

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 717 434**

51 Int. Cl.:

A24B 15/24 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **14.03.2014 PCT/EP2014/055209**

87 Fecha y número de publicación internacional: **18.09.2014 WO14140346**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.03.2014 E 14709979 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.02.2019 EP 2967127**

54 Título: **Métodos para reducir una o más nitrosaminas específicas del tabaco en el material de tabaco**

30 Prioridad:

15.03.2013 EP 13159620

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

21.06.2019

73 Titular/es:

**PHILIP MORRIS PRODUCTS S.A. (100.0%)
Quai Jeanrenaud 3
2000 Neuchâtel, CH**

72 Inventor/es:

**LANG, GERHARD;
GUNDUZ, IRFAN y
VUARNOZ-BIZE, ALINE**

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 717 434 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

Métodos para reducir una o más nitrosaminas específicas del tabaco en el material de tabaco

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere a métodos para reducir la cantidad de uno o más tipos de nitrosamina específica del tabaco, que incluye 4-(metilnitrosamino)-1-(3-piridilo)-1-butanona (NNK), en el material de tabaco. También se describen productos de tabaco que comprenden material de tabaco obtenido u obtenible mediante dichos métodos.

10

Antecedentes de la invención

Durante la fabricación y el procesamiento de productos de tabaco, se producen y pueden reciclarse subproductos tales como tallos de tabaco, restos de hoja, y polvo de tabaco producidos durante el proceso de fabricación (que incluye desvenar, envejecer, mezclar, cortar, secar, enfriar, tamizar, dar forma y empaquetar) para recuperar su contenido de tabaco útil. Por ejemplo, los tallos de tabaco y la picadura fina de tabaco del proceso de fabricación son inadecuados para usar directamente en la fabricación de productos de tabaco. Dado que los tallos y picadura fina representan una cantidad esencial de inversión de materia prima, se han desarrollado procesos para además convertir estos tallos y picadura fina en productos tales como láminas de tabaco reconstituido las que se usan luego en cantidades relativamente grandes en una mezcla con hoja de tabaco procesada de manera aceptable. El tabaco reconstituido puede fabricarse en un proceso de lámina moldeada o en suspensión en donde la pulpa de los tallos de tabaco aplastados y otras partes de la hoja de tabaco se muelen y se mezclan con una solución que pudiera contener diferentes aditivos. La suspensión de tabaco resultante se rocía luego para formar una capa delgada, seca, enrollada y troceada en tiras las cuales se adicionan a un relleno.

25

Las nitrosaminas son compuestos orgánicos encontrados en muchos productos para el consumidor, tales como tabaco, productos alimenticios y cosméticos. Las nitrosaminas han atraído un fuerte interés científico debido a que algunos de los compuestos en esta clase se han mostrado como carcinógenos en animales de laboratorio. Se ha reportado que los tabacos curados al aire y curados al humo contienen nitrosaminas específicas del tabaco que pueden encontrarse en tabacos sin humo, en el humo de la corriente principal y en el humo de la corriente lateral de los cigarrillos. En el tabaco, se producen cuatro especies de nitrosaminas en una cantidad apreciable. Estas son 4-(metilnitrosamino)-1-(3-piridilo)-1-butanona (NNK), N-nitrosanornicotina (NNN), N-nitrosoanatabina (NAT), y N-nitrosoanabasina (NAB). Las nitrosaminas específicas del tabaco no se consideran presentes en cantidades significativas en las plantas de cultivo de tabaco o en el tabaco cortado fresco (tabaco verde), pero pueden formarse durante el proceso de curado. Adicionalmente a la formación de nitrosaminas específicas del tabaco durante el proceso de curado de las hojas verdes, las nitrosaminas específicas del tabaco pueden formarse además durante los procesos usados para preparar suspensiones acuosas de tabaco, tales como los procesos usados para preparar tabaco reconstituido.

40

En un intento por reducir las nitrosaminas específicas del tabaco, se han sugerido diversos tratamientos de las plantas de tabaco o las hojas de tabaco cosechado, que incluyen tratamientos de radiación, tratamientos químicos y extracciones. Otros métodos para reducir las nitrosaminas específicas del tabaco se han sugerido por MacKown y otros. (1988) *J. Agric. Food Chem.* 36, 1031-1035. Estos métodos incluyen un tratamiento que usa esterilización, inhibidores microbianos, bases para aumentar el pH, o ácido ascórbico para disminuir la acumulación de nitrosaminas específicas del tabaco durante la producción de láminas de tabaco reconstituido. El documento de patente WO2012160133 describe un proceso para disminuir los niveles de nitrosaminas específicas del tabaco en homogeneizados de tabaco de mediante el aumento del pH en estos, especialmente cuando se crean niveles elevados de nitrosaminas mediante niveles elevados de nitrito.

50

Un problema con tratar de reducir los niveles de una o más nitrosaminas específicas del tabaco en el tabaco es que algunas de las nitrosaminas en el tabaco curado al aire, que incluye NNK, existen en forma unida a la matriz. Por ejemplo, el humo de la trama base tipo Burley (es decir fibras de Burley extraídas en agua) contiene un 70 % de NNK encontrada en el humo del tabaco original, mientras que los niveles de NNN y NAT se reducen por más del 95 % (Haut, S. A., Lambert, E. A., 1988, *The Determination of TSNA in Fillers from the Crossed Soluble/Baseweb Study*. Legacy Tobacco Documents Library). La NNK unida a la matriz pueden extraerse con una solución de 0,1N KOH de un relleno Burley lavado en agua. Este tratamiento alcalino también disminuye los niveles de NNK en el humo (Keene, C.K., 1992, *The Effect of Base Digestion on TSNA in Extractables-Depleted Fillers*. Legacy Tobacco Documents). Sin embargo, el tratamiento puede introducir compuestos toxicológicamente relevantes en el tabaco y deteriorar significativamente la calidad del tabaco. La forma unida a la matriz no puede solubilizarse fácilmente mediante el uso de métodos de extracción de pH acuoso neutro.

60

Permanece una necesidad por un método efectivo y rentable para reducir las nitrosaminas específicas del tabaco, particularmente aquellas nitrosaminas específicas del tabaco, que incluyen NNK, que se forman durante el procesamiento del tabaco y tienen forma unida a la matriz.

65

La patente de Estados Unidos US 5 810 020 A se dirige a un proceso para extraer sales de nitrato que implican

extracción acuosa convencional realizada en material de tabaco a temperaturas de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 100 °C. La publicación de la solicitud de patente de Estados Unidos Número US 2012/125354 A1 describe la extracción acuosa de tabaco curado al fuego llevado a cabo a temperaturas de hasta 110 °C.

5 Sumario de la invención

La presente invención se define en la reivindicación independiente 1 y ciertas características opcionales de estas se definen en las reivindicaciones dependientes. En la medida en que los términos “invención”, “ejemplo”, “aspecto” y “modalidad” se usan en la presente descripción, esto se interpretará de tal manera que la única protección buscada es para la invención tal como se reivindica. La presente invención se basa, al menos en parte, en el descubrimiento sorprendente de que las nitrosaminas específicas del tabaco, que incluyen nitrosaminas específicas del tabaco unidas a la matriz, adecuadamente, NNK unida a la matriz, pueden liberarse mediante el calentamiento del tabaco y de los materiales derivados del tabaco a temperaturas por encima de los 100°C. En todas las modalidades de la invención, al menos NNK unida a la matriz se libera calentando el material de tabaco durante al menos 30 segundos a una temperatura superior a 115 grados centígrados. La etapa de calentamiento se realiza en presencia de líquido, como agua o vapor. En ciertas modalidades se usa exclusivamente agua, por ejemplo, el agua calentada en forma de vapor. La NNK unida a la matriz, que se liberan pueden eliminarse fácilmente mediante el lavado lo que puede resultar en un material de tabaco con un contenido, concentración o cantidad inferior de nitrosamina(s) específica(s) del tabaco, que el material de partida sin tratar. También puede resultar en un material de tabaco que produce concentraciones inferiores de nitrosamina específica del tabaco en aerosol, que incluye humo, que el material de partida sin tratar. En consecuencia, la misma NNK unida a la matriz que se libera hasta el calentamiento también se transfiere al aerosol durante la acción de fumar. Ventajosamente, este método puede aplicarse a muchos tipos de materiales de tabaco diferentes y especialmente a materiales de tabacos con altos valores de nitrosamina específica del tabaco. En particular, el método puede aplicarse a una alta nitrosamina específica del tabaco, material de bajo valor, que incluye tallos o fibras que se usan en ciertos procesos del tabaco. A diferencia de otros métodos que usan agua o solventes orgánicos a temperaturas por debajo de 100°C, el proceso propuesto puede retirar las nitrosaminas específicas del tabaco que se unen a la matriz polimérica insoluble del tabaco. Es también ventajoso que el método pueda llevarse a cabo en ciertas modalidades sin usar cualquier aditivo y por tanto no introduce compuestos adicionales toxicológicamente relevantes en el tabaco. Un objetivo general de esta descripción es esencialmente eliminar, disminuir o reducir el contenido de nitrosamina(s), que incluye NNK, en el tabaco previsto para fumar o consumir mediante otros medios. Otro objetivo general es reducir el potencial carcinogénico de los productos de tabaco, que incluyen cigarrillos, cigarros, tabaco de masticar, rapé y goma y pastillas que contienen tabaco. Aún otro objetivo general es esencialmente eliminar, disminuir o reducir la cantidad de nitrosaminas específicas del tabaco, que incluye NNK, en productos de tabaco. Otro objetivo general es reducir el contenido de nitrosamina(s) específica(s) del tabaco en un tabaco completamente curado. Otro objetivo general es reducir el contenido de nitrosamina(s) específica(s) del tabaco en aerosol, que incluye el humo. Aún otro objetivo de esta descripción es reducir el contenido de una o más nitrosaminas específicas del tabaco, que incluye NNK, y metabolitos de esta en humanos que fuman, consumen o de otra manera ingieren tabaco de alguna forma, mediante la proporción de un producto de tabaco adecuado para el consumo humano el cual contiene una cantidad esencialmente reducida de nitrosamina(s) específica(s) del tabaco, y baja por tanto el potencial carcinógeno de tal producto.

En un primer aspecto, se proporciona un método para reducir la cantidad de al menos NNK unida a la matriz en material de tabaco que comprende las etapas de: (a) proporcionar material de tabaco que comprende al menos NNK unida a la matriz; (b) medir opcionalmente el nivel de al menos NNK unida a la matriz en el material de tabaco; (c) calentar el material de tabaco por al menos 30 segundos a una temperatura superior a 115 grados centígrados en presencia de un líquido o vapor para liberar al menos una porción de NNK unida a la matriz de la matriz de tabaco insoluble del material de tabaco; (d) medir opcionalmente el nivel de al menos NNK unida a la matriz en el material de tabaco siguiente a la etapa (c); (e) comparar opcionalmente los niveles de NNK unida a la matriz obtenidos en las etapas (b) y (d); e (f) identificar el material de tabaco en el que al menos la NNK unida a la matriz se ha liberado o retirado del material de tabaco.

En una modalidad, el método comprende las etapas adicionales de lavar el material de tabaco con una primera solución acuosa o solvente antes de la etapa (c) y lavar el material de tabaco con una segunda solución acuosa o solvente después de la etapa (c).

En una modalidad, el material de tabaco proporcionado en la etapa (a) se pone en contacto con una primera solución acuosa o solvente anterior a la etapa (c).

En una modalidad, la NNK unida a la matriz se retira de la muestra mediante una o más lavadas con una segunda solución acuosa o solvente.

En una modalidad, la primera y/o segunda solución acuosa o solvente es la misma o diferente.

En una modalidad, el método puede comprender la etapa adicional entre las etapas (a) y (b) de combinar el material de tabaco con una primera solución acuosa o solvente. Esto puede formar una mezcla.

- 5 En una modalidad, el material de tabaco que se calienta en la etapa (a) se pone en contacto con una solución acuosa o solvente. Por ejemplo, el material de tabaco puede estar húmedo o humedecerse. Por ejemplo, el material de tabaco puede presentarse en la forma de al menos un 5 % (p/v) de una mezcla acuosa, tal como una solución o una suspensión.
- 5 En una modalidad, la etapa (b) comprende el calentamiento de la mezcla acuosa que contiene el material de tabaco. En una modalidad, al menos una porción de la NNK se une inicialmente a una matriz de tabaco insoluble en el material de tabaco y la etapa de calentamiento (b) libera al menos una porción de la NNK de la matriz de tabaco insoluble.
- 10 En una modalidad, el método comprende la etapa adicional de: (c) retirar al menos una porción de la NNK liberada del material de tabaco. En una modalidad, la NNK se libera a partir de la muestra mediante una o más lavadas con una segunda solución acuosa o solvente.
- 15 En una modalidad, el material de tabaco proporcionado en la etapa (a) se pone en contacto con una primera solución acuosa o solvente anterior al uso.
- En una modalidad, la solución acuosa es un solvente.
- 20 En una modalidad, el material de tabaco se selecciona del grupo que consiste en: hoja de tabaco y/o tallos de tabaco y/o polvo de tabaco y/o tira laminada principal de hoja de tabaco o una combinación de dos o más de estos.
- En una modalidad, el material de tabaco se calienta en presencia de agua o vapor producido del agua.
- 25 En otra modalidad, el material de tabaco se calienta en presencia de agua, vapor o ambos, agua y vapor.
- En otra modalidad, el material de tabaco se calienta en presencia de agua y/o vapor bajo presión. Los niveles ilustrativos de presión están entre aproximadamente 1 y al menos aproximadamente 40 psi, entre aproximadamente 5 y al menos aproximadamente 40 psi y entre 10 y al menos aproximadamente 40 psi.
- 30 En otra modalidad, el material de tabaco se calienta con el uso de vapor saturado presurizado.
- En otra modalidad, el material de tabaco se calienta con el uso de vapor sobrecalentado.
- 35 En un aspecto adicional se proporciona un material de tabaco obtenido u obtenible por el método descrito en la presente descripción.
- En un ejemplo de la descripción se proporciona material de tabaco (tratado o procesado) que comprende menos de aproximadamente 2400 ng/g de NNK en la matriz de tabaco insoluble y al menos aproximadamente 1000 ng/g de NNK libre.
- 40 En un ejemplo adicional de la descripción se proporciona material de tabaco (tratado o procesado) en el que la cantidad o concentración de NNK unida a la matriz es al menos un 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 % o un 100 % inferior comparado a un material de tabaco no tratado o no procesado.
- 45 En un ejemplo adicional de la descripción se proporciona un método para reducir la cantidad o concentración de una o más nitrosaminas específicas del tabaco en un aerosol que comprende las etapas de: (a) proporcionar un material de tabaco que comprende una o más nitrosaminas específicas del tabaco; (b) calentar el material de tabaco por al menos aproximadamente 30 segundos a una temperatura superior a aproximadamente 100 grados centígrados en presencia de un líquido o vapor para liberar al menos una porción de una o más nitrosaminas específicas del tabaco de la matriz de tabaco insoluble del material de tabaco; (c) retirar al menos una porción de la o las nitrosamina(s) específica(s) del tabaco liberadas del material de tabaco; y (d) calentar el material de tabaco de la etapa (b) para producir un aerosol. Adecuadamente, el aerosol que se obtiene tiene un nivel inferior de NNK comparado con un aerosol de un material de tabaco de control que no se ha subordinado a al menos la etapa (b).
- 50
- 55 En un ejemplo adicional de la descripción se proporciona un método para reducir la cantidad o concentración de una o más nitrosaminas específicas del tabaco en un aerosol que comprende las etapas de: (a) proporcionar material de tabaco que comprende una o más nitrosaminas específicas del tabaco; (b) calentar el material de tabaco por al menos aproximadamente 30 segundos a una temperatura superior a aproximadamente 100 grados centígrados en presencia de un líquido o vapor para liberar al menos una porción de la o las nitrosamina(s) específica(s) del tabaco de la matriz de tabaco insoluble del material de tabaco;
- 60
- (c) retirar al menos una porción de la o las nitrosamina(s) específica(s) del tabaco liberadas del material de tabaco; y (d) calentar el material de tabaco de la etapa (b) para producir un aerosol. Adecuadamente, el aerosol que se obtiene tiene un nivel inferior de NNK comparado con un aerosol de un material de tabaco de control que no se ha subordinado a al menos la etapa (b).
- 65

En un ejemplo adicional de la descripción se proporciona un aerosol obtenido u obtenible mediante el método descrito en la presente descripción.

5 En un ejemplo adicional de la descripción se proporciona un método para producir tabaco reconstituido que comprende las etapas de: (a) proporcionar material de tabaco que comprende una o más nitrosaminas específicas del tabaco; (b) calentar el material de tabaco por al menos aproximadamente 30 segundos a una temperatura superior a aproximadamente 100 grados centígrados en presencia de un líquido o vapor para liberar al menos una porción de la o las nitrosamina(s) específica(s) del tabaco de la matriz de tabaco insoluble del material de tabaco; (c) lavar el material de tabaco de la etapa (b) con una solución acuosa o solvente para liberar la o las nitrosamina(s) específica(s) del tabaco del material de tabaco; (d) fabricar el material de tabaco obtenido de la etapa (c) en tabaco reconstituido; y (d) incorporar opcionalmente el tabaco reconstituido en un producto de tabaco.

15 En un ejemplo adicional de la descripción se proporciona un método para producir tabaco reconstituido que comprende las etapas de: (a) proporcionar material de tabaco que comprende una o más nitrosaminas específicas del tabaco; (b) fabricar dicho material de tabaco en tabaco reconstituido mediante la separación de fibras de tabaco del material soluble; (c) calentar las fibras separadas por al menos aproximadamente 30 segundos a una temperatura de al menos 100 grados centígrados en presencia de un líquido o vapor para liberar al menos una porción de la o las nitrosamina(s) específica(s) del tabaco de la matriz de tabaco insoluble de las fibras separadas; (d) lavar las fibras con una solución acuosa o solvente; (e) recombinar las fibras y el material soluble para formar una lámina de tabaco reconstituido; e (f) incorporar opcionalmente el tabaco reconstituido en un producto de tabaco.

25 En un ejemplo adicional de la descripción se proporciona un método para producir tabaco reconstituido que comprende las etapas de: (a) proporcionar material de tabaco que comprende una o más nitrosaminas específicas del tabaco; y (b) calentar el material de tabaco por al menos aproximadamente 30 segundos a una temperatura superior a aproximadamente 100 grados centígrados en presencia de un líquido o vapor para liberar al menos una porción de la o las nitrosamina(s) específica(s) del tabaco de la matriz de tabaco insoluble del material de tabaco; (c) retirar al menos una porción de la o las nitrosamina(s) específica(s) del tabaco liberadas del material de tabaco; (d) moldear el material de tabaco en una o más láminas; (e) secar la o las lámina(s) moldeadas; e (f) incorporar opcionalmente la o las lámina(s) en un producto de tabaco.

30 En un ejemplo adicional de la descripción se proporciona un tabaco reconstituido u obtenible mediante el método descrito en la presente descripción.

35 En un ejemplo adicional de la descripción se proporciona un método para preparar tabaco para usar como picadura de tabaco que comprende las etapas de: (a) proporcionar material de tabaco, tal como tallos de tabaco, que comprenden una o más nitrosaminas específicas del tabaco; (b) calentar el material de tabaco por al menos aproximadamente 30 segundos a una temperatura superior a aproximadamente 100 grados centígrados en presencia de un líquido o vapor para liberar al menos una porción de la o las nitrosamina(s) específica(s) del tabaco de la matriz de tabaco insoluble del material de tabaco; (c) retirar al menos una porción de la o las nitrosamina(s) específica(s) del tabaco liberadas del material de tabaco; y (d) enrollar y cortar el material de tabaco.

45 En un ejemplo adicional de la descripción se proporciona un método para producir picadura que comprende tallos de tabaco enrollados que comprende las etapas de: (a) proporcionar tallos de tabaco que comprenden una o más nitrosaminas específicas del tabaco; (b) calentar los tallos de tabaco por al menos aproximadamente 30 segundos a una temperatura superior a aproximadamente 100 grados centígrados en presencia de un líquido o vapor para liberar al menos una porción de la o las nitrosamina(s) específica(s) del tabaco de la matriz de tabaco insoluble de los tallos de tabaco; (c) retirar al menos una porción de la o las nitrosamina(s) específica(s) del tabaco liberadas de los tallos de tabaco; (d) mezclar los tallos tratados con al menos un tipo de lámina de tabaco, tabaco expandido o tabaco reconstituido; y (e) producir picadura.

50 En un ejemplo adicional de la descripción se proporciona picadura de tabaco u obtenible mediante el método descrito en la presente descripción.

55 En un ejemplo adicional de la descripción se proporciona un método para reducir la cantidad de al menos NNK unida a la matriz en un material de tabaco que comprende las etapas de: (a) proporcionar material de tabaco que comprende al menos NNK unida a la matriz; (b) lavar el material de tabaco con una primera solución acuosa o solvente; (c) calentar el material de tabaco por al menos aproximadamente 30 segundos a una temperatura superior a aproximadamente 100 grados centígrados o 110 grados centígrados en presencia de un líquido o vapor para liberar al menos una porción de NNK unida a la matriz de la matriz de tabaco insoluble del material de tabaco; (d) lavar el material de tabaco de la etapa (c) con una segunda solución acuosa; y (e) retirar o liberar al menos NNK unida a la matriz del material de tabaco. Cada una de las modalidades discutidas anteriormente se describe como modalidades de cada uno de los aspectos de la invención. Se consideran combinaciones de una o de las modalidades.

65 Breve descripción de las figuras

La Figura 1 muestra las concentraciones de NNK libres y unida a la matriz en las muestras de tabaco seleccionadas.

La Figura 2 muestra la liberación de NNK mediante esterilización en autoclave del tallo Burley lavado en agua de conformidad con una de las modalidades de esta descripción.

5 La Figura 3 muestra la liberación de NNK mediante esterilización en autoclave de relleno 3R4F de conformidad con una de las modalidades de esta descripción.

La Figura 4 muestra el efecto de esterilizar en autoclave y lavar NNK unido y libre en tallos Burley de conformidad con una de las modalidades de esta descripción.

10 La Figura 5 muestra la liberación de NNK, NNN y nicotina a partir del tallo Burley lavado o del tallo Burley lavado-esterilizado-lavado a una temperatura en aumento como se determina con el uso de un termopar en una boquilla de una pipeta de Pasteur rellena con lana de vidrio y el material de tabaco bajo prueba.

Definiciones

15 Los términos técnicos y expresiones usados dentro del alcance de esta solicitud generalmente tendrán el significado aplicado comúnmente para ellos en la técnica pertinente a la biología molecular y de plantas. Todas las definiciones de los términos siguientes se aplican a todo el contenido de esta solicitud. La palabra "que comprende" no excluye otros elementos o etapas, y los artículos indefinidos "un" o "una" no excluyen una pluralidad. Una sola etapa puede cumplir con las funciones de varias características enumeradas en las reivindicaciones. Los términos "esencialmente", "alrededor de", "aproximadamente" y similares en relación con un atributo o un valor particularmente también definen exactamente el atributo o exactamente el valor, respectivamente. El término "aproximadamente" en el contexto de un valor o intervalo numérico dado se refiere a un valor o intervalo que está dentro del 20 %, dentro del 10 %, o dentro del 5 %, del valor o intervalo dado.

25 Los términos "reduce", "reducido" "inhibe" o "inhibido" como se usa en la presente descripción, incluyen una reducción de al menos aproximadamente el 5 %, al menos aproximadamente el 10 %, al menos aproximadamente el 20 %, al menos aproximadamente el 30 %, al menos aproximadamente el 40 %, al menos aproximadamente el 50 %, al menos aproximadamente el 60 %, al menos aproximadamente el 70 %, al menos aproximadamente el 80 %, al menos aproximadamente el 90 %, al menos aproximadamente el 95 %, al menos aproximadamente el 98 %, al menos aproximadamente el 99 % o hasta el 100 % de una cantidad.

30 El término "al menos una porción" como se usa en la presente descripción, incluye al menos aproximadamente el 5 %, al menos aproximadamente el 10 %, al menos aproximadamente el 20 %, al menos aproximadamente el 30 %, al menos aproximadamente el 40 %, al menos aproximadamente el 50 %, al menos aproximadamente el 60 %, al menos aproximadamente el 70 %, al menos aproximadamente el 80 %, al menos aproximadamente el 90 %, al menos aproximadamente el 95 %, al menos aproximadamente el 98 %, o al menos aproximadamente el 99 % de una cantidad.

40 El término "material de tabaco" se refiere a cualquier parte de una planta de tabaco o una mezcla de diferentes plantas de tabaco e incluye sin limitación restos de hoja de tabaco, restos de hoja de tabaco verde, tallos de tabaco, polvo de tabaco creado durante el procesamiento del tabaco, y tiras laminadas de hoja de tabaco principal y una combinación de estos. El material de tabaco puede tener la forma de partes o piezas de tabaco procesado, tabaco curado y envejecido esencialmente en forma de lámina natural o de tallo, un extracto de tabaco o una mezcla de los anteriores, por ejemplo, una mezcla que combina pulpa de tabaco extraída con lámina de tabaco curado granulado y envejecido. El material de tabaco puede estar en forma sólida, en forma líquida, en forma semisólida, o similares. El material de tabaco puede estar en forma de un tabaco homogeneizado que se ha subordinado a la homogeneización, que incluye, pero no se limita a cortar y a triturar. El tabaco homogeneizado puede prepararse de todas las plantas de tabaco o de mezclas de componentes de plantas, tales como una mezcla de tallos y hojas, que se han subordinado a la homogeneización. El material de tabaco puede presentarse en una suspensión del tabaco, que incluye una suspensión del material de tabaco o un tabaco homogeneizado en una solución acuosa o solvente. La suspensión puede ser un 5 % (p/v), 10 % (p/v), 15 % (p/v), 20 % (p/v) o un 25 % (p/v) o más mezcla de tabaco en una solución acuosa o solvente.

55 El término "producto de tabaco" incluye artículos fumables o para fumar, y productos de tabaco sin humo.

El término "nitrosamina libre" o variaciones gramaticales de este como se usa en la presente descripción se refiere a la concentración de nitrosamina calculada en extractos de tabaco.

60 El término "nitrosamina total" o variaciones gramaticales de este como se usa en la presente descripción se refiere a la concentración de nitrosamina calculada después de subordinar las mezclas de extracción a los métodos descritos en la presente descripción (por ejemplo, al calentar hasta aproximadamente 130°C por aproximadamente 4 horas).

65 El término "nitrosamina unida" o "nitrosamina unida a la matriz" o variaciones gramaticales de este como se usa en la presente descripción representa la diferencia entre las concentraciones de "nitrosamina total" y la "nitrosamina libre".

Descripción detallada

La presente invención es aplicable al tratamiento de tabaco cosechado que se prevé para el consumo humano. En términos generales, los métodos pueden aplicarse a cualquier forma de material de tabaco que comprende nitrosamina(s) específica(s) del tabaco, que incluye NNK. Adecuadamente, al menos una porción de la o las nitrosamina(s) específica(s) del tabaco se unen a la matriz de tabaco insoluble. Adecuadamente, al menos una porción de NNK se une a la matriz de tabaco insoluble. Los métodos para medir la o las nitrosamina(s) libres y la o las nitrosamina(s) unidas a la matriz de tabaco insoluble se conocen bien en la técnica y se describen en la presente descripción. Brevemente, se extraen alícuotas de muestras de tabaco y se analiza el contenido de nitrosamina en este mediante el uso de una masa en tándem de cromatografía líquida de alto rendimiento (UPLC-MS/MS). Típicamente, se incorporarán uno o más estándares que corresponden a las nitrosaminas que se cuantifican en las alícuotas de las muestras de tabaco. Las concentraciones de muestra calculadas de los extractos corresponden a las concentraciones de "NNK libre" en la muestra. Después de tratar las mezclas de extracción según los métodos descritos en la presente descripción (por ejemplo, al calentar hasta aproximadamente 130°C por aproximadamente 4 horas) se miden concentraciones de nitrosamina otra vez por UPLC-MS/MS. A partir de estos valores, puede calcularse la concentración de "NNK total" en las muestras. La concentración de "NNK unido" es la diferencia entre las concentraciones de "NNK total" y de "NNK libre". Se han llevado a cabo muchas investigaciones sobre el tabaco, especialmente con relación a las nitrosaminas específicas del tabaco. Las hojas de tabaco recientemente cosechado se denominan "tabaco verde" y se considera que no contienen carcinógenos conocidos, sin embargo el tabaco verde no es adecuado para el consumo humano. El proceso de curado del tabaco verde depende del tipo de tabaco cosechado. Por ejemplo, el tabaco Virginia de humo (brillante) es típicamente curado al humo, mientras que Burley y ciertas cepas oscuras usualmente se curan al aire. El curado al humo del tabaco típicamente tiene lugar por un período de cinco a siete días comparado con uno a dos meses para el curado al aire. Muchos cambios químicos y bioquímicos principales comienzan durante el proceso de curado y continúan a través de las fases tempranas de secado de la hoja. La conversión del tabaco a partir de su color amarillo a pardo resulta generalmente en la formación y la acumulación esencial de nitrosaminas, y un contenido microbiano aumentado. El mecanismo exacto mediante el cual se forman nitrosaminas específicas del tabaco no está claro, pero se considera que éste mejora mediante la actividad microbiana, que involucra reductasas de nitrato microbiano en la generación de nitrito durante el proceso de curado.

De conformidad con una modalidad, la presente invención proporciona métodos para reducir el nivel, cantidad o concentración de una o más nitrosaminas específicas del tabaco en el material de tabaco. De conformidad con otra modalidad, la presente invención proporciona métodos para reducir el nivel, cantidad o concentración de al menos NNK en material de tabaco. De conformidad con una modalidad, la presente invención proporciona métodos para reducir el nivel, cantidad o concentración de una o más nitrosaminas específicas del tabaco en el material de tabaco, tal como NNK, que se unen a la matriz insoluble.

En un aspecto, se proporciona un método para reducir la cantidad de una o más nitrosaminas específicas del tabaco que incluyen al menos NNK en el material de tabaco que comprenden las etapas de: (a) proporcionar material de tabaco que comprende una o más nitrosaminas específicas del tabaco; (b) combinar opcionalmente (por ejemplo, mezclar) el material de tabaco con una primera solución acuosa o solvente; y (c) calentar el material de tabaco por al menos aproximadamente 30 segundos a una temperatura superior a aproximadamente 115 grados centígrados en presencia de un líquido o vapor para liberar al menos una porción de la o las nitrosamina(s) específica(s) del tabaco de la matriz de tabaco insoluble del material de tabaco. En una modalidad, el material de tabaco que se calienta en la etapa (c) está húmedo o se humedece. Por ejemplo, el material de tabaco puede presentarse en la forma de al menos un 5 % (p/v) de la mezcla. En una modalidad, la etapa (c) comprende calentar la mezcla que contiene el material de tabaco de la etapa (b). Al menos una porción de la o las nitrosamina(s) específica(s) del tabaco liberadas se libera del material de tabaco por una o más etapas de lavado. El método puede reducir la cantidad total de una o más nitrosaminas específicas del tabaco en el material de tabaco. Como se discute anteriormente, las nitrosaminas específicas del tabaco incluyen 4-(metilnitrosamino)-1-(3-piridilo)-1-butanona (NNK), N-nitrosonomicotina (NNN), N-nitrosoanatabina (NAT), y N-nitrosoanabasina (NAB). El método reduce la cantidad total de al menos NNK en el material de tabaco. El método puede reducir la cantidad total de una o más nitrosaminas específicas del tabaco adicionales que se unen a la matriz insoluble en el material de tabaco. El método reduce la cantidad total de al menos NNK que se une a la matriz insoluble en el material de tabaco.

En un ejemplo, el material de tabaco puede usarse en la preparación de tabaco reconstituido, tal como láminas de tabaco reconstituido (hoja). Estas láminas son un material similar al papel que pueden fabricarse a partir de pequeñas cantidades de tabaco reciclado, tallos de tabaco y "tabaco de clase", que consisten en partículas de tabaco generalmente de una dimensión menor que la malla 30 que se recopilan en cualquier etapa del procesamiento del tabaco. El tabaco reconstituido puede fabricarse mediante la extracción de compuestos químicos solubles en los subproductos del tabaco, el procesamiento de restos de fibras de tabaco a partir de la extracción en un papel, y después la reutilización de los materiales extraídos en forma concentrada sobre el papel.

De este modo, en un ejemplo, se proporciona un método para producir tabaco reconstituido que comprende las etapas de: (a) proporcionar material de tabaco que comprende una o más nitrosaminas específicas del tabaco; (b) calentar el material de tabaco por al menos aproximadamente 30 segundos a una temperatura superior a aproximadamente 100 grados centígrados en presencia de un líquido o vapor para liberar al menos una porción de la o las nitrosamina(s)

específica(s) del tabaco de la matriz de tabaco insoluble del material de tabaco; (c) retirar al menos una porción de la o las nitrosamina(s) específica(s) del tabaco liberadas del material de tabaco; (d) fabricar el material de tabaco obtenido de la etapa (c) en tabaco reconstituido; e (e) incorporar opcionalmente el tabaco reconstituido en un producto de tabaco.

5 En un ejemplo adicional, se proporciona un método para producir tabaco reconstituido que comprende las etapas de:
 (a) proporcionar material de tabaco que comprende una o más nitrosaminas específicas del tabaco; (b) combinar
 opcionalmente el material de tabaco con una primera solución acuosa o solvente; (c) calentar el material de tabaco
 10 por al menos aproximadamente 30 segundos a una temperatura superior a aproximadamente 100 grados centígrados
 en presencia de un líquido o vapor para liberar al menos una porción de la o las nitrosamina(s) específica(s) del tabaco
 de la matriz de tabaco insoluble del material de tabaco; (d) retirar al menos una porción de la o las nitrosamina(s)
 específica(s) del tabaco liberadas del material de tabaco; (e) retirar al menos una porción de la o las nitrosamina(s)
 específica(s) del tabaco liberadas del material de tabaco; (f) moldear el material de tabaco en una o más láminas; (g)
 15 secar la o las láminas(s) moldeadas; e (h) incorporar opcionalmente la o las láminas(s) en un producto de tabaco.

En una modalidad, el material de tabaco comprende o consiste o consiste esencialmente en material de tabaco curado. Los procesos de curado de las hojas de tabaco, especialmente, de las hojas de tabaco verde, se conocen por los expertos en la técnica e incluyen sin limitación un curado al aire, curado al fuego, curado al humo y curado al sol. El proceso de curado del material de tabaco depende del tipo de tabaco cosechado. Por ejemplo, el tabaco Virginia de humo (brillante) se cura típicamente al humo, Burley y ciertas cepas oscuras usualmente, se curan al aire, y el tabaco para pipa, el tabaco de mascar, y el rapé usualmente, se curan al fuego. Aunque puede usarse material de tabaco de cualquier tipo, se prefieren ciertos tipos de tabaco. Particularmente los materiales de tabaco preferidos se seleccionan del grupo que consiste en: curado al humo, turco, Burley, Virginia, Maryland, Oriental, o cualquier combinación de dos o más de estos. La forma del material de tabaco no se limita. Puede presentarse como material de tabaco homogeneizado. Puede presentarse como un material de tabaco molido. Incluso puede presentarse como un material de tabaco molido finamente. El material de tabaco molido finamente tiene típicamente una dimensión de partícula de aproximadamente 30 a 600 micrones. El material de tabaco molido finamente puede obtenerse de cualquiera de los procesos conocidos para la fabricación de productos de tabaco como un subproducto imprevisto de estos procesos o puede obtenerse mediante un proceso adicional de reducción de dimensión tal como una técnica de trituración que incluye una trituración por impacto y una trituración por rodillo. El tabaco homogeneizado, tal como pero que no se limita a tabaco curado homogeneizado, puede prepararse de material de tabaco con el uso de diversos métodos conocidos en la técnica, por ejemplo, el tabaco puede estar en forma picada, triturada, granulada, de partículas finas, o de polvo. El tabaco puede emplearse en forma de partes o piezas que tienen una dimensión promedio de partícula menor que la de las partes o piezas del tabaco picado usado en los productos de tabaco así llamados "de corte fino". Si el tabaco se forma en partículas o piezas de tabaco divididas muy finamente entonces estos pueden dimensionarse para pasar a través de una rejilla de aproximadamente 18 malla Tyler, aproximadamente 20 malla Tyler, aproximadamente 50 malla Tyler, aproximadamente 60 malla Tyler, aproximadamente 100 malla Tyler, o aproximadamente 200 malla Tyler o más. Si se desea, los tabacos homogeneizados dimensionados de manera diferente pueden mezclarse entre sí. Adecuadamente, los tabacos homogeneizados se muelen o pulverizan en forma tipo polvo mediante el uso de equipamiento y técnicas para triturar, pulverizar, o similares. Convenientemente, el tabaco es relativamente de forma seca durante la trituración o pulverización, mediante el uso de un equipamiento tal como molinos de martillo, cabezales cortadores, molinos de control de aire, o similares. Por ejemplo, las partes o piezas de tabaco pueden triturarse o pulverizarse cuando el contenido de humedad de este es de menos de aproximadamente el 15 por ciento en peso a menos de aproximadamente 5 por ciento en peso. El material de tabaco puede formarse con partes de las hojas de tabaco, tal como la lámina y los tallos o con tallos de tabaco, hojas de tabaco y polvo de tabaco.

Anterior al uso, el material de tabaco puede opcionalmente lavarse previamente o hacer contacto con una primera solución acuosa o solvente. En ciertas modalidades, la primera solución acuosa es una solución acuosa no tóxica que comprende agua. En ciertas modalidades, la primera solución acuosa es exclusivamente agua. En ciertas modalidades, la primera solución acuosa es una solución acuosa amortiguadora o no tóxica que contiene el amortiguador. Si se usa un amortiguador luego este estará generalmente en un pH conveniente, tal como al menos aproximadamente pH 5,0, pH 6,0 o pH 7,0 o más. Cuando se combina o se mezcla la primera solución acuosa o solvente con el material de tabaco esta puede ser, por ejemplo, de un 5 % (p/v), 10 % (p/v), 15 % (p/v), 20 % (p/v), 25 % (p/v), 30 % (p/v), 35 % (p/v), 40 % (p/v) o 45 % (p/v) o más mezcla. En ciertas modalidades se usa una mezcla con una relación 1:5 o 1:10 de material de tabaco: solución acuosa o solvente. En ciertas modalidades, la etapa de lavado previo se lleva a cabo por al menos aproximadamente 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 90, 120, 150 o 180 minutos o más a aproximadamente temperatura ambiente. En ciertas modalidades, la etapa de lavado previo se lleva a cabo aproximadamente a temperatura ambiente o a temperaturas que son superiores o inferiores a la temperatura ambiente, tal como aproximadamente 20 grados centígrados, aproximadamente 30 grados centígrados, aproximadamente 40 grados centígrados, aproximadamente 50 grados centígrados, aproximadamente 60 grados centígrados, aproximadamente 80 grados centígrados, o aproximadamente 90 grados centígrados o superiores. En ciertas modalidades, la etapa de lavado previo puede llevarse a cabo en presencia de agitación física y/o condiciones de lavado más estrictas, tal como una temperatura superior y/o una agitación física rigurosa. Se considera que las condiciones de lavado más estrictas pudieran además reducir el contenido de nitrosamina específica del tabaco total.

El material de tabaco puede combinarse con una solución acuosa o solvente para formar una mezcla. La solución acuosa o solvente puede ser el mismo o diferente a la primera solución acuosa o solvente usado en la etapa de lavado previo o de contacto. El material de tabaco puede usarse para formar una suspensión de tabaco o una suspensión de tabaco curado. Una suspensión del tabaco puede prepararse al mezclar el material de tabaco, que incluye material de tabaco molido u homogeneizado, con una solución acuosa o solvente. El tipo exacto o naturaleza de la solución acuosa o solvente no se limita aunque es una ventaja de la presente invención que la solución acuosa o solvente no introduzca ningún compuesto adicional toxicológicamente relevante en el tabaco. Sin embargo, la solución acuosa o solvente generalmente no será tóxica para la salud humana a las concentraciones usadas en el proceso de tratamiento. En ciertas modalidades, la solución acuosa es una solución acuosa no tóxica que contiene agua. En ciertas modalidades, la solución acuosa es una solución acuosa amortiguadora o no tóxica que contiene el amortiguador. Si se usa un amortiguador entonces este estará a un pH conveniente, tal como al menos aproximadamente pH 6,0 o pH 7,0 o más. La solución acuosa o solvente cuando se combina con el material de tabaco puede ser, por ejemplo, un 5 % (p/v), 10 % (p/v), 15 % (p/v), 20 % (p/v), 25 % (p/v), 30 % (p/v), 35 % (p/v), 40 % (p/v) o 45 % (p/v) o más mezcla.

En una etapa adicional del método, el material de tabaco se calienta por al menos aproximadamente 30 segundos, 40 segundos, 50 segundos o 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 40, 45, 50, 60 minutos o 2, 3, 4, 5, 6, 7, u 8 o más horas a una temperatura superior a aproximadamente 115 grados centígrados para liberar al menos una porción de NNK de la matriz de tabaco insoluble hacia el material de tabaco. Generalmente la etapa de calentamiento se lleva a cabo en presencia de un líquido que puede convertirse en vapor a una temperatura mayor que aproximadamente 100 grados centígrados para liberar al menos una porción de nitrosamina(s) específica(s) del tabaco de la matriz de tabaco insoluble del material de tabaco. Adecuadamente, el material de tabaco que se calienta está húmedo o se humedece antes del calentamiento. Por ejemplo, el material de tabaco puede presentarse en la forma de al menos un 5 % (p/v) de la mezcla. Adecuadamente, el material de tabaco consiste en la mezcla descrita en la presente descripción y esta mezcla se calienta por al menos aproximadamente 30 segundos, 40 segundos, 50 segundos o 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 40, 45, 50, 60 minutos o 2, 3, 4, 5, 6, 7, u 8 o más horas o más a una temperatura superior a aproximadamente 115 grados centígrados como se describe en la presente descripción o a una temperatura superior a aproximadamente 200 grados centígrados como se describe en la presente descripción para liberar al menos una porción de NNK de la matriz de tabaco insoluble hacia el material de tabaco. El material de tabaco, el material de tabaco húmedo o que se humedece o la mezcla que comprende el material de tabaco pueden calentarse por al menos aproximadamente 30 segundos, 40 segundos, 50 segundos o 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 40, 45, 50, 60 minutos o 2, 3, 4, 5, 6, 7, u 8 o más horas a una temperatura superior a aproximadamente 115 grados centígrados para liberar al menos una porción de una o más nitrosaminas específicas del tabaco, incluyendo NNK, de la matriz de tabaco insoluble hacia el material de tabaco. En ciertas modalidades, el material de tabaco, el material de tabaco húmedo o que se humedece o la mezcla que comprende el material de tabaco se calientan por al menos aproximadamente 30 segundos a una temperatura superior a aproximadamente 115 grados centígrados. En ciertas modalidades, el material de tabaco, el material de tabaco húmedo o que se humedece o la mezcla que comprende el material de tabaco se calientan por al menos aproximadamente 1 minuto a una temperatura superior a aproximadamente 115 grados centígrados. En ciertas modalidades, el material de tabaco, el material de tabaco húmedo o que se humedece o la mezcla que comprende el material de tabaco se calientan por al menos aproximadamente 5 minutos a una temperatura superior a aproximadamente 115 grados centígrados. En ciertas modalidades, el material de tabaco, el material de tabaco húmedo o que se humedece o la mezcla que comprende el material de tabaco se calientan por al menos aproximadamente 10 minutos a una temperatura superior a aproximadamente 115 grados centígrados. En ciertas modalidades, el material de tabaco, el material de tabaco húmedo o que se humedece o la mezcla que comprende el material de tabaco se calientan por al menos aproximadamente 20 minutos a una temperatura superior a aproximadamente 115 grados centígrados. En ciertas modalidades, el material de tabaco, el material de tabaco húmedo o que se humedece o la mezcla que comprende el material de tabaco se calientan por al menos aproximadamente 30 minutos a una temperatura superior a aproximadamente 115 grados centígrados. En ciertas modalidades, el material de tabaco, el material de tabaco húmedo o que se humedece o la mezcla que comprende el material de tabaco se calientan por al menos aproximadamente 45 minutos a una temperatura superior a aproximadamente 115 grados centígrados. En ciertas modalidades, el material de tabaco, el material de tabaco húmedo o que se humedece o la mezcla que comprende el material de tabaco se calientan por al menos aproximadamente 60 minutos a una temperatura superior a aproximadamente 115 grados centígrados. En ciertas modalidades, el material de tabaco, el material de tabaco húmedo o que se humedece o la mezcla que comprende el material de tabaco se calientan por al menos aproximadamente 90 minutos a una temperatura superior a aproximadamente 115 grados centígrados. En ciertas modalidades, el material de tabaco, el material de tabaco húmedo o que se humedece o la mezcla que comprende el material de tabaco se calientan por al menos aproximadamente 120 minutos a una temperatura superior a aproximadamente 115 grados centígrados.

La temperatura a la cual se calientan el material de tabaco, el material de tabaco húmedo o que se humedece o la mezcla que comprende el material de tabaco es mayor que a aproximadamente 115, 120, 125, 130, 135, 140, 145, 150, 155, 160, 165, 170, 175, 180, 185, 190, 195 o 200 grados centígrados. La temperatura a la cual se calientan el material de tabaco, el material de tabaco húmedo o que se humedece o la mezcla que comprende el material de tabaco puede estar dentro de un intervalo de temperaturas. A modo de un ejemplo, la temperatura a la cual se calientan el material de tabaco, el material de tabaco húmedo o que se humedece o la mezcla que comprende el material de

aproximadamente 60 minutos a una temperatura de al menos aproximadamente 120 grados centígrados. En ciertas modalidades, el material de tabaco, el material de tabaco húmedo o que se humedece o la mezcla que comprende el material de tabaco se calientan por al menos aproximadamente 30 segundos a una temperatura de al menos aproximadamente 130 grados centígrados. En ciertas modalidades, el material de tabaco, el material de tabaco húmedo o que se humedece o la mezcla que comprende el material de tabaco se calientan por al menos aproximadamente 20 minutos a una temperatura de al menos aproximadamente 130 grados centígrados. En ciertas modalidades, el material de tabaco, el material de tabaco húmedo o que se humedece o la mezcla que comprende el material de tabaco se calientan por al menos aproximadamente 30 minutos a una temperatura de al menos aproximadamente 130 grados centígrados. En ciertas modalidades, el material de tabaco, el material de tabaco húmedo o que se humedece o la mezcla que comprende el material de tabaco se calientan por al menos aproximadamente 60 minutos a una temperatura de al menos aproximadamente 130 grados centígrados.

En ciertas modalidades, la temperatura a la cual se calientan el material de tabaco, el material de tabaco húmedo o que se humedece o la mezcla que comprende el material de tabaco puede ser mayor o igual a aproximadamente 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290 o 300 grados centígrados. La temperatura a la cual se calientan el material de tabaco, el material de tabaco húmedo o que se humedece o la mezcla que comprende el material de tabaco puede estar dentro de un intervalo de temperaturas. A modo de ejemplo, la temperatura a la cual se calientan el material de tabaco, el material de tabaco húmedo o que se humedece o la mezcla que comprende el material de tabaco puede estar dentro de un intervalo de aproximadamente 200 a 300 grados centígrados, de aproximadamente 200 a 290 grados centígrados, de aproximadamente 200 a 280 grados centígrados, de aproximadamente 200 a 270 grados centígrados, de aproximadamente 200 a 260 grados centígrados de aproximadamente 200 a 250 grados centígrados.

En ciertas modalidades, el material de tabaco, el material de tabaco húmedo o que se humedece o la mezcla que comprende el material de tabaco se calientan por al menos aproximadamente 20 segundos a una temperatura de al menos aproximadamente 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290 o 300 grados centígrados. En ciertas modalidades, el material de tabaco, el material de tabaco húmedo o que se humedece o la mezcla que comprende el material de tabaco se calientan por al menos aproximadamente 30 segundos a una temperatura de al menos aproximadamente 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290 o 300 grados centígrados. En ciertas modalidades, el material de tabaco, el material de tabaco húmedo o que se humedece o la mezcla que comprende el material de tabaco se calientan por al menos aproximadamente 40 segundos a una temperatura de al menos aproximadamente 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290 o 300 grados centígrados. En ciertas modalidades, el material de tabaco se calientan por al menos aproximadamente 1 minuto a una temperatura de al menos aproximadamente 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290 o 300 grados centígrados. En ciertas modalidades, el material de tabaco, el material de tabaco húmedo o que se humedece o la mezcla que comprende el material de tabaco se calientan por al menos aproximadamente 5 minutos a una temperatura de al menos aproximadamente 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290 o 300 grados centígrados. En ciertas modalidades, el material de tabaco, el material de tabaco húmedo o que se humedece o la mezcla que comprende el material de tabaco se calientan por al menos aproximadamente 10 minutos a una temperatura de al menos aproximadamente 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290 o 300 grados centígrados. En ciertas modalidades, el material de tabaco, el material de tabaco húmedo o que se humedece o la mezcla que comprende el material de tabaco se calientan por al menos aproximadamente 15 minutos a una temperatura de al menos aproximadamente 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290 o 300 grados centígrados. En ciertas modalidades, el material de tabaco, el material de tabaco húmedo o que se humedece o la mezcla que comprende el material de tabaco se calientan por al menos aproximadamente 20 minutos a una temperatura de al menos aproximadamente 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290 o 300 grados centígrados. En ciertas modalidades, el material de tabaco, el material de tabaco húmedo o que se humedece o la mezcla que comprende el material de tabaco se calientan por al menos aproximadamente 30 minutos a una temperatura de al menos aproximadamente 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290 o 300 grados centígrados. En ciertas modalidades, el material de tabaco, el material de tabaco húmedo o que se humedece o la mezcla que comprende el material de tabaco se calientan por al menos aproximadamente 60 minutos a una temperatura de al menos aproximadamente 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290 o 300 grados centígrados. La temperatura a la cual se calienta el material de tabaco, el material de tabaco húmedo o que se humedece o la mezcla que comprende el material de tabaco puede estar dentro de un intervalo de aproximadamente 200 a 300 grados centígrados, aproximadamente 200 a 290 grados centígrados, aproximadamente 200 a 280 grados centígrados, aproximadamente 200 a 270 grados centígrados, aproximadamente 200 a 260 grados centígrados, aproximadamente 200 a 250 grados centígrados, aproximadamente 200 a 240 grados centígrados, aproximadamente 200 a 230 grados centígrados, aproximadamente 200 a 220 grados centígrados, o aproximadamente 200 a 210 grados centígrados.

El material de tabaco, el material de tabaco húmedo o que se humedece o la mezcla que comprende el material de tabaco se calientan generalmente en presencia de agua y/o vapor, en los métodos de la presente descripción. El material de tabaco, el material de tabaco húmedo o que se humedece o la mezcla que comprende el material de tabaco puede calentarse generalmente en presencia exclusivamente de agua y/o exclusivamente de vapor, en los métodos de la presente descripción. Convenientemente, si se usa el vapor solo, entonces el material de tabaco se presenta como material de tabaco húmedo o que se humedece o como una mezcla. La etapa de calentamiento puede ocurrir bajo presión la cual puede provocar que aumente el punto de ebullición del líquido. En una modalidad, la etapa

- de calentamiento se realiza bajo condiciones que subordinan el material de tabaco al vapor, que incluye vapor presurizado. En otra modalidad, el material de tabaco se subordina al vapor presurizado en un recipiente o volumen contenido. Los niveles de presión ilustrativos se discuten en la presente descripción. Puede usarse vapor saturado presurizado. El vapor saturado es vapor que está en equilibrio con agua calentada a la misma presión. El vapor saturado presurizado puede crearse y usarse en una autoclave. Como se entenderá por un experto, las autoclaves trabajan con el aumento de la temperatura en un recinto sellado a través del uso de presión. El agua se introduce para ayudar a la penetración del calor dado que el agua transfiere calor más eficientemente que el aire seco. Generalmente la temperatura necesita aumentarse alrededor de 121 grados centígrados o superior por un período de tiempo. El aumento de presión ayuda a que la temperatura del vapor aumente por encima de su punto de ignición (punto de vaporización). Puede también usarse vapor en forma de vapor sobrecalentado. El vapor sobrecalentado es vapor a una temperatura superior a la de su punto de vaporización (ebullición) a la presión absoluta donde se toma la medición de temperatura. El uso de vapor sobrecalentado puede lograrse mediante el uso de un secador de vapor sobrecalentado.
- 15 Con el seguimiento de la etapa de calentamiento y de presión opcional, el material de tabaco puede lavarse opcionalmente con una segunda solución acuosa o solvente en una etapa de lavado posterior. La segunda solución acuosa o solvente puede ser la misma o diferente a la primera solución acuosa o solvente usada en la etapa de lavado previo y/o la misma o diferente al líquido usado en las etapas de calentamiento/presión. En ciertas modalidades, la segunda solución acuosa es una solución acuosa no tóxica que contiene agua. En ciertas modalidades, la segunda solución acuosa es un amortiguador o una solución acuosa no tóxica que contiene el amortiguador. Si se usa un amortiguador entonces este estará a un pH conveniente, tal como al menos aproximadamente pH 6,0 o pH 7,0 o más. La segunda solución acuosa o solvente cuando se combina con el material de tabaco puede ser, por ejemplo, un 5 % (p/v), 10 % (p/v), 15 % (p/v), 20 % (p/v), 25 % (p/v), 30 % (p/v), 35 % (p/v), 40 % (p/v) o 45 % (p/v) o más mezcla. En ciertas modalidades se usa una mezcla con una relación 1:5 o 1:10 de material de tabaco: solución acuosa o solvente.
- 20 En ciertas modalidades, la etapa de lavado posterior se lleva a cabo por al menos aproximadamente 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 90, 120, 150 o 180 minutos o más a temperatura ambiente. En ciertas modalidades, la etapa de lavado posterior se lleva a cabo aproximadamente a temperatura ambiente o aún a temperaturas elevadas, tal como aproximadamente 20 grados centígrados, aproximadamente 30 grados centígrados, aproximadamente 40 grados centígrados, aproximadamente 50 grados centígrados, aproximadamente 60 grados centígrados, aproximadamente 80 grados centígrados, o aproximadamente 90 grados centígrados o superiores. En ciertas modalidades, la etapa de lavado posterior se lleva a cabo en presencia de agitación física y/o condiciones de lavado más estrictas. Se considera que las condiciones de lavado más estrictas, tales como una temperatura superior y/o agitación física rigurosa, pudiera además reducir el contenido total de nitrosamina específica del tabaco.
- 30 En una etapa opcional adicional, se seca el material de tabaco procesado o tratado obtenido u obtenible mediante el uso de los métodos descritos en la presente descripción. Se conocen en la técnica las condiciones adecuadas para secar material de tabaco e incluyen, por ejemplo, una temperatura de aproximadamente 50 grados centígrados por aproximadamente 17 horas.
- 35 En cualquier etapa de este proceso, puede medirse el contenido de nitrosamina específica del tabaco, que incluye al menos el contenido de NNK. En una modalidad, se miden una o más nitrosaminas específicas del tabaco al inicio del proceso y/o al final del proceso. En otra modalidad, se miden una o más nitrosaminas específicas del tabaco al final del proceso para comprobar que el contenido de nitrosamina específica del tabaco está presente en una cantidad o concentración requeridas. En otra modalidad, se miden una o más nitrosaminas específicas del tabaco antes y después de la etapa de calentamiento. De este modo, los métodos descritos en la presente descripción pueden comprender otra etapa opcional para medir una o más nitrosaminas específicas del tabaco descritas en la presente descripción. Los métodos pueden comprender una etapa para medir una o más nitrosaminas específicas del tabaco en su forma libre y/o unida. En una modalidad, se mide al menos el nivel o la cantidad de NNK. Los niveles de estos compuestos pueden medirse en el material de tabaco, en la materia prima de tabaco o en el tabaco homogeneizado y similares.
- 40 Los niveles de estos uno o más compuestos pueden medirse con el seguimiento del tratamiento mediante el uso de los métodos descritos en la presente descripción. Los niveles de estos uno o más compuestos pueden medirse antes del tratamiento mediante el uso de los métodos descritos en la presente descripción, durante el tratamiento mediante el uso de los métodos descritos en la presente descripción o al final de los tratamientos mediante el uso de los métodos descritos en la presente descripción. Los niveles de estos compuestos pueden aún medirse intermitentemente durante el tratamiento mediante el uso de los métodos descritos en la presente descripción. Los niveles pueden compararse por ejemplo, con material de tabaco de control que no se ha subordinado a los métodos descritos en la presente descripción. De este modo, la etapa de medición puede acompañarse opcionalmente por una etapa de comparación para comparar los niveles de nitrosamina(s) en el tabaco. Diversos métodos que se conocen en la técnica pueden usarse para medir las nitrosaminas específicas del tabaco, tal como métodos de cromatografía líquida que incluyen cromatografía líquida de alto rendimiento y espectrometría de masa, que incluye espectrometría de masa en tándem la cual se conoce ampliamente en la técnica. En una modalidad, se usa una cromatografía líquida de masas en tándem de alto rendimiento (UPLC-MS/MS).
- 50 En un aspecto adicional, se proporciona un método para reducir la cantidad de al menos NNK unido a una matriz de

tabaco insoluble en material de tabaco que comprende las etapas de: (a) proporcionar material de tabaco que comprende una o más nitrosaminas específicas del tabaco unidas a la matriz de tabaco insoluble; (b) combinar opcionalmente el material de tabaco con una primera solución acuosa o solvente; y (c) calentar el material de tabaco por al menos aproximadamente 30 segundos a una temperatura superior a aproximadamente 115 grados centígrados en presencia de un líquido o vapor para liberar al menos una porción de la o las nitrosamina(s) específica(s) del tabaco de la matriz de tabaco insoluble del material de tabaco; y (d) retirar al menos una porción de la o las nitrosamina(s) específica(s) del tabaco(s) del material de tabaco. En una modalidad, el material de tabaco que se calienta en la etapa (c) está húmedo o se humedece antes del calentamiento. Por ejemplo, el material de tabaco puede presentarse en la forma de al menos un 5 % (p/v) de la mezcla. En una modalidad, la etapa (c) comprende calentar la solución acuosa o el solvente que contiene el material de tabaco de la etapa (b). En otro aspecto, se proporciona un método para reducir la cantidad de NNK unido a una matriz de tabaco insoluble en material de tabaco que comprende las etapas de: (a) proporcionar material de tabaco que comprende NNK unido a la matriz de tabaco insoluble; (b) combinar opcionalmente el material de tabaco con una primera solución acuosa o solvente; y (c) calentar el material de tabaco por al menos aproximadamente 30 segundos a una temperatura superior a aproximadamente 115 grados centígrados en presencia de un líquido o vapor para liberar al menos una porción de la o las nitrosamina(s) específica(s) del tabaco de la matriz de tabaco insoluble del material de tabaco; y (c) retirar al menos una porción de la o las nitrosamina(s) específica(s) del tabaco liberadas del material de tabaco. En una modalidad, el material de tabaco que se calienta en la etapa (c) está húmedo o se humedece antes del calentamiento. Por ejemplo, el material de tabaco puede presentarse en la forma de al menos un 5 % (p/v) de la mezcla. En una modalidad, la etapa (c) comprende calentar la mezcla que contiene el material de tabaco de la etapa (b).

En ciertas modalidades, la velocidad máxima de liberación de nitrosamina específica del tabaco, por ejemplo NNK, ocurre a los 30-60 minutos de calentar el material de tabaco. En ciertas modalidades se liberan al menos alrededor de 10 000 ng/g de NNK aproximadamente a los 30-60 minutos de calentar el material de tabaco o se liberan al menos aproximadamente 13 000 ng/g de NNK aproximadamente a los 30-60 minutos de calentar el material de tabaco. En ciertas modalidades, la velocidad de liberación se aumenta a temperaturas superiores. Por ejemplo, pueden liberarse alrededor de 10 000 ng/g de NNK a 130 grados centígrados aproximadamente a los 30-60 minutos de calentar el material de tabaco, mientras que se liberan aproximadamente 13 000 ng/g de NNK a 140 grados centígrados aproximadamente a los 30-60 minutos de calentar el material de tabaco. La cantidad de liberación de NNK puede continuar por más de aproximadamente 4 horas a aproximadamente 130 grados centígrados y por más de aproximadamente 8 horas a aproximadamente 140 grados centígrados.

Puede observarse una reducción dependiente de la temperatura del total de NNK libre y unido. Por ejemplo, después de aproximadamente 1 hora a aproximadamente 110 grados centígrados el contenido de NNK total en el material de tabaco puede ser de aproximadamente 3400 ng/g. Después de aproximadamente 1 hora a 120 grados centígrados el contenido de NNK total puede ser de aproximadamente 2900 ng/g. Después de aproximadamente 1 hora a 130 grados centígrados el contenido de NNK total puede ser de aproximadamente 2600 ng/g.

Puede observarse una reducción dependiente de la temperatura de NNK unida a la matriz. Después de aproximadamente 1 hora a 110 grados centígrados el contenido de NNK unida a la matriz puede ser de aproximadamente 2480 ng/g. Después de aproximadamente 1 hora a 120 grados centígrados el contenido de NNK unida a la matriz puede ser de aproximadamente 1520 ng/g. Después de aproximadamente 1 hora a 130 grados centígrados el contenido de NNK unida a la matriz puede ser de aproximadamente 810 ng/g.

El material de tabaco puede comprender aditivos que incluyen, pero no se limitan a, uno o más de los siguientes componentes así como combinaciones de estos: saborizantes, rellenos orgánicos e inorgánicos (por ejemplo, granos, granos procesados, granos inflados, 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 de sodio y otros tipos de aglutinantes celulósicos modificados, alginato de sodio, goma xantina, aglutinantes basados en almidón, goma arábica, lecitina, y similares), colorantes (por ejemplo, tintes y pigmentos, que incluyen colorante de caramelo y dióxido de titanio, y similares), humectantes (por ejemplo, glicerina, propilenglicol, y similares), aditivos para la higiene bucal, conservantes (por ejemplo, sorbato de potasio, y similares), siropes (por ejemplo, miel, sirope de maíz de fructosa alta, y similares usados como saborizantes), y ayudas para la desintegración (por ejemplo, celulosa microcristalina, croscarmelosa sódica, crospovidona, glicolato sódico de almidón, almidón de maíz pregelatinizado, y similares). Tales aditivos se conocen por los expertos en la técnica y pueden presentarse en cantidades y en formas conocidas en la técnica.

Sin limitarse por ninguna teoría en particular, las nitrosaminas específicas del tabaco, adicionalmente a su formación durante la cura, se comprenden para formarse durante el procesamiento del tabaco. Por tanto, los métodos descritos en la presente descripción pueden ser particularmente eficientes para reducir el nivel, cantidad o concentración de una o más nitrosaminas específicas del tabaco, tal como NNK, que se generan en un producto de tabaco, que incluye productos de tabaco preparados a partir de tabaco curado o una suspensión de tabaco en la que se pueden acumular altos niveles de nitrosamina específica del tabaco. Como se discute en la presente descripción, los métodos descritos en la presente descripción pueden ser particularmente adecuados para la preparación de tabaco reconstituido.

En un ejemplo adicional, se proporciona un material de tabaco (procesado o tratado) que comprende menos de

aproximadamente 2400 ng/g de NNK en la matriz de tabaco insoluble y al menos aproximadamente 900 ng/g de NNK libre. En ciertas modalidades, el material de tabaco (procesado o tratado) comprende menos de aproximadamente 2480 ng/g de NNK en la matriz de tabaco insoluble y al menos aproximadamente 930 ng/g de NNK libre. En ciertas modalidades, el material de tabaco (procesado o tratado) comprende menos de aproximadamente 2481 ng/g de NNK en la matriz de tabaco insoluble y al menos aproximadamente 934 ng/g de NNK libre. En ciertas modalidades, el material de tabaco (procesado o tratado) comprende menos de aproximadamente 1550 ng/g de NNK en la matriz de tabaco insoluble y al menos aproximadamente 1300 ng/g de NNK libre. En ciertas modalidades, el material de tabaco (procesado o tratado) comprende menos de aproximadamente 1520 ng/g de NNK en la matriz de tabaco insoluble y al menos aproximadamente 1390 ng/g de NNK libre. En ciertas modalidades, el material de tabaco (procesado o tratado) comprende menos de aproximadamente 1520 ng/g de NNK en la matriz de tabaco insoluble y al menos aproximadamente 1397 ng/g de NNK libre. En ciertas modalidades, el material de tabaco (procesado o tratado) comprende menos de aproximadamente 810 ng/g de NNK en la matriz de tabaco insoluble y al menos aproximadamente 1800 ng/g de NNK libre. En ciertas modalidades, el material de tabaco (procesado o tratado) comprende menos de aproximadamente 809 ng/g de NNK en la matriz de tabaco insoluble y al menos aproximadamente 1850 ng/g de NNK libre. En ciertas modalidades, el material de tabaco (procesado o tratado) comprende menos de aproximadamente 809 ng/g de NNK en la matriz de tabaco insoluble y al menos aproximadamente 1859 o 1860 ng/g de NNK libre.

En ejemplos, el material de tabaco (procesado o tratado) comprende entre aproximadamente 2500 ng/g de NNK y 800 ng/g de NNK en la matriz de tabaco insoluble y entre aproximadamente 900 ng/g y 1900 ng/g de NNK libre. En ciertas modalidades, el material de tabaco (procesado o tratado) comprende entre aproximadamente 2480 ng/g de NNK y 810 ng/g de NNK en la matriz de tabaco insoluble y entre aproximadamente 930 ng/g y 1860 ng/g de NNK libre. En ciertas modalidades, el material de tabaco (procesado o tratado) comprende entre aproximadamente 2481 ng/g de NNK y 809 ng/g de NNK en la matriz de tabaco insoluble y entre aproximadamente 934 ng/g y 1859 ng/g de NNK libre.

El material de tabaco obtenido u obtenible por los métodos descritos en la presente descripción puede incorporarse en diversos productos consumibles, tal como productos de tabaco. También se describen en la presente descripción productos de tabaco formados a partir del material de tabaco obtenido u obtenible por los métodos descritos en la presente descripción. También se abarcan por esta descripción métodos para fabricar tales productos de tabaco. Los productos de tabaco incluyen sin limitación artículos para fumar o artículos fumables y productos de tabaco sin humo, que incluyen productos no combustibles, productos calentados, y productos generadores de aerosol. Los ejemplos no limitantes de artículos para fumar o fumables incluyen cigarrillos, cigarros, tabacos y tabacos de pipa. Los ejemplos no limitantes de los productos de tabaco sin humo incluyen tabacos de mascar, rapé, y sustratos para su uso en productos generadores de aerosol. Los productos de tabaco sin humo pueden comprender tabaco en cualquier forma, que incluye partículas secas, fragmentos, gránulos, polvos, o una suspensión, depositados, mezclados, rodeados por, o combinados de cualquier otra manera con otros ingredientes en cualquier formato, tal como hojuelas, capas, lengüetas, espumas, o perlas. Los contenidos líquidos de los productos de tabaco sin humo pueden contenerse en un dispositivo o encerrarse en una forma, tal como perlas, para excluir la interacción con una envoltura soluble en agua. La envoltura puede tener forma de bolsa para encerrar parcial o completamente las composiciones que incorporan el tabaco, o para funcionar como un adhesivo para contener una pluralidad de lengüetas, perlas, u hojuelas de tabaco. Los materiales ilustrativos para construir una envoltura incluyen composiciones de capas que comprenden HPMC, CMC, pectina, alginatos, pululano, y otros polímeros formadores de capas comestibles, comercialmente viables. Otros materiales de envoltura pueden incluir cápsulas previamente formadas producidas a partir de gelatina, HPMC, almidón/carragenina, u otros materiales comercialmente disponibles. Tales materiales de envoltura pueden incluir tabaco como un ingrediente. Las envolturas que no se desintegran oralmente pueden componerse de telas tejidas o no tejidas, de papel recubierto o no recubierto, o de capas plásticas perforadas o porosas de cualquier otra manera. Las envolturas pueden incorporar agentes saborizantes o colorantes. Los productos sin humo pueden ensamblarse junto con una envoltura con la utilización de cualquier método conocido por los expertos en la técnica de empaques comerciales, que incluye métodos tales como el empaquetado de ampolla, en el cual puede formarse un pequeño empaque mediante una máquina de empaque de forma/relleno/cierre vertical.

Un ejemplo se refiere a un método para producir un aerosol a partir de material de tabaco que comprende las etapas de: (a) proporcionar el material de tabaco obtenido u obtenible mediante los métodos descritos en la presente descripción; y (b) calentar el material de tabaco para producir un aerosol. Otro aspecto se refiere a un método para reducir la cantidad o concentración de una o más nitrosaminas específicas del tabaco, tal como NNK, en un aerosol. Generalmente, el aerosol se presentará como humo. El método comprende las etapas de: (a) proporcionar material de tabaco que comprende una o más nitrosaminas específicas del tabaco; (b) calentar el material de tabaco por al menos aproximadamente 30 segundos a una temperatura mayor que aproximadamente 100 grados centígrados en presencia de un líquido o vapor para liberar al menos una porción de la o las nitrosamina(s) específica(s) del tabaco de la matriz de tabaco insoluble del material de tabaco; (c) retirar al menos una porción de la o las nitrosamina(s) específica(s) del tabaco liberadas del material de tabaco; y (d) calentar el material de tabaco de la etapa (c) para producir un aerosol. También se proporciona un aerosol obtenido u obtenible por los métodos descritos en la presente descripción. Adecuadamente, el aerosol que se obtiene tiene un nivel inferior de NNK comparado con un aerosol de un material de tabaco de control que no se ha subordinado a al menos la etapa (b). El material de tabaco obtenido u obtenible por los métodos descritos en la presente descripción puede formarse en tabaco reconstituido. El tabaco reconstituido puede formarse generalmente en una variedad de vías. Por ejemplo, en una modalidad, puede utilizarse

una fundición de banda para formar el tabaco reconstituido. La fundición de banda emplea típicamente una suspensión de partes de tabaco finamente divididas y un aglutinante que se recubre sobre una banda de acero y luego se seca. Después de secarse, la hoja se mezcla con tiras de tabaco natural o triturado y se usa en diversos productos de tabaco, que se incluye como un relleno de cigarrillo. Algunos ejemplos de procesos para producir tabaco reconstituido se describen en los documentos de patente US 3,353,541, US 3,420,241, US 3,386,449, US 3,760,815 y 4,674,519. El tabaco reconstituido también puede formarse mediante un proceso de fabricación de papel. Algunos ejemplos de procesos para formar tabaco reconstituido de conformidad con este proceso se describen en los documentos de patente US 3,428,053, US 3,415,253, US 3,561,451, US 3,467,109, US 3,483,874, US 3,860,012, US 3,847,164, US 4,182,349, US 5,715,844, US 5,724,998; y US 5,765,570. Por ejemplo, la formación de tabaco reconstituido mediante el uso de técnicas de fabricación de papel puede incluir las etapas de mezclar el tabaco con agua, extraer los ingredientes solubles de este, concentrar los ingredientes solubles, refinar el tabaco, formar un limbo, volver a aplicar los ingredientes concentrados solubles, secar, y batir. Diversos ingredientes, tales como tratamientos de sabor o color, pueden aplicarse al limbo. De este modo, de conformidad con un aspecto adicional, se proporciona un método para preparar tabaco reconstituido que comprende las etapas de: (a) proporcionar material de tabaco que comprende una o más nitrosaminas específicas del tabaco; (b) calentar el material de tabaco por al menos aproximadamente 30 segundos a una temperatura mayor que aproximadamente 100 grados centígrados; y (c) fabricar el material de tabaco obtenido de la etapa (b) en tabaco reconstituido. Adecuadamente, el tabaco reconstituido se prepara mediante un proceso de fundición de banda o un proceso de fabricación de papel. El material de tabaco puede lavarse opcionalmente antes y/o después de la etapa de calentamiento.

De conformidad con otro ejemplo, el material de tabaco obtenido u obtenible mediante los métodos descritos en la presente descripción puede formarse en una lámina de tabaco, tal como una lámina de tabaco reconstituido. De conformidad con esta modalidad, el método puede comprender las etapas de: (a) obtener material de tabaco (tratado o procesado), tal como un tabaco homogeneizado, de conformidad con los métodos descritos en la presente descripción; (b) preparar una suspensión de tabaco homogeneizado; (c) moldear la suspensión del tabaco homogeneizado; y (d) secar la suspensión del tabaco homogeneizado para formar una lámina de tabaco reconstituido.

De conformidad con otro ejemplo, el método puede comprender las etapas de: (a) obtener material de tabaco (tratado o procesado), tal como un tabaco homogeneizado, de conformidad con los métodos descritos en la presente descripción y preparar una suspensión del tabaco; (b) fundir la suspensión del tabaco homogeneizado; y (c) secar la suspensión del tabaco homogeneizado para formar una lámina de tabaco. La etapa de fundir la suspensión del tabaco homogeneizado puede realizarse mediante el uso de cualquiera de los procesos de fundición o de fabricación de papel que se conocen en la técnica. A modo de ejemplo, los procesos de fundición se describen en los documentos de patentes US 5,724,998 y US 5,584,306; los procesos de fabricación de papel.

se describen en los documentos US 4,341,228; US 5,584,306 y US 6,216,706. Los procesos de fundición incluyen típicamente fundir la suspensión sobre un cinturón de acero inoxidable continuo, secar la suspensión fundida para formar una lámina de tabaco reconstituido y retirar dicha lámina. Los procesos de fabricación de papel incluyen típicamente fundir la suspensión acuosa de un cabezal sobre una rejilla de alambre para formar la lámina deseada. La suspensión acuosa puede separarse en una porción soluble y una porción fibrosa. El agua se drena desde la porción fibrosa y una lámina así formada se trata y seca posteriormente. Las suspensiones de tabaco pueden comprender además uno o más aglutinantes, tales como gomas y pectinas. Como se describió anteriormente, las suspensiones de tabaco que se usan para preparar láminas de tabaco reconstituido pueden comprender además aditivos comunes que incluyen, pero no se limitan a, uno o más de los siguientes componentes así como combinaciones de estos: fibras de celulosa de madera, formadores de aerosol, azúcares, y saborizantes y aglutinantes. Los aditivos de la lista descrita anteriormente se conocen por los expertos en la técnica y pueden presentarse en estas suspensiones acuosas en cantidades y en formas conocidas en la técnica.

Una vez preparadas, las láminas de tabaco reconstituido descritas en la presente descripción pueden cortarse de manera similar al tabaco en hoja completo para producir relleno de tabaco adecuado para cigarrillos y otros productos de tabaco. Las láminas de tabaco reconstituido descritas en la presente descripción pueden despedazarse o pelarse adicionalmente con dedos mecánicos en piezas dimensionadas de manera similar a las tiras de láminas de tabaco natural o cortarse en piezas con forma de diamante, entre aproximadamente 50 a 100 mm de un lado. Las piezas de lámina de tabaco reconstituido descritas en la presente descripción pueden mezclarse adicionalmente con otros tabacos tales como tabaco curado al humo, tabaco Burley, tabaco Maryland, tabaco oriental, tabaco raro, tabaco de especialidad, tabaco expandido y similares. La cantidad precisa de cada tipo de tabaco dentro de una mezcla de tabaco usada para la fabricación de una marca particular de cigarrillo varía de marca en marca. Ver, por ejemplo, Tobacco Encyclopaedia, Voges (Ed.) p. 44-45 (1984), Browne, The Design of Cigarettes, 3ra Ed., pág.43 (1990) and Tobacco Production, Chemistry and Technology, Davis y otros. (Eds.) p. 346 (1999). Toda la mezcla puede triturarse luego en una picadura e incorporarse en un producto de tabaco. En consecuencia, se proporcionan métodos para fabricar un producto de tabaco que comprende tabaco (por ejemplo, lámina de tabaco reconstituido) con cantidades reducidas de nitrosaminas específicas del tabaco, tales como NNK.

El material de tabaco obtenido u obtenible de conformidad con la descripción en la presente descripción también puede usarse en picadura de tabaco y en artículos para fumar formados a partir de una varilla de tabaco de la picadura. Convencionalmente, los productos de tabaco con picadura para los artículos para fumar se forman

predominantemente a partir de la porción de la lámina de la hoja de tabaco, que se separa de la porción del tallo de la hoja durante un proceso de batir. Gran parte de la porción del tallo que permanece después que las láminas se han retirado y separado no se usa. Para aumentar la cantidad del material de tabaco que puede usarse comercialmente, pueden adicionarse de nuevo algunos tallos de tabaco a la picadura junto con la lámina. Para mejorar las características del sabor y de la quemadura del tallo de tabaco para su uso en la picadura, a menudo los tallos se someten primero a uno o más procedimientos de tratamiento, que pueden incluir los procedimientos descritos en la presente descripción. La etapa de enrollado puede llevarse a cabo en tallos de tabaco que se han sometido al método de la presente descripción. Los tallos pueden enrollarse hasta un grosor deseado, tal como un grosor medio de aproximadamente 0,6 mm a 0,8 mm. Durante las etapas posteriores de procesamiento y almacenamiento, los tallos pueden expandirse hasta un grosor final de aproximadamente 0,8 mm a aproximadamente 1,0 mm. Después del enrollado, los tallos se secan y se transfieren a la planta de producción de tabaco, donde se cortan y se adicionan a la picadura de tabaco. En algunos casos, la etapa de enrollado puede incorporarse alternativamente como parte del proceso de producción en línea para la picadura. Típicamente el contenido de humedad de los tallos de tabaco es de aproximadamente un 28 % a aproximadamente un 34 % volátil al fuego anterior al enrollado para prevenir daños a la estructura de los tallos. Si se necesita, los tallos de tabaco pueden condicionarse anterior al enrollado para aumentar el contenido de humedad a este nivel. Los procesos conocidos para condicionar los tallos de tabaco incluyen contactar los tallos con agua, vapor o una mezcla de agua y vapor. En métodos donde la etapa de enrollado se incorpora en línea y se usan los tallos secados, la etapa de condicionamiento típicamente tomará más tiempo y puede requerir una etapa de remojo anterior al enrollado en la cual los tallos se remojan en agua durante unas horas. Los tallos de tabaco pueden enrollarse mediante el uso de un proceso de enrollado de una etapa para reducir el grosor de los tallos al grosor medio deseado. Después del enrollado, los tallos pueden cortarse con un ancho de corte de entre 0,1 mm y 0,2 mm. Los tallos enrollados cortados se expanden luego opcionalmente mediante el uso de técnicas conocidas de expansión de tallos, y luego se secan. Donde los tallos se secan y se enrollan previamente, se necesitará típicamente condicionar los tallos antes del corte para aumentar el contenido de humedad de los tallos de tabaco de vuelta a entre un 28 % y un 34 % volátil al fuego. Esto aumenta la flexibilidad de los tallos de tabaco para limitar el daño o rompimiento de los tallos durante el corte. Finalmente, los tallos enrollados cortados se combinan con láminas cortadas de tabaco y cualquiera de los materiales de tabaco adicionales para formar la picadura que tiene al menos un 5 % en peso de los tallos de tabaco enrollados cortados. De este modo, en un aspecto adicional, se proporciona un método para preparar tabaco para usar como picadura de tabaco que comprende las etapas de: (a) proporcionar material de tabaco que comprende una o más nitrosaminas específicas del tabaco; (b) calentar el material de tabaco por al menos aproximadamente 30 segundos a una temperatura superior a aproximadamente 100 grados centígrados en presencia de un líquido o vapor para liberar al menos una porción de la o las nitrosamina(s) específica(s) del tabaco de la matriz de tabaco insoluble del material de tabaco; (c) retirar al menos una porción de la o las nitrosamina(s) específica(s) del tabaco liberadas del material de tabaco; (d) lavar el material de tabaco de la etapa (c) con una solución acuosa o solvente para liberar la o las nitrosamina(s) específica(s) del tabaco del material de tabaco; y (e) enrollar y cortar el material de tabaco. Se describe además un método para tratar el material de tabaco, tal como tallos de tabaco, para su uso en la picadura de tabaco, el método comprende las etapas de: (a) proporcionar material de tabaco que comprende una o más nitrosaminas específicas del tabaco; (b) calentar el material de tabaco por al menos aproximadamente 30 segundos a una temperatura superior a aproximadamente 100 grados centígrados en presencia de un líquido o vapor para liberar al menos una porción de la o las nitrosamina(s) específica(s) del tabaco de la matriz de tabaco insoluble del material de tabaco; (c) retirar al menos una porción de la o las nitrosamina(s) específica(s) del tabaco del material de tabaco; (d) lavar el material de tabaco de la etapa (c) con una solución acuosa o solvente para liberar la o las nitrosamina(s) específica(s) del tabaco del material de tabaco; (e) enrollar el material de tabaco; (f) cortar el material de tabaco; y (g) secar opcionalmente los tallos enrollados cortados. Los tallos de tabaco enrollado pueden combinarse con láminas de tabaco de manera que las etapas se llevan a cabo sobre las láminas y los tallos de tabaco combinados. La etapa de corte puede comprender cortar los tallos enrollados hasta un ancho de corte de entre aproximadamente 0,3 mm y 1,3 mm. El método puede comprender las etapas de: retirar los tallos de la hoja de tabaco; cortar los tallos hasta una longitud promedio de entre aproximadamente 15 mm y 80 mm; y enrollar los tallos hasta un grosor de entre 0,1 mm y 0,5 mm. Se proporciona además un método para producir picadura que comprende tallos de tabaco enrollado, el método comprende: tratar los tallos de tabaco mediante el uso del método descrito en la presente descripción; y mezclar los tallos tratados con al menos un tipo de lámina de tabaco, tabaco expandido o tabaco reconstituido para producir picadura.

La picadura de tabaco obtenida u obtenible por este método puede comprender al menos un 60 %, y preferentemente al menos un 80 % en peso de lámina de tabaco que tiene un ancho de corte medio de entre 0,8 mm y 1,1 mm, convenientemente, aproximadamente 0,9 mm, y un grosor medio de aproximadamente 0,2 mm. La picadura de tabaco puede comprender hasta un 95 % en peso de lámina de tabaco con un ancho de corte medio de entre aproximadamente 0,8 mm y 1,1 mm, más convenientemente aproximadamente 0,9 mm, y un grosor medio de aproximadamente 0,2 mm. Las partículas de las láminas de tabaco en la picadura son por tanto de dimensiones similares a las partículas del tallo de tabaco. Como tal, los tallos de tabaco no se distinguen visualmente de la lámina de tabaco, aún a una alta velocidad de inclusión. Adicionalmente, la mezcla de tallos y lámina de tabaco puede transportarse ventajosamente y procesarse eficazmente sin una sedimentación significativa de los tallos. Convenientemente, el ancho del corte medio de los tallos de tabaco enrollados cortados está dentro de aproximadamente 0,1 mm, más adecuadamente dentro de aproximadamente 0,05 mm del grosor medio de la lámina de tabaco en la picadura. Las picaduras pueden incorporarse en una variedad de artículos para fumar. Por ejemplo, la picadura puede usarse en la varilla de tabaco de un artículo combustible para fumar, tal como un cigarrillo con filtro,

cigarro o tabaco. Alternativamente, la picadura puede usarse para proporcionar el sustrato generador de aerosol de tabaco en un artículo para fumar basado en destilación, o un sistema para fumar calentado eléctricamente. Alternativamente, la picadura puede usarse como un producto enrollado manualmente, o como un producto de tabaco suelto por ejemplo, para su uso en una pipa.

5 El material de tabaco puede derivarse de una planta de tabaco que se desarrolla naturalmente, una planta de tabaco mutante, una planta de tabaco que no se desarrolla naturalmente o una planta de tabaco transgénica.

10 El material de tabaco se deriva o puede derivarse de plantas de tabaco, que incluyen plantas del género *Nicotiana*, diversas especies de *Nicotiana*, que incluyen *N. rustica* y *N. tabacum*. El material de tabaco puede derivarse de variedades de especies de *Nicotiana*, comúnmente conocidas como variedades al humo o brillantes, variedades Burley, variedades oscuras y variedades orientales/turcas. En algunas modalidades, el material de tabaco se deriva de la planta de tabaco Burley, Virginia, curado al humo, curado al aire, curado al fuego, oriental, o de tabaco oscuro. En algunas modalidades, el material de tabaco se deriva, por ejemplo, de una o más de las siguientes variedades: *N. tabacum* AA 37-1, *N. tabacum* B 13P, *N. tabacum* Xanthi (Mitchell-Mor), *N. tabacum* KT D#3 Hybrid 107, *N. tabacum* Bel-W3, *N. tabacum* 79-615, *N. tabacum* Samsun Holmes NN, F4 de cruzar *N. tabacum* BU21 x *N. tabacum* Hoja Parado, línea 97, *N. tabacum* KTRDC#2 Hybrid 49, *N. tabacum* KTRDC#4 Hybrid 1 10, *N. tabacum* Burley 21, *N. tabacum* PM016, *N. tabacum* KTRDC#5 KY 160 SI, *N. tabacum* KTRDC#7 FCA, *N. tabacum* KTRDC#6 TN 86 SI, *N. tabacum* PM021, *N. tabacum* K 149, *N. tabacum* K 326, *N. tabacum* K 346, *N. tabacum* K 358, *N. tabacum* K 394, *N. tabacum* K 399, *N. tabacum* K 730, *N. tabacum* KY 10, *N. tabacum* KY 14, *N. tabacum* KY 160, *N. tabacum* KY 17, *N. tabacum* KY 8959, *N. tabacum* KY 9, *N. tabacum* KY 907, *N. tabacum* MD 609, *N. tabacum* McNair 373, *N. tabacum* NC 2000, *N. tabacum* PG 01, *N. tabacum* PG 04, *N. tabacum* P01, *N. tabacum* P02, *N. tabacum* P03, *N. tabacum* RG 11, *N. tabacum* RG 17, *N. tabacum* RG 8, *N. tabacum* Speight G-28, *N. tabacum* TN 86, *N. tabacum* TN 90, *N. tabacum* VA 509, *N. tabacum* AS44, *N. tabacum* Banket A1, *N. tabacum* Basma Drama B84/31, *N. tabacum* Basma I Zichna ZP4/B, *N. tabacum* Basma Xanthi BX 2A, *N. tabacum* Batek, *N. tabacum* Besuki Jember, *N. tabacum* C104, *N. tabacum* Coker 319, *N. tabacum* Coker 347, *N. tabacum* Criollo Misionero, *N. tabacum* PM092, *N. tabacum* Delcrest, *N. tabacum* Djebel 81, *N. tabacum* DVH 405, *N. tabacum* Galpao Comum, *N. tabacum* HB04P, *N. tabacum* Hicks Broadleaf, *N. tabacum* Kabakulak Ellassona, *N. tabacum* PM102, *N. tabacum* Kutsage E1, *N. tabacum* KY 14xL8, *N. tabacum* KY 171, *N. tabacum* LA BU 21, *N. tabacum* McNair 944, *N. tabacum* NC 2326, *N. tabacum* NC 71, *N. tabacum* NC 297, *N. tabacum* NC 3, *N. tabacum* PVH 03, *N. tabacum* PVH 09, *N. tabacum* PVH 19, *N. tabacum* PVH 2110, *N. tabacum* Red Russian, *N. tabacum* Samsun, *N. tabacum* Saplak, *N. tabacum* Simmaba, *N. tabacum* Talgar 28, *N. tabacum* PM132, *N. tabacum* Wislica, *N. tabacum* Yayaldag, *N. tabacum* NC 4, *N. tabacum* TR Madole, *N. tabacum* Prilep HC-72, *N. tabacum* Prilep P23, *N. tabacum* Prilep PB 156/1, *N. tabacum* Prilep P12-2/1, *N. tabacum* Yaka JK-48, *N. tabacum* Yaka JB 125/3, *N. tabacum* TI-1068, *N. tabacum* KDH-960, *N. tabacum* TI-1070, *N. tabacum* TW136, *N. tabacum* PM204, *N. tabacum* PM205, *N. tabacum* Basma, *N. tabacum* TKF 4028, *N. tabacum* L8, *N. tabacum* TKF 2002, *N. tabacum* TN90, *N. tabacum* GR141, *N. tabacum* Basma xanthi, *N. tabacum* GR149, *N. tabacum* GR153, y *N. tabacum* Petit Havana.

Los siguientes ejemplos se proporcionan como una ilustración y no como una limitación. A menos que se indique de cualquier otra manera, la presente invención emplea técnicas y métodos convencionales de la biología molecular y la biología de las plantas.

EJEMPLOS

Ejemplo 1

Método para el análisis de NNK libre y unido en el tabaco

Se extraen alícuotas de muestras de tabaco (por ejemplo, aproximadamente 750 mg) con aproximadamente 30 ml de tampón Tris-HCl (50 mM; pH 7,4) mediante agitación durante aproximadamente una hora a temperatura ambiente aproximadamente. Se adicionan estándares internos (100 ng/ml NNK-d₄). Se filtran muestras (0,4 ml) de los extractos mediante el uso de un filtro de 0,2 µm y el contenido de NNK se analiza mediante el uso de una masa en tándem de cromatografía líquida de alto rendimiento (UPLC-MS/MS). Las concentraciones de las muestras calculadas a partir de estas concentraciones de extractos corresponden a las concentraciones de "NNK libre" en la muestra. Después de tratar las mezclas de extracción (por ejemplo, mediante calentamiento hasta aproximadamente 130 °C durante aproximadamente 4 horas) y filtrar las alícuotas de los extractos, las concentraciones de NNK se miden de nuevo mediante UPLC-MS/MS. A partir de estos valores, puede calcularse la concentración de "NNK total" en las muestras. La concentración de "NNK unido" es la diferencia entre las concentraciones de "NNK total" y de "NNK libre".

Un método alternativo para la extracción de "NNK total" comprende la acidificación de las mezclas de extracción con HCl concentrado (por ejemplo, 3 ml de HCl al 37 % adicionado a 30 ml) y la incubación durante 48 horas a 80 °C. Los extractos ácidos se neutralizan antes de la filtración y el análisis de UPLC mediante la adición de una solución de NaOH (6N, 40 µl) y una suspensión de hidróxido de magnesio (10 %; 40 µl) a 320 µl del extracto.

Ejemplo 2

Análisis de UPLC

La columna usada es C18 Waters Acquity BEH, 1,7 pm, 2,1 x 50 mm. Los eluyentes usados son:

bicarbonato de amonio (10 mM; ajustado a un pH de 9,8 con amoníaco) + acetonitrilo al 2 % (v/v);

- 5 acetonitrilo. El gradiente usado es 0 min - 5 % B; 0,5 min - 5 % B; 3,3 min - 18,3 % B. El flujo que se usa es de 0,5 ml/min. La temperatura de la columna que se usa es de 50 °C.

Ejemplo 3

10 Metodología MS/MS

Este análisis se lleva a cabo en un espectrómetro Waters TQ mediante el uso de las siguientes transiciones MRM: NNK: 208,2 → 122,2; tiempo de permanencia 100 ms; NNK-d4:212,2 → 126,2; tiempo de permanencia 100 ms; Capilar

- 15 tensión: 0,6 kV; Tensión del cono: 25 V; Energía de colisión: 11 eV; Temperatura de la fuente: 120 °C; Temperatura de desolvatación: 400 °C; Flujo de gas de desolvatación: 800 L/h.

Ejemplo 4

20 Análisis de NNK libre y unida a la matriz en muestras de tabaco

- Con el uso del descubrimiento de que la NNK unida a la matriz se libera mediante extracción con 1N HCl (a 80 °C por dos días) la NNK libre y unida a la matriz se analiza en muestras de tabaco mediante el uso de UPLC- MS/MSas descrito anteriormente. Mediante la aplicación de este método se descubre que una gran proporción de NNK en hojas Burley, tallos Burley y tabaco reconstituido está presente en forma unida a la matriz. Como se muestra en la Figura 1 el contenido de NNK total más alto en este análisis se encontró en el tabaco reconstituido y en los tallos Burley. El contenido de NNK libre total y la NNK unida total fue más alto en el tabaco reconstituido y en los tallos Burley.
- 25

Ejemplo 5

30 Liberación de NNK unida a la matriz del tallo Burley lavado con agua

- La liberación ácida mencionada arriba (o alcalina) de NNK unida a la matriz no puede usarse generalmente para retirar la NNK del material de tabaco previsto para el uso humano, debido a su efecto en la integridad física del tabaco. Por tanto, se requieren otros métodos.
- 35

- Los tallos Burley lavados con agua se calientan en agua a 130 °C o 140 °C en una autoclave de laboratorio. Esto libera una cantidad significativa de NNK unida a la matriz dentro de cuatro horas. Como puede apreciarse en la Figura 2, la velocidad máxima de liberación de NNK en los tallos Burley ocurrió en los primeros 30-60 minutos con alrededor de 10 000 ng/g liberados a 130 grados centígrados y aproximadamente 13 000 ng/g liberados a 140 grados centígrados. La cantidad de liberación de NNK continuó por más de aproximadamente 4 horas a 130 grados centígrados y por más de aproximadamente 8 horas a 140 grados centígrados. Se observa el mismo efecto global para relleno de cigarrillos experimentales 3R4F extraídos en agua a temperaturas desde 110 °C a 130 °C. Se observa una clara dependencia de la temperatura de la velocidad de liberación de NNK. Como puede apreciarse en la Figura 3, ocurrió una rápida velocidad de liberación de NNK en los primeros 60 minutos con aproximadamente 1400 ng/g, 1700 ng/g y 2000 ng/g que se liberaron a 110 grados centígrados, 120 grados centígrados y 130 grados centígrados, respectivamente. Después de aproximadamente 60 minutos la velocidad de liberación disminuyó aunque se observó una liberación continua de NNK aún después de aproximadamente 200 minutos.
- 40
- 45

50 Ejemplo 6

Retirar la NNK unida a la matriz de los tallos Burley

- El potencial del método descrito en la presente descripción para retirar la NNK unida a la matriz de los materiales de tabaco se evalúa mediante la aplicación de un procedimiento de tres etapas lavar/esterilizar en autoclave/lavar en los tallos de tabaco Burley ricos en nitrosaminas. Los tallos se lavan primero con agua (1,5 l para 100 g de tallos) por aproximadamente dos horas a aproximadamente temperatura ambiente; luego los tallos húmedos se esterilizan en autoclave y se lavan de nuevo con agua por aproximadamente dos horas. Después de este tratamiento el material se seca (a aproximadamente 50°C por aproximadamente 17 h) y se analiza para el contenido de ambos, NNK libre y unida a la matriz. Los resultados se muestran en la Tabla 1 y en la Figura 4.
- 55
- 60

- Como se muestra en la Figura 4, se observa una reducción del total de NNK dependiente de la temperatura (= NNK libre + unida). El método de 1 hr a 110 grados centígrados resultó en un contenido de NNK total de aproximadamente 3415 ng/g. El método de 1 hr a 120 grados centígrados resultó en un contenido de NNK total de aproximadamente 2917 ng/g. El método de 1 hr a 130 grados centígrados resultó en un contenido de NNK total de aproximadamente 2668 ng/g. En comparación, el contenido de NNK total en tallos no tratados fue aproximadamente 3680 ng/g. En el
- 65

método de no esterilización en autoclave, el contenido de NNK total fue aproximadamente 5024 ng/g.

Como también se muestra en la Figura 4, se observa una fuerte reducción dependiente de la temperatura de NNK unida a la matriz. El método de 1 hr a 110 grados centígrados resultó en un contenido de NNK unida a la matriz de aproximadamente 2481 ng/g. El método de 1 hr a 120 grados centígrados resultó en un contenido de NNK unida a la matriz de aproximadamente 1520 ng/g. El método de 1 hr a 130 grados centígrados resultó en un contenido de NNK unida a la matriz de aproximadamente 809 ng/g. En comparación, el contenido de NNK unida a la matriz en tallos no tratados fue aproximadamente 2715 ng/g. En el método de no esterilización en autoclave, el contenido de NNK unida a la matriz fue aproximadamente 4848 ng/g.

Como también se muestra en la Figura 4, se observa un fuerte aumento dependiente de la temperatura de NNK libre. El método de 1 hr a 110 grados centígrados resultó en un contenido de NNK libre de aproximadamente 934 ng/g. El método de 1 hr a 120 grados centígrados resultó en un contenido de NNK libre de aproximadamente 1397 ng/g. El método de 1 hr a 130 grados centígrados resultó en un contenido de NNK libre de aproximadamente 1859 ng/g. En comparación, el contenido unido a la matriz en tallos no tratados fue aproximadamente 2715 ng/g. En el método de no esterilización en autoclave, el contenido unido a la matriz fue aproximadamente 4848 ng/g.

Se piensa que el contenido más alto de NNK unida en la muestra de "no esterilización en autoclave" según se compara con los tallos no tratados se atribuye a la pérdida de materias solubles en agua durante la primera etapa de lavado la cual cuenta por 30-40 % del peso en seco en tallos no tratados. La gran proporción de NNK libre en los tallos esterilizados en autoclave indica que la última etapa de lavado no es exhaustiva y que pudiera lograrse una reducción adicional del contenido de NNK total mediante la aplicación de un método de lavado mejorado, por ejemplo, con una agitación física más intensa de la mezcla agua/tallo.

Ejemplo 7

El análisis de NNK del humo de los cigarrillos con tallo Burley lavado en agua adicionado

El humo de los cigarrillos con un 20 % de tallo Burley lavado adicionado o un 20 % de material de tallo Burley lavado esterilizado en autoclave tratado como se describe en la presente descripción, se analiza para demostrar que la NNK unida a la matriz liberada durante la esterilización en autoclave contribuye a la NNK del humo.

Preparación de los tallos Burley lavados/esterilizados en autoclave: Los tallos Burley picados se extraen tres veces secuencialmente con 1200 ml de agua (1 hora a 70°C), cada uno. Después de cada extracción, los sólidos se separan mediante una filtración al vacío. Después de la tercera extracción los sólidos se congelan y se liofilizan. Luego, los tallos extraídos se lavan cuatro veces con MeOH/H₂O (1:1; 480mL cada uno; se centrifugan a 4000 rpm por 10 min después de cada etapa), dos veces con 480mL de agua (las mismas condiciones) y luego se liofilizan de nuevo para proporcionar 47 g de tallo Burley lavado (wBS). Una parte de este wBS (20 g) se esteriliza en autoclave con agua (300 ml; 4 horas a 130°C). Luego, la mezcla se centrifuga (10 min, 4000 rpm) y el sedimento se lava tres veces con agua (300 ml) centrifugando después de cada etapa de lavado. Secar por congelación el material lavado proporciona 10,9 g de tallo Burley lavado esterilizado en autoclave (aBS).

Preparación del cigarrillo: Los cigarrillos se preparan mediante mezclas enrolladas a mano de picadura Burley con wBS o aBS. El tabaco se condiciona antes de enrollarse por 1-2 h a 60-65 %RH. Se usan 700 mg de tabaco por cigarrillo. Se producen quince cigarrillos para cada uno de los tres tipos de muestras: cigarrillo A: 100 % de cigarrillo Burley; cigarrillo B: 80 % de Burley + 20 % de wBS; y cigarrillo C: 80 % de Burley + 20 % de aBS.

Análisis del humo: Los cigarrillos se fuman mediante el uso del régimen de fumado de Health Canada; se acumulan 15 bocanadas por cigarrillo con un volumen de 55 ml y un intervalo entre bocanadas de 30 s. El humo de tres cigarrillos se acumula sobre un filtro de fibra de vidrio (almohadilla de Cambridge). Se fuman quince cigarrillos por tipo de cigarrillo. Las almohadillas se extraen inmediatamente al agitar en el amortiguador Tris-HCl (30 ml; pH 7,5; con estándares internos NNK-d4 y NNN-d4 a 100 ng/ml). Los extractos luego se analizan para NNK, NNN y la nicotina.

El contenido de NNK unido en el wBS es de 7082 ng/g; el contenido de NNK unido en el aBS es de 1594 ng/g; y el nivel de nicotina en picadura Burley es de 29,2 mg/g.

En la mezcla Burley sin un 20 % de wBS o un 20 % de aBS, la nicotina es de 5 mg/cigarrillo, la NNK es de 245 ng/cigarrillo y la NNN es de 129 ng/cigarrillo.

En la mezcla Burley con un 20 % de wBS, la nicotina es de 4 mg/cigarrillo, la NNK es de 701 ng/cigarrillo y la NNN es de 118 ng/cig.

En la mezcla Burley con un 20 % de aBS, la nicotina es de 5 mg/cigarrillo, la NNK es de 390 ng/cigarrillo y la NNN es de 112 ng/cig.

Un aumento significativo en los niveles de NNK se encuentra en el humo de los cigarrillos con tallos Burley lavados

adicionados (wBS). Adicionalmente, los niveles de NNK en el humo de los cigarrillos con aBS son significativamente más bajos que en los cigarrillos con wBS. Se observa una reducción no significativa para NNN o nicotina. Esta muestra que la misma NNK unida a la matriz que se libera sobre la esterilización en autoclave también se transfiere al aerosol durante la acción de fumar. De manera interesante, los cigarrillos con aBS suministraron significativamente más NNK en el humo que los cigarrillos Burley puros. Sin ánimo de limitarse por ninguna teoría, esto indica que una fracción de NNK unida a la matriz no se libera por el método de esterilización en autoclave. A partir de la diferencia entre la NNK del humo de los cigarrillos wBS y aBS y el contenido de NNK unida de los wBS (medidos por extracción en autoclave) el rendimiento de la transferencia de humo de NNK unida (para este diseño de cigarrillo específico y el régimen de fumado) puede calcularse como de un 30 %. Como este rendimiento de transferencia es muy similar al de la nicotina (26 %), puede concluirse que la liberación del estado unido a la matriz no es un impedimento significativo al suministro del humo de NNK unida. Esto significa que la NNK unida contribuye de una manera similar a las concentraciones de NNK del humo como NNK "libre" no unido desarrollado.

Ejemplo 8

Liberación de calor de NNK de Tallo Burley lavado

Se insertan porciones de polvo de tallo Burley lavado en las puntas de pipetas de Pasteur entre tapones de lana de vidrio. De este modo, cualquier NNK que se evapora durante el calentamiento se condensa en las partes más frías de la pipeta y puede extraerse de la superficie de vidrio.

Ambos, el tallo Burley lavado pulverizado o el tallo Burley lavado sometido a una esterilización por autoclave adicional & lavado se colocan en las puntas de las pipetas de Pasteur entre tapones de lana de vidrio. Estas muestras se calientan durante 35 s en la tobera de un arma de calentamiento. Posteriormente, la parte de las pipetas que contiene la muestra o condensada se aplasta y el duro de vidrio, la lana de vidrio y el polvo de tabaco se extraen juntos mediante la agitación durante 1 hora a temperatura ambiente en un amortiguador Tris-HCl (5ml; 50mM; pH7,5; con estándares internos: NNK-d4 y NNN-d4 @ 100 ng/mL). Se filtran alícuotas de los extractos y la NNK libre, la NNN y la nicotina se determinan mediante LC-MS. Las mezclas de extracción restantes se calientan en una autoclave (130 °C por 4 horas). La NNK total se determina mediante la medición del contenido de NNK de las mezclas de extracción esterilizadas en autoclave. Las temperaturas reales alcanzadas en esta configuración experimental se miden mediante la colocación de un termopar en una punta de una pipeta de Pasteur rellena con lana de vidrio. Las mediciones de temperatura dependientes del tiempo mostraron que se alcanzó T-10 °C después de ~20s.

Los resultados se presentan en la Figura 5. Se observa una liberación de NNK unido a su forma libre a temperaturas por arriba de los 200 °C. Calentar hasta una temperatura objetivo de 270 °C por 40 s, lo que significa que la muestra está por arriba de 260 °C por ~20 s, conduce a una liberación de NNK unido casi completa. A esta temperatura se degrada una pequeña fracción de NNK (-20 %). El material del cual se retira -90 % de NNK unida mediante la esterilización en autoclave y el lavado en agua muestra una no liberación o formación de NNK libre más allá de las concentraciones esperadas de las concentraciones de NNK unida residuales. También se observa una liberación de nicotina y de NNN que comienza a 200 °C, pero en concentraciones mucho menores cuando se compara con el contenido en los fragmentos de tallo Burley originales (nicotina: 8,2 mg/g; NNN: 13 pg/g; NNK libre: 2,9 pg/g). Las temperaturas de liberación de NNK observadas de 200-250 °C implican que la NNK unida a la matriz puede contribuir a la NNK del humo en ambos, los cigarrillos convencionales y los nuevos dispositivos para fumar en los que el tabaco se calienta mediante fuentes de calor externas.

Cualquier publicación citada o descrita en la presente descripción proporciona información relevante descrita antes de la fecha de presentación de la presente solicitud. Las declaraciones en la presente descripción no deben interpretarse como una admisión de que los inventores no tienen derecho a anteceder tales descripciones. Diversas modificaciones y variaciones de la invención serán evidentes para los expertos en la técnica sin apartarse del alcance de la invención. Aunque la invención se ha descrito en relación con modalidades preferidas específicas, debe entenderse que la invención como se reivindica no debe limitarse indebidamente a tales modalidades específicas.

TABLA 1

Proceso de muestra	NNK libre [ng/g]	NNK unida [ng/g]	NNN [ng/g]	Nicotina [mg/g]
lavar / (110 °C/10 minutos) / lavar	792	3209	1297	1,09
lavar / (130 °C/30 minutos) / lavar	1543	1386	1253	1,21
lavar / (130 °C/1 hora) / lavar	1859	809	1329	1,11

ES 2 717 434 T3

	lavar / (120 °C/1 hora) / lavar	1397	1520	1413	1,15
5	lavar / (110 °C/1 hora) / lavar	934	2481	1496	1,16
10	lavar / no calentar / lavar	716	4848	1394	1,28
	tallos no tratados	965	2715	6658	6,73

15 Ejemplo 8

Liberación de calor de NNK de Tallo Burley lavado

20 Se insertan porciones de polvo de tallo Burley lavado en las puntas de pipetas de Pasteur entre tapones de lana de vidrio. De este modo, cualquier NNK que se evapora durante el calentamiento se condensa en las partes más frías de la pipeta y puede extraerse de la superficie de vidrio.

25 Ambos, el tallo Burley lavado pulverizado o el tallo Burley lavado sometido a una esterilización por autoclave adicional & lavado se colocan en las puntas de las pipetas de Pasteur entre tapones de lana de vidrio. Estas muestras se calientan durante 35 s en la tobera de un arma de calentamiento. Posteriormente, la parte de las pipetas que contiene la muestra o condensada se aplasta y el duro de vidrio, la lana de vidrio y el polvo de tabaco se extraen juntos mediante la agitación durante 1 hora a temperatura ambiente en un amortiguador Tris-HCl (5ml; 50mM; pH7,5; con estándares internos: NNK-d4 y NNN-d4 @ 100 ng/mL). Se filtran alícuotas de los extractos y la NNK libre, la NNN y la nicotina se determinan mediante LC-MS. Las mezclas de extracción restantes se calientan en una autoclave (ISO°C por 4 horas).
 30 La NNK total se determina mediante la medición del contenido de NNK de las mezclas de extracción esterilizadas en autoclave. Las temperaturas reales alcanzadas en esta configuración experimental se miden mediante la colocación de un termopar en una punta de una pipeta de Pasteur rellena con lana de vidrio. Las mediciones de temperatura dependientes del tiempo mostraron que se alcanzó T-10°C después de ~20s.

35 Los resultados se presentan en la Figura 5. Se observa una liberación de NNK unido a su forma libre a temperaturas superiores a 200 °C. El calentamiento hasta una temperatura objetivo de 270 °C por 40 s, lo que significa que la muestra está por arriba de 260 °C por ~20 s, conduce a una liberación de NNK unido casi completa. A esta temperatura se degrada una pequeña fracción de NNK (-20 %). El material del cual se retira -90 % de NNK unida mediante la esterilización en autoclave y el lavado en agua muestra una no liberación o formación de NNK libre más allá de las
 40 concentraciones esperadas de las concentraciones de NNK unida residuales. También de observa una liberación de nicotina y de NNN que comienza a 200 °C, pero en concentraciones mucho menores cuando se compara con el contenido en los fragmentos de tallo Burley originales (nicotina: 8,2 mg/g; NNN: 13 pg/g; NNK libre: 2,9 pg/g). Las temperaturas de liberación de NNK observadas de 200-250 °C implican que la NNK unida a la matriz puede contribuir a la NNK del humo en ambos, los cigarrillos convencionales y los nuevos dispositivos para fumar en los que el tabaco
 45 se calienta mediante fuentes de calor externas.

50 Cualquier publicación citada o descrita en la presente descripción proporciona información relevante descrita antes de la fecha de presentación de la presente solicitud. Las declaraciones en la presente descripción no deben interpretarse como una admisión de que los inventores no tienen derecho a anteceder tales descripciones. Todas las publicaciones mencionadas en la especificación anterior se incorporan en la presente descripción como referencia. Diversas modificaciones y variaciones de la invención serán evidentes para los expertos en la técnica sin apartarse del alcance y espíritu de la invención. Aunque la invención se ha descrito en relación con modalidades preferidas específicas, debe entenderse que la invención como se reivindica no debe limitarse indebidamente a tales modalidades específicas. De hecho, diversas modificaciones de los modos descritos para llevar a cabo la invención que son obvias para los expertos en biología celular, molecular y de plantas o campos relacionados se pretende que estén dentro del
 55 alcance de las siguientes reivindicaciones.

TABLA 1

60	Proceso de muestra	NNK libre [ng/g]	NNK unida [ng/g]	NNN [ng/g]	Nicotina [mg/g]
65	lavar / (1100/10 minutos) / lavar	792	3209	1297	1,09

ES 2 717 434 T3

	lavar / (130 <730 minutos) / lavar	1543	1386	1253	1,21
5	lavar / (1300/1 hora) / lavar	1859	809	1329	1,11
10	lavar / (120C/1 hora) / lavar	1397	1520	1413	1,15
	lavar / (110<3/1 hora) / lavar	934	2481	1496	1,16
15	lavar / no calentar / lavar	716	4848	1394	1,28
	tallos no tratados	965	2715	6658	6,73
20					

REIVINDICACIONES

1. Un método para reducir la cantidad de al menos NNK unida a la matriz en material de tabaco que comprende las etapas de:
 - 5 a) proporcionar material de tabaco que comprende al menos NNK unida a la matriz;
 - b) medir opcionalmente el nivel de al menos NNK unida a la matriz en el material de tabaco;
 - c) calentar el material de tabaco por al menos 30 segundos a una temperatura superior a 115 grados centígrados en presencia de un líquido o vapor para liberar al menos una porción de NNK unida a la matriz de la matriz de tabaco insoluble del material de tabaco;
 - 10 d) medir opcionalmente el nivel de al menos NNK unida a la matriz en el material de tabaco siguiente a la etapa (c);
 - e) comparar opcionalmente los niveles de NNK unida a la matriz obtenidos en las etapas (b) y (d); y
 - f) identificar el material de tabaco en el que al menos la NNK unida a la matriz se ha liberado del material de tabaco.
- 15 2. El método de conformidad con la reivindicación 1, en donde el material de tabaco proporcionado en la etapa (a) se pone en contacto con una primera solución acuosa o solvente anterior a la etapa (c).
3. El método de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la NNK unida a la matriz se retira de la muestra mediante una o más lavadas con una segunda solución acuosa o solvente.
- 20 4. El método de conformidad con la reivindicación 3, en donde la primera y/o segunda solución acuosa o solvente es la misma o diferente.
- 25 5. El método de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde el material de tabaco se selecciona del grupo que consiste en: hoja de tabaco y/o tallos de tabaco y/o polvo de tabaco y/o tira de lámina principal de hoja de tabaco o una combinación de dos o más de estos.
- 30 6. El método de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones precedentes en donde el material de tabaco se calienta en presencia de agua o vapor producido a partir de agua.
7. El método de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde el material de tabaco se calienta en la etapa (b) en presencia de vapor presurizado y/o vapor sobrecalentado.

Figura 1

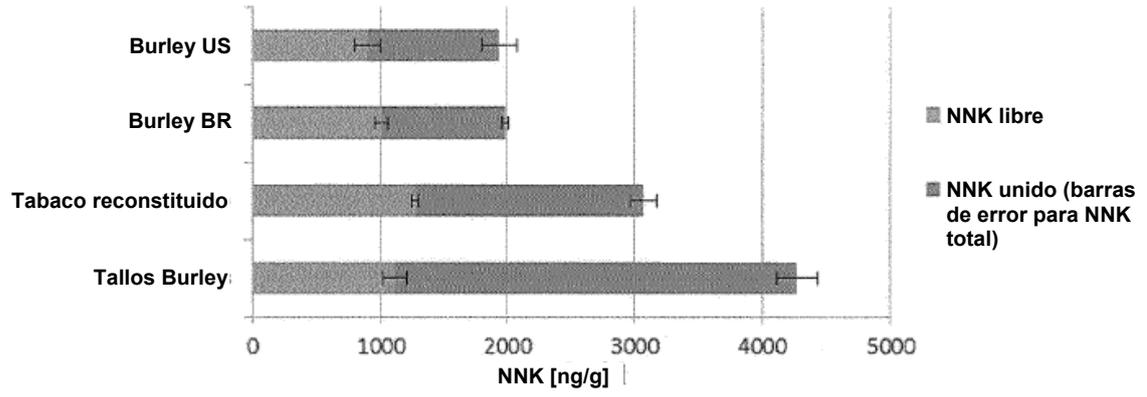


Figura 2

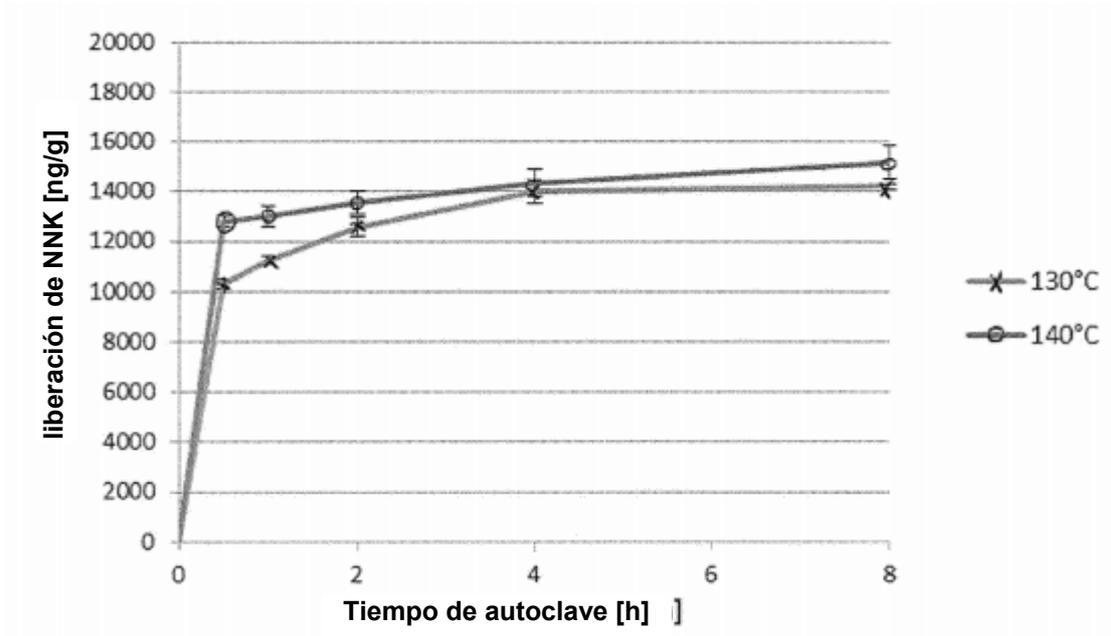


Figura 3

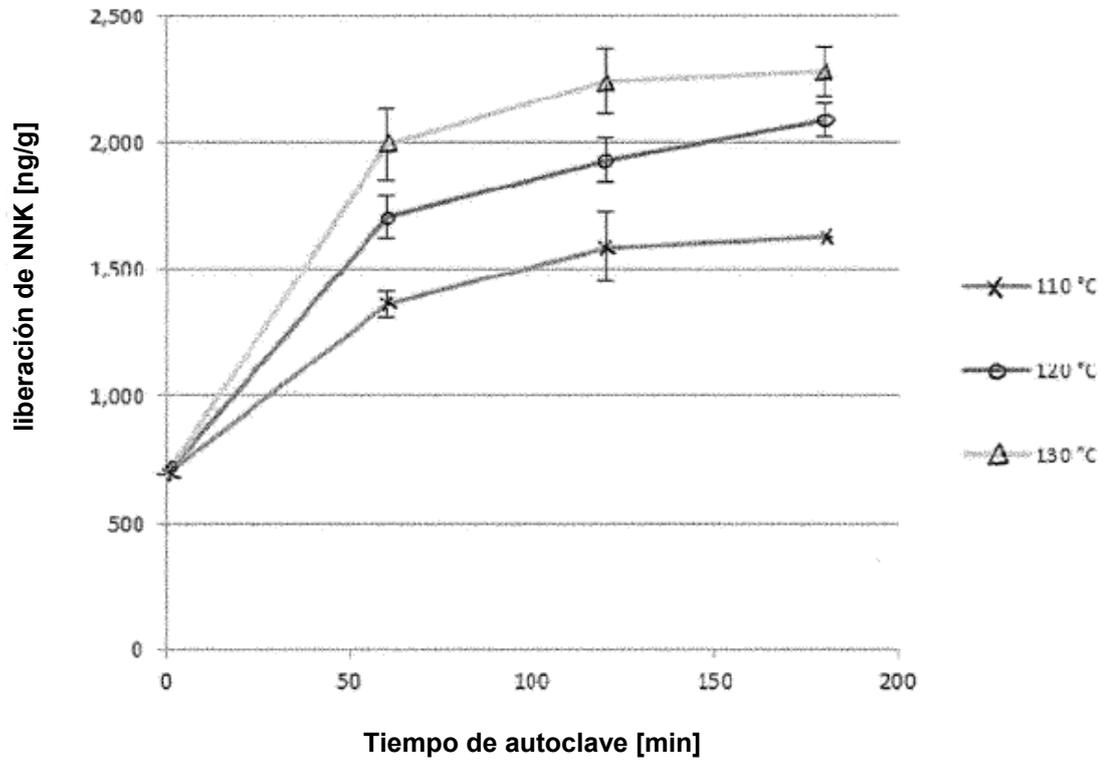


Figura 4

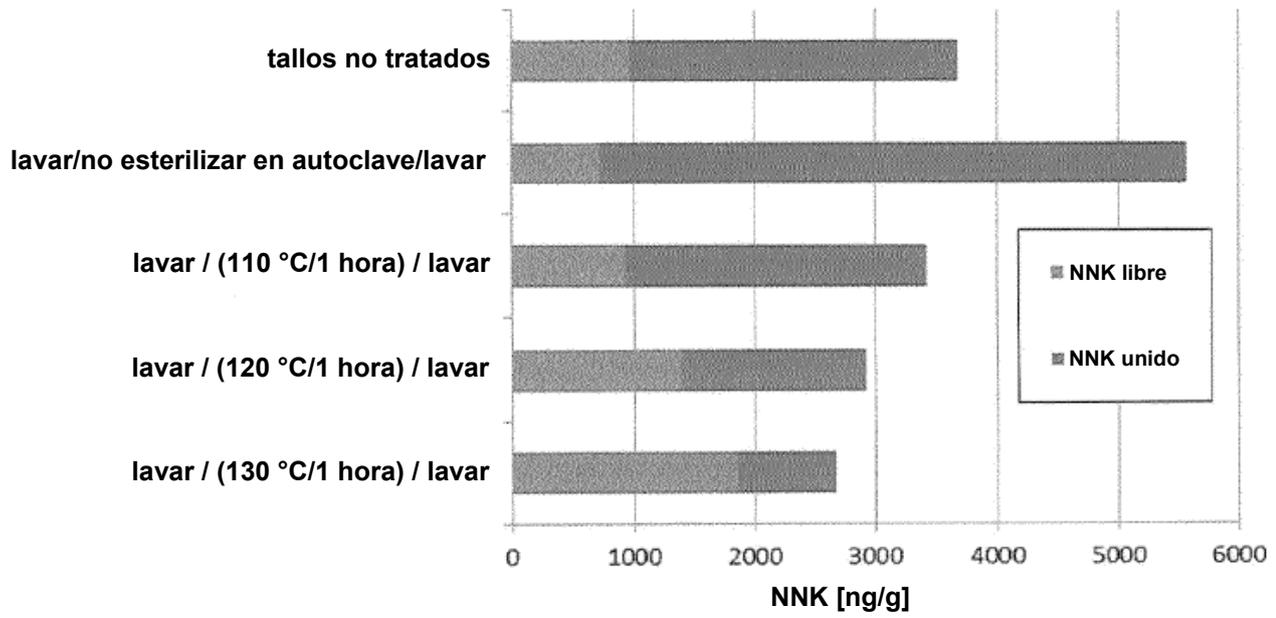


Figura 5

