

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 645 913**

51 Int. Cl.:

**A24B 15/24** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **12.03.2014 PCT/US2014/024566**

87 Fecha y número de publicación internacional: **25.09.2014 WO14150926**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.03.2014 E 14715505 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.10.2017 EP 2967128**

54 Título: **Extracto enriquecido en azúcares derivado de tabaco**

30 Prioridad:

**14.03.2013 US 201313829086**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**11.12.2017**

73 Titular/es:

**R. J. REYNOLDS TOBACCO COMPANY (100.0%)  
401 North Main Street  
Advance, North Carolina 27006, US**

72 Inventor/es:

**MUA, JOHN-PAUL;  
BRATCHER, BARRY;  
FORD, KYLE;  
HAGAN, LEIGH;  
JOYCE, LEIGH ANN BLEVINS;  
MORTON, JOSHUA D.;  
DEBUSK, SAMUEL MARK y  
LOVETTE, MARGARETTE ELISA**

74 Agente/Representante:

**ELZABURU, S.L.P**

**ES 2 645 913 T3**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Extracto enriquecido en azúcares derivado de tabaco

**Campo de la invención**

5 La presente invención se refiere a productos elaborados a partir de o derivados de tabaco, o que de otra manera incorporan tabaco o componentes de tabaco, y están destinados al consumo humano. Son de particular interés ingredientes o componentes obtenidos o derivados de plantas o porciones de plantas de las especies de *Nicotiana*.

**Antecedentes de la invención**

10 Los cigarrillos, los cigarros, y las pipas son artículos populares para fumar que emplean tabaco en varias formas. Tales artículos de fumar se emplean calentando o quemando tabaco para generar un aerosol (por ejemplo, humo) que puede ser inhalado por el fumador. Artículos de fumar populares, tales como los cigarrillos, tienen una estructura en forma de varilla sustancialmente cilíndrica e incluyen una carga, rollo o columna de material fumable tal como tabaco desmenuzado (por ejemplo, en forma de relleno cortado) rodeado por una envoltura de papel, formando de esta forma la denominada "varilla de tabaco". Normalmente, un cigarrillo tiene un elemento filtro cilíndrico alineado en una relación de extremo a extremo con la varilla de tabaco. Típicamente, un elemento filtro comprende un revestimiento plastificado de acetato de celulosa circunscrito por un material de papel conocido como "envoltura tapón". Ciertos cigarrillos incorporan un elemento filtro que tiene múltiples segmentos, y uno de esos segmentos puede comprender partículas de carbón activado. Típicamente, el elemento filtro está unido a un extremo de la varilla de tabaco usando un material circundante de envoltura conocido como "papel de emboquillado". También ha llegado a ser deseable perforar el material de emboquillado y la envoltura tapón, con el fin de proporcionar la dilución de la corriente principal de humo generada con aire ambiente. Un fumador emplea un cigarrillo encendiendo un extremo del mismo y quemando la varilla de tabaco. El fumador recibe entonces la corriente principal de humo principal en su boca succionado por el extremo opuesto (por ejemplo, el extremo del filtro) del cigarrillo.

25 El tabaco utilizado para la fabricación de cigarrillos se usa típicamente en forma mezclada. Por ejemplo, ciertas mezclas populares de tabaco, comúnmente denominadas "mezclas americanas", comprenden mezclas de tabaco curado al humo, tabaco Burley y tabaco oriental, y en muchos casos, ciertos tabacos procesados, tales como tallos de tabaco reconstituidos y tallos de tabaco procesados. La cantidad precisa de cada tipo de tabaco dentro de una mezcla de tabaco usada para la fabricación de una marca particular de cigarrillos varía de una marca a otra. Sin embargo, para muchas mezclas de tabaco, el tabaco curado al humo constituye una proporción relativamente grande de la mezcla, mientras que el tabaco oriental constituye una proporción relativamente pequeña de la mezcla. Véanse, por ejemplo, Tobacco Encyclopedia, Voges (Ed.) p. 44-45 (1984), Browne, The Design of Cigarettes, 3ª Ed., pág. 43 (1990) y Tobacco Production, Chemistry and Technology, Davis et al. (Eds.) p. 346 (1999).

35 El tabaco también se puede disfrutar en una forma llamada "sin humo". Los productos de tabaco sin humo particularmente populares se emplean insertando en la boca del usuario alguna forma de tabaco procesado o de una formulación que contenga tabaco. Véase, por ejemplo, los tipos de formulaciones de tabaco sin humo, los ingredientes y las metodologías de procesamiento expuestas en las Patentes de EE.UU. Nos. 1.376.586 de Schwartz; 3.696.917 de Levi; 4.513.756 de Pittman et al.; 4.528.993 de Sensabaugh, Jr. et al.; 4.624.269 de Story et al.; 4.991.599 de Tibbetts; 4.987.907 de Townsend; 5.092.352 de Sprinkle, III et al.; 5.387.416 de White et al.; 6.668.839 de Williams; 6.834.654 de Williams; 6.953.040 de Atchley et al.; 7.032.601 de Atchley et al.; y 7.694.686 de Atchley et al.; Publicaciones de Patente de EE.UU. Nos. 2004/0020503 de Williams; 2005/0115580 de Quinter et al.; 2005/0244521 de Strickland et al.; 2006/0191548 de Strickland et al.; 2007/0062549 de Holton, Jr. et al.; 2007/0186941 de Holton, Jr. et al.; 2007/0186942 de Strickland et al.; 2008/002911 Oto Dube et al.; 2008/0029116 de Robinson et al.; 2008/0029117 de Mua et al.; 2008/0173317 de Robinson et al.; 2008/0196730 de Engstrom et al.; 2008/0209586 de Neilsen et al.; 2008/0305216 de Crawford et al.; 2009/0025738 de Mua et al.; 2009/0025739 de Brinkley et al.; 2009/0065013 de Essen et al.; 2009/0293889 de Kumar et al.; 2010/0018540 de Doolittle et al.; 2010/0018541 de Gerardi et al.; 2010/0291245 de Gao et al.; 2011/0139164 de Mua et al.; 2011/0174323 de Coleman, III et al.; 2011/0247640 de Beeson et al.; 2011/0259353 de Coleman, III et al.; 2012/0037175 de Cantrell et al.; 2012/0055494 de Hunt et al.; 2012/0103353 de Sebastian et al.; 2012/0125354 de Byrd et al.; 2012/0138073 de Cantrell et al.; y 2012/0138074 de Cantrell et al.; PCT WO 04/095959 de Arnarp et al.; PCT WO 05/063060 de Atchley et al.; PCT WO 05/004480 de Engstrom; PCT WO 05/016036 de Bjorkholm; PCT WO 05/041699 de Quinter et al., y PCT WO 10/132444 de Atchley; cada una de las cuales se incorpora a la presente memoria por referencia.

55 Un tipo de producto de tabaco sin humo se denomina "tabaco en polvo". Los tipos representativos de productos de tabaco en polvo húmedo, comúnmente denominados "snus", han sido fabricados en Europa, particularmente en Suecia, por o a través de empresas tales como Swedish Match AB, Fiedler & Lundgren AB, Gustavus AB, Skandinavisk Tobakskompagni A/S y Rocker Production AB. Los productos snus disponibles en los EE.UU. han sido comercializados con las marcas comerciales Camel Snus Frost, Camel Snus Original y Camel Snus Spice por R. J. Reynolds Tobacco Company. Véase también, por ejemplo, Bryzgalov et al., 1N1800 Life Cycle Assessment, Comparative Life Cycle Assessment of General Loose and Portion Snus (2005). Además, se han montado ciertos estándares de calidad asociados con la fabricación de snus, como el llamado estándar GothiaTek. También se han comercializado productos de tabaco sin humo representativos bajo los nombres comerciales Oliver Twist de House

of Oliver Twist A/S; Tabaco húmedo de Copenhagen, Copenhagen Pouches, Skoal Bandits, Skoal Pouches, SkoalDry, Rooster, Red Seallong cut, Husky y Revel Mint Tobacco Packs de U.S. Smokeless Tobacco Co.; Marlboro Snus y "taboka" de Philip Morris USA; Levi Garrett, Peachy, Taylor's Pride, Kodiak, Hawken Wintergreen, Grizzly, Dental, Kentucky King y Mammoth Cave de American Snuff Company, LLC; Camel Snus, CVamel Orbs, Camel Sticks y Camel Strips de R. J. Reynolds Tobacco Company. Otros productos de tabaco sin humo ejemplo que han sido comercializados incluyen los llamados tabaco húmedo en polvo Kayak y tabaco de mascar Chattanooga Chew de Swisher International, Inc.; y el tabaco de mascar Redman de Pinkerton Tobacco Co. LP.

A través de los años, se han propuesto diversos métodos de tratamiento y aditivos para alterar el carácter o la naturaleza general de los materiales de tabaco utilizados en los productos de tabaco. Por ejemplo, se han utilizado aditivos o procedimientos de tratamiento con el fin de alterar las propiedades químicas o sensoriales del material de tabaco, o en el caso de materiales de tabaco fumables, para alterar las propiedades químicas o sensoriales de la corriente de humo generada por los artículos de fumar que incluyen el material de tabaco. Los atributos sensoriales del humo de los cigarrillos se pueden mejorar incorporando materiales aromatizantes en varios componentes de un cigarrillo. Ejemplos de aditivos aromatizantes incluyen mentol y productos de reacciones de Maillard, tales como pirazinas, aminoazúcares y compuestos de Amadori. Las mezclas de tabaco de cigarrillo americano típicamente contienen una composición de envoltura que incluye ingredientes aromatizantes, tales como regaliz o cacao en polvo y una fuente de azúcar tal como jarabe de maíz de alto contenido en fructosa. Véase también, Leffingwell et al., Tobacco Flavoring for Smoking Products, R.J. Reynolds Tobacco Company (1972), que se incorpora aquí como referencia. En algunos casos, los procesos de tratamiento que implican el uso de calor pueden impartir al tabaco procesado un color o carácter visual deseado, propiedades sensoriales deseadas o una naturaleza o textura física deseada. Varios procedimientos para preparar composiciones aromáticas y sabrosas para uso en composiciones de tabaco se exponen en las Patentes de EE.UU. Nos 3.424.171 de Rooker; 3.476.118 de Luttich; 4.150.677 de Osborne, Jr. Et al.; 4.986.286 de Roberts et al.; 5.074.319 de White et al.; 5.099.862 de White et al.; 5.235.992 de Sensabaugh, Jr.; 5.301.694 de Raymond et al.; 6.298.858 de Coleman, III et al.; 6.325.860 de Coleman, III et al.; 6.428.624 de Coleman, III et al.; 6.440.223 de Dube et al.; 6.499.489 de Coleman, III; y 6.591.841 de White et al.; las Publicaciones de Patente de EE.UU. Nos. 2004/0173228 de Coleman, III y 2010/0037903 de Coleman, III et al., cada una de las cuales se incorpora aquí como referencia.

Los atributos sensoriales del tabaco sin humo también pueden mejorarse mediante la incorporación de ciertos materiales aromatizantes. Véase, por ejemplo, las Publicaciones de Patente de EE.UU. Nos. 2002/0162562 de Williams; 2002/0162563 de Williams; 2003/0070687 de Atchley et al.; 2004/0020503 de Williams, 2005/0178398 de Breslin et al.; 2006/0191548 de Strickland et al.; 2007/0062549 de Holton, Jr. et al.; 2007/0186941 de Holton, Jr. et al.; 2007/0186942 de Strickland et al.; 2008/0029110 de Dube et al.; 2008/0029116 de Robinson et al.; 2008/0029117 de Mua et al.; 2008/0173 317 de Robinson et al.; y 2008/0209586 de Neilsen et al., cada una de las cuales se incorpora aquí como referencia.

La Publicación de Patente de EE.UU. No. 2012/0152265 de Dube et al. describe un método para producir una composición de tabaco sabrosa para uso en un producto de tabaco en forma de un jarabe que contiene azúcares derivado del tallo de una planta de las especies de *Nicotiana*. Sería deseable proporcionar composiciones y métodos adicionales para alterar el carácter y la naturaleza del tabaco (y composiciones y formulaciones de tabaco) útiles en la fabricación de artículos para fumar y/o productos de tabaco sin humo.

## Sumario de la invención

La presente invención proporciona materiales de las especies de *Nicotiana* (por ej., materiales derivados del tabaco) que comprenden componentes de plantas de las especies de *Nicotiana* para su incorporación en composiciones de tabaco utilizadas en una variedad de productos de tabaco, tales como artículos para fumar y productos de tabaco sin humo. La invención también proporciona métodos para extraer componentes de especies de *Nicotiana* (por ejemplo, materiales de tabaco), y métodos para procesar esos componentes y materiales de tabaco que incorporan esos componentes.

En particular, la invención proporciona materiales enriquecidos en azúcares derivados de materiales de tabaco, métodos para obtener y/o derivar tales materiales enriquecidos en azúcares, y métodos para la incorporación de tales materiales enriquecidos en azúcares en varias composiciones de tabaco. En ciertas realizaciones, la invención proporciona un extracto enriquecido en azúcares y en ciertas realizaciones la invención proporciona extractos enriquecidos en azúcares derivados de tabaco de alto contenido de fructosa, que incluyen extractos enriquecidos en azúcares derivados de tabaco en los que el componente azúcar comprende al menos aproximadamente 50% de fructosa en peso.

En un aspecto de la descripción se proporciona un método para preparar un extracto enriquecido en azúcares de una planta de las especies de *Nicotiana* o de una parte de la misma, que comprende: recibir un material vegetal de las especies de *Nicotiana*; poner en contacto el material vegetal con un disolvente durante un tiempo y bajo condiciones suficientes para extraer uno o más azúcares del material vegetal en el disolvente y formar un extracto líquido que contiene azúcares; separar un material vegetal sólido extraído del extracto líquido que contiene azúcares; clarificar el extracto líquido que contiene azúcares para formar un extracto clarificado que contiene azúcares y una fracción de sólidos; y aislar el extracto clarificado que contiene azúcares para dar un extracto

enriquecido en azúcares que comprende al menos aproximadamente 10% de fructosa y glucosa en peso seco. El disolvente puede variar y puede, por ejemplo, comprender agua.

5 En otro aspecto de la descripción se proporciona un método para preparar un extracto enriquecido en azúcares de una planta de las especies de *Nicotiana* o porción de la misma, que comprende: recibir un material vegetal de las especies de *Nicotiana*; prensar el material vegetal en ausencia de líquido añadido y recoger un extracto líquido que contiene azúcares liberado del material vegetal prensado; separar un material vegetal sólido del extracto líquido que contiene azúcares; clarificar el extracto líquido que contiene azúcares para formar un extracto clarificado que contiene azúcares y una fracción de sólidos; y aislar el extracto clarificado que contiene azúcares para dar un extracto enriquecido en azúcares que comprende al menos aproximadamente 10% de fructosa y glucosa en peso seco.

10 El material vegetal de las especies de *Nicotiana* a la que pueden aplicarse los métodos proporcionados en la presente memoria puede comprender, por ejemplo, material vegetal verde, material vegetal amarillento, material vegetal curado o una combinación de los mismos. En algunas realizaciones, se obtiene un porcentaje más alto de fructosa y glucosa en peso seco de acuerdo con los métodos descritos en la presente memoria. Por ejemplo, el extracto enriquecido en azúcares puede en algunas realizaciones comprender al menos aproximadamente 20% o al menos aproximadamente 30% de fructosa y glucosa en peso seco. En ciertas realizaciones, el contenido de al menos aproximadamente 10% de fructosa y glucosa en el extracto enriquecido en azúcares comprende al menos aproximadamente 50% de fructosa en peso en ausencia de cualquier tratamiento adicional para convertir cualquier porción de glucosa en fructosa.

15 En algunas realizaciones, la etapa de clarificación comprende filtrar el extracto líquido que contiene azúcares. La filtración puede comprender, por ejemplo, una o más de las técnicas de microfiltración, ultrafiltración y nanofiltración.

20 Pueden usarse varios métodos adicionales en combinación con los procedimientos anteriores. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, los métodos descritos en la presente memoria pueden comprender adicionalmente ajustar el pH del extracto clarificado que contiene azúcares a un pH de al menos aproximadamente 8. En algunas formas de realización, los métodos pueden comprender además concentrar el extracto clarificado que contiene azúcares para proporcionar un extracto concentrado enriquecido en azúcares. La concentración se puede llevar a cabo usando, por ejemplo, una o más de las técnicas de ósmosis inversa, evaporación al vacío y calentamiento atmosférico. La concentración puede proporcionar un extracto enriquecido en azúcares que tiene ciertas características. El extracto resultante puede estar, por ejemplo, en forma de un líquido, semisólido o sólido. El extracto puede tener cualquier nivel de contenido de sólidos en el mismo, por ej., un contenido total de sólidos de al menos aproximadamente 50%, por ej., al menos aproximadamente 60% en peso. En algunas realizaciones, el azúcar (es decir, fructosa y glucosa) presente en el extracto enriquecido en azúcares comprende al menos aproximadamente un 50% de fructosa en peso en ausencia de cualquier tratamiento adicional para convertir cualquier porción de glucosa en fructosa.

25 El método puede, en algunas realizaciones, comprender además la adición de uno o más componentes para eliminar el color, el olor, el sabor, los alcaloides, las sales o una combinación de los mismos, en cualquier etapa del procedimiento. El uno o más componentes se pueden seleccionar, por ejemplo, del grupo que consiste en carbón activado, una resina, una arcilla, un agente quelante, un polímero molecularmente impreso, un polímero no impreso o una combinación de los mismos.

30 En ciertas realizaciones, el método comprende además tratar la fracción de sólidos obtenida a partir de la etapa de clarificación para convertir al menos una porción del almidón contenido en la misma en azúcar para dar una fracción tratada de sólidos; y concentrar la fracción tratada de sólidos. La fracción tratada de sólidos se puede combinar opcionalmente con el extracto enriquecido en azúcares obtenido como se describe en la presente memoria. En algunas realizaciones, la etapa de tratamiento comprende una o ambas etapas de calentamiento (por ejemplo, a ebullición) de la fracción de sólidos a un pH ácido y adición de una o más enzimas a la fracción de sólidos. La una o más enzimas se pueden seleccionar, por ejemplo, del grupo que consiste en  $\alpha$ -amilasa, amiloglucosidasa y xilosa isomerasa. El método puede comprender además, en ciertas realizaciones, filtrar la fracción tratada de sólidos antes de dicha concentración. La etapa de concentración puede proporcionar un producto en diversas formas, que incluyen pero sin limitarse a, la forma de un líquido, semisólido o sólido.

35 En otro aspecto, la descripción proporciona un extracto enriquecido en azúcares obtenido de acuerdo con cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria. Ciertos extractos enriquecidos en azúcares descritos en la presente memoria pueden caracterizarse como que comprenden menos que aproximadamente 2% en peso de nicotina (por ej., menos que aproximadamente 1% en peso de nicotina). En un aspecto adicional, la descripción proporciona una composición de tabaco para uso en un artículo para fumar, un producto de tabaco sin humo o un dispositivo generador de aerosol, que comprende un extracto enriquecido en azúcares como se describe en la presente descripción. La descripción engloba además suplementos dietéticos, alimentos, bebidas, artículos para el cuidado personal, productos farmacéuticos y/o alimentos para mascotas que comprenden el extracto enriquecido en azúcares obtenido de acuerdo con los métodos proporcionados en la presente memoria.

40 En un aspecto adicional, la descripción proporciona un extracto enriquecido en azúcares derivado de una planta de las especies de *Nicotiana*, en donde el extracto comprende al menos aproximadamente 10% de fructosa y glucosa

5 en peso seco. El contenido de fructosa y de glucosa puede ser, en algunas realizaciones, mayor que, por ej., al menos aproximadamente 20%, al menos aproximadamente 30%, al menos aproximadamente 40%, al menos aproximadamente 50%, o al menos aproximadamente 60% en peso seco. El extracto puede estar, por ejemplo, en la forma de un líquido, semisólido o sólido. El extracto puede tener cualquier nivel de contenido de sólidos en el mismo, por ej., un contenido total de sólidos de al menos aproximadamente 50%, tal como al menos aproximadamente 60% en peso. En algunas realizaciones, el azúcar (es decir, fructosa y glucosa) presente en el extracto enriquecido en azúcares comprende al menos aproximadamente un 50% de fructosa en peso en ausencia de cualquier tratamiento adicional para convertir cualquier porción de glucosa en fructosa. En ciertas realizaciones, el extracto enriquecido en azúcares puede caracterizarse como que comprende menos que aproximadamente 2% en peso de nicotina (por ej., menos que aproximadamente 1% en peso de nicotina).

10 La invención incluye, sin limitación, las siguientes realizaciones.

15 Realización 1: Un método para preparar un extracto enriquecido en azúcares de una planta de las especies de *Nicotiana* o una porción de la misma, que comprende: recibir un material vegetal de las especies de *Nicotiana*; poner en contacto el material vegetal con un disolvente durante un tiempo y en condiciones suficientes para extraer uno o más azúcares del material vegetal en el disolvente, y formar un extracto líquido que contenga azúcares que ponga en contacto el material vegetal con un disolvente durante un tiempo, y en condiciones suficientes para extraer uno o más azúcares procedentes del material vegetal en el disolvente y formar un extracto líquido que contiene azúcares, o prensar el material vegetal en ausencia de líquido añadido y recoger un extracto líquido que contiene azúcares liberado del material vegetal prensado; separar un material vegetal sólido (por ej., un material vegetal extraído sólido) del extracto líquido que contiene azúcares; clarificar el extracto líquido que contiene azúcares para formar un extracto clarificado de azúcares y una fracción sólida; ajustar el pH del extracto clarificado que contiene azúcares a un pH de al menos aproximadamente 8, y aislar el extracto clarificado que contiene azúcares para dar un extracto enriquecido en azúcares que comprende al menos aproximadamente 10% de fructosa y glucosa en peso seco.

20 Realización 2: El método de cualquier realización anterior o posterior, en el que el material vegetal de las especies de *Nicotiana* comprende un material vegetal verde, un material vegetal amarilleado, un material vegetal curado o una combinación de los mismos.

25 Realización 3: El método de cualquier realización anterior o posterior, que comprende además concentrar el extracto clarificado que contiene azúcares para proporcionar un extracto concentrado enriquecido en azúcares.

30 Realización 4: El método de cualquier realización anterior o posterior, en el que el extracto enriquecido en azúcares concentrado está en forma de un líquido, semisólido o sólido.

Realización 5: El método de cualquier realización anterior o posterior, en el que la etapa de concentración proporciona un extracto concentrado enriquecido en azúcares que tiene un contenido de sólidos totales de al menos aproximadamente 50%.

35 Realización 6: El método de cualquier realización anterior o posterior, en el que la concentración se realiza usando una o más técnicas de ósmosis inversa, evaporación al vacío y calentamiento atmosférico.

Realización 7: El método de cualquier realización anterior o posterior, que comprende además la adición de uno o más componentes para eliminar el color, olor, sabor, alcaloides, metales, o una combinación de los mismos, en cualquier etapa del procedimiento.

40 Realización 8: El método de cualquier realización anterior o posterior, en el que el uno o más componentes se seleccionan del grupo que consiste en carbón activado, una resina, arcilla, un agente quelante, un polímero impreso molecularmente, un polímero no impreso, o una de sus combinaciones.

Realización 9: El método de cualquier realización anterior o posterior, en el que el extracto enriquecido en azúcares comprende al menos aproximadamente 20% de fructosa y glucosa en peso seco.

Realización 10: El método de cualquier realización anterior o posterior, en el que el disolvente comprende agua.

45 Realización 11: El método de cualquier realización anterior o posterior, en el que la etapa de clarificación comprende filtrar el extracto líquido que contiene azúcares.

Realización 12: El método de cualquier realización anterior o posterior, en el que el filtrado comprende una o más de las técnicas de microfiltración, ultrafiltración y nanofiltración.

50 Realización 13: El método de cualquier realización anterior o posterior, el al menos aproximadamente 10% de fructosa y glucosa comprende al menos aproximadamente 50% de fructosa en peso en ausencia de cualquier tratamiento adicional para convertir cualquier porción de glucosa en fructosa.

Realización 14: El método de cualquier realización anterior o posterior, que comprende además: tratar la fracción de sólidos obtenida de la etapa de clarificación para convertir al menos una porción del almidón contenido en la misma en azúcar para dar una fracción de sólidos tratados; y concentrar la fracción de sólidos tratados.

Realización 15: El método de cualquier realización anterior o posterior, que además comprende combinar la fracción tratada de sólidos con el extracto enriquecido en azúcares.

Realización 16: El método de cualquier realización anterior o posterior, en el que la etapa de tratamiento comprende uno o ambos de calentar la fracción de sólidos a un pH ácido y añadir una o más enzimas a la fracción de sólidos.

- 5 Realización 17: El método de cualquier realización anterior o posterior, en el que la una o más enzimas se seleccionan del grupo que consiste en  $\alpha$ -amilasa, amiloglucosidasa y xilosa isomerasa.

Realización 18: El método de cualquier realización anterior o posterior, en el que el calentamiento comprende hervir.

Realización 19: El método de cualquier realización anterior o posterior, que comprende además filtrar la fracción de sólidos tratada antes de dicha concentración.

- 10 Realización 20: El método de cualquier realización anterior o posterior, en el que la etapa de concentración proporciona un producto en forma de un líquido, semisólido o sólido.

Realización 21: Un extracto enriquecido en azúcares obtenido de acuerdo con el método de cualquier realización anterior o posterior.

- 15 Realización 22: Un extracto enriquecido en azúcares obtenido según el método de cualquier realización anterior o posterior, en el que el extracto comprende menos que aproximadamente el 2% en peso de nicotina.

Realización 23: Una composición de tabaco para uso en un artículo para fumar, un producto de tabaco sin humo o un dispositivo generador de aerosol, que comprende el extracto enriquecido en azúcares de cualquier realización anterior o posterior.

- 20 Realización 24: Un suplemento dietético, alimento, bebida, elemento para el cuidado personal, producto farmacéutico o alimento para animales de compañía que comprende el extracto enriquecido en azúcares de cualquier realización anterior o posterior. Estas y otras características, aspectos y ventajas de la descripción resultarán evidentes a partir de una lectura de la siguiente descripción detallada junto con los dibujos adjuntos, que se describen brevemente a continuación. La invención incluye cualquier combinación de dos, tres, cuatro o más de las realizaciones antedichas así como combinaciones de cualesquiera dos, tres, cuatro o más características o elementos expuestos en esta descripción, independientemente de si dichas características o elementos son expresamente combinadas en una descripción de realización específica en la presente memoria. Esta descripción está destinada a ser leída holísticamente de tal manera que cualquier característica o elemento separable de la invención descrita, en cualquiera de sus diversos aspectos y realizaciones, debe considerarse como destinado a ser combinable a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Otros aspectos y ventajas de la presente invención resultarán evidentes a partir de lo que sigue.
- 25
- 30

### Breve descripción de los dibujos

- Con el fin de proporcionar una comprensión de las realizaciones de la invención, se hace referencia a los dibujos adjuntos, que no están necesariamente dibujados a escala, y en los que los números de referencia se refieren a componentes de realizaciones ejemplo de la invención. Los dibujos son únicamente ilustrativos y no deben interpretarse como limitativos de la invención.
- 35

La FIG. 1 es un esquema de una realización del procedimiento para la derivación de azúcares de un material de tabaco;

- La FIG. 2 es un esquema de una realización diferente del procedimiento para la derivación de azúcares de un material de tabaco, que se puede combinar con el procedimiento de la Fig. 1 como se muestra para aumentar la cantidad de azúcares obtenidos de un material de tabaco;
- 40

La FIG. 3 es una vista en perspectiva despiezada de un artículo para fumar que tiene la forma de un cigarrillo, que muestra el material fumable, los componentes del material de envoltura y el elemento filtro del cigarrillo; y

- La FIG. 4 es una vista en sección transversal de una realización de producto de tabaco sin humo, tomada a través de la anchura del producto, mostrando una bolsa externa llena con una composición de tabaco sin humo de la invención.
- 45

### Descripción detallada de las realizaciones preferidas

- La presente invención se describirá ahora más completamente a continuación. Esta invención puede, sin embargo, realizarse en muchas formas diferentes y no debe ser interpretada como limitada a las realizaciones expuestas en la presente memoria; más bien, estas realizaciones se proporcionan de manera que esta descripción será exhaustiva y completa, y cubrirá completamente el alcance de la invención para los expertos en la técnica. Como se usa en esta memoria descriptiva y en las reivindicaciones, las formas singulares "uno (una)", y "el (la)" incluyen referentes plurales a menos que el contexto indique claramente lo contrario. La referencia a "por ciento en peso seco" o "base
- 50

en peso seco" se refiere al peso sobre la base de ingredientes secos (es decir, todos los ingredientes excepto el agua).

5 La presente descripción proporciona procedimientos para aislar, separar o extraer de otro modo varios componentes de una biomasa tal como un material vegetal (por ejemplo, tabaco). En algunas realizaciones, los procedimientos se pueden adaptar a la extracción de componentes específicos o pueden generalizarse a la extracción de componentes basados en solubilidades, tipo de compuesto, propiedades químicas del compuesto, propiedades físicas del compuesto, o similares. Los componentes ejemplo para la extracción de acuerdo con el procedimiento descrito en la presente memoria incluyen, pero no se limitan a, almidones, azúcares y combinaciones de los mismos.

10 De acuerdo con ciertas realizaciones de la presente descripción, se proporcionan procedimientos para obtener un extracto enriquecido en azúcares a partir de tabaco. Los tipos de azúcares obtenidos del tabaco pueden variar. "Azúcar" tal como se usa en la presente memoria se refiere a hidratos de carbono que incluyen monosacáridos, que tienen la fórmula general  $(CH_2O)_n$ , en la que n es un número entero mayor que dos (por ej., fructosa y glucosa), disacáridos (por ej., lactosa, maltosa y sacarosa), oligosacáridos, y polisacáridos, que son compuestos oligómeros y polímeros, respectivamente, que comprenden monosacáridos.

15 De acuerdo con la presente invención, el azúcar puede obtenerse a partir del tabaco de diversas maneras. Por ejemplo, en algunas realizaciones, un extracto enriquecido en azúcares se aísla directamente del tabaco (por ej., mediante métodos que comprenden extracción, como se detalla en la presente memoria). En algunas realizaciones, se obtiene un extracto enriquecido en azúcares aislando el almidón y convirtiendo el almidón en azúcar. Ventajosamente, estos métodos pueden combinarse, en algunas realizaciones, tal que se maximice el rendimiento total de azúcar de una muestra de tabaco dada.

20 El extracto enriquecido en azúcares obtenido a partir del tabaco como se describe en la presente memoria comprende generalmente glucosa y fructosa, aunque otros tipos de azúcares pueden, en algunas realizaciones, estar incluidos en los azúcares obtenidos a partir de tabaco. En ciertas realizaciones, los azúcares obtenidos a partir de tabaco según los métodos proporcionados en la presente memoria comprenden sustancialmente glucosa y fructosa. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el extracto enriquecido en azúcares obtenido a partir de tabaco de acuerdo con los métodos descritos en la presente memoria contiene al menos aproximadamente 90% de glucosa y fructosa en peso de los azúcares, al menos aproximadamente 92% de glucosa y fructosa en peso de los azúcares, al menos aproximadamente 95% de glucosa y fructosa en peso de los azúcares, al menos aproximadamente 98% de glucosa y fructosa en peso de los azúcares o al menos aproximadamente 99% de glucosa y fructosa en peso de los azúcares (incluyendo aproximadamente 100% de glucosa y fructosa en peso de los azúcares).

25 "Alto contenido de fructosa" se refiere típicamente a composiciones en las que aproximadamente el 42% o más de los azúcares son fructosa. Las composiciones de alto contenido de fructosa tienen generalmente un sabor dulce y una composición ejemplo de azúcar de alto contenido de fructosa es el jarabe de maíz de alto contenido de fructosa (HFCS), que se utiliza comúnmente en alimentos y bebidas procesados, por ejemplo, panes, cereales, carnes de almuerzo, yogures, sopas y condimentos. El HFCS se obtiene del maíz y se proporciona generalmente añadiendo enzimas a un jarabe rico en glucosa derivado del almidón de maíz para convertir un cierto porcentaje de la glucosa en fructosa. Están disponibles varios grados de HFCS, que incluyen HFCS 42 (en el que los azúcares comprenden aproximadamente 42% de fructosa y 53% de glucosa), HFCS 55 (en el que los azúcares comprenden aproximadamente 55% de fructosa y 42% de glucosa) y HFCS 90 (en el que los azúcares comprenden aproximadamente 90% de fructosa y 10% de glucosa). Tal como se usa en la presente memoria, "mayoritaria en fructosa" se refiere a composiciones en las que más que aproximadamente 50% en peso de los azúcares en la composición comprenden fructosa.

30 De acuerdo con la descripción, la proporción de glucosa a fructosa en el extracto enriquecido en azúcares obtenido a partir de tabaco puede variar. En algunas realizaciones, los azúcares obtenidos directamente a partir de tabaco comprenden un porcentaje de fructosa. Por ejemplo, en algunas realizaciones, un extracto enriquecido en azúcares obtenido directamente a partir de tabaco (es decir, sin ningún tratamiento adicional destinado a cambiar las proporciones de azúcar) puede comprender al menos aproximadamente 20% de fructosa, al menos aproximadamente 30% de fructosa, al menos aproximadamente 40% de fructosa, al menos aproximadamente 50% de fructosa, o al menos aproximadamente 60% de fructosa en peso. Ventajosamente, un extracto enriquecido en azúcares obtenido directamente de un material de tabaco puede comprender al menos aproximadamente un 50% de fructosa en peso. En otras palabras, en algunas realizaciones, el extracto enriquecido en azúcares obtenido a partir de tabaco comprende más fructosa que glucosa. Por consiguiente, un material azúcar con alto contenido de fructosa puede, en algunas realizaciones, ser obtenido directamente del tabaco (es decir, sin requerir ningún tratamiento destinado a cambiar las proporciones de azúcar, por ej., tratamiento enzimático para convertir glucosa en fructosa).

35

40

45

50

55 En otras realizaciones, la relación en peso de glucosa a fructosa puede ser menor que 1:1. En otras palabras, en algunas realizaciones, el extracto enriquecido en azúcares puede comprender más glucosa que fructosa. En tales realizaciones, el tratamiento (por ejemplo, tratamiento enzimático) puede llevarse a cabo, si se desea, para convertir parte de la glucosa en fructosa, por ejemplo, para obtener un material azúcar derivado del tabaco de alto contenido en fructosa.

La presente descripción es aplicable, en algunas realizaciones, para la producción a gran escala, donde la expresión producción a gran escala se refiere a procesar grandes cantidades de una biomasa (por ej., tabaco) a un nivel de producción en masa. Se entiende que el término "biomasa" y términos relacionados tales como "biomateria" y "fuente vegetal" se refieren a cualquier parte de una planta cosechada que se puede procesar para extraer, separar o aislar componentes de interés de la misma. El procesamiento puede llevarse a cabo en relación con diversas plantas o porciones de las mismas, tales como semillas, flores, tallos, raíces, tubérculos, hojas o cualquier porción adicional de la planta.

Ejemplos de materiales vegetales de tabaco usados de acuerdo con la presente descripción pueden ser de alguna forma de una planta de las especies de *Nicotiana*. La selección de la planta de las especies de *Nicotiana* puede variar; y, en particular, los tipos de tabaco o tabacos pueden variar. Los tabacos que se pueden emplear incluyen los curados con humo o Virginia (por ej., K326), burley, curados al sol (por ej., los tabacos Indian Kumool y Oriental, que incluyen los tabacos Katerini, Prelip, Komotini, Xanthi y Yambol), Maryland, negro, negro curado al fuego, negro curado al aire (por ej., tabacos Passanda, Cubano, Jatin y Bezuki), suave curado al aire (p. ej., tabacos de North Wisconsin y Galpao), tabaco indio curado al aire, rústico, tabacos rusos rojos y *Rustica*, así como varios otros tabacos raros o especiales. Descripciones de diversos tipos de tabacos, prácticas de cultivo y prácticas de cosecha se exponen en *Tobacco Production, Chemistry and Technology*, Davis et al. (Eds.) (1999).

Las especies de *Nicotiana* se pueden derivar usando técnicas de modificación genética o cruzamiento (por ejemplo, las plantas de tabaco pueden ser genéticamente modificadas o cruzadas para aumentar o disminuir la producción de o cambiar componentes, características o atributos). Se puede encontrar información adicional sobre tipos de especies de *Nicotiana* adecuadas para su uso en la presente invención en la Publicación de Solicitud de Patente de EE.UU. No. 2012/0192880 de Dube et al. Las plantas de tabaco se pueden cultivar en invernaderos, cámaras de crecimiento, o al aire libre en campos, o cultivadas hidropónicamente.

Las especies de *Nicotiana* se puede seleccionar por el contenido de diversos compuestos que están presentes en las mismas. Por ejemplo, las plantas pueden seleccionarse sobre la base de que dichas plantas producen cantidades relativamente altas de uno o más de los compuestos deseados a ser aislados de los mismos (por ej., azúcares y/o almidones). En ciertas realizaciones, las plantas de las especies de *Nicotiana* (por ej., tabaco *Galpao commun*) se cultivan específicamente por su abundancia de compuestos en la superficies de las hojas.

La porción o porciones de la planta de las especies de *Nicotiana* usada de acuerdo con la presente invención pueden variar. Por ejemplo, prácticamente toda la planta (por ej., la planta entera) puede ser cosechada, y empleada como tal. Alternativamente, se pueden cosechar o separar varias partes o piezas de la planta para su uso posterior después de la cosecha. Por ejemplo, las hojas, tallo, raíces, lámina, flores, semillas y diversas porciones y combinaciones de las mismas, pueden aislarse para su uso o tratamiento posterior. El material vegetal de la invención puede así comprender una planta completa o cualquier porción de una planta de las especies de *Nicotiana*. Véase, por ejemplo, las porciones de plantas de tabaco expuestas en las Publicaciones de Solicitud de Patente de EE.UU. Nos. 2011/0174323 de Coleman, III et al. y 2012/0192880 de Dube et al.

La planta de las especies de *Nicotiana* se puede emplear en una forma inmadura o madura y puede usarse en forma verde o curada, como se describe en 2012/0192880 a Dube et al.

El material de tabaco puede someterse a diversos procedimientos de tratamiento tales como refrigeración, congelación, secado (por ejemplo, liofilización o secado por atomización), irradiación, amarilleamiento, calentamiento, cocción (por ejemplo, asado, fritura o hervir), fermentación, blanqueo o sometido de otro modo a almacenamiento o tratamiento para uso posterior. En algunas formas de realización, el tabaco recogido puede ser pulverizado con un tampón (por ejemplo, un tampón de metabisulfito de sodio) para evitar que las plantas verdes se doren antes del tratamiento adicional como se describe en la presente memoria. Otras técnicas de procesamiento ejemplo se describen, por ejemplo, en las Publicaciones de Solicitudes de Patente de EE.UU. Nos. 2009/0025739 de Brinkley et al., y 2011/0174323 de Coleman, III et al. Al menos una parte de la planta de las especies de *Nicotiana* puede tratarse con enzimas y/o probióticos antes o después de la cosecha, como se trata en la Solicitud de Patente de EE.UU. N° 13/444.272 de Marshall et al., registrada el 11 de abril de 2012 y la Solicitud de Patente de EE.UU. N° 13/553.222 de Moldoveanu, registrada el 19 de julio de 2012.

Una porción o porciones cosechadas de la planta de las especies de *Nicotiana* pueden procesarse físicamente. Una porción o porciones de la planta se pueden separar en partes o piezas individuales (por ej., las raíces se pueden separar de los troncos, los tallos se pueden quitar de los troncos, las hojas se pueden quitar de los troncos y/o tallos, los pétalos se pueden quitar de la porción restante de la flor). Aunque de acuerdo con la presente invención se puede usar cualquier parte de la planta de tabaco o partes múltiples de la planta de tabaco, preferiblemente se usan tallos de tabaco, hojas de tabaco o tanto tallos como hojas de tabaco. La porción o porciones cosechadas de la planta pueden subdividirse adicionalmente en partes o piezas (por ejemplo, desmenuzadas, cortadas, trituradas, pulverizadas, o molidas en trozos o partes que se pueden caracterizar como piezas de relleno, gránulos, partículas o polvos finos). La porción o porciones cosechadas de la planta pueden someterse a fuerzas o a presión externas (por ejemplo, por prensado o sometimiento a un tratamiento con rodillos). Por ejemplo, en ciertas realizaciones, se puede usar tallo de tabaco, solo o en combinación con otras porciones de la planta (por ej., tallo y hojas juntos) y puede



someterse, en algunas realizaciones, a los tipos de tratamiento descritos en la Publicación de Solicitud de Patente de EE.UU. No. 2012/0152265 de Dube et al.

5 Cuando se llevan a cabo tales condiciones de procesado, la porción o porciones cosechadas de la planta pueden tener un contenido de humedad que se aproxima a su contenido de humedad natural (por ej., su contenido de humedad inmediatamente después de la cosecha), un contenido de humedad que se consigue añadiendo humedad a la porción o porciones cosechadas de la planta, o un contenido de humedad que resulta del secado de la porción o porciones cosechadas de la planta. Como tal, la porción o porciones cosechadas de la planta pueden usarse como tales como componentes de productos de tabaco, o procesarse aún más.

10 De acuerdo con la presente invención, una porción o porciones de una planta de las especies de *Nicotiana* se tratan para proporcionar uno o más componentes (por ejemplo, azúcares) contenidos en las mismas en una forma más utilizable (por ejemplo, más concentrada). Pueden extraerse y/o aislarse diversos compuestos o mezclas de compuestos de la planta de *Nicotiana* o porciones de la misma mediante los métodos proporcionados en la presente memoria. Como se usa en la presente memoria, un "componente aislado", o "aislado de planta", es un compuesto o mezcla compleja de compuestos separados de una planta de las especies de *Nicotiana* o una porción de la misma.

15 El componente aislado puede ser un compuesto único, una mezcla homóloga de compuestos similares (por ej., isómeros de un compuesto), o una mezcla heteróloga de compuestos disimilares (por ej., una mezcla compleja de diversos compuestos de diferentes tipos). Véase, por ejemplo, la descripción de los componentes de tabaco aislados y las técnicas para el aislamiento en la Publicación de Solicitud de Patente de EE.UU. Nº 2007/0137663 de Taylor y col.; 201110174323 de Coleman, III et al.; 2011/0259353 de Coleman, III et al.; 2012/0141648 de Morton et al.; 2012/0192880 de Dube et al.; 2012/0192882 de Dube et al.; 2012/0272976 de Byrd et al., 2012/0211016 de Byrd, Jr. et al., y Solicitud de Patente de EE.UU. 13/647.670 de Gerardi et al.

Una ilustración de un ejemplo de conjunto de etapas de procesado que pueden llevarse a cabo para obtener un extracto enriquecido en azúcares de una planta de tabaco o porción de la misma de acuerdo con una realización de la invención se presenta en la FIG. 1. La secuencia específica de etapas ilustrada en la FIG. 1 no debe interpretarse como limitante de la invención. Cualquier modificación de la presente descripción que sea funcionalmente equivalente a los procedimientos y condiciones descritos en la presente memoria está dentro del alcance de la presente invención. Por ejemplo, los procedimientos de separación típicos pueden incluir una o más etapas de proceso tales como extracción con disolventes (por ej., usando disolventes polares, disolventes orgánicos o fluidos supercríticos), cromatografía (por ej., cromatografía de líquidos preparativa), clarificación, destilación, filtración (por ejemplo, ultrafiltración), recristalización y/o partición disolvente-disolvente. En algunas realizaciones, la planta de tabaco o una porción de la misma puede pretratarse, por ej., para liberar ciertos compuestos para que estén disponibles los compuestos deseados para una separación más eficiente. En algunas realizaciones, se utilizan múltiples métodos para obtener los compuestos deseados.

El procedimiento ilustrado en la FIG. 1 se puede ver en algunas realizaciones que comprenden un procedimiento **100** que puede llevarse a cabo para obtener ciertos azúcares de plantas de tabaco o porciones de las mismas. En ciertas realizaciones, el procedimiento de acuerdo con la presente invención puede ser visto como un proceso holístico de aislamiento y extracción de componentes vegetales debido a que las etapas individuales del procedimiento proporcionan el aislamiento o la extracción de componentes de la planta específicamente deseados de una manera que no impide el aislamiento o la extracción de cualquier otro componente de la planta en el mismo lote. Para detalles ejemplo sobre ciertos tipos específicos de procesado que pueden llevarse a cabo, véase la Publicación de Solicitud de Patente de EE.UU. No. 2012/0141648 de Morton et al.

Como se muestra en la realización ilustrada en la FIG. 1, se puede homogeneizar un material de tabaco (**110**) para proporcionar una pasta sólida **120** y un extracto líquido **130** que contiene azúcares. El extracto **130** se clarifica (**140**) para separar los sólidos adicionales del mismo, dando una fracción de sólidos **150** que contiene almidón y un extracto clarificado **160** que contiene azúcares. El pH (**170**) del extracto **160** se ajusta y se concentra (**180**) para dar un extracto **190** enriquecido en azúcares.

La etapa de homogeneización **110** implica cualquier tipo de procesado de un material vegetal que sea eficaz para descomponer el material vegetal y liberar partes componentes del mismo. Específicamente, la homogeneización puede referirse a cualquier procesado que sea eficaz para quebrantar o romper las paredes celulares de la planta y liberar el fluido y otros materiales contenidos dentro de las células vegetales. Tal procesado puede incluir el uso de un aparato, tal como un molino, una extrusora, un molino de martillos, un molino coloidal, una prensa francesa, o similares, como se describe con más detalle en la Publicación de Solicitud de Patente de EE.UU. No. 2012/0141648 de Morton et al.

La etapa de homogeneización **110** puede realizarse, en algunas realizaciones, en presencia de un disolvente de extracción. A este respecto, el material vegetal puede ser sometido a un procedimiento combinado de molienda y extracción que somete el material vegetal a una acción de molienda y simultáneamente pone en contacto el material vegetal con el disolvente de extracción. Alternativamente, puede llevarse a cabo la etapa de homogeneización y posteriormente, el material molido puede ponerse en contacto con el disolvente de extracción. Así, el material vegetal puede combinarse con el disolvente de extracción antes, durante o después de la molienda.

Ejemplos de técnicas útiles para extraer componentes de especies de *Nicotiana* se describen o referencian en las Publicaciones de Solicitudes de Patente de EE.UU. No. 2011/0259353 de Coleman, III et al., y el documento 2012/0211016 de Byrd, Jr. et al. El disolvente de extracción para la extracción de azúcares del tabaco de acuerdo con los métodos proporcionados en la presente memoria es preferiblemente agua (es decir, un disolvente acuoso).  
5 Otros ejemplos de disolventes o vehículos de extracción y separación incluyen alcoholes (por ej., metanol o etanol), hidrocarburos (por ej., heptano y hexano), éter dietílico, cloruro de metileno, dióxido de carbono supercrítico y combinaciones de los mismos.

En algunas realizaciones, el disolvente puede incluir uno cualquiera o más de una variedad de compuestos útiles para facilitar la extracción de uno o más componentes específicos del material vegetal. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el disolvente de extracción puede comprender uno o más materiales seleccionados del grupo que consiste en co-disolventes, detergentes, tensioactivos, antioxidantes, aminoácidos, tampones, agentes de extracción de proteínas, enzimas, ácidos minerales y combinaciones de los mismos. En algunas realizaciones, el disolvente de extracción puede comprender: glicina, una o más sales de ácido fosfórico (por ej., como materiales tampón), uno o más compuestos que contienen bisulfito o metabisulfito, una o más sales de haluro del Grupo I o Grupo II (incluyendo NaCl, por ej., como agentes de extracción de proteínas), y/o un compuesto antioxidante (por ej., ácido ascórbico o un compuesto que contiene bisulfito o metabisulfito tal como metabisulfito de sodio ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ ) o bisulfato sódico). En algunas realizaciones, el disolvente de extracción puede comprender una disolución tampón que puede ser particularmente útil para mantener o ajustar de otro modo el pH del componente líquido de la planta durante la etapa de homogeneización a un nivel constante predeterminado. Debido a que la mezcla íntima se produce durante la homogeneización en presencia del disolvente de extracción, se entiende que el componente líquido de la planta puede comprender no sólo los componentes líquidos del material vegetal sino también alguna cantidad del disolvente de extracción. Cuando el disolvente de extracción funciona como una disolución tampón, puede ser útil para el disolvente de extracción incluir uno o más agentes neutralizantes tales como, por ejemplo, fosfato sódico.

De acuerdo con algunas realizaciones, el pH del disolvente de extracción puede ajustarse para maximizar la cantidad de un componente vegetal específico (por ejemplo, almidón o azúcar) en el líquido, el extracto que contiene azúcares. Por ejemplo, puede ser útil mantener el pH en el intervalo de aproximadamente 6,5 a aproximadamente 8,0 en ciertas realizaciones. Tal intervalo puede ser específicamente útil en relación con realizaciones en las que es deseable maximizar el contenido de almidón del extracto líquido que contiene azúcares. En realizaciones particulares, el pH puede mantenerse entre aproximadamente 6,8 y aproximadamente 7,6, particularmente entre aproximadamente 7,0 y aproximadamente 7,4, y más particularmente aproximadamente 7,2. En algunas realizaciones, puede ser deseable minimizar la adición de excipientes durante la extracción y la eficacia de la extracción de azúcares puede ser suficiente a pH neutro (es decir, alrededor de 7). En algunas realizaciones, la eficiencia de la extracción de azúcares puede aumentar ligeramente a un pH algo más alto (es decir, dentro de un intervalo de pH de aproximadamente 6,5 a aproximadamente 11, por ejemplo, entre aproximadamente 8 y aproximadamente 10,5).

Preferiblemente, el disolvente de extracción puede combinarse con el material vegetal en proporciones específicas para conseguir la extracción de los componentes deseados. En algunas realizaciones, el disolvente de extracción y el material vegetal pueden combinarse en una proporción de aproximadamente 0,1 L a aproximadamente 5 L de disolvente de extracción por 1 kg de biomasa. En otras realizaciones, la relación puede ser de aproximadamente 0,1 L a aproximadamente 4 L, aproximadamente 0,1 a aproximadamente 3 L, aproximadamente 0,1 a aproximadamente 2 L, aproximadamente 0,1 a aproximadamente 1 L, aproximadamente 0,2 L a aproximadamente 0,8 L, aproximadamente 0,3 L a aproximadamente 0,7 L, o aproximadamente 0,4 L a aproximadamente 0,6 L de disolvente de extracción por 1 kg de biomasa. En otras realizaciones, el procedimiento puede utilizar al menos aproximadamente 0,1 L, al menos aproximadamente 0,2 L, al menos aproximadamente 0,3 L, o al menos aproximadamente 0,4 L de disolvente de extracción por 1 kg de biomasa. En una realización, el procedimiento puede comprender combinar aproximadamente 0,5 L de disolvente de extracción por 1 kg o biomasa.

Las condiciones del procedimiento de extracción pueden variar. En algunas realizaciones, la planta de las especies de *Nicotiana* se combina con un disolvente para formar un material (por ej., en forma de una suspensión o pasta). En ciertas realizaciones, la cantidad de disolvente añadido para formar el material húmedo puede ser al menos aproximadamente 50 por ciento en peso, o al menos aproximadamente 60 por ciento en peso, o al menos aproximadamente 70 por ciento en peso, basado en el peso total del material. En algunos casos, la cantidad de disolvente se puede describir como al menos aproximadamente 80 por ciento en peso o al menos aproximadamente 90 por ciento en peso.

El material resultante puede, en algunas realizaciones, calentarse a diversas temperaturas y presiones. En ciertas realizaciones, el material se calienta a temperaturas elevadas (por ej., por encima de la temperatura ambiente) para efectuar la extracción de compuestos en el material en partículas. Por ejemplo, el material húmedo puede ser calentado a una temperatura mayor que aproximadamente 50°C, mayor que aproximadamente 60°C, mayor que aproximadamente 70°C, mayor que aproximadamente 80°C, mayor que aproximadamente 90°C, mayor que aproximadamente 100°C, mayor que aproximadamente 125°C, mayor que aproximadamente 150°C, mayor que aproximadamente 175°C o mayor que aproximadamente 200°C. En ciertas realizaciones, la presión y la temperatura se ajustan tal que la temperatura del material húmedo se eleva en comparación con el punto de ebullición del agua (u otro disolvente) a presión atmosférica. Un experto en la técnica será consciente de que el punto de ebullición de

un líquido está relacionado con su presión y, por tanto, será capaz de ajustar la presión y la temperatura en consecuencia para provocar la ebullición del material.

5 El calentamiento puede llevarse a cabo en un ambiente regulado por presión y presurizado, aunque puede utilizarse la presión atmosférica en un depósito ventilado sin apartarse de la invención. Los recipientes a presión preferidos están equipados con una fuente de calor externa, y también pueden estar equipados con medios de agitación, tales como un rodete impulsor. En otras realizaciones, el proceso de tratamiento térmico se lleva a cabo utilizando un recipiente cerrado colocado en un horno de microondas, un horno de convección o calentado por calentamiento mediante infrarrojos. Ejemplos de recipientes que proporcionan un entorno regulado por presión se exponen en la  
10 Publicación de Solicitud de Patente de EE.UU. No. 2012/0192880 de Dube et al. Las presiones típicas experimentadas por la mezcla de reacción durante el proceso de calentamiento varían a menudo de aproximadamente 68,95 kPa a aproximadamente 6895 kPa, normalmente de aproximadamente 137,9 kPa a aproximadamente 3447,5 kPa, por encima de la presión atmosférica.

15 La etapa de calentamiento puede llevarse a cabo en aire atmosférico, o atmósfera ambiente o dentro de una atmósfera controlada, tal como una atmósfera generalmente inerte. Pueden usarse gases tales como nitrógeno, argón y dióxido de carbono. Alternativamente, un gas hidrocarbonado (por ejemplo, metano, etano o butano) o un gas fluorocarbonado también pueden proporcionar al menos una porción de una atmósfera controlada en ciertas realizaciones, dependiendo de la selección de las condiciones de tratamiento y de los productos de reacción deseados.

20 La cantidad de tiempo requerida para efectuar la extracción depende en parte de la temperatura y de la presión a las que se realiza la extracción. Por ejemplo, en algunas realizaciones, calentar el material a una temperatura elevada y/o presurizar el material aumenta la velocidad de extracción. El intervalo de tiempo para el proceso de extracción es típicamente de al menos aproximadamente 30 minutos (por ej., al menos aproximadamente 1 hora o al menos aproximadamente 2 horas) y típicamente menos que aproximadamente 24 horas (por ej., menos que aproximadamente 12 horas o menos que aproximadamente 8 horas), aunque podrían utilizarse otros períodos de  
25 tiempo sin apartarse de la invención. En algunas realizaciones, pueden realizarse múltiples extracciones para extraer compuestos adicionales mediante las mismas. Véase, por ejemplo, la Publicación de Solicitud de Patente de EE.UU. N° 2008/0254149 de Havkin-Prenkel, que se incorpora aquí como referencia.

30 Después de homogeneizar el material de tabaco, el material resultante puede separarse en una pasta sólida **120** y un extracto líquido **130** que contiene azúcares (es decir, el líquido extraído del material vegetal procesado de acuerdo con la presente descripción). La separación se puede hacer por cualquier medio, por ej., una tosca filtración u otro método para extraer el componente líquido de la mezcla homogeneizada. Por ejemplo, se puede usar una prensa de tornillo para separar estos componentes. La pasta sólida **120** contiene generalmente principalmente fibra vegetal (o celulosa) y pectina y puede, en algunas realizaciones, procesarse separadamente como se proporciona en la Publicación de Solicitud de Patente de EE.UU. 2012/0141648 de Morton et al.

35 El extracto líquido **130** que contiene azúcares puede, en diversas realizaciones, estar en forma de un jugo verde o marrón; sin embargo, debe entenderse que la expresión "extracto líquido que contiene azúcares" puede referirse a cualquier líquido extraído de un material o biomateria vegetal, independientemente del color del líquido extraído. El extracto **130** puede, en algunas realizaciones, comprender componentes que incluyen, pero no se limitan a, proteínas, péptidos, azúcares y/o alcaloides. El extracto líquido que contiene azúcares comprende típicamente cierta cantidad de material sólido (insoluble) arrastrado en el líquido. El extracto puede caracterizarse como una suspensión, pasta o disolución, dependiendo de la realización específica, que puede determinarse basándose en el tipo de material vegetal utilizado, el disolvente de extracción específico utilizado y el componente que se desea  
40 aislar.

45 Después de la homogeneización y separación de la pasta sólida **120**, el extracto **130** que contiene azúcares puede procesarse para clarificar el jugo como se ilustra en la etapa **140** de la FIG. 1. La clarificación generalmente da lugar a la separación de la totalidad o parte de la porción de la materia vegetal que es insoluble en el disolvente de extracción del extracto que contiene azúcares. En algunas realizaciones, la clarificación puede dar como resultado la eliminación de componentes adicionales de alto peso molecular del extracto **130**. La etapa de clarificación proporciona una fracción de sólidos **150** y un extracto **160** clarificado que contiene azúcares. La clarificación puede ser una etapa importante para lograr una concentración deseada de ciertos componentes vegetales deseados (por ej., almidón) en la fracción insoluble y/o una concentración deseada de ciertos componentes vegetales deseados (por ej., azúcares) en la fracción soluble. Véase, por ejemplo, las técnicas de clarificación expuestas en la  
50 Publicación de la Solicitud de Patente de EE.UU. No. 2012/0152265 de Dube et al.

55 En ciertas realizaciones, la clarificación comprende etapas múltiples, que incluyen, pero no se limitan a, una o más etapas de tratamiento químico, una o más etapas de calentamiento, una o más etapas de filtración, uno o más de otros tipos de etapas de separación (por ej., centrifugación y/o sedimentación), o alguna combinación de los mismos. Cuando la clarificación comprende múltiples etapas, debe entenderse que estas múltiples etapas pueden llevarse a cabo en cualquier orden.

La etapa de clarificación **140** puede, en algunas realizaciones, implicar la adición de varios materiales (es decir, agentes clarificantes) a un líquido extraído. Por ejemplo, agentes clarificantes específicos que se pueden añadir al líquido bruto extraído incluyen, pero no se limitan a, varias sales, cal, azufre y otros compuestos para estabilizar o clarificar el líquido. En ciertas realizaciones, el pH del extracto se puede modificar, por ej., mediante la adición de una cantidad adecuada de un ácido o base. Ejemplos de materiales ácidos o básicos útiles para este propósito incluyen, pero no se limitan a, ácido clorhídrico, ácido fosfórico y/o hidróxido sódico. En ciertas realizaciones, el pH del extracto **130** se ajusta a un valor de aproximadamente 7. En algunas realizaciones, el ajuste del pH del extracto puede estabilizar o clarificar el líquido. En algunas realizaciones, el ajuste del pH del extracto puede facilitar la precipitación de componentes específicos (deseables o indeseables) de los mismos, que pueden ser posteriormente separados.

En algunas realizaciones, los agentes clarificantes añadidos pueden funcionar como floculantes, los cuales pueden facilitar la separación de una o más impurezas. Por ejemplo, los floculantes y/o los compuestos auxiliares de filtración pueden separar las partículas suspendidas y/o las moléculas o iones disueltos. Algunos ejemplos de compuestos auxiliares de filtración comunes incluyen fibras de celulosa, perlita, bentonita, tierra de diatomeas ("DE") y otros materiales silíceos. El floculante y/o los compuestos auxiliares de filtración pueden subsecuentemente separarse del líquido por cualquier medio (por ej., filtración, sedimentación, centrifugación, etc.).

En ciertas realizaciones, la etapa de clarificación **140** comprende calentar el extracto. En algunas realizaciones, el líquido puede ser calentado para iniciar las reacciones deseadas para clarificar y/o para solubilizar o no solubilizar ciertos componentes del extracto. La temperatura y el tiempo durante el cual se calienta el extracto pueden variar. En algunas realizaciones, el extracto **130** se calienta a ebullición, lo que puede dar lugar a la formación de sólidos adicionales, los cuales pueden separarse posteriormente mediante cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria. En algunas realizaciones, puede ser deseable calentar el extracto para separar parte del disolvente (es decir, para concentrar el extracto). Por ejemplo, en una realización, el líquido extraído puede calentarse en un recipiente venteado para evaporar una porción del agua. La temperatura y la presión a las que se calienta el líquido pueden variar. Véase, por ejemplo, las técnicas de separación de disolventes expuestas en la Publicación de Patente de EE.UU. No. 2012/0152265 de Dube et al.

En algunas realizaciones, la etapa de clarificación **140** comprende introducir el extracto **130** que contiene azúcares en un aparato de separación, tal como una centrifuga (por ej., una centrifuga decantadora). El extracto se puede centrifugar para separar el extracto en una fracción líquida soluble (permeado) (es decir, extracto **160** clarificado que contiene azúcares) y una fracción de sólidos **150**. Sistemas representativos de centrifugas se describen, por ejemplo, en la Patente de EE.UU. N° 6.817.970 de Berit et al., la Patente de EE.UU. N° 5.899.845 de Kohlstette et al., la Patente de EE.UU. N° 5.267.937 de Zettier et al., la Patente de EE.UU. N° 4.966.576 de Schulz et al., y la Patente de EE.UU. N° 5.865.719 de Droste et al. Las condiciones adecuadas para la centrifugación pueden basarse, por ejemplo, en el intervalo de tiempo, la velocidad de alimentación, el tiempo de permanencia para la expulsión del material sólido en forma de pelets, la velocidad de operación y la fuerza G.

En algunas realizaciones, la etapa de clarificación **140** comprende filtrar el extracto **130** que contiene azúcares. El proceso de filtración puede comprender pasar el líquido a través de uno o más tamices filtrantes y/o membranas para separar tamaños seleccionados de materia en partículas (dando un retenido que permanece sobre o en el material filtrante y un permeado que pasa a través del material filtrante) y/o componentes del extracto que tienen un peso molecular por encima de un determinado umbral. Los tamices pueden ser, por ejemplo, estacionarios, vibradores, giratorios o cualquier combinación de los mismos. Los filtros pueden ser, por ejemplo, filtros prensa o filtros de presión. En algunas realizaciones, el método de filtración utilizado puede implicar microfiltración, ultrafiltración y/o nanofiltración. Para separar los componentes sólidos, también se pueden usar métodos alternativos, por ejemplo, centrifugación o sedimentación de los componentes y sifonación del líquido, o cualquier combinación de las técnicas indicadas en la presente memoria.

En algunas realizaciones, se emplea la ultrafiltración, en la que el material a filtrar se pone en contacto con una membrana semipermeable. La membrana puede ser de cualquier tipo, tal como de marco y placa (que tiene una pila de membranas y placas soporte), enrollada en espiral (que tiene capas consecutivas de membrana y material soporte enrollado alrededor de un tubo), tubular (que tiene un núcleo definido por la membrana a través del cual fluye la alimentación y una carcasa tubular externa donde se recoge el permeado), o fibra hueca (que tiene varios tubos o fibras de pequeño diámetro en las que el permeado se recoge en el área del cartucho que rodea las fibras). La membrana puede ser construida de cualquier material. Por ejemplo, se usan comúnmente membranas de polisulfona, poliétersulfona, polipropileno, poli(fluoruro de vinilideno) y acetato de celulosa, aunque pueden utilizarse otros materiales sin apartarse de la invención descrita en la presente memoria. Véase, por ejemplo, las técnicas de ultrafiltración expuestas en la Publicación de Solicitud de Patente de EE.UU. No. 2012/0152265 de Dube et al.

Las membranas de ultrafiltración están disponibles en una amplia gama de tamaños de poros (que típicamente están comprendidos entre aproximadamente 0,1 a aproximadamente 0,001 micrómetros). Las membranas se describen más típicamente por sus pesos moleculares de corte. Las membranas de ultrafiltración se clasifican comúnmente como membranas de pesos moleculares de corte promedio en número de aproximadamente  $10^3$  Da a aproximadamente  $10^5$  Da. En la práctica, los compuestos con pesos moleculares por encima del peso molecular de corte son retenidos en el retenido, y los compuestos con pesos moleculares por debajo del punto de corte pasan a

través del filtro al permeado. Los métodos de ultrafiltración no son típicamente capaces de separar compuestos orgánicos e iones de bajo peso molecular.

La ultrafiltración es típicamente un proceso de separación de flujo tangencial. La corriente líquida a tratar (alimentación) fluye tangencialmente a lo largo de la superficie de la membrana, separándose en una corriente que pasa a través de la membrana (permeado) y otra que no (retenido o concentrado). Los parámetros de funcionamiento del sistema de ultrafiltración se pueden variar para conseguir el resultado deseado. Por ejemplo, la mezcla de alimentación a filtrar puede ponerse en contacto con la membrana por medio de la presión aplicada. La velocidad de penetración a través de la membrana es directamente proporcional a la presión aplicada; sin embargo, la presión máxima puede ser limitada. El caudal de la mezcla a través de la superficie de la membrana puede ajustarse. La temperatura también puede variarse. Típicamente, las velocidades de permeación aumentan con el aumento de la temperatura.

Los sistemas comerciales de ultrafiltración están fácilmente disponibles y pueden usarse para los métodos de ultrafiltración de la presente invención. Por ejemplo, proveedores tales como Millipore, Spectrum® Labs, Pall Corporation, Whatman®, Porex Corporation, y Snyder Filtration fabrican varias membranas y cartuchos filtrantes, y/o sistemas de filtración (por ej., sistemas de filtración de flujo tangencial). Membranas ejemplo incluyen, pero no se limitan a, membranas Biomax® y Ultracel® y casetes Pellicon® XL (de Millipore), módulos de fibra hueca Microkros®, Minikros®, y KrosFlo® (de Spectrum® Labs), y filtros Microza y casetes de membranas de filtración de flujo tangencial Centramate™, Centrasette™, Maximate™, y Maxisette™. Los sistemas de filtración comercialmente disponibles incluyen, pero no se limitan a, el sistema de filtración de flujo tangencial (TFF) Labscale™ de Millipore y los sistemas de filtración de flujo tangencial Spectrum® Labs' KrosFlo® y MiniKros®.

Los filtros y/o membranas que pueden ser útiles de acuerdo con la presente invención incluyen aquellos con pesos moleculares de corte de menos que aproximadamente 100.000 Da, menos que aproximadamente 75.000 Da, menos que aproximadamente 50.000 Da, menos que aproximadamente 25.000 Da, menos que aproximadamente 20.000 Da, menos que aproximadamente 15.000 Da, menos que aproximadamente 10.000 Da, y menos que aproximadamente 5.000 Da. En ciertas realizaciones, se utiliza un proceso de filtración de múltiples etapas. Tales realizaciones emplean múltiples filtros y/o membranas de diferentes (típicamente decrecientes) pesos moleculares de corte. Se pueden utilizar sucesivamente, de acuerdo con la invención, cualquier número de filtros y/o membranas. Por ejemplo, puede realizarse una primera filtración utilizando un filtro de peso molecular de corte de 50.000 Da y puede llevarse a cabo una segunda filtración utilizando un filtro de peso molecular de corte de 5.000 Da. En ciertas realizaciones, la etapa de filtración emplea microfiltros cerámicos, tales como los que tienen tamaños de filtro de 0,5 µm o menos, 0,4 µm o menos, 0,3 µm o menos, 0,2 µm o menos, ó 0,1 µm o menos. Otros medios de filtración adecuados para su uso en las diversas realizaciones de la invención en las que es deseable la filtración incluyen los descritos en la Patente de EE.UU. 4.941.484 de Clapp et al., cuya descripción se incorpora aquí por referencia en su totalidad.

La clarificación puede, en ciertas realizaciones, dar lugar a algún grado de concentración del componente líquido del extracto que contiene azúcares. El grado de concentración puede variar, dependiendo de las etapas específicas que comprenden el proceso de clarificación.

Después de la clarificación, se ajusta el pH del extracto clarificado **160** que contiene azúcares (etapa **170** de la FIG. 1). El pH del concentrado líquido se puede ajustar mediante la adición de una cantidad adecuada de un material ácido o básico, tal como ácido clorhídrico, ácido fosfórico o hidróxido sódico. El pH deseado puede variar dependiendo del producto final deseado. El pH del extracto concentrado se ajusta a un valor de al menos aproximadamente 8 ó al menos aproximadamente 8,4. Aunque no se pretende que sea limitante de la invención, se cree que ajustar el pH a un valor por encima de aproximadamente 8,4 ventajosamente provoca que la nicotina pase con el agua al destilado en la etapa de concentración final. En consecuencia, el azúcar puede concentrarse en el retenido mientras que la concentración de nicotina permanece igual o, en algunas realizaciones, se reduce.

El retenido con el pH ajustado se somete entonces a concentración (etapa **180** de la FIG. 1) para proporcionar un extracto **190** de tabaco concentrado enriquecido en azúcares. La etapa de concentración puede llevarse a cabo para proporcionar un extracto de tabaco enriquecido en azúcares que tiene un valor total de sólidos dado. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el retenido se concentra hasta un contenido total de sólidos de al menos aproximadamente 50%, al menos aproximadamente 60%, o al menos aproximadamente 70% en peso. El método de concentración puede variar y puede usarse cualquier método capaz de disminuir la cantidad de líquido y por consiguiente concentrar el azúcar en el extracto. Por ejemplo, los métodos representativos de separación de disolventes incluyen tratamiento térmico para evaporar el disolvente, tratamiento con membranas de ósmosis inversa, secado por atomización o liofilización. En ciertas realizaciones, se puede usar ósmosis inversa y/o un evaporador a vacío para proporcionar el extracto **190** de tabaco enriquecido en azúcares. Pueden usarse temperaturas y presiones variables para llevar a cabo esta etapa de concentración. Ventajosamente, la etapa de concentración da como resultado la separación del agua y, en algunas realizaciones, una porción sustancial de la nicotina. Por ejemplo, el extracto enriquecido en azúcares comprende ventajosamente menos que aproximadamente 2% de nicotina en peso, menos que aproximadamente 1% de nicotina en peso, o menos que aproximadamente 0,5% de nicotina en peso. Por ejemplo, el extracto enriquecido en azúcares puede comprender entre aproximadamente 0,1% y aproximadamente

2% de nicotina en peso, entre aproximadamente 0,1% y aproximadamente 1% de nicotina en peso, o entre aproximadamente 0,1% y aproximadamente 0,5% de nicotina en peso.

En ciertas realizaciones, los azúcares presentes en el extracto **190** enriquecido en azúcares son al menos aproximadamente 90% de glucosa y fructosa en peso de los azúcares, al menos aproximadamente 92% de glucosa y fructosa en peso de los azúcares, al menos aproximadamente 95% de glucosa y fructosa en peso de los azúcares, al menos aproximadamente 98% de glucosa y fructosa en peso de los azúcares, o al menos aproximadamente 99% de glucosa y fructosa en peso de los azúcares presentes en el mismo (incluyendo aproximadamente 100% de glucosa y fructosa en peso de los azúcares). Sorprendentemente, el extracto enriquecido en azúcares en algunas realizaciones exhibe una alta concentración de fructosa. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, los azúcares presentes en el extracto enriquecido en azúcares comprenden aproximadamente 50% o más en peso de fructosa. Típicamente, sin tratamiento para convertir la glucosa en fructosa, la mayoría de los azúcares naturales que se obtienen de diversas plantas comprenden un mayor porcentaje de glucosa que de fructosa. Por supuesto, si se desea un porcentaje cada vez mayor de fructosa de acuerdo con la presente solicitud, un porcentaje de la glucosa en el extracto enriquecido en azúcares puede convertirse en fructosa por medio de una etapa adicional (por ejemplo, tratamiento con una isomerasa).

La FIG. 2 proporciona un procedimiento **200** adicional para obtener azúcares de una planta de tabaco o parte de la misma y la combinación de tales azúcares con el extracto **190** enriquecido en azúcares obtenido de acuerdo con el método descrito anteriormente e ilustrado en la FIG. 1. La fracción de sólidos **150** obtenida de la etapa de clarificación **140** de la FIG. 1 puede en algunas realizaciones procesarse adicionalmente para proporcionar azúcar adicional. Típicamente, la fracción de sólidos **150** comprende cierta concentración de almidón. En ciertas realizaciones, la fracción de sólidos puede comprender al menos aproximadamente 40% en peso de almidón sobre una base de peso seco. En otras realizaciones, la fracción de sólidos puede comprender al menos aproximadamente 50% de almidón en peso, al menos aproximadamente 60% de almidón en peso, o al menos aproximadamente 70% de almidón en peso sobre una base en peso seco. En aún otras realizaciones, la fracción de sólidos puede comprender de aproximadamente 40% a aproximadamente 95% de almidón en peso, aproximadamente 50% a aproximadamente 90% de almidón en peso, o de aproximadamente 60% a aproximadamente 85% de almidón en peso, sobre una base de peso seco.

La fracción de sólidos puede secarse, por ejemplo, usando un horno, un secador Vortex, una tecnología de secado rápido, un secado por atomización o cualquier otro procedimiento de secado adecuado para dar un sólido seco. La temperatura a la que se seca la fracción de sólidos puede variar y puede ser, por ejemplo, una temperatura mayor que la temperatura ambiente, tal como hasta aproximadamente 90°C, hasta aproximadamente 80°C, o hasta aproximadamente 70°C. En algunas realizaciones, el secado puede ser a una temperatura de aproximadamente 40°C a aproximadamente 90°C, de aproximadamente 50°C a aproximadamente 80°C, o de aproximadamente 60°C a aproximadamente 70°C. La fracción de sólidos puede secarse hasta un contenido de humedad deseado tal como, por ejemplo, menos que aproximadamente 20% en peso, menos que 15% en peso, o menos que aproximadamente 1% en peso. En algunas realizaciones, la fracción de sólidos secos puede a continuación molerse, molturarse o pulverizarse de otro modo para proporcionar un material en polvo o granular.

En algunas realizaciones, la fracción de sólidos puede procesarse adicionalmente, por ej., mediante extracción para proporcionar un material de almidón derivado del tabaco más puro. Métodos ejemplo para dicho procesado adicional se proporcionan, por ejemplo, en la Publicación de Solicitud de Patente de EE.UU. No. 2012/0141648 de Morton et al.

En ciertas realizaciones de la invención, la fracción de sólidos secos se procesa (etapa **210**) para convertir al menos una porción del almidón contenido en la misma a azúcares. Esta etapa de conversión puede realizarse de diversas maneras. En algunas realizaciones, la fracción de sólidos **150** que contiene almidón se hierva primero en agua para comenzar a romper las moléculas de almidón. En ciertas realizaciones, la etapa de ebullición se lleva a cabo a un pH ácido. Por ejemplo, el pH de la solución puede estar por debajo de aproximadamente 7, por debajo de aproximadamente 6, por debajo de aproximadamente 5, por debajo de aproximadamente 4, por debajo de aproximadamente 3 ó por debajo de aproximadamente 2. En una realización ejemplo, la ebullición se lleva a cabo a un pH de aproximadamente 1,8.

En algunas realizaciones, la etapa de conversión **210** comprende poner en contacto la fracción de sólidos **150** que contiene almidón con una o más enzimas. La cantidad de enzima añadida puede variar y puede variar de aproximadamente 0,01% en volumen de la fracción de sólidos a aproximadamente 5% en volumen (por ej., entre aproximadamente 0,05% y aproximadamente 1%, por ej., entre aproximadamente 0,1% y aproximadamente 0,5%), aunque se puede usar más o menos enzima en varias realizaciones sin apartarse de la presente invención. Una enzima ejemplo comúnmente usada para convertir almidón en azúcar es la  $\alpha$ -amilasa. Se conocen varios tipos de  $\alpha$ -amilasa y se pueden usar de acuerdo con los métodos proporcionados en la presente memoria. Generalmente, la  $\alpha$ -amilasa puede romper el enlace  $\alpha$ -1,4-glicosídico de las moléculas de almidón pero no el enlace  $\alpha$ -1,6-glicosídico. La descomposición del enlace  $\alpha$ -1,4-glicosídico de las moléculas de almidón produce moléculas de glucosa ramificada, pero cortas. Alternativamente, o además, pueden usarse enzimas tales como amiloglicosidasa y/o xilosa isomerasa para este propósito.

En algunas realizaciones, el pH de la fracción de sólidos se altera antes de la etapa de conversión **210** (por ej., tratamiento enzimático), tal que la mezcla tiene un pH entre aproximadamente 5 y 6. Por ejemplo, en una realización, la mezcla se ajusta a un pH de aproximadamente 5,5 antes de la adición de  $\alpha$ -amilasa. En una realización, la mezcla se ajusta a un pH de aproximadamente 5 antes de la adición de la amiloglicosidasa. Similarmente, la temperatura de la fracción de sólidos puede ser alterada para el tratamiento enzimático. Por ejemplo, el tratamiento enzimático puede realizarse a temperatura elevada (por ej., entre aproximadamente 20°C y aproximadamente 100°C, tal como mayor que aproximadamente 20°C, mayor que aproximadamente 30°C, mayor que aproximadamente 40°C, mayor que aproximadamente 50°C, mayor que aproximadamente 60°C, mayor que aproximadamente 70°C, mayor que aproximadamente 80°C, o mayor que aproximadamente 90°C). En ciertas realizaciones, el tratamiento con  $\alpha$ -amilasa puede llevarse a cabo a una temperatura elevada, por ej., aproximadamente 98°C y el tratamiento con amiloglicosidasa puede llevarse a cabo a una temperatura relativamente más baja (pero todavía elevada), por ej., aproximadamente 37°C.

El tiempo durante el cual la enzima permanece en contacto con la mezcla puede variar. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la enzima permanece en contacto con la mezcla durante al menos aproximadamente 5 minutos, al menos aproximadamente 15 minutos, al menos aproximadamente 30 minutos, al menos aproximadamente 1 hora, al menos aproximadamente 1,5 horas o al menos aproximadamente 2 horas. En algunas realizaciones, la mezcla que contiene la enzima puede ser agitada durante todo o una parte del tiempo de tratamiento.

El material tratado enzimáticamente resultante, que comprende cierta concentración de azúcares, en general se filtra a continuación, por ej., para separar las enzimas. Las enzimas se pueden separar, por ejemplo, haciendo pasar el material tratado con enzimas a través de una membrana cerámica de 0,1  $\mu\text{m}$ . Las enzimas se aislarán en el retenido y el permeado comprenderá los azúcares producidos. El permeado puede opcionalmente tratarse adicionalmente, por ej., para separar cualquier proteína contenida en el permeado de 0,1  $\mu\text{m}$  (por ejemplo, en un filtro de 1 kDa). El permeado se concentra a continuación (**220**) y se seca (por ej., como se describe en la presente memoria) para dar una fracción **230** de sólidos tratados. El sólido así producido puede opcionalmente tratarse adicionalmente, por ej., para clarificar el material, usando cualquiera de las técnicas de clarificación indicadas en la presente memoria.

En algunas realizaciones, la fracción **230** de sólidos tratada proporcionada de acuerdo con el método descrito en la presente memoria se puede combinar con el extracto final enriquecido en azúcares obtenido directamente a partir de tabaco (por ej., de acuerdo con el método mostrado en las FIGs. 1-2). Aunque como se representa en la FIG. 2, los productos finales de ambas etapas se ilustran como combinados (es decir, la fracción tratada **230** de sólidos se combina con el extracto **190** enriquecido en azúcares), se observa que los materiales que contienen azúcares pueden combinarse en puntos variables en el proceso. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, la fracción de sólidos **230** tratada puede prepararse y combinarse independientemente con el material azucarado derivado del extracto en cualquier etapa del aislamiento del azúcar del extracto clarificado que contiene azúcares (por ejemplo, en la etapa **170** o la etapa **180** o después de la etapa **180** de las FIGs. 1-2). Similarmente, en algunas realizaciones, el material concentrado que contiene azúcares derivado de la fracción soluble puede añadirse en cualquier etapa del aislamiento del azúcar de la fracción de sólidos (por ej., en la etapa **210**, **220** o después de la etapa **220** de la FIG. 2).

El rendimiento global del material **240** combinado enriquecido en azúcares del procedimiento combinado de la FIG. 2 puede variar. En ciertas realizaciones, el procedimiento combinado da un rendimiento de glucosa de al menos aproximadamente 20 g de glucosa por kg de biomasa seca de tabaco (en peso seco), al menos aproximadamente 25 g de glucosa por kg de biomasa seca de tabaco (en peso seco), o al menos aproximadamente 30 g de glucosa por kg de biomasa seca (por peso seco). En ciertas realizaciones, el procedimiento combinado da además un rendimiento de fructosa (en ausencia de tratamiento de isoisomerasa para convertir la glucosa en fructosa) de al menos aproximadamente 15 g de fructosa por kg de biomasa seca (por peso seco), al menos aproximadamente 20 g de fructosa por kg de biomasa seca (en peso seco), al menos aproximadamente 25 g de fructosa por kg de biomasa seca (en peso seco), o al menos aproximadamente 30 g de fructosa por kg de biomasa seca (en peso seco).

Aunque en algunas realizaciones se utiliza directamente el material derivado del tabaco (por ej., el extracto enriquecido en azúcares **190**, la fracción de sólidos **230** tratada o el material **240** combinado enriquecido en azúcares), puede ser deseable tratar térmicamente el material derivado del tabaco con el fin de, por ejemplo, pasteurizar el material o modificar químicamente de otro modo el material. Este tratamiento térmico puede llevarse a cabo antes o después de cualquiera de los procedimientos descritos en la presente memoria (por ej., antes o después de cualquiera de las etapas del procedimiento **100** de la FIG. 1 y/o las etapas del procedimiento **200** de la FIG. 2) para el aislamiento de uno o más componentes de una planta de las especies de *Nicotiana*. Por ejemplo, un material de tabaco puede procesarse térmicamente mezclando el material de tabaco, agua y un aditivo seleccionado del grupo que consiste en lisina, glicina, histidina, alanina, metionina, ácido glutámico, ácido aspártico, prolina, fenilalanina, valina, arginina, cationes di y trivalentes, asparaginasa, sacáridos, compuestos fenólicos, agentes reductores, compuestos que tienen un grupo tiol libre, agentes oxidantes (por ej., peróxido de hidrógeno), catalizadores de oxidación, extractos de plantas y combinaciones de los mismos, para formar una mezcla húmeda de tabaco; y calentar la mezcla de tabaco húmeda a una temperatura de al menos aproximadamente 60°C para formar una mezcla de tabaco tratado térmicamente. En una realización, el extracto de tabaco tratado se trata térmicamente en presencia de agua, NaOH y un aditivo (por ej., lisina) a aproximadamente 88°C durante

- aproximadamente 60 minutos. Tal tratamiento térmico puede ayudar a prevenir la producción de acrilamida resultante de la reacción de la asparagina con azúcares reductores en los materiales de tabaco y puede proporcionar cierto grado de pasteurización. Véase, por ejemplo, la Publicación de Patente de EE.UU. No. 2010/0300463 de Chen et al., la cual se incorpora en la presente memoria por referencia. En ciertas realizaciones en las que se utiliza un material derivado del tabaco tratado térmicamente en un producto de tabaco sin humo de la presente invención, el producto puede caracterizarse por un contenido muy bajo de acrilamida. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el producto de tabaco sin humo se caracteriza por un contenido de acrilamida de menos que aproximadamente 500 ppb (ng/g), menos que aproximadamente 400 ppb, menos que aproximadamente 300 ppb, menos que aproximadamente 200 ppb, o menos que aproximadamente 100 ppb.
- 5 Siguiendo uno o más de los métodos descritos en la presente memoria para el aislamiento de uno o más componentes de una planta de las especies de *Nicotiana*, si se desea puede procesarse adicionalmente cualquier material líquido así obtenido. Por ejemplo, el material de tabaco puede someterse a etapas de tratamiento adicionales, que pueden usarse en lugar de, o además de, las otras etapas de aislamiento descritas en la presente memoria. En algunas realizaciones, el extracto (por ej., el extracto clarificado **160**, el extracto enriquecido en azúcares **190** o el material combinado **240**) se pone en contacto con un polímero impreso o polímero no impreso tal como se describe, por ejemplo, en las Publicaciones de Patente de EE.UU. Nos. 2007/0186940 de Bhattacharyya et al.; 2011/0041859 de Rees et al.; y 2011/0159160 de Jonsson et al.; y en la Solicitud de Patente de EE.UU. No. 13/111.330 de Byrd et al., registrada el 19 de Mayo de 2011. Puede usarse el tratamiento con un polímero impreso molecularmente o no impreso para eliminar ciertos componentes del extracto, tales como nitrosaminas específicas de tabaco (TSNAs), que incluyen N'-nitrososonnicotina (NNN), (4-metilnitrosamino)-1-(3-piridil)-1-butanona (NNK), N'-nitrosoanatabina (NAT), y N'-nitrosoanabasina (NAB); hidrocarburos poliaromáticos (HAP), que incluyen benzo[a]antraceno, benzo[a]pireno, benzo[b]fluoranteno, benzo[k]fluoranteno, criseno, dibenz[a,h]antraceno e indeno[1,2,3-cd]pireno; u otros analitos de Hoffmann.
- 10 En algunas realizaciones, uno o más de los materiales (por ej., extractos o sólidos) descritos en la presente memoria pueden someterse a condiciones para hacer que los compuestos contenidos en tales materiales experimenten una transformación química. Por ejemplo, el material de tabaco obtenido a partir de plantas de las especies de *Nicotiana* o partes de las mismas puede tratarse para provocar una transformación química o mezclarse con otros ingredientes. En algunas realizaciones, los extractos derivados del tabaco (que incluyen fracciones líquidas y sólidas) obtenidos a partir de los mismos pueden tratarse para causar una transformación química o pueden mezclarse con otros ingredientes. Las transformaciones químicas o la modificación del material de tabaco o extracto del mismo pueden dar lugar a cambios de ciertas propiedades químicas y físicas del material o extracto de tabaco (por ej., sus atributos sensoriales). Ejemplos de procesos de modificación química pueden llevarse a cabo por reacción ácido/base, hidrólisis, oxidación, calentamiento y/o tratamientos enzimáticos; y como tales, los compuestos pueden experimentar diversas reacciones de degradación. Ejemplos de técnicas de transformación química se exponen en las Publicaciones de Solicitud de Patente de EE.UU. Nos. 2011/0174323 de Coleman, III et al., y 2011/0259353 de Coleman, III et al.
- 15 En ciertas realizaciones, el material de tabaco o su extracto (que incluyen fracciones líquidas y/o sólidas) se trata para proporcionar productos de degradación. Los productos de degradación son cualesquiera compuestos que se producen a partir de los compuestos extraídos y/o aislados de acuerdo con la presente invención. Los productos de degradación pueden formarse naturalmente a partir de tales compuestos o pueden producirse mediante un proceso de degradación acelerada (por ejemplo, mediante la adición de calor y/o productos químicos para acelerar la descomposición de los compuestos). Estos compuestos pueden degradarse, por ejemplo, mediante oxidación (por ej., mediante tratamiento con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> u otros agentes oxidantes) y/o reacciones de hidrólisis.
- 20 La forma del extracto de tabaco enriquecido en azúcares **190**, la fracción tratada de sólidos **230** y el material combinado enriquecido en azúcares **240** obtenido de acuerdo con la presente invención pueden variar. Típicamente, el extracto **190**, la fracción de sólidos **230** y el material combinado **240** están en las formas sólida, líquida, semisólida o en gel. Las formulaciones resultantes se pueden usar en forma concreta, absoluta o pura. Las formas sólidas de los materiales derivados del tabaco descritas en la presente memoria pueden incluir formas secadas por atomización y liofilizadas. Las formas líquidas de los materiales derivados del tabaco descritas en la presente memoria pueden incluir formulaciones contenidas en vehículos acuosos o disolventes orgánicos.
- 25 Los extractos de tabaco enriquecido en azúcares **190**, las fracciones tratadas de sólidos **230** y los materiales combinados enriquecidos en azúcares **240** son útiles como materiales para diversas composiciones. Por ejemplo, en algunas realizaciones, los materiales derivados del tabaco descritos en la presente memoria se incorporan dentro de composiciones de tabaco, particularmente composiciones de tabaco incorporadas en artículos para fumar o productos de tabaco sin humo. De acuerdo con la presente invención, un producto de tabaco incorpora tabaco que se combina con uno o más de los materiales derivados del tabaco (por ej., el extracto **190**, la fracción de sólidos **230** y/o el material combinado **240** enriquecido en azúcares) de acuerdo con la invención. Es decir, una porción del producto de tabaco puede estar compuesta por alguna forma de formulación de extracto de tabaco preparada de acuerdo con la invención.
- 30 La adición del material o materiales derivados del tabaco descritos en la presente memoria a una composición de tabaco puede mejorar una composición de tabaco en una variedad de maneras, dependiendo de la naturaleza del



material derivado del tabaco y del tipo de composición de tabaco. Ejemplos de extractos, fracciones de sólidos y combinaciones de los mismos pueden servir para proporcionar sabor y/o aroma a un producto de tabaco (por ej., la composición puede alterar las características sensoriales de las composiciones de tabaco o del humo derivado de las mismas). Otros extractos, fracciones de sólidos y combinaciones de los mismos pueden servir para fines funcionales dentro de composiciones de tabaco, tales como funciones aglutinantes o de relleno. Ciertos extractos, fracciones de sólidos y combinaciones de los mismos pueden servir como sustituto para uno o más componentes tradicionales de un producto de tabaco.

El producto de tabaco al que se añaden los materiales derivados del tabaco de la presente descripción puede variar y puede incluir cualquier producto configurado o adaptado para suministrar tabaco o algún componente del mismo al usuario del producto. Ejemplos de productos de tabaco incluyen artículos para fumar (por ej., cigarrillos), productos de tabaco sin humo y dispositivos generadores de aerosoles que contienen nicotina y/o un material de tabaco u otro material vegetal que no se quema durante el uso. La incorporación de los materiales de la invención derivados del tabaco enriquecidos en azúcares en un producto de tabaco puede implicar el uso de un material de tabaco o material vegetal que no sea tabaco como vehículo para las formulaciones, tal como por absorción del producto derivado del tabaco, material enriquecido en azúcares (por ej., el extracto **190**, la fracción de sólidos **230** y/o el material combinado **240** enriquecido en azúcares) en el tabaco u otro material vegetal o asociando de otro modo material derivado del tabaco enriquecido en azúcares con el material portador. Los tipos de tabaco que pueden servir como portador para las formulaciones de la invención pueden variar y pueden incluir cualquiera de los tipos de tabaco tratados en la presente memoria, que incluyen varios materiales de tabaco curados (por ej., tabacos curados por aire o curados al humo) o porciones de los mismos (por ej., lámina de tabaco o tallos de tabaco). La configuración física del material de tabaco al que se añade la formulación también puede variar y puede incluir materiales de tabaco en forma triturada o en forma de partículas o en forma de una hoja (por ejemplo, hojas de tabaco reconstituido) o en forma de hoja completa.

Por consiguiente, los materiales derivados de tabaco enriquecidos en azúcares proporcionados en la presente memoria pueden, en algunas realizaciones, ser utilizados como composiciones en la fabricación de artículos para fumar. Por ejemplo, las formulaciones preparadas de acuerdo con la presente invención pueden mezclarse con materiales de envoltura y aplicarse al tabaco como un ingrediente de envoltura o como un apósito superior. Además, las formulaciones de la invención se pueden incorporar en un filtro de cigarrillos (por ej., en el tapón de filtro, envoltura de tapón o papel de empalme) o incorporarse en un papel para envolver cigarrillos, preferiblemente en la superficie interior, durante el proceso de fabricación de cigarrillos. Véase, por ejemplo, la descripción y las referencias relacionadas con los aislamientos de tabaco utilizados en los artículos de fumar expuestos en la Publicación de Patente de EE.UU. No. 2012/0192880 de Dube et al. Las mezclas de tabaco representativas, los componentes distintos del tabaco y los cigarrillos representativos fabricados a partir de los mismos se exponen también en la referencia de Dube et al., mencionada anteriormente.

Haciendo referencia a la FIG. 3, se muestra un artículo para fumar **10** en forma de cigarrillo y que posee ciertos componentes representativos de un artículo para fumar que puede contener la formulación de la presente invención. El cigarrillo **10** incluye una varilla **12** generalmente cilíndrica de una carga o rollo de material de relleno fumable (por ej., aproximadamente 0,3 a aproximadamente 1,0 g de material de relleno fumable tal como material de tabaco) contenido en un material **16** de envoltura circunscrito. La varilla **12** se denomina convencionalmente como una "varilla de tabaco". Los extremos de la varilla de tabaco **12** están abiertos para exponer el material de relleno fumable. Se muestra que el cigarrillo **10** tiene una banda opcional **22** (por ej., un recubrimiento impreso que incluye un agente formador de película, tal como almidón, etilcelulosa o alginato de sodio) aplicada al material de envoltura **16** y esa banda circunscribe la varilla de cigarrillo en una dirección transversal al eje longitudinal del cigarrillo. La banda **22** puede imprimirse en la superficie interna del material de envoltura (es decir, frente al material de relleno fumable), o menos preferiblemente, en la superficie exterior del material de envoltura.

En un extremo de la varilla de tabaco **12** está el extremo de encendido **18** y en el extremo de boca **20** está posicionado un elemento filtro **26**. El elemento filtro **26** posicionado adyacente a un extremo de la varilla de tabaco **12** tal que el elemento filtro y la varilla de tabaco están alineados axialmente en una relación de extremo a extremo, preferiblemente lindantes uno con otro. El elemento filtro **26** puede tener una forma generalmente cilíndrica, y su diámetro puede ser esencialmente igual al diámetro de la varilla de tabaco. Los extremos del elemento filtro **26** permiten el paso de aire y humo a través del mismo.

Un artículo de fumar ventilado o diluido en aire puede estar provisto de un medio de dilución de aire opcional, tal como una serie de perforaciones **30**, cada una de las cuales se extiende a través del material de empalme y la envoltura de tapón. Las perforaciones opcionales **30** pueden fabricarse mediante diversas técnicas conocidas por los expertos en la técnica, tales como las técnicas de perforación con láser. Alternativamente, pueden usarse las denominadas técnicas de dilución de aire fuera de línea (por ej., mediante el uso de una envoltura tapón porosa de papel y papel de empalme preperforado). Las formulaciones de la invención se pueden incorporar dentro de cualquiera de los componentes de un artículo para fumar, que incluyen pero no se limitan a, como un componente de la carga de tabaco, como un componente del papel de envolver (por ej., incluido dentro del papel o recubierto sobre el interior o exterior del papel), como un adhesivo, como un componente de elemento filtro, y/o dentro de una cápsula localizada en cualquier región del artículo para fumar.

- Las formulaciones de la invención también se pueden incorporar en dispositivos generadores de aerosoles que contienen nicotina y/o material de tabaco (o algunas porciones o componentes de los mismos) que no se pretende quemar durante el uso, incluyendo los llamados "cigarrillos electrónicos". Algunos de estos tipos de artículos para fumar emplea una fuente combustible de combustible que se quema para proporcionar un aerosol y/o para calentar un material formador de aerosoles. Otros emplean elementos de calentamiento accionados por batería para calentar una composición formadora de aerosoles. Las referencias ejemplo que describen artículos para fumar de un tipo que generan vapor aromatizado, aerosol visible, o una mezcla de vapor aromatizado y aerosol visible, incluyen los expuestos en la Publicación de Patente de EE.UU. No. 2012/0192880 de Dube et al., la cual se incorpora a la presente memoria por referencia.
- Las formulaciones de la invención se pueden incorporar en productos de tabaco sin humo, tales como rapé húmedo suelto (por ejemplo, snus); rapé seco suelto; tabaco para mascar; trozos de tabaco peletizados; tiras, trozos, varillas, cilindros o barras de tabaco extruido o conformado; polvos molidos finamente divididos; aglomerados finamente divididos o molturados de piezas y componentes en polvo; piezas en forma de escamas; trozos de tabaco moldeado; gomas; rollos de cintas; películas o tiras fácilmente dispersables o solubles en agua; composiciones fundibles; pastillas; o materiales tipo cápsula que poseen una envoltura exterior y una región interior. En la Publicación de Patente de EE.UU. No 2012/0152265 de Dube et al. se describen o se hace referencia a diversos tipos de productos de tabaco sin humo.
- Haciendo referencia a la FIG. 4, se muestra un producto representativo de tabaco de tipo snus que comprende una formulación de la presente invención. En particular, la FIG. 4 ilustra un producto de tabaco sin humo **40** que tiene una bolsa exterior permeable al agua **42** que contiene una composición de tabaco sin humo **44**. Cualquiera de los componentes del producto de tabaco puede comprender un material derivado del tabaco como se describe en la presente memoria (por ejemplo, el interior o exterior del revestimiento de la bolsa o una porción de la composición de tabaco sin humo contenida en la misma).
- Muchas composiciones de tabaco sin humo ejemplo que pueden beneficiarse del uso de las formulaciones de la invención comprenden material de tabaco en trozos o en partículas que puede servir como vehículo para los materiales derivados del tabaco enriquecidos en azúcar de la invención. Las composiciones de tabaco sin humo de la invención también pueden incluir un material aglutinante polimérico soluble en agua y opcionalmente otros ingredientes que proporcionan una composición soluble que se desintegrará lentamente en la cavidad oral durante el uso. En ciertas realizaciones, la composición de tabaco sin humo puede incluir componentes lipídicos que proporcionan una composición fundible que se funde (en oposición a la simple disolución) en la cavidad oral, tal como las composiciones expuestas en la Publicación de Patente de EE.UU. No. 2012/0037175 de Cantrell et al.
- En una realización particular de producto de tabaco sin humo, se añade una composición de la invención a un material vegetal distinto del tabaco, tal como un material vegetal seleccionado de patata, remolacha (por ej., remolacha azucarera), grano, guisante, manzana y similares. El material vegetal que no es tabaco puede usarse en forma procesada. En ciertas realizaciones preferidas, el material vegetal que no es tabaco puede usarse en una forma extraída, y como tal, al menos una porción de ciertos componentes solubles en disolventes se separan de ese material. El material vegetal no extraído del tabaco es típicamente muy extraído, lo que significa que se ha eliminado una cantidad sustancial de la porción soluble acuosa del material vegetal. Véase, por ejemplo, la Publicación de Patente de EE.UU. No. 2011/0247640 de Beeson et al.
- Otros ingredientes pueden ser mezclados con, o incorporados de otra manera dentro, de las composiciones de tabaco sin humo de acuerdo con la invención. Los ingredientes pueden ser artificiales, o pueden obtenerse o derivarse de fuentes herbarias o biológicas. Ejemplos de tipos de ingredientes incluyen sales (por ej., cloruro de sodio, cloruro de potasio, citrato de sodio, citrato de potasio, acetato de sodio, acetato de potasio y similares), edulcorantes naturales (por ej., fructosa, sacarosa, glucosa, maltosa, vainillina, etilvainillina glucósido, manosa, galactosa, y similares), edulcorantes artificiales (por ej., sucralosa, sacarina, aspartamo, acesulfamo K, neotamo y similares), cargas orgánicas e inorgánicas (por ej., granos, granos procesados, granos hinchados, maltodextrina, dextrosa, carbonato de calcio, fosfato de calcio, almidón de maíz, lactosa, manitol, xilitol, sorbitol, celulosa finamente dividida y similares), aglutinantes (por ejemplo, povidona, carboximetilcelulosa sódica y otros tipos celulósicos modificados de aglutinantes, alginato de sodio, goma de xantano, aglutinantes basados en almidón, goma arábiga, lecitina y similares), compuestos para ajustar el pH o agentes tampón (por ejemplo, hidróxidos metálicos, preferiblemente hidróxidos de metales alcalinos tales como hidróxido de sodio e hidróxido de potasio, y otros tampones de metales alcalinos tales como carbonatos metálicos, preferiblemente carbonato de potasio o carbonato de sodio, o bicarbonatos metálicos tales como bicarbonato sódico, y similares), colorantes (por ej., colorantes y pigmentos, que incluyen colorante de caramelo y dióxido de titanio, y similares), humectantes (por ej., glicerina, propilenglicol y similares), materiales efervescentes tales como ciertas combinaciones ácido/base, aditivos para el cuidado bucal (por ej., aceite de tomillo, aceite de eucalipto y zinc), conservantes (por ej., sorbato de potasio y similares), jarabes (por ej., miel, jarabe de maíz de alto contenido de fructosa y similares), compuestos auxiliares para la desintegración (por ej., celulosa microcristalina, croscarmelosa de sodio, crospovidona, glicolato de almidón sódico, almidón de maíz pregelatinizado y similares), mezclas saborizantes y aromatizantes, antioxidantes y mezclas de los mismos. Ejemplos de aditivos encapsulados se describen, por ejemplo, en el documento WO 2010/132444 de Atchley. Véanse también los ingredientes de tabaco sin humo expuestos en las Publicaciones de Patente de EE.UU. Nos. 2012/0055494 de Hunt et al., y 2012/0199145 de Byrd et al.

La cantidad de los materiales derivados del tabaco enriquecidos en azúcares de la presente invención incorporados en una composición de tabaco o producto de tabaco puede depender de la función deseada del material derivado del tabaco enriquecido en azúcares, de la composición química del material derivado del tabaco enriquecido en azúcares y del tipo de composición de tabaco a la que se añade el material derivado del tabaco enriquecido en azúcares. La cantidad de material derivado del tabaco enriquecido en azúcares añadido a una composición de tabaco puede variar, pero típicamente no excederá de aproximadamente 50 por ciento en peso basado en el peso seco total de la composición de tabaco a la que se añade la composición. Por ejemplo, la cantidad de material derivado del tabaco enriquecido en azúcares añadido a una composición de tabaco puede estar en el intervalo de aproximadamente 0,25 a aproximadamente 25 por ciento en peso o aproximadamente 1 a aproximadamente 10 por ciento en peso, basado en el peso seco total de la composición de tabaco.

Aunque el uso de tales materiales derivados del tabaco enriquecidos en azúcares se describe generalmente en el contexto de composiciones de tabaco, se observa que tales formulaciones pueden ser aplicables en muchos otros tipos de composiciones. Por ejemplo, los materiales de tabaco enriquecidos en azúcares de la invención se pueden usar en alimentos o bebidas o incorporarse de otro modo en un suplemento dietético destinado al consumo oral. Usos adicionales incluyen composiciones cosméticas y farmacéuticas.

### Experimental

Aspectos de la presente invención se ilustran más completamente mediante los siguientes ejemplos, los cuales se exponen para ilustrar ciertos aspectos de la presente invención y no se deben interpretar como limitantes de la misma.

#### 20 Ejemplo 1

Se forma una suspensión añadiendo agua a la hoja de tabaco curada y la suspensión de hoja curada se empapa durante la noche (aproximadamente 20 horas). La suspensión se homogeneiza mediante un desintegrador y se pasa a una prensa de tornillo horizontal para realizar una extracción con un líquido, dando un extracto líquido marrón que contiene azúcares. El extracto se clarifica procesándolo en un filtro cerámico de 0,1  $\mu\text{m}$  usando filtración de flujo tangencial y lavado con agua. El permeado se enfría y se somete a ultrafiltración de 1 kDa usando filtración de flujo tangencial y luego se concentra utilizando filtración por ósmosis inversa (usando una membrana de ósmosis inversa). Se añade NaOH para ajustar el pH del extracto a aproximadamente 8,4 o mayor. Se usa un evaporador de caldera a vacío para concentrar la muestra por lotes, dando tres lotes de extracto enriquecido en azúcares. En los dos primeros lotes, se observó que la nicotina no se separó del extracto con el agua. El pH del tercer lote se reajustó para asegurar que estaba por encima de 8,4, lo que permitió extraer la nicotina del extracto con el agua (dando una muestra con 0,5% de nicotina en peso). Los tres lotes así obtenidos tuvieron valores totales de sólidos del 54%, 67% y 61%, respectivamente. Una muestra compuesta del extracto combinado tuvo un valor total de sólidos de 67,7% y una concentración de nicotina de 1,57% en peso.

#### Ejemplo 2

35 Se forma una suspensión añadiendo agua caliente a la hoja de tabaco curada y la suspensión de hoja curada se empapa durante la noche (aproximadamente 20 horas), dando un color de agua más oscuro que en el Ejemplo 1. La suspensión se homogeneiza mediante un desintegrador y se pasa a una prensa de tornillo horizontal para realizar una extracción con un líquido, dando un extracto líquido marrón que contiene azúcares. El extracto se clarifica procesándolo en un filtro cerámico de 0,1  $\mu\text{m}$  usando filtración de flujo tangencial y lavado con agua. El permeado se somete a ultrafiltración de 1 kDa usando filtración de flujo tangencial y a continuación filtración por ósmosis inversa para concentrarlo. Se añade NaOH para ajustar el pH del extracto a aproximadamente 8,4 o mayor. Se usa un evaporador de caldera a vacío para concentrar la muestra por lotes. Una muestra compuesta del extracto combinado tuvo un valor total de sólidos de 85,77% y una concentración de nicotina de 0,79% en peso.

#### Ejemplo 3

45 Se forma una suspensión añadiendo agua a la hoja de tabaco curada y la suspensión de hoja curada se empapa durante la noche (aproximadamente 20 horas). La suspensión se homogeneiza mediante un desintegrador y se pasa a una prensa de tornillo horizontal para realizar una extracción con un líquido, dando un extracto líquido marrón que contiene azúcares. El extracto se clarifica procesándolo en un filtro cerámico de 0,1  $\mu\text{m}$  usando filtración con flujo tangencial y lavado con agua. El permeado se somete a ultrafiltración de 1 kDa usando filtración de flujo tangencial y a continuación filtración por ósmosis inversa para concentrar. Se añade NaOH para ajustar el pH del extracto a aproximadamente 8,4 o mayor. Se usa un evaporador de caldera a vacío para concentrar la muestra por lotes. Cuando fue necesario se realizaron ajustes de pH para mantener el pH de los lotes a 8,4 o por encima antes de comenzar la evaporación a vacío. Una muestra compuesta del extracto combinado tuvo un valor total de sólidos de 84,23% y una concentración de nicotina de 1,24% en peso.

#### 55 Ejemplo 4

Se cosechan y homogeneizan plantas de tabaco añadiendo agua a las plantas en un desintegrador. La mezcla homogeneizada se pasa a continuación por una prensa de tornillo horizontal para realizar una extracción con un

5 líquido, dando un extracto líquido que contiene azúcares. El extracto se enfría y el pH se ajusta a aproximadamente 7,5 mediante la adición de NaOH. El extracto que contiene azúcares se clarifica procesándolo en un filtro cerámico de 0,1 µm usando filtración de flujo tangencial. El permeado se somete a ultrafiltración de 1 kDa y a continuación a filtración por ósmosis inversa para concentrar. Se añade NaOH para ajustar el pH por encima de 8,4. Se usa un evaporador de caldera a vacío para concentrar la muestra dando un extracto enriquecido en azúcares. El extracto tuvo un valor total de sólidos de 84% y un contenido de nicotina de 0,5% en peso.

#### Ejemplo 5

10 Se cosechan y homogeneizan plantas de tabaco añadiendo un tampón (glicina 75 mM a pH 10) a las plantas en un desintegrador. La mezcla homogeneizada se hace pasar luego por una prensa de tornillo horizontal para extraer con un líquido, dando un extracto líquido que contiene azúcares. El extracto se enfría y el pH se ajusta a aproximadamente 7,5 mediante la adición de NaOH. El extracto que contiene azúcares se clarifica primero pasando el extracto a través de un decantador. Se añade un agente de filtración (tierra de diatomeas) al sobrenadante, se agita la mezcla durante 15 minutos y después se hace pasar a través de un filtro prensa. El filtrado se clarifica adicionalmente procesándolo en un filtro cerámico de 0,1 µm usando filtración de flujo tangencial. El permeado se somete a una ultrafiltración de 1 kDa y después a filtración por ósmosis inversa para concentrar. Se añade NaOH para ajustar el pH del extracto por encima de 8,4. Se usa un evaporador de caldera a vacío para concentrar la muestra, dando un extracto enriquecido en azúcares. El extracto tuvo un contenido total de sólidos de 72,84% y un contenido de nicotina del 0,67%.

#### Ejemplo 6

20 Se cosechan y homogeneizan plantas de tabaco añadiendo agua a las plantas en un desintegrador. La mezcla homogeneizada se hace pasar luego por una prensa de tornillo horizontal para extraer con un líquido, dando un extracto líquido que contiene azúcares. El extracto se alimenta por lotes a una caldera, donde cada lote se hierve y cuece durante aproximadamente 30 minutos, produciendo sólidos que se separan mediante un colador. El extracto combinado se clarifica adicionalmente procesándolo en un filtro cerámico de 0,1 µm usando filtración de flujo tangencial. El permeado se somete a ultrafiltración de 1 kDa y después a filtración por ósmosis inversa para concentrar. Se añade NaOH para ajustar el pH del extracto por encima de 8,4. Se usa un evaporador de caldera a vacío para concentrar la muestra, dando un extracto enriquecido en azúcares. El extracto tuvo un contenido total de sólidos de 61,30%.

#### Ejemplo 7

30 Se cosechan plantas de tabaco, se astillan y homogeneizan añadiendo un tampón (glicina 75 mM a pH 10) a las plantas en un desintegrador. La mezcla homogeneizada se hace pasar luego por una prensa de tornillo horizontal para extraer con un líquido, dando un extracto líquido que contiene azúcares. El pH del extracto se ajusta a aproximadamente 7,1 mediante la adición de NaOH. Se añade un agente de filtración (tierra de diatomeas) al sobrenadante, se agita la mezcla durante 15 minutos y después se hace pasar a través de un filtro prensa. El filtrado se clarifica adicionalmente procesando por ultrafiltración de 500 kDa seguido por ultrafiltración de 1 kDa, y después se somete a filtración por ósmosis inversa para concentrar. Se añade NaOH para ajustar el pH del extracto por encima de 8,4. Se usa un evaporador de caldera a vacío para concentrar el extracto, dando un extracto enriquecido en azúcares con un contenido representativo total de sólidos de 88%.

#### Ejemplo 8

40 Se cosechan plantas de tabaco, se separan las hojas de los tallos y las hojas se homogeneizan añadiendo un tampón (glicina 75 mM a pH 10) a las hojas en un desintegrador. La mezcla homogeneizada se hace pasar luego por una prensa de tornillo horizontal para extraer con un líquido, dando un extracto líquido que contiene azúcares. El extracto se clarifica procesándolo en un filtro cerámico de 0,1 µm usando filtración de flujo tangencial. Se añade un agente de filtración (tierra de diatomeas) al filtrado, la mezcla se agita durante 15 minutos y después se hace pasar a través de un filtro prensa. El líquido resultante se clarifica adicionalmente usando ultrafiltración de 1 kDa y después se somete a filtración por ósmosis inversa para concentrar. Se añade NaOH para ajustar el pH del extracto por encima de 8,4. Se usa un evaporador de caldera a vacío para concentrar el extracto, dando un extracto enriquecido en azúcares con un contenido representativo total de sólidos de 88%.

#### Ejemplo 9

50 Se cosechan plantas de tabaco tirando del tallo y la raíz del suelo y se usa agua a baja presión para limpiar las raíces. El material de tabaco se pasa a través de un triturador y el material se homogeneiza añadiendo agua al material cortado en un desintegrador. La mezcla homogeneizada se hace pasar luego a una prensa de tornillo horizontal para extraer con un líquido, dando un extracto líquido que contiene azúcares. El extracto se clarifica procesándolo en un filtro cerámico de 0,1 µm usando filtración de flujo tangencial. El filtrado se clarifica adicionalmente usando ultrafiltración de 1 kDa, y luego se concentra por filtración de ósmosis inversa. Se añade NaOH para ajustar el pH del extracto por encima de 8,4. Se utiliza un evaporador de caldera a vacío para concentrar el extracto, dando un extracto enriquecido en azúcares con un contenido total representativo de sólidos de 60,74%.

**Ejemplo 10**

Se cosechan plantas de tabaco, se separan las hojas de los tallos y se homogeneizan las hojas añadiendo un tampón (glicina 75 mM a pH 10,5) a las hojas en un desintegrador. La mezcla homogeneizada se hace pasar luego por una prensa de tornillo horizontal para extraer con un líquido, dando un extracto líquido que contiene azúcares.

5 Se añade al extracto un agente de filtración (tierra de diatomeas), la mezcla se agita durante 15 minutos y después se hace pasar a través de un filtro prensa. El filtrado se clarifica adicionalmente mediante ultrafiltración de 500 kDa seguido por ultrafiltración de 1 kDa, y después se somete a filtración por ósmosis inversa para concentrar. Se añade NaOH para ajustar el pH del extracto por encima de 8,4. Se utiliza un evaporador de caldera a vacío para concentrar el extracto, dando un extracto enriquecido en azúcares con un contenido total representativo de sólidos del 82,07%.

**Ejemplo 11**

Se cosechan tallos de tabaco, se trocean y homogeneizan añadiendo agua a las plantas en un desintegrador. La mezcla homogeneizada se hace pasar luego por una prensa de tornillo horizontal para extraer con un líquido, dando un extracto líquido que contiene azúcares. El extracto se clarifica procesándolo en un filtro cerámico de 0,1 µm usando filtración de flujo tangencial. El filtrado se clarifica adicionalmente mediante ultrafiltración de 1 kDa, y se concentra mediante filtración por ósmosis inversa. Se añade NaOH para ajustar el pH del extracto por encima de 8,4. Se utiliza un evaporador de caldera a vacío para concentrar el extracto, dando un extracto enriquecido en azúcares con un contenido total representativo de sólidos del 92,11%.

15

**Ejemplo 12**

Se cosechan plantas de tabaco, las hojas se separan de los tallos y las hojas se homogeneizan añadiendo agua a las hojas en un desintegrador. La mezcla homogeneizada se hace pasar luego a una prensa de tornillo horizontal para extraer con un líquido, dando un extracto líquido que contiene azúcares. El extracto se procesa en un filtro cerámico de 0,1 µm usando filtración de flujo tangencial, dando un filtrado y un retenido. El retenido se añade a una caldera a vacío con agua y el pH de la mezcla resultante se ajusta a aproximadamente 1,8 con HCl. La mezcla del retenido se hierve para descomponer el almidón contenido en la misma durante aproximadamente 6 horas. Pueden añadirse enzimas (por ej., amiloglicosidasa y/o alfa amilasa) para convertir el almidón más completamente en glucosa. La mezcla cocida en la caldera se procesa en un filtro cerámico de 0,1 µm usando filtración de flujo tangencial. El permeado del mismo se procesa a continuación mediante ultrafiltración de 1 kDa y se concentra mediante filtración por ósmosis inversa. El material cocido en la caldera (es decir, que comprende almidón convertido en glucosa) se combina con el material extraído que contiene azúcares y la disolución combinada se procesa de nuevo mediante ultrafiltración de 1 kDa y se concentra usando filtración por ósmosis inversa. Se añade NaOH para ajustar el pH del permeado por encima de 8,4. Se utiliza un evaporador de caldera a vacío para concentrar la muestra, dando un extracto enriquecido en azúcares que tiene un contenido total de sólidos de 90,1%.

20

25

30

**Ejemplo 13**

Se cosechan plantas de tabaco, las hojas se separan de los tallos y las hojas se homogeneizan añadiendo agua a las hojas en un desintegrador. La mezcla homogeneizada se hace pasar luego por una prensa de tornillo horizontal para extraer con un líquido, dando un extracto líquido que contiene azúcares. El extracto se procesa en un filtro cerámico de 0,1 µm usando filtración de flujo tangencial, dando un filtrado y un retenido. Se añade agua para obtener una disolución de sólidos al 30% a partir del retenido. El pH de la mezcla se ajusta a 1,80 usando HCl y la mezcla con el pH ajustado se hierve durante 4 horas (añadiendo agua a pH 1,80 según sea necesario para mantener un volumen de líquido constante). El pH se ajusta adicionalmente a 5,5 y se añade α-amilasa en una cantidad de 0,1% en volumen. La mezcla se agita suavemente durante 2 horas, después de lo cual se ajusta el pH a 5,0, se calienta la mezcla a 37°C y se añade amiloglicosidasa en una cantidad de 0,5% en volumen a la mezcla.

35

40

La mezcla resultante se pasa a través de un filtro cerámico de 0,1 µm para retener y separar las enzimas y el permeado se procesa mediante ultrafiltración de 1 kDa. El permeado se concentra por filtración por ósmosis inversa y filtración a vacío para dar un extracto enriquecido en azúcares.

45

**REIVINDICACIONES**

1. Un método para preparar un extracto enriquecido en azúcares de una planta de las especies de *Nicotiana* o de una porción de la misma, que comprende:

Recibir un material vegetal de las especies de *Nicotiana*;

5 Poner en contacto el material vegetal con un disolvente durante un tiempo y en condiciones suficientes para extraer uno o más azúcares del material vegetal en el disolvente y formar un extracto líquido que contiene azúcares, o prensar el material vegetal en ausencia de líquido añadido y recoger un extracto líquido que contiene azúcares liberado del material vegetal prensado;

Separar un material vegetal sólido del extracto líquido que contiene azúcares;

10 Clarificar el extracto líquido que contiene azúcares para formar un extracto clarificado que contiene azúcares y una fracción sólida;

Ajustar el pH del extracto clarificado que contiene azúcares a un pH de al menos aproximadamente 8;

y

15 Aislar el extracto clarificado que contiene azúcares para dar un extracto enriquecido en azúcares que comprende al menos aproximadamente 10% de fructosa y glucosa en peso seco.

2. El método según la reivindicación 1, en el que el material vegetal de las especies de *Nicotiana* comprende material vegetal verde, material vegetal amarilleado, material vegetal curado, o una combinación de los mismos.

3. El método según la reivindicación 1, que además comprende concentrar el extracto clarificado que contiene azúcares para proporcionar un extracto concentrado enriquecido en azúcares, y en particular en el que la concentración se hace usando una o más técnicas de ósmosis inversa, evaporación al vacío y calentamiento atmosférico; y en particular en el que la concentración proporciona un extracto concentrado enriquecido en azúcares que tiene un contenido total de sólidos de al menos aproximadamente 50%.

4. El método según la reivindicación 1, que además comprende la adición de uno o más componentes para separar el color, el olor, el sabor, los alcaloides, los metales, o una combinación de los mismos, en cualquier etapa del procedimiento, y en particular, donde el uno o más componentes se seleccionan del grupo que consiste en carbón activado, una resina, arcilla, un agente quelante, un polímero impreso molecularmente, un polímero no impreso, o una combinación de los mismos.

5. El método según la reivindicación 1, en el que el extracto enriquecido en azúcares comprende al menos aproximadamente 20% de fructosa y glucosa en peso seco.

30 6. El método según la reivindicación 1, en el que el disolvente comprende agua, y en particular, en el que el disolvente comprende un tampón.

7. El método según la reivindicación 1, en el que la etapa de clarificación comprende filtrar el extracto líquido que contiene azúcares, y en particular, en el que el filtrado comprende una o más técnicas de microfiltración, ultrafiltración y nanofiltración.

35 8. El método según la reivindicación 1, en el que al menos aproximadamente 10% de fructosa y glucosa comprende al menos aproximadamente 30% de fructosa en peso en ausencia de cualquier tratamiento adicional para convertir alguna porción de glucosa en fructosa y, en particular,

40 en el que al menos aproximadamente 10% de fructosa y glucosa comprende al menos aproximadamente 40% de fructosa en peso en ausencia de cualquier tratamiento adicional para convertir alguna porción de glucosa en fructosa y, en particular,

en el que al menos aproximadamente 10% de fructosa y glucosa comprende al menos aproximadamente 50% de fructosa en peso en ausencia de cualquier tratamiento adicional para convertir alguna porción de glucosa en fructosa.

45 9. El método según la reivindicación 1, que comprende además: tratar la fracción de sólidos obtenida de la etapa de clarificación para convertir en azúcar al menos una porción del almidón contenido en la misma para dar una fracción tratada de sólidos; y concentrar la fracción tratada de sólidos.

10. El método según la reivindicación 9, que además comprende combinar la fracción tratada de sólidos con el extracto enriquecido en azúcares.

50 11. El método según la reivindicación 9, en el que la etapa de tratamiento comprende uno o ambos de calentar la fracción de sólidos a un pH ácido y añadir una o más enzimas a la fracción de sólidos, y en particular, en el que la

una o más enzimas se seleccionan del grupo que consiste en  $\alpha$ -amilasa, amiloglucosidasa y xilosa isomerasa, y en particular, en el que el calentamiento comprende llevar a ebullición.

12. El método según la reivindicación 9, que además comprende filtrar la fracción tratada de sólidos antes de dicha concentración.
- 5 13. Un extracto enriquecido en azúcares obtenido según el método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, y en particular, en el que el extracto comprende menos que aproximadamente el 2% en peso de nicotina.
14. Una composición de tabaco para uso en un artículo para fumar, un producto de tabaco sin humo, o dispositivo generador de aerosol, que comprende el extracto enriquecido en azúcares según la reivindicación 13.
- 10 15. Un suplemento dietético, alimento, bebida, artículo para el cuidado personal, producto farmacéutico o alimento para mascotas, que comprende el extracto enriquecido en azúcares según la reivindicación 13.

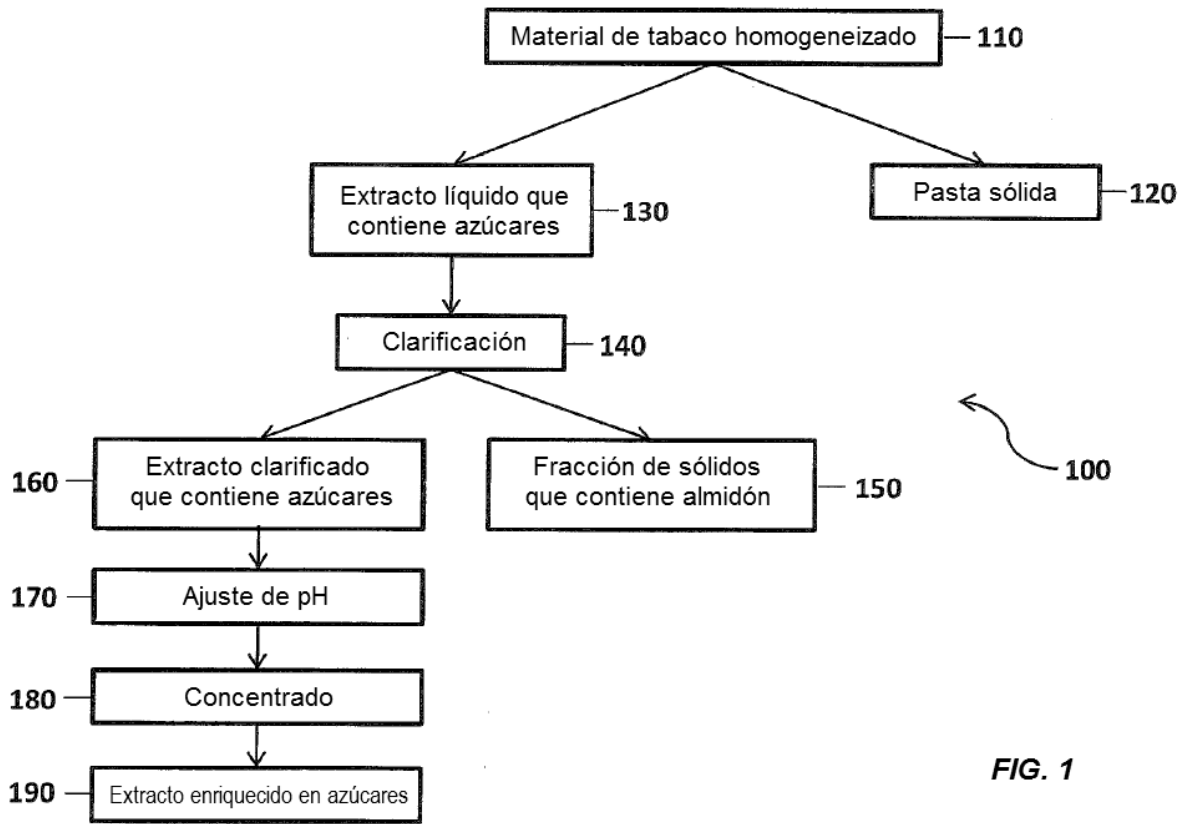


FIG. 1



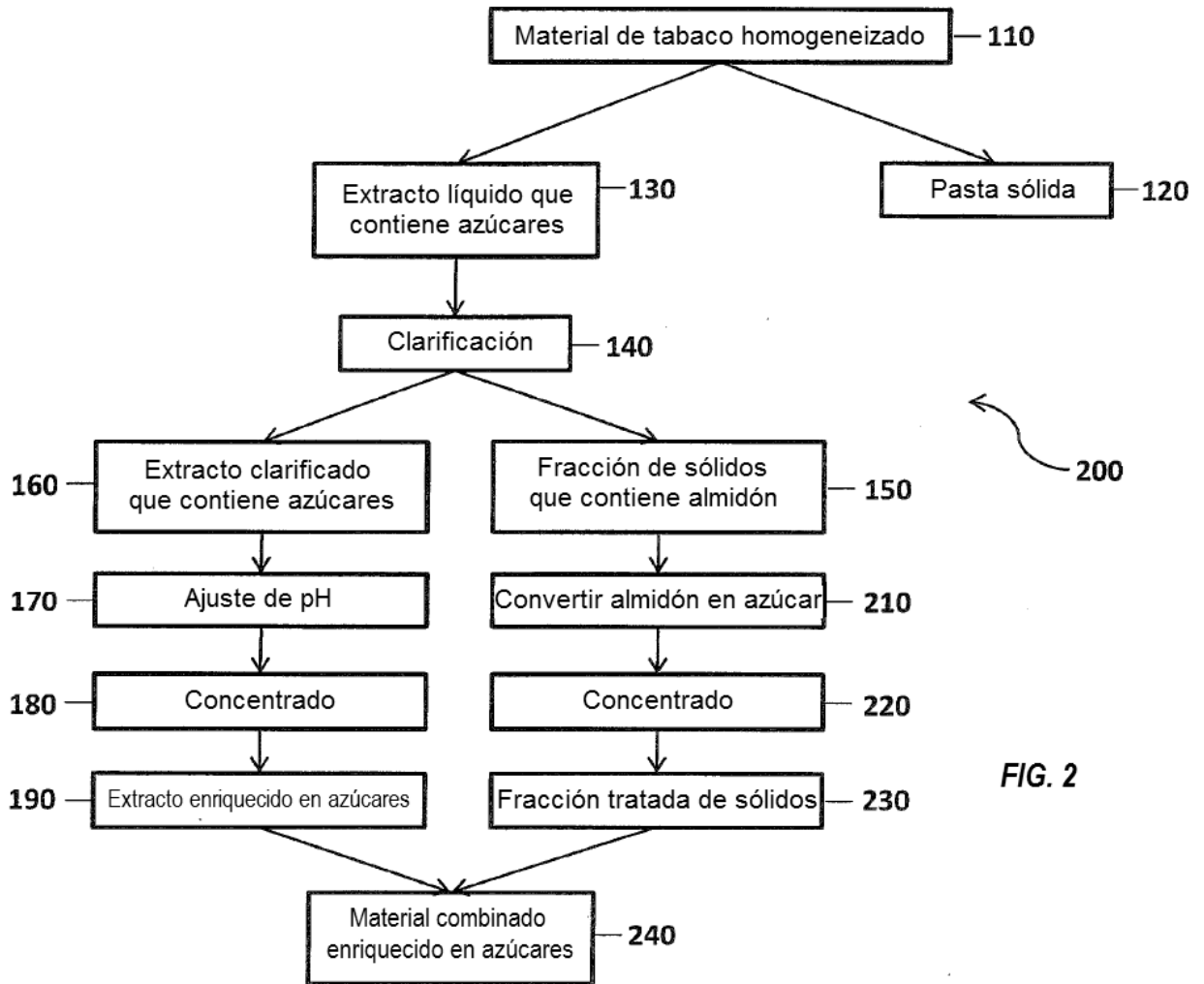
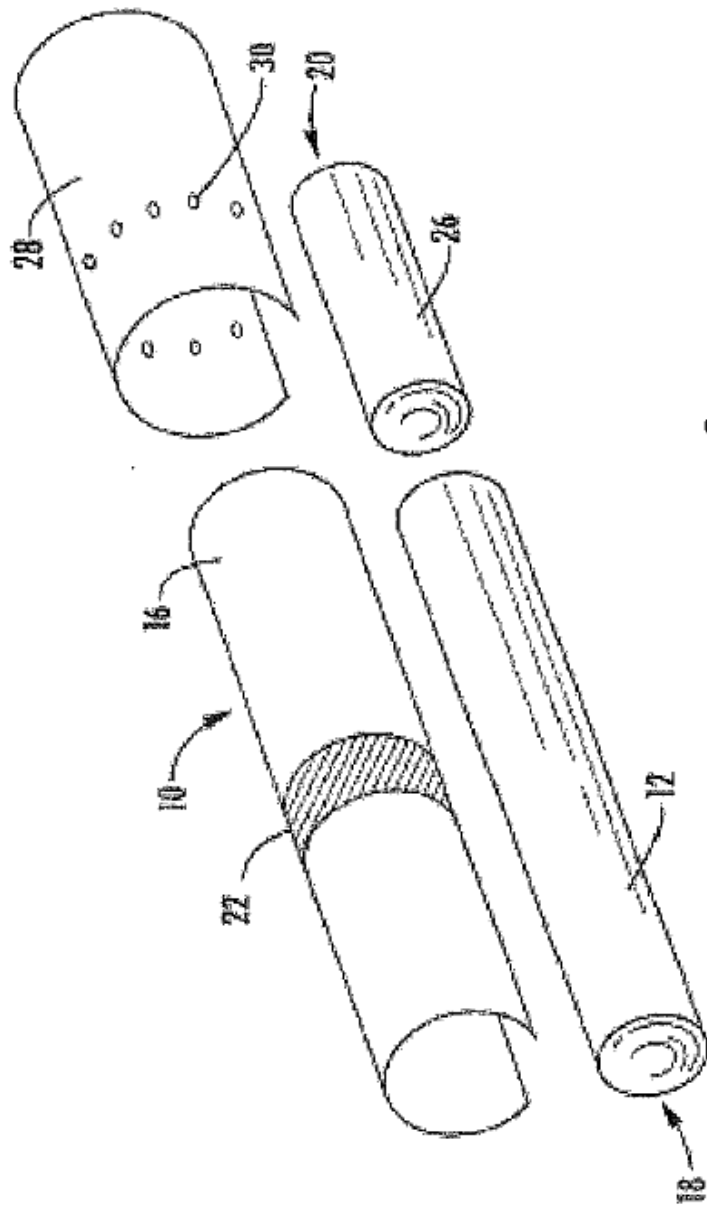
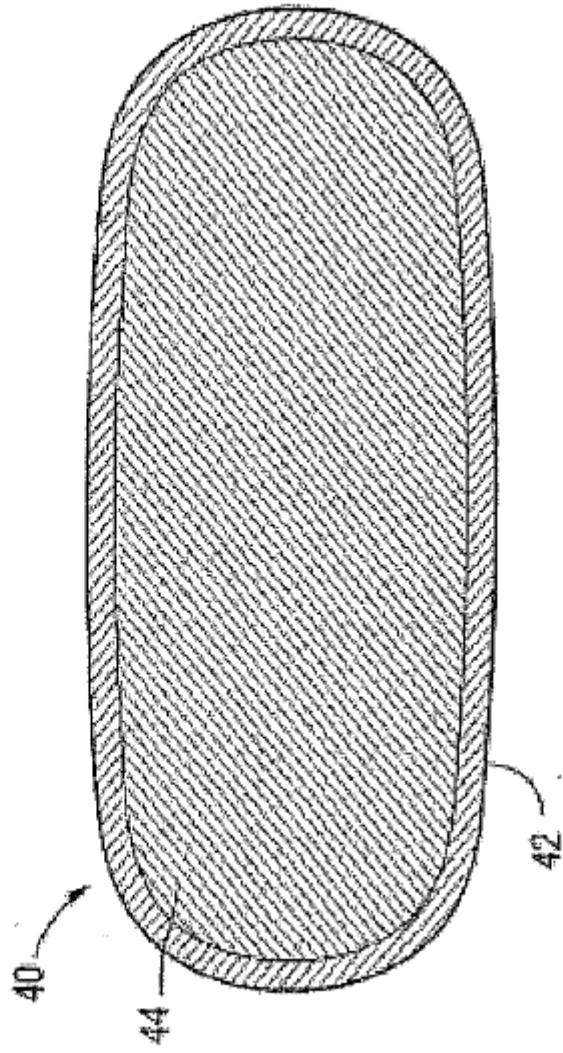


FIG. 2



**FIG. 3**



**FIG. 4**