (2,6%) и Ребаудиозид F (0,8%). Его смешивали с фильтратом, полученным на предыдущем этапе.

10 [00229] Осадок подвергали аналогичной обработке 50% раствором этанола с получением продукта с содержанием 3,8% Ребаудиозида А и 95,7% Ребаудиозида D. Указанный продукт также содержит Стевиозид, Ребаудиозид С и Ребаудиозид F, каждый по 0,1%, а также 0,2% Ребаудиозида Е. Выход данного продукта составлял примерно 75%, и получали примерно 11,4 г кристаллов.

15 [00230] Количество фильтрата на данном этапе составляло примерно 3,8 г с 39,3% и 53,4% Ребаудиозида D и Ребаудиозида А соответственно.

[00231] Полученный Ребаудиозид D растворяли в 2 объемах 30% метанола и обрабатывали 0,3% активированным углем при 60°C в течение 30 минут, затем подвергали горячему фильтрованию. Ребаудиозид D самопроизвольно осаждался после фильтрации.

20 [00232] Кристаллы отделяли путем фильтрования и сушили при 80°C в течение 12 часов. Выход осадка составлял примерно 8,8 г и осадок содержал 98,4% Ребаудиозида D по массе сухого вещества.

[00233] Объединенный фильтрат со второго и третьего этапа осаждения составлял 455,8 г и содержал Стевиозид (9,1%), Ребаудиозид А (83,9%), Ребаудиозид С (5,2%),
25 Ребаудиозид D (0,7%), Ребаудиозид В (0,1%), Ребаудиозид Е (0,3%), Ребаудиозид F (0,4%) и Дулькозид А (0,3%). Его смешивали с 1% Ребаудиозидом А в качестве инициатора и оставляли кристаллизоваться при 22°C в течение 12 часов. Кристаллы отделяли путем фильтрования и промывали примерно двумя объемами этанола. Содержание Ребаудиозида А в кристаллах составляло 98,8% по массе сухого вещества. После сушки
30 количество составляло 273,5 г.

[00234] Чистоту Ребаудиозида D определяли с использованием ВЭЖХ, которую осуществляли с использованием колонки ZORBAX NH₂ (150×4,6 мм, 5 мкм) при температуре 30°C. Подвижная фаза содержала раствор 20% буфера (0,0125% уксусная кислота и 0,0125% ацетат аммония) и 80% ацетонитрила при скорости потока, равной
35 1,0 мл/мин. 12 мкл каждого образца вводили в двух повторностях и образец анализировали с использованием УФ-детектора при 210 нм (ширина полосы 4 нм) с эталоном при 260 нм (ширина полосы 100 нм). Для анализа было необходимо время в диапазоне от 40 до 60 минут.

[00235] Буферный раствор 0,0125% уксусной кислоты и 0,0125% ацетата аммония
40 получали путем растворения 0,125 г ацетата аммония и 125 мкл ледяной уксусной кислоты в одном литре воды. Время удерживания Ребаудиозида В регулировали путем варьирования соотношения ацетата аммония и уксусной кислоты при сохранении общего 0,025% обоих веществ суммарно. Увеличение количества уксусной кислоты уменьшало время удерживания Ребаудиозида В.

45 [00236] Разбавляющий раствор получали путем смешивания 500 мл этилового спирта и 500 мл буферного раствора. Стандартные растворы Ребаудиозида D получали путем разбавления 10,0±0,5 мг (зафиксировано с точностью до 0,1 мг) стандарта Ребаудиозида D 4 мл разбавляющего раствора с получением стандартного раствора приблизительно

2500 мг/л. Указанный стандартный раствор Ребаудиозида D вводили в количестве 10,8, 11,4, 12,6 и 13,2 мкл. Содержание влаги измеряли путем анализа Карла Фишера каждый раз, когда получали стандартный раствор, и корректировали исходя из чистоты растворителя в соответствии с сертификатом анализа.

5 [00237] Стандартные растворы Стевиозида получали путем разбавления $12,5 \pm 0,5$ мг (зафиксировано с точностью до 0,1 мг) стандарта Стевиозида 5 мл разбавляющего раствора с получением стандартного раствора приблизительно 2500 мг/л (исходный раствор А) (корректирование влаги и чистоты). Затем указанный стандартный раствор Стевиозида разбавляли с использованием одного мл исходного раствора А до 10 мл
10 разбавителя с получением стандартного раствора 250 мг/л (исходный раствор В) и исходные стандартные растворы разбавляли до конечных концентрация в диапазоне от 2,5 до 50 мг/л.

[00238] Образцы композиций Ребаудиозида D получали путем разбавления 125 ± 2 мг (зафиксировано с точностью до 0,1 мг) композиции Ребаудиозида D 50 мл
15 разбавляющего раствора с получением раствора образца приблизительно 2500 мг/л (корректирование влаги). Индивидуально полученные образцы в двух повторах вводили в количестве 12 мкл. Если указанные образцы сразу не анализировали, их хранили без свободного пространства над ними, в атмосфере азота и в сухом состоянии.

[00239] В ТАБЛИЦЕ 11 приведены рекомендации по времени удерживания
20 Ребаудиозида D и других стевиол-гликозидов. Однако для специалиста в данной области техники очевидно, что время удерживания может быть модифицировано при необходимости.

		ТАБЛИЦА 11
	Соединение	Время удерживания ВЭЖХ, мин
25	Стевиозид	5,4
	Ребаудиозид А	7,8
	Ребаудиозид В	28,6
	Ребаудиозид С	6,0
	Ребаудиозид D	15,7
30	Ребаудиозид E	10,7
	Ребаудиозид F	6,4
	Стевиолбиозид	17,7
	Дулькозид А	4,5
	Рубузозид	3,0

ПРИМЕР 2

35 Низкокалорийный напиток на основе апельсинового сока

[00240] 60 г концентрированного апельсинового сока смешивали с 1,1 г лимонной кислоты, 0,24 г витамина С, 1,0 г апельсиновой эссенции, 0,76 г Ребаудиозида D и водой с получением однородно растворенной смеси в общем количестве 1000 мл. Затем
40 указанную смесь пастеризовали в течение 20 секунд при примерно 95°C для получения апельсинового сока, аналогичного соку, полученному традиционным способом. Продукт обладал отличным вкусовым профилем.

[00241] Соки из других фруктов, таких как яблоко, лимон, абрикос, вишня, ананас и т.д., могут быть получены с использованием того же подхода.

ПРИМЕР 3

45 Мороженое

[00242] 1,50 кг цельного молока нагревали до 45°C и к молоку добавляли 300 грамм молочных сливок, 100 грамм тагатозы, 90 грамм сорбитола, 6 грамм каррагинана в качестве стабилизатора, 3 грамма полисорбата-80 в качестве эмульгатора и 1,0 грамм

Ребаудиозида D как в ПРИМЕРЕ 10, и перемешивали до полного растворения компонентов. Затем смесь пастеризовали при температуре 80°C в течение 25 секунд. После гомогенизации образцы выдерживали при температуре 4°C в течение 24 часов для завершения процесса созревания. После созревания к смеси добавляли ванильный ароматизатор (1,0% от массы смеси) и краситель (0,025% от массы смеси). Затем смесь переносили в мороженицу для автоматического получения мороженого. Образцы полученного мороженого переносили в герметичные контейнеры и хранили в морозильной камере при температуре -18°C.

[00243] Применение подсластителей не влияет на физико-химические свойства мороженого, а также общие свойства цвета, гладкости, структуры поверхности, воздушной полости, интенсивности аромата ванили, вкуса ванили, «выбеленности», льдистой структуры и скорости таяния.

ПРИМЕР 4

Йогурт

[00244] В 1 кг обезжиренного молока растворяли 0,8 грамма Ребаудиозида D высокой чистоты, полученного согласно настоящему изобретению. После пастеризации при 82°C в течение 20 минут, молоко охлаждали до 40°C. Добавляли закваску в количестве 30 грамм и смесь инкубировали при 37°C в течение 6 часов. Затем ферментированную массу выдерживали при 10-15°C в течение 12 часов.

[00245] Продукт представляет собой низкокалорийный и малокариесогенный йогурт без постороннего вкуса и запаха.

ПРИМЕР 5

Холодный лимонный чай

[00246] Формула указанного напитка была следующей:

25

Компоненты	Количество, %
Ребаудиозид D высокой чистоты	0,08
Бензоат натрия	0,02
Лимонная кислота	0,27
Аскорбиновая кислота	0,01
30 Экстракт чая	0,03
Лимонный ароматизатор	0,10
Вода	до 100

[00247] Все компоненты смешивали и растворяли в воде, и пастеризовали. Продукт обладает отличным вкусом и ароматом.

ПРИМЕР 6

Хлеб

[00248] 1 кг муки, 37,38 грамм сиропа фруктоолигосахарида, 80 грамм маргарина, 20 грамм соли, 20 грамм дрожжей и 0,25 грамма Ребаудиозида D высокой чистоты, полученного согласно настоящему изобретению, помещали в смеситель и хорошо смешивали. В смесь вливали 600 мл воды и замешивали в достаточной степени. По завершении процесса замешивания, тесто формовали и оно поднималось в течение 30-45 минут. Готовое тесто помещали в духовку и выпекали в течение 45 минут. Образцы хлеба обладали кремово-белым цветом и гладкой структурой.

ПРИМЕР 7

Диетическое печенье

[00249] Муку, 50,0%; маргарин, 30,0%; фруктозу, 10,0%; мальтит, 8,0%; цельное молоко, 1,0%, соль, 0,2%; разрыхлитель, 0,15%; ванилин, 0,1%; Ребаудиозид D, 0,55%; полученный согласно настоящему изобретению, хорошо замешивали в тестомесильной

машине. После формования теста печенье выпекали при 200°C в течение 15 минут.

[00250] Продукт представляет собой низкокалорийное диетическое печенье, обладающее отличным вкусом и подходящей сладостью.

ПРИМЕР 8

5 Соевый соус

[00251] 0,8 г Ребаудиозида D добавляли к 1000 мл соевого соуса и смешивали до гомогенности. Продукт обладал отличным вкусом и структурой.

[00252] ПРИМЕР 9

Зубная паста

10 [00253] Зубную пасту получали путем перемешивания композиции, содержащей фосфат кальция, 45,0%; карбоксиметилцеллюлозу, 1,5%; каррагинан, 0,5%, глицерин, 18,0%; полиоксиэтилена сорбитан моноэфир, 2,0%; бета-циклодекстрин, 1,5%; лаурилсаркозинат натрия, 0,2%; ароматизатор, 1,0%; консервант, 0,1%; Ребаудиозид D, полученный согласно настоящему изобретению, 0,2%; и воду до 100%, обычным
15 способом. Продукт обладает хорошим ценообразованием и чистящими свойствами, и подходящей сладостью.

[00254] ПРИМЕР 10

Торт

[00255] 123 г куриных яиц, 45 г сахара, 345 г жидкости сорбита, 2,0 г эфира сахарозы
20 и жирной кислоты, 0,35 г Ребаудиозида D с 95% чистотой смешивали с 100 г пшеничной муки и 200 г воды для приготовления торта в соответствии с традиционным способом. Продукт обладал отличным вкусом с оптимальным сладким ароматом.

[00256] ПРИМЕР 11

[00257] Низкокалорийный газированный напиток

25 [00258] Формула указанного напитка была следующей:

Компоненты	Количество, %
Ароматизатор колы	0,340
Фосфорная кислота (85%)	0,100
30 Цитрат натрия	0,310
Бензоат натрия	0,018
Лимонная кислота	0,018
Подсластитель	0,030
Газированная вода	до 100

[00259] Напитки, полученные с использованием разных подсластителей, давали 10
35 экспертам для сравнения.

[00260] В ТАБЛИЦЕ 12 представлены результаты.

ТАБЛИЦА 12		
Пункт сравнения	Ребаудиозид D 80,0%	Ребаудиозид D 98,9%
40 Горький вкус	3	0
Вяжущий вкус	3	0
Послевкусие	3	0
Качество сладкого вкуса	Сладкий, некоторая горечь в послевкусии (5 из 10 экспертов)	Чистый (10 из 10 экспертов)
Общая оценка	Удовлетворительная (8 из 10 экспертов)	Удовлетворительная (10 из 10 экспертов)

45 [00261] Приведенные выше результаты показывают, что напитки, полученные с использованием высокоочищенного Ребаудиозида D, обладают хорошими органолептическими характеристиками.

[00262] ПРИМЕР 12

[00263] Шоколад

[00264] Композицию, содержащую 30 кг тертого какао, 11,5 кг масла какао, 14 кг сухого молока, 44 кг сорбита, 0,1 кг соли и 0,1 кг Ребаудиозида D высокой чистоты, перемешивали в достаточной степени, а затем смесь помещали в мельницу с уменьшением размера частиц на 24 часа. После этого, содержимое переносили в конш-

5 машину, добавляли 300 грамм лецитина и композицию перемешивали при 50°C в течение 48 часов. Затем содержимое помещали в устройство для формования и отверждали.

[00265] Продукты представляют собой малокариесогенный и низкокалорийный шоколад с отличной структурой. Кроме того, органолептический анализ, проведенный с участием 20 членов дегустационной комиссии, не выявил длительного послевкуся.

10 Самыми хорошими были продукты с Ребаудиозидом D, обладающим по меньшей мере 95% чистотой.

[00266] ПРИМЕР 13

[00267] Столовая таблетка

[00268] Смесь, содержащую 58,5% лактозы, 10% силиката кальция, 5% кроскармеллозы, 5% L-лейцина, 1% аэрозоля 200, 0,5% стеарата магния и 20% Ребаудиозида D, перемешивали в достаточной степени. Затем указанную смесь формовали с использованием таблетировочной машины, оснащенной перфораторами с 6,2 мм диаметром, с получением таблеток по 70 мг каждая, толщиной 3,0 мм и с твердостью 10±1 кг.

20 [00269] Данные таблетки можно легко применять благодаря их подходящей сладости. Однако составы с использованием Ребаудиозида D низкого качества были слегка клейкими и обладали растворимостью примерно 3-4 минуты в воде при 25°C. Таблетки, полученные с высокоочищенным Ребаудиозидом D, демонстрируют самые лучшие характеристики и обладают растворимостью примерно 20-30 секунд.

25 [00270] Следует понимать, что приведенные описания и конкретные варианты реализации, представленные в настоящей заявке, лишь иллюстрируют наилучший вариант реализации данного изобретения и его принципы, и что модификации и дополнения могут быть легко выполнены специалистом в данной области техники в пределах сущности и объема настоящего изобретения, который следует рассматривать, таким образом, как ограниченный только объемом прилагаемой формулы изобретения.

30

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

[00271] Kovylyayeva, G.I., Bakaleinik, G.A., Strobykina, I.Y., Gubskaya, V.I., Sharipova, R.R., Alfonsov, V.A., Kataev, V.E., and Tolstikov, A.G. 2007. Glycosides from *Stevia rebaudiana*. *Chemistry of Natural Compounds*. V.43, No.1, 81-85.

35 [00272] Kohda, H., Kasai, R., Yamazaki, K., Murakami, K., and Tanaka, O. 1976. New sweet diterpene glucosides from *Stevia rebaudiana*. *Phytochemistry*. V.15, 981-983.

[00273] Starratt, A.N., Kirbi, C.W., Pocs, R., and Brandle J.E. 2002. Rebaudioside F, a diterpene glycoside from *Stevia rebaudiana*. *Phytochemistry*. V.59, 367-370.

[00274] Kobayashi, M., Horikawa, S., Dergandi, I.H., Ueno, J., and Mitsunashi, H. 1977.

40 Dulcoside A and B, New diterpene glycosides from *Stevia rebaudiana*. *Phytochemistry*. V/16. 1405-1408.

[00275] Shi, R., Xu, M., Shi, Z., Fan, Y., Guo, X., Liu, Y., Wang, C., and He, B. 2002. Synthesis of bifunctional polymeric adsorbent and its application in purification of *Stevia* glycosides. *Reactive & Functional Polymers*. V.50. 107-116

45 [00276] Chen, T., Zhang, Y., Liu, X., Shi, Z., Sun, J. and He, B. 1998. *Science in China*. V.41. №4. 436-441.

[00277] Chen, T., Zhang, Y., Liu, X., Shi, Z., Sun, J. and He, B. 1999. *Science in China*. V.42. №3. 277-282.

[00278] Fuh, W-S., Chiang, B-H. 1990. Purification of steviosides by membrane and ion exchange process. *Journal of Food Science*. V.55. №5. 1454-1457.

[00279] Zhang, S.Q., Kumar, A., Kutowy, O. 2000. Membrane-based separation scheme for processing sweetener from *Stevia* leaves. *Food Research International*. V.33. 617-620.

5 [00280] Liu, Y., Yiming, C., Lining, W., and J.Jianhua. 1991. Study of stevioside preparation by membrane separation process. *Desalination*. V.83. 375-382.

[00281] Chen, T., Zhang, Y., Liu, X., and He, B. 1999. Studies on the adsorptive selectivity of the polar resin with carbonyl group on rebaudioside A. *Acta Polymeric Scnica*. №4. 398-403.

10 [00282] Moraes, E., Machado., N.R. 2001. Clarification of *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni extract by adsorption in modified zeolites. *Acta Scientiarum*. V.23. №6. 1375-1380.

[00283] Montovaneli, I.C.C., Ferretti, E.C., Simxes, M.R., and C. Silva. 2004. The effect of temperature and flow rate on the clarification of the aqueous *Stevia*-extract in fixed-bed column with zeolites. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*. V.21. №3. 449-458.

15 [00284] Pol, J., Ostra, E.V., Karasek, P., Roth, M., Benesova, K., Kotlarikova, P., and J.Caslavsky. 2007. V.388. 1847-1857.

[00285] Bandna, V.J., Singh, B., and V.K.Kaul. 2009. An efficient microwave-assisted extraction process of stevioside and rebaudioside A from *Stevia rebaudiana* (Bertoni). *Phytochemical Analysis*. V.20. 240-245.

20 [00286] Teo, C.C., Tan, S.N., Yong, J.W.H., Hew, C.S., and E.S. Ong. 2009. Validation of green-solvent extraction combined with chromatographic chemical fingerprint to evaluate quality of *Stevia rebaudiana* Bertoni. *J.Sep.Sci*. V.32. 613-622.

[00287] Yoda, S.K., Marques, M.O.M., Ademir J. Petenate, A.J., and M. A. Meireles. 2003. Supercritical fluid extraction from *Stevia rebaudiana* Bertoni using CO₂ and CO₂+ water: extraction kinetics and identification of extracted components. *Journal of Food Engineering*. V.57. 125-134.

25

Формула изобретения

1. Способ очистки Ребаудиозида D из экстракта *Стевии*, включающий следующие этапы:

а) обеспечение экстракта растения *Stevia rebaudiana* Bertoni;

30 б) растворение указанного экстракта в первом водном растворе органического растворителя с получением первой смеси стевииол-гликозидов, где указанный органический растворитель выбран из группы, состоящей из метанола, этанола и смеси указанных веществ, и концентрация указанного органического растворителя составляет 75-99 об.%;

35 в) индуцирование кристаллизации в первой смеси;

д) фильтрование указанной смеси со стадии (в) с получением первого осадка и первого фильтрата;

40 е) растворение первого осадка во втором водном растворе органического растворителя с получением второй смеси, где указанный органический растворитель выбран из группы, состоящей из метанола, этанола и смеси указанных веществ, и концентрация указанного органического растворителя составляет 70-80 об.%;

ф) индуцирование кристаллизации во второй смеси;

г) фильтрование указанной смеси со стадии (е) с получением второго осадка и второго фильтрата;

45 з) растворение второго осадка в третьем водном растворе органического растворителя с получением третьей смеси, где указанный органический растворитель выбран из группы, состоящей из метанола, этанола и смеси указанных веществ, и концентрация указанного органического растворителя составляет 10-80 об.%;

i) индуцирование кристаллизации в третьей смеси и
j) фильтрование указанной смеси со стадии (i) с получением третьего осадка и третьего фильтрата;

при этом сушка указанного третьего осадка позволяет получить очищенный Ребаудиозид D.

2. Способ по п. 1, отличающийся тем, что первый водный раствор органического растворителя представляет собой раствор этанол-вода, содержащий 75-99% этанола.

3. Способ по п. 1, отличающийся тем, что второй водный раствор органического растворителя представляет собой раствор этанол-вода, содержащий 70-80% этанола.

4. Способ по п. 1, отличающийся тем, что третий водный раствор органического растворителя представляет собой раствор этанол-вода, содержащий 10-80% этанола.

5. Способ по п. 1, отличающийся тем, что этап (с) индуцирования кристаллизации в указанной смеси со стадии (с) включает добавление Ребаудиозида А.

6. Способ по п. 1, отличающийся тем, что указанный первый фильтрат со стадии (d) концентрируют с получением смеси стевииол-гликозидов.

7. Способ по п. 1, отличающийся тем, что указанный второй фильтрат со стадии (g) добавляют вместе с Ребаудиозидом А для облегчения протекания кристаллизации Ребаудиозида А, при этом кристаллизованный Ребаудиозид А извлекают с получением Ребаудиозида А с чистотой 97-99% по массе сухого вещества.

8. Способ по п. 1, дополнительно включающий:

к) растворение указанного третьего осадка в четвертом водном растворе органического растворителя с получением четвертой смеси, где указанный органический растворитель выбран из группы, состоящей из метанола, этанола, 1-пропанола, изопропанола и смеси указанных веществ, и концентрация указанного органического растворителя составляет 10-80 об.%;

l) индуцирование кристаллизации в указанной четвертой смеси и

m) фильтрование указанной смеси со стадии (l) с получением четвертого осадка;

при этом сушка указанного четвертого осадка позволяет получить Ребаудиозид D с чистотой более 95%.

9. Способ по п. 8, отличающийся тем, что четвертый водный раствор органического растворителя представляет собой раствор метанол-вода.

10. Способ по п. 9, отличающийся тем, что концентрация указанного метанола составляет 10-80%.

11. Способ по п. 8, отличающийся тем, что этап индуцирования кристаллизации в четвертой смеси включает добавление Ребаудиозида D, имеющего чистоту по меньшей мере примерно от 91 до 100%, для облегчения протекания кристаллизации.

12. Способ по п. 1, отличающийся тем, что указанный очищенный Ребаудиозид D содержит Ребаудиозид D с чистотой более примерно 80% Ребаудиозида D по массе сухого вещества.

13. Способ по п. 1, отличающийся тем, что указанный очищенный Ребаудиозид D содержит Ребаудиозид D с чистотой более примерно 90% Ребаудиозида D по массе сухого вещества.

14. Способ по п. 1, отличающийся тем, что указанный очищенный Ребаудиозид D содержит Ребаудиозид D с чистотой более примерно 95% Ребаудиозида D по массе сухого вещества.

15. Способ по п. 1, отличающийся тем, что указанный очищенный Ребаудиозид D содержит Ребаудиозид D с чистотой более примерно 97% Ребаудиозида D по массе сухого вещества.

16. Способ по п. 1, отличающийся тем, что указанный очищенный Ребаудиозид D содержит Ребаудиозид D с чистотой более примерно 98% Ребаудиозида D по массе сухого вещества.

5 17. Способ по п. 1, отличающийся тем, что указанный очищенный Ребаудиозид D содержит Ребаудиозид D с чистотой более примерно 99% Ребаудиозида D по массе сухого вещества.

18. Композиция натурального подсластителя, содержащая Ребаудиозид D в количестве 81,6-95,7 мас.%, Ребаудиозид А в количестве 3,8-16,2 мас.%, Стевиозид в количестве 0,1-0,8 мас.%, Ребаудиозид С в количестве 0,1-0,7 мас.%, Ребаудиозид Е в количестве 10 0,2-0,5 мас.%, Ребаудиозид F в количестве 0,1-0,2 мас.%.

19. Композиция натурального подсластителя по п. 18 для применения в качестве подсластителя при получении продукта питания, напитка, фармацевтической композиции, табака, нутрицевтика, композиции для гигиены полости рта или косметического средства, содержащего натуральный высокоинтенсивный подсластитель, 15 синтетический или искусственный высокоинтенсивный подсластитель, натуральное подавляющее сладость вещество, усилитель вкуса юмами, аминокислоту, полиаминокислотную добавку, полиол или сахарный спирт, подсластитель со сниженным содержанием калорий, углеводов, сахарную кислоту, ароматизатор, ароматический компонент, нуклеотид, органическую кислоту, соль органической кислоты, соль 20 неорганической кислоты, горький компонент, искусственный или натуральный усилитель сладости, полимер, белок или гидролизат белка, поверхностно-активное вещество, флавоноид, спирт, вяжущее соединение, витамин, пищевое волокно, антиоксидант, жирную кислоту или соль.

25

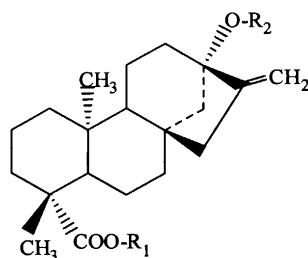
30

35

40

45

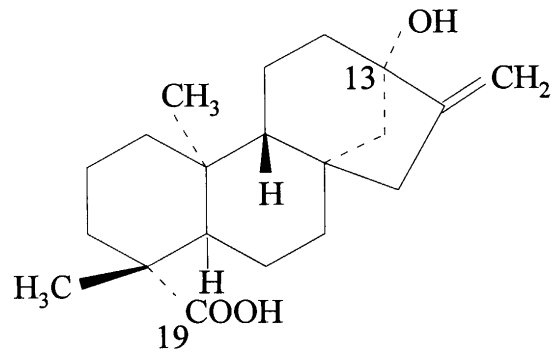
1/11



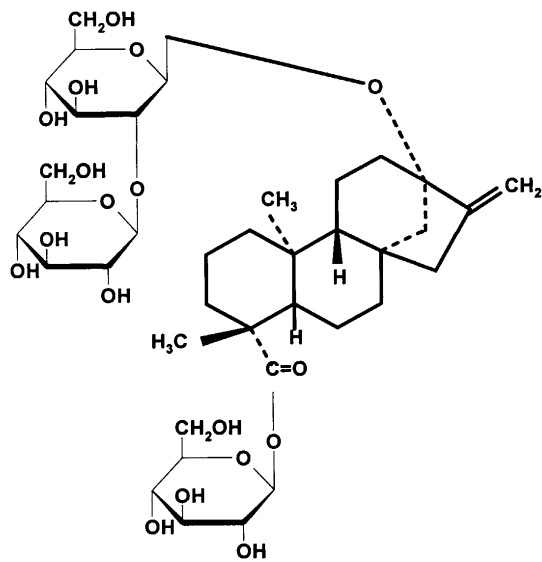
Название соединения	R ₁ (C-19)	R ₂ (C-13)
1. Стевиол	H	H
2. Стевиолмонозид	H	β-Glc
3. Рубузозид	β-Glc	β-Glc
4. Стевиолбиозид	H	β-Glc-β-Glc(2→1)
5. Стевиозид	β-Glc	β-Glc-β-Glc(2→1)
6. Ребаудиозид А	β-Glc	β-Glc-β-Glc(2→1) β-Glc(3→1)
7. Ребаудиозид В	H	β-Glc-β-Glc(2→1) β-Glc(3→1)
8. Ребаудиозид С (Дулькозид В)	β-Glc	β-Glc-α-Rha(2→1) β-Glc(3→1)
9. Ребаудиозид D	β-Glc-β-Glc(2→1)	β-Glc-β-Glc(2→1) β-Glc(3→1)
10. Ребаудиозид E	β-Glc-β-Glc(2→1)	β-Glc-β-Glc(2→1)
11. Ребаудиозид F	β-Glc	β-Glc-β-Xyl(2→1) β-Glc(3→1)
12. Дулькозид А	β-Glc	β-Glc-α-Rha(2→1)

ФИГ.1

2/11



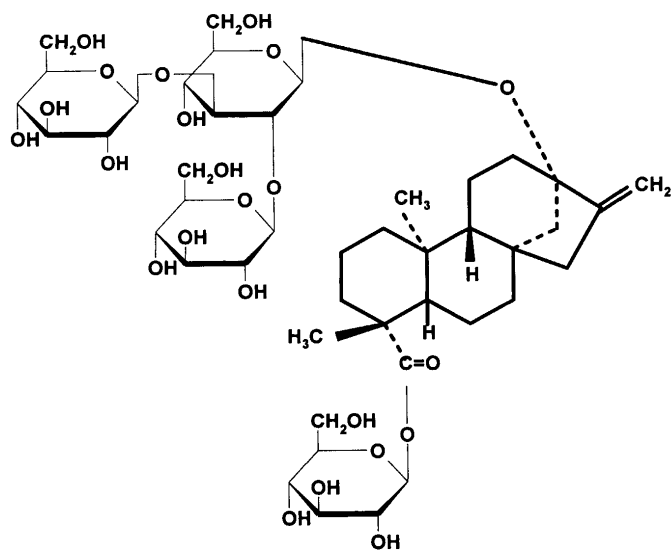
Стевиол



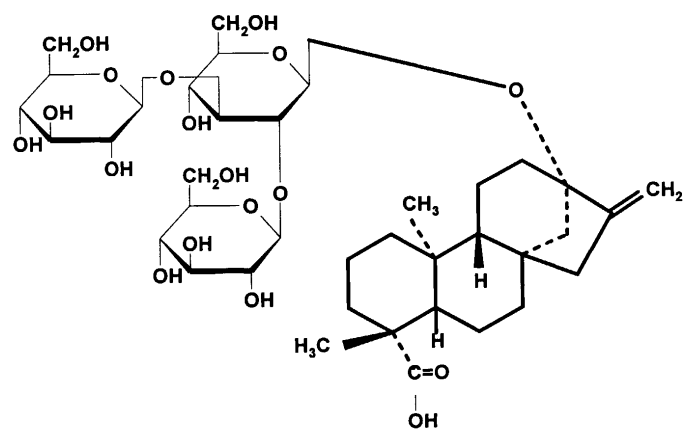
Стевиозид

ФИГ. 2

3/11



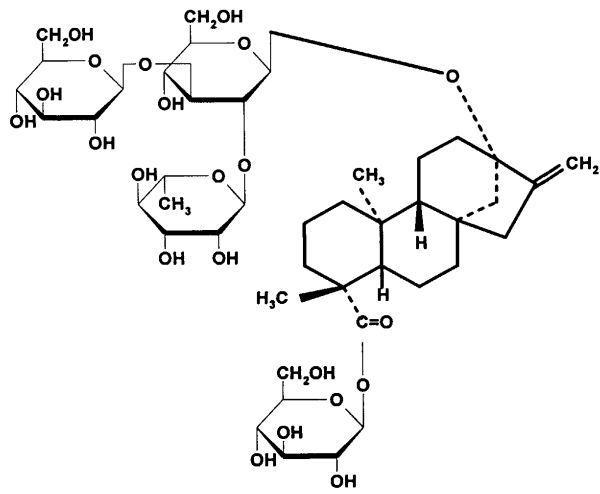
Ребаудиозид А



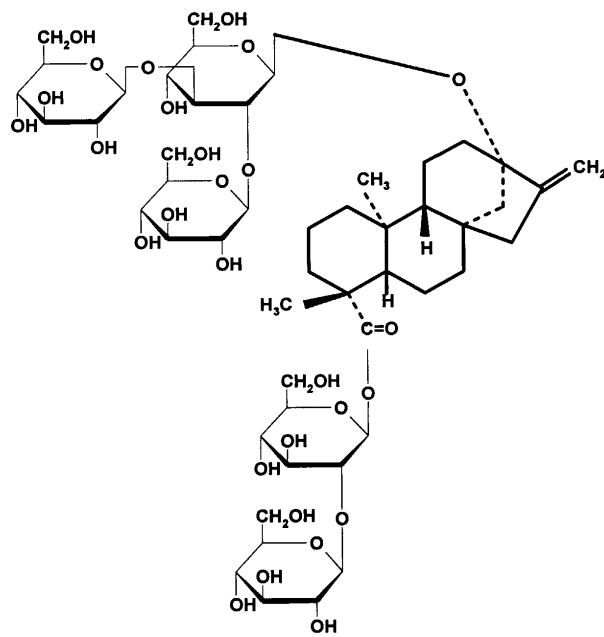
Ребаудиозид В

ФИГ. 2 (продолжение)

4/11



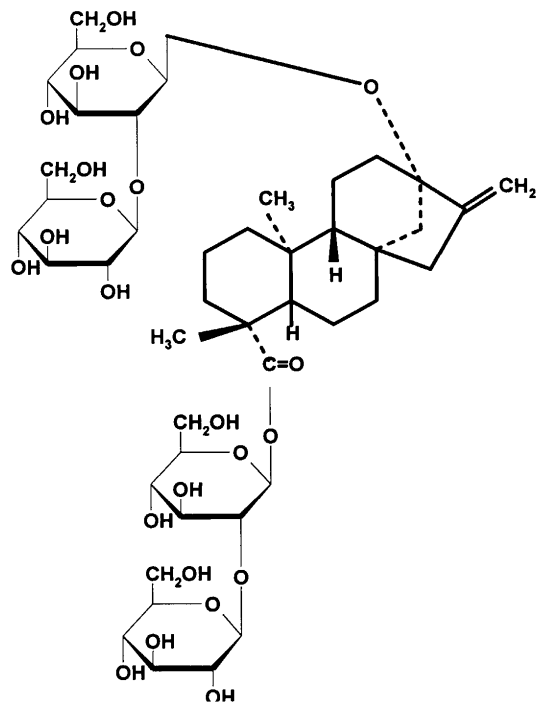
Ребаудиозид С



Ребаудиозид D

ФИГ. 2 (продолжение)

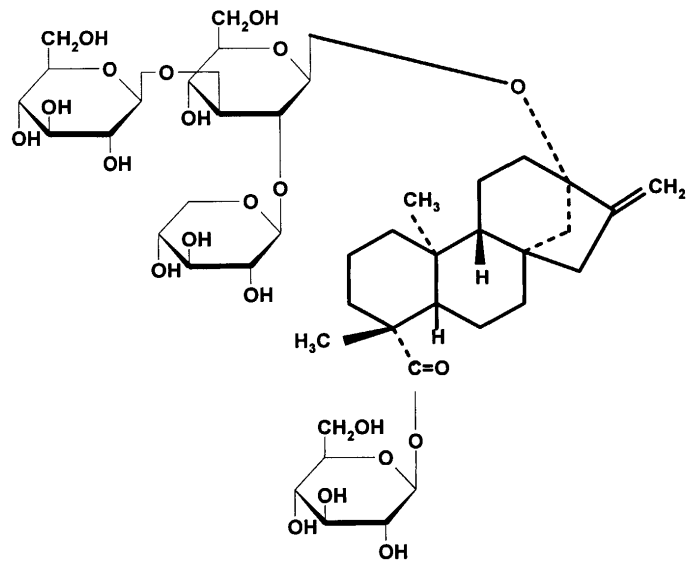
5/11



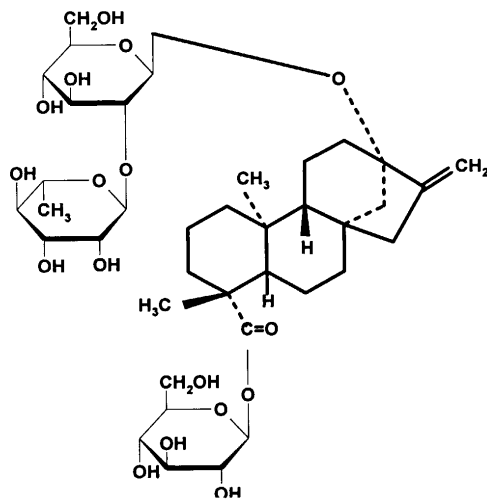
Ребаудиозид Е

ФИГ. 2 (продолжение)

6/11



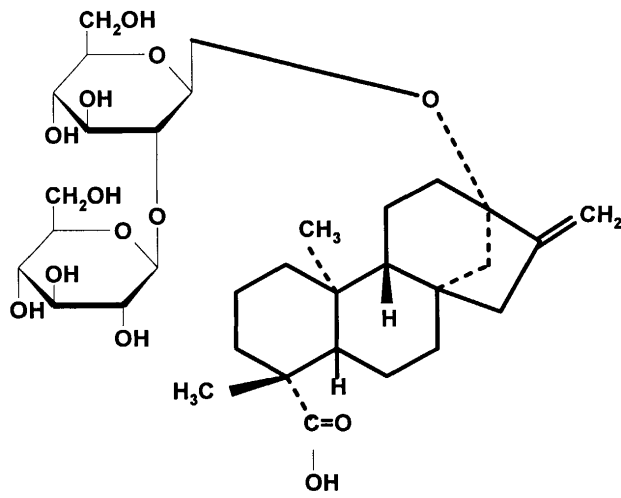
Ребаудиозид F



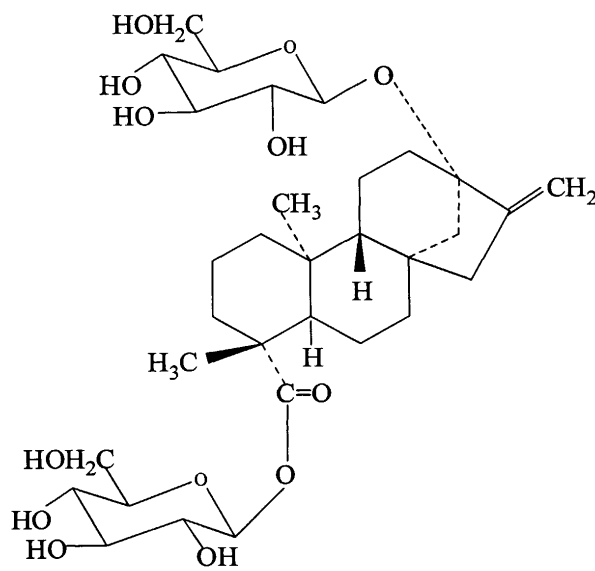
Дулькозид А

ФИГ.2 (продолжение)

7/11



Стевиолбиозид



Рубузозид

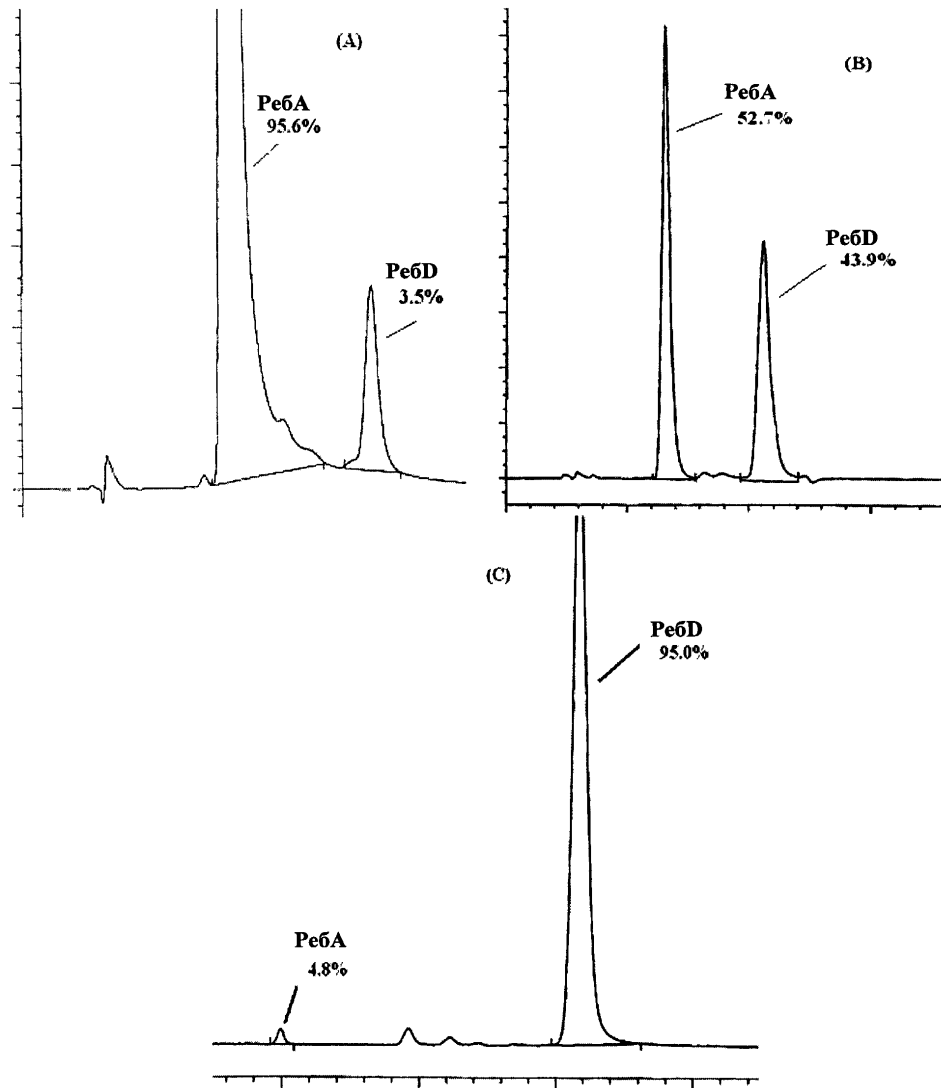
ФИГ.2 (окончание)

8/11



ФИГ. 3

9/11



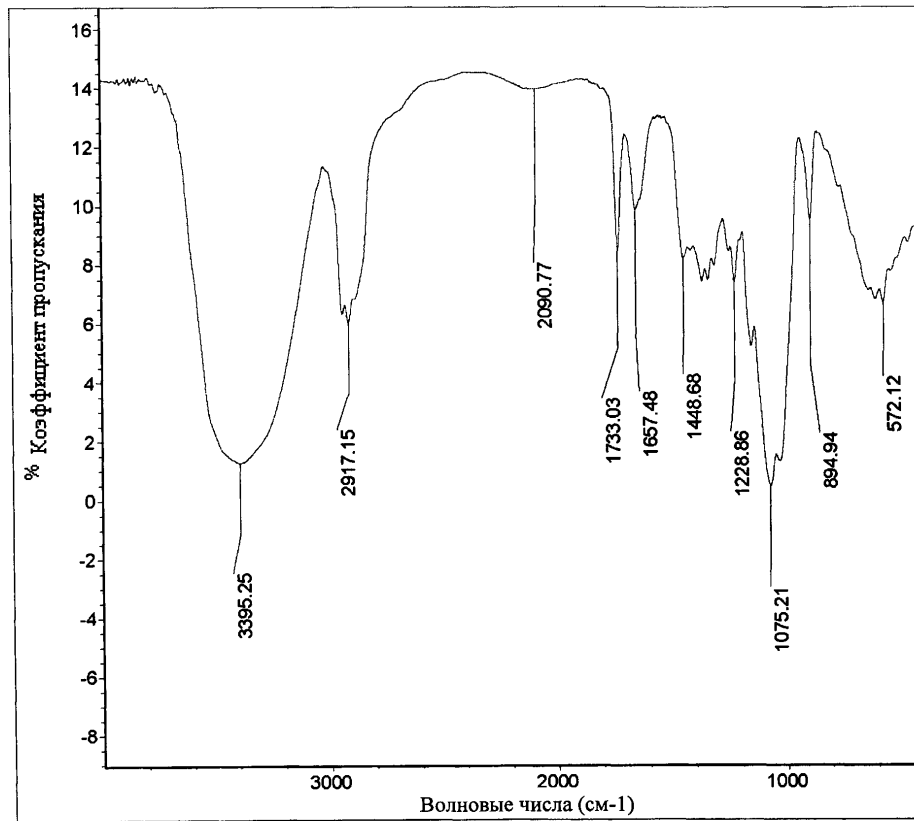
ФИГ.4

10/11



ФИГ. 5

11/11



ФИГ. 6