



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2021년07월01일
(11) 등록번호 10-2270943
(24) 등록일자 2021년06월24일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A24B 15/24 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A24B 15/245 (2013.01)
A24B 15/24 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2015-7026092
- (22) 출원일자(국제) 2014년03월14일
심사청구일자 2019년02월19일
- (85) 번역문제출일자 2015년09월22일
- (65) 공개번호 10-2015-0128741
- (43) 공개일자 2015년11월18일
- (86) 국제출원번호 PCT/EP2014/055209
- (87) 국제공개번호 WO 2014/140346
국제공개일자 2014년09월18일
- (30) 우선권주장
13159620.7 2013년03월15일
유럽특허청(EPO)(EP)
- (56) 선행기술조사문헌
JP2002503965 A*
KR1020030041146 A
US20080178894 A1
US20120125354 A1
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌
- (73) 특허권자
필립모리스 프로덕츠 에스.에이.
스위스, 씨에취-2000, 네우차텔, 쿠아이 얀레나
우드 3
- (72) 발명자
랭, 게르하르트
스위스, 3280 뤼르텐, 머라치펠드 58
군드즈, 이르판
스위스, 씨에취-1052 르 몽-쉬르-로잔, 루트 드
로잔 86 엘
브아노즈-비제, 알린
스위스, 씨에취-1745 령띠뉘, 엠 메이노드 27
- (74) 대리인
강철중, 김윤배

전체 청구항 수 : 총 7 항

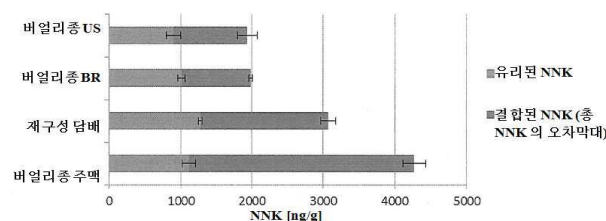
심사관 : 김민정

(54) 발명의 명칭 **담배 재료 내의 하나 이상의 담배 특이 니트로사민을 감소시키는 방법**

(57) 요약

담배 재료 내의 적어도 매트릭스-결합 NNK의 양을 감소시키는 방법으로, (a) 적어도 매트릭스-결합 NNK를 포함하는 담배 재료를 제공하는 단계; (b) 선택적으로 상기 담배 재료 내의 적어도 매트릭스-결합 NNK의 수준을 측정하는 단계; (c) 액체 또는 증기의 존재 시에 약 110°C보다 높은 온도로 적어도 약 30초 동안 상기 담배 재료를 가열해서, 상기 매트릭스-결합 NNK의 적어도 일부를 상기 담배 재료의 불용성 담배 매트릭스로부터 방출시키는 단계; (d) 선택적으로 단계 (c) 이후 상기 담배 재료 내의 적어도 매트릭스-결합 NNK의 수준을 측정하는 단계; (e) 선택적으로 단계 (b) 및 (d)에서 획득된 매트릭스-결합 NNK의 수준을 비교하는 단계; 및 (f) 적어도 매트릭스-결합 NNK가 상기 담배 재료로부터 방출된 담배 재료를 식별하는 단계를 포함하는, 담배 재료 내의 적어도 매트릭스-결합 NNK의 양을 감소시키는 방법이 설명되어 있다.

대표도 - 도1



명세서

청구범위

청구항 1

담배 재료 내의 적어도 매트릭스-결합 NNK의 양을 감소시키는 방법에 의하여 수득되었거나 수득가능한 담배 재료로, 상기 방법은:

- (a) 적어도 매트릭스-결합 NNK를 포함하는 담배 재료를 제공하는 단계;
- (b) 선택적으로 상기 담배 재료 내의 적어도 매트릭스-결합 NNK의 수준을 측정하는 단계;
- (c) 액체 또는 증기의 존재 시에 110°C 내지 200°C의 온도로 적어도 30초 동안 상기 담배 재료를 가열해서, 상기 매트릭스-결합 NNK의 적어도 일부를 상기 담배 재료의 불용성 담배 매트릭스로부터 방출시키는 단계;
- (d) 선택적으로 단계 (c) 이후 상기 담배 재료 내의 적어도 매트릭스-결합 NNK의 수준을 측정하는 단계;
- (e) 선택적으로 단계 (b) 및 (d)에서 수득된 매트릭스-결합 NNK의 수준을 비교하는 단계; 및
- (f) 적어도 매트릭스-결합 NNK가 상기 담배 재료로부터 방출된 담배 재료를 식별하는 단계를 포함하고, 상기 담배 재료는 불용성 담배 매트릭스 중의 2400ng/g 미만의 NNK 및 적어도 900ng/g의 유리된 NNK를 포함하는, 담배 재료.

청구항 2

제1항에 있어서, 단계 (a)에서 제공된 담배 재료는 단계 (c) 전에 제1 수성 용액 또는 용매와 접촉되는, 담배 재료.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 단계 (c)와 (d) 사이에 상기 매트릭스-결합 NNK는 제2 수성 용액 또는 용매로 한번 이상 세척하여 샘플로부터 제거되는, 담배 재료.

청구항 4

제1항에 있어서, 단계 (a)에서 얻어진 담배 재료는 단계 (c) 전에 제1 수성 용액 또는 용매와 접촉되고, 단계 (c)와 (d) 사이에 상기 매트릭스-결합 NNK는 제2 수성 용액 또는 용매로 한번 이상 세척하여 샘플로부터 제거되며, 상기 제1 용액 또는 용매는 제2 수성 용액 또는 용매와 동일하거나 상이한, 담배 재료.

청구항 5

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 담배 재료는 담배 잎, 담배 주맥, 담배 가루, 및 담배 잎 주 박층 조각, 또는 이들의 둘 이상의 조합으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 것인, 담배 재료.

청구항 6

제1항 또는 제2항에 있어서, 단계 (c)에서 상기 담배 재료는 물 또는 물에서 생성된 증기의 존재 시에 가열되는, 담배 재료.

청구항 7

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 담배 재료는 가압 증기 또는 과열 증기의 존재 시에 단계 (c)에서 가열되는, 담배 재료.

청구항 8

삭제

청구항 9

삭제

청구항 10

삭제

청구항 11

삭제

청구항 12

삭제

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 담배 재료 내의 4-(메틸니트로사미노)-1-(3-피리딜)-1-부타논(NNK)을 포함한 한 종류 이상의 담배 특이 니트로사민의 양을 감소시키는 방법에 관한 것이다. 상기 방법들에 의해 수득되었거나 또는 수득가능한 담배 재료를 포함하는 담배 제품 또한 설명되어 있다.

배경 기술

[0002] 담배 제품의 제조 및 가공 도중에 부산물, 예컨대 (주맥분리, 숙성, 블렌딩, 절단, 건조, 냉각, 선별, 성형 및 포장을 포함한) 제조 공정에서 제조된 담배 주맥(tobacco stem), 잎 스크랩(leaf scrap), 및 담배 가루(tobacco dust)가 생산되며 그들의 유용한 담배 함량을 되찾기 위해 재활용될 수 있다. 예를 들어, 제조 공정으로부터의 담배 주맥과 담배 미분(tobacco fine)은 담배 제품의 제조에 직접 사용하기에 부적합하다. 주맥과 미분은 원재료 투자의 상당한 양을 대변하기 때문에, 허용 가능한 가공된 담배 잎과의 혼합물에서 상대적으로 많은 양으로 나중에 사용할 수 있게 되는 재구성 담배 시트 같은 제품으로 이 주맥과 미분을 더 변환하기 위한 공정이 개발되어 있다. 재구성 담배(reconstituted tobacco)는 슬러리 제조 또는 주조 시트 공정에서 제조될 수 있는데, 여기서 으갠 담배 주맥 펄프와 담배 잎의 다른 부분은 분쇄되고 다른 첨가제를 함유할 수도 있는 용액과 혼합된다. 그리고 나서, 얻어진 담배 슬러리를 분무해서 박막을 형성하고, 건조하고, 말고 및 충전체에 첨가되는 스트립으로 썬다(dice).

[0003] 니트로사민(Nitrosamine)은 담배, 식품 및 화장품과 같은 다수의 소비재에서 발견되는 유기 화합물이다. 이 클래스의 화합물 중 일부는 실험 동물에서 발암성인 것으로 나타났기 때문에 니트로사민은 강하게 과학적인 관심을 끌어들였다. 공기-건조(air-cured) 및 화력-건조(flue-cured) 담배가 무연 담배, 켈련의 주류연 및 부류연에서 발견될 수 있는 담배 특이 니트로사민(tobacco specific nitrosamine)을 함유하는 것으로 보고되어 있다. 담배에서, 네 종의 니트로사민이 상당한 양으로 생산된다. 이들은 4-(메틸니트로사미노)-1-(3-피리딜)-1-부타논(NNK), N-니트로소니코틴(NNN), N-니트로소아나타빈(NAT) 및 N-니트로소아나바신(NAB)이다. 담배 특이 니트로사민은 성장중인 담배 식물 또는 신선한 살 담배 (녹색 담배)에서는 상당량 존재하는 것으로 간주되고 있지 않지만, 건조 공정 동안 형성될 수 있다. 녹색 잎의 건조 공정 동안 담배 특이 니트로사민이 형성되는 것과 더불어, 담배 특이 니트로사민은 수성 담배 슬러리를 제조하는데 사용되는 공정 - 예컨대 재구성 담배를 제조하는데 사용되는 공정 동안 형성될 수도 있다.

[0004] 담배 특이 니트로사민을 감소시키기 위한 시도로, 방사선 처리, 화학적 처리 및 추출을 포함하여 담배 식물 또

는 재배된 담배 잎의 다양한 처리가 제안되었다. 담배 특이 니트로사민을 감소하기 위한 다른 방법은 MacKown 등(1988) *J. Agric. Food Chem.* 36, 1031-1035에 의해 제안되었다. 이러한 방법들은 살균, 미생물 억제제, pH 증가를 위한 염기, 또는 재구성 담배 시트의 제조 동안 담배 특이 니트로사민의 축적을 감소시키기 위한 아스코르브산을 사용하는 처리와 연관된다. W02012160133은 특히 상승된 수준의 니트로사민이 상승된 아질산염 수준에 의해 생성될 때, 그 pH를 증가시켜서 담배 균질물 속 담배 특이 니트로사민의 수준을 감소시키는 방법을 설명하고 있다.

[0005] 담배에서 하나 이상의 담배 특이 니트로사민의 수준을 감소시키기 위한 시도에 있어서의 한 가지 문제는 NNK를 포함하여, 공기-건조 담배에서 니트로사민 일부가 매트릭스-결합(matrix-bound) 형태로 존재한다는 점이다. 예를 들어, 버얼리종 베이스웹(Burley baseweb) (즉 물로 추출한 버얼리종 섬유)의 연기는 원래의 담배 연기에서 발견되는 NNK의 70%를 함유하고 있는 반면, NNN 및 NAT 수준은 95% 넘게 감소해 있다 (Haut, S. A., Lambert, E. A., 1988, The Determination of TSNA in Fillers from the Crossed Soluble/Baseweb Study. Legacy Tobacco Documents Library). 매트릭스 결합 NNK는 물로 세척한 버얼리종 충전제로부터 0.1N KOH 용액으로 추출할 수 있다. 이 알칼리 처리는 연기 속 NNK 수준을 감소시킨다(Keene, C.K., 1992, The Effect of Base Digestion on TSNA in Extractables-Depleted Fillers. Legacy Tobacco Documents). 그러나, 상기 처리가 독성학적으로 관련된 화합물을 담배 속으로 도입할 수 있고 담배의 품질을 유의하게 저하시킨다. 매트릭스 결합 형태는 pH 중성 수성 추출 방법을 이용하여 용이하게 가용화할 수 없다.

[0006] 담배 특이 니트로사민, 특히 NNK를 포함하여, 담배의 가공 도중에 형성되며, 매트릭스-결합 형태로 있는, 담배 특이 니트로사민을 감소하기 위한 효과적이고 비용 효율적인 방법에 대한 요구가 남아 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명은 매트릭스-결합 담배 특이 니트로사민, 적절하게는, 매트릭스-결합 NNK(matrix-bound NNK)를 포함한 담배 특이 니트로사민이 담배 및 담배 유래의 재료를 100°C 초과 온도로 가열하여 방출될 수 있다는 놀라운 발견에 적어도 부분적으로는 기초하고 있다. 일반적으로, 상기 가열 단계는 액체 - 예컨대, 물 또는 증기의 존재 시에 수행된다. 소정의 구현예들에서, 물, 예를 들어, 증기 형태의 가열된 물은, 단독으로 사용된다. 방출되는 매트릭스-결합 NNK를 포함한 매트릭스-결합 담배 특이 니트로사민(들)은, 미처리 출발 물질보다 낮은 담배 특이 니트로사민(들) 함량, 농도 또는 양을 갖는 담배 재료를 야기할 수 있는 세척에 의하여 쉽게 제거할 수 있다. 또한 미처리 출발 물질보다 연기를 포함한 에어로졸에서 낮은 담배 특이 니트로사민 농도를 생성하는 담배 재료를 야기할 수 있다. 따라서, 가열시 방출되는 것과 동일한 매트릭스-결합 NNK도 또한 흡연 도중에 에어로졸에 전달된다. 유리하게는, 이 방법은 많은 유형의 다른 담배 재료, 및 특히 높은 담배 특이 니트로사민 값을 갖는 담배 재료에 적용될 수 있다. 특히, 상기 방법은 소정의 담배 공정에 사용되는 주맥 또는 섬유를 포함한, 높은 담배 특이 니트로사민, 낮은 값 재료에 적용할 수 있다. 100°C 아래 온도에서 물 또는 유기 용매를 사용하는 다른 방법들과는 대조적으로, 제안된 공정은 담배의 불용성 고분자 매트릭스에 결합된 담배 특이 니트로사민을 제거할 수 있다. 또한 상기 방법은 어떠한 첨가제도 사용하지 않고 소정의 구현예들에서 수행될 수 있으며 그에 따라 담배에 추가적인 독성학적으로 관련된 화합물을 도입하지 않는다는 점이 유리하다. 본 발명의 일반적인 목적 중 하나는 다른 수단에 의해 흡연하거나 소비하려는 담배에서, NNK를 포함한 니트로사민(들)의 함량을 실질적으로 제거하거나, 줄이거나 또는 감소하는 것이다. 또 다른 일반적인 목적은 쥘(cigarettes), 엽쥘(cigars), 씹는 담배(chewing tobacco), 코담배(snuff)를 포함한 담배 제품과 담배 함유 껌과 사탕, 의 발암 가능성을 감소하는 것이다. 또 다른 일반적인 목적은 담배에서, NNK를 포함한 니트로사민(들)의 양을 실질적으로 제거하거나, 줄이거나 또는 감소하는 것이다. 또 다른 일반적인 목적은 완전 건조 담배에서 담배 특이 니트로사민(들)의 함량을 감소하는 것이다. 또 다른 일반적인 목적은 연기를 포함한, 에어로졸에서 담배 특이 니트로사민(들)의 함량을 감소하는 것이다. 본 발명의 또 다른 목적은, NNK를 포함한, 하나 이상의 담배 특이 니트로사민, 및 실질적으로 감소된 담배 특이 니트로사민(들)의 양을 함유해서 이러한 제품의 발암 가능성을 낮추는 인간 소비에 적합한 담배 제품을 제공하여, 임의의 형태의 담배를 흡연, 소비, 그렇지 않으면 섭취하는 인간에서 그것의 대사물질의 함량을 감소하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0008] 제1 측면에서, 담배 재료 내의 적어도 매트릭스-결합 NNK의 양을 감소시키는 방법이 제공되는데, (a) 적어도 매트릭스-결합 NNK를 포함하는 담배 재료를 제공하는 단계; (b) 선택적으로 상기 담배 재료 내의 적어도 매트릭스

-결합 NNK의 수준을 측정하는 단계; (c) 액체 또는 증기의 존재 시에 약 100°C 보다 높거나 약 110°C 보다 높은 온도로 적어도 약 30초 동안 상기 담배 재료를 가열해서, 상기 매트릭스-결합 NNK의 적어도 일부를 상기 담배 재료의 불용성 담배 매트릭스로부터 방출시키는 단계; (d) 선택적으로 단계 (c) 이후 상기 담배 재료 내의 적어도 매트릭스-결합 NNK의 수준을 측정하는 단계; (e) 선택적으로 단계 (b) 및 (d)에서 획득된 매트릭스-결합 NNK의 수준을 비교하는 단계; 및 (f) 적어도 매트릭스-결합 NNK가 상기 담배 재료로부터 방출 또는 제거된 담배 재료를 식별하는 단계를 포함한다.

- [0009] 한 구현예에서, 상기 방법은 단계 (c) 이전에 상기 담배 재료를 제1 수성 용액 또는 용매로 세척하는 단계 및 단계 (c) 이후에 상기 담배 재료를 제2 수성 용액 또는 용매로 세척하는 단계를 더 포함한다.
- [0010] 한 구현예에서, 단계 (a)에서 제공된 담배 재료는 단계 (c) 전에 제1 수성 용액 또는 용매와 접촉된다.
- [0011] 한 구현예에서, 상기 매트릭스-결합 NNK는 제2 수성 용액 또는 용매로 한 번 이상 세척하여 샘플로부터 제거된다.
- [0012] 한 구현예에서, 상기 제1 및/또는 제2 수성 용액 또는 용매는 동일하거나 상이하다.
- [0013] 한 구현예에서, 상기 방법은 단계 (a) 및 (b) 사이에 상기 담배 재료를 제1 수성 용액 또는 용매와 결합시키는 추가 단계를 포함할 수도 있다. 이것은 혼합물을 형성할 수 있다.
- [0014] 한 구현예에서, 단계 (a)에서 가열되는 담배 재료는 수성 용액 또는 용매와 접촉된다. 예를 들어, 상기 담배 재료는 습윤되거나 습식일 수 있다. 예를 들어, 상기 담배 재료는 적어도 5%(w/v) 수성 혼합물, 예컨대 용액 또는 현탁액의 형태일 수 있다.
- [0015] 한 구현예에서, 단계 (b)는 담배 재료를 함유하는 수성 혼합물을 가열하는 단계를 포함한다. 한 구현예에서, NNK의 적어도 일부는 초기에 담배 재료 내의 불용성 담배 매트릭스에 결합되고 상기 가열 단계 (b)는 상기 NNK의 적어도 일부를 상기 불용성 담배 매트릭스에서 방출한다.
- [0016] 한 구현예에서, 상기 방법은 다음의 추가 단계를 포함한다: (c) 상기 방출된 NNK의 적어도 일부를 상기 담배 재료로부터 제거하는 단계. 한 구현예에서, 상기 NNK는 제2 수성 용액 또는 용매로 한 번 이상 세척하여 상기 샘플로부터 방출된다.
- [0017] 한 구현예에서, 상기 단계 (a)에서 제공된 담배 재료는 사용 전에 제1 수성 용액 또는 용매와 접촉된다.
- [0018] 한 구현예에서, 상기 수성 용액은 용매이다.
- [0019] 한 구현예에서, 상기 담배 재료는 담배 잎 및/또는 담배 주맥 및/또는 담배 가루 및/또는 담배 잎 주 박층 조각 또는 이들의 둘 이상의 조합으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.
- [0020] 한 구현예에서, 상기 담배 재료는 물 또는 물에서 생성된 증기의 존재 시에 가열된다.
- [0021] 다른 구현예에서, 상기 담배 재료는 물, 증기 또는 물과 증기 전부의 존재 시에 가열된다.
- [0022] 다른 구현예에서, 상기 담배 재료는 압력 하에 물 및/또는 증기의 존재 시에 가열된다. 예시적인 압력 수준은 약 1과 적어도 약 40psi 사이, 약 5와 약 40psi 사이 및 10과 적어도 약 40psi 사이이다.
- [0023] 다른 구현예에서, 상기 담배 재료는 가압된 포화 증기를 사용하여 가열된다.
- [0024] 다른 구현예에서, 상기 담배 재료는 과열 증기를 이용하여 가열된다.
- [0025] 추가 측면에서, 본원에 기재된 방법에 의해 획득되었거나 획득가능한 담배 재료가 제공된다.
- [0026] 추가 측면에서 불용성 담배 매트릭스 중의 약 2400ng/g 미만의 NNK 및 적어도 약 1000ng/g의 유리된 NNK를 포함하는 (처리 또는 가공된) 담배 재료가 제공된다.
- [0027] 추가 측면에서 미처리 또는 미가공된 담배 재료에 비해 매트릭스-결합 NNK의 양 또는 농도가 적어도 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 100 % 낮은 (처리 또는 가공된) 담배 재료가 제공된다.
- [0028] 추가 측면에서 에어로졸에서 하나 이상의 담배 특이 니트로사민의 양 또는 농도를 감소시키는 방법이 제공되는데, (a) 하나 이상의 담배 특이 니트로사민을 포함하는 담배 재료를 제공하는 단계; (b) 액체 또는 증기의 존재 시에 약 100°C 보다 높은 온도로 적어도 약 30초 동안 상기 담배 재료를 가열해서, 상기 하나 이상의 담배 특이 니트로사민의 적어도 일부를 상기 담배 재료의 불용성 담배 매트릭스로부터 방출시키는 단계; (c) 상기 방출된

담배 특이 니트로사민(들)의 적어도 일부를 상기 담배 재료로부터 제거하는 단계; 및 (d) 단계 (b)로부터의 담배 재료를 가열해서 에어로졸을 생산하는 단계를 포함한다. 적절하게는, 수득되는 에어로졸은 적어도 단계 (b)를 실시하지 않은 대조군 담배 재료로부터의 에어로졸에 비해 낮은 수준의 NNK를 갖는다.

[0029] 추가 측면에서 에어로졸에서 하나 이상의 담배 특이 니트로사민의 양 또는 농도를 감소시키는 방법이 제공되는데, (a) 하나 이상의 담배 특이 니트로사민을 포함하는 담배 재료를 제공하는 단계; (b) 액체 또는 증기의 존재 시에 약 100°C 보다 높은 온도로 적어도 약 30초 동안 상기 담배 재료를 가열해서, 상기 하나 이상의 담배 특이 니트로사민(들)의 적어도 일부를 상기 담배 재료의 불용성 담배 매트릭스로부터 방출시키는 단계; (c) 상기 방출된 담배 특이 니트로사민(들)의 적어도 일부를 상기 담배 재료로부터 제거하는 단계; 및 (d) 단계 (b)로부터의 담배 재료를 가열해서 에어로졸을 생산하는 단계를 포함한다. 적절하게는, 수득되는 에어로졸은 적어도 단계 (b)를 실시하지 않은 대조군 담배 재료로부터의 에어로졸에 비해 낮은 수준의 NNK를 갖는다.

[0030] 추가 측면에서 본원에 기재된 방법에 의해 수득되었거나 수득가능한 에어로졸이 제공된다.

[0031] 추가 측면에서 재구성 담배 생산 방법이 제공되는데, (a) 하나 이상의 담배 특이 니트로사민을 포함하는 담배 재료를 제공하는 단계; (b) 액체 또는 증기의 존재 시에 약 100°C 보다 높은 온도로 적어도 약 30초 동안 상기 담배 재료를 가열해서, 상기 담배 특이 니트로사민(들)의 적어도 일부를 상기 담배 재료의 불용성 담배 매트릭스로부터 방출시키는 단계; (c) 단계 (b)로부터의 담배 재료를 수성 용액 또는 용매로 세척해서 상기 담배 특이 니트로사민(들)을 상기 담배 재료로부터 방출하는 단계; (d) 단계 (c)에서 수득된 담배 재료를 재구성 담배로 제조하는 단계; 및 (e) 선택적으로 상기 재구성 담배를 담배 제품으로 통합시키는 단계를 포함한다.

[0032] 추가 측면에서 재구성 담배 생산 방법이 제공되는데, (a) 하나 이상의 담배 특이 니트로사민을 포함하는 담배 재료를 제공하는 단계; (b) 가용성 물질로부터 담배 섬유를 분리하여 담배 재료를 재구성 담배로 제조하는 단계; (c) 액체 또는 증기의 존재 시에 적어도 100°C의 온도로 적어도 약 30초 동안 상기 분리된 섬유를 가열해서, 상기 담배 특이 니트로사민(들)의 적어도 일부를 상기 분리된 섬유의 불용성 담배 매트릭스로부터 방출시키는 단계; (d) 상기 섬유를 수성 용액 또는 용매로 세척하는 단계; (e) 상기 섬유와 가용성 물질을 재결합시켜서 재구성 담배 시트를 형성하는 단계; 및 (f) 선택적으로 상기 재구성 담배를 담배 제품으로 통합시키는 단계를 포함한다.

[0033] 추가 측면에서 재구성 담배 생산 방법이 제공되는데, (a) 하나 이상의 담배 특이 니트로사민을 포함하는 담배 재료를 제공하는 단계; 및 (b) 액체 또는 증기의 존재 시에 약 100°C 보다 높은 온도로 적어도 약 30초 동안 상기 담배 재료를 가열해서, 상기 담배 특이 니트로사민(들)의 적어도 일부를 상기 담배 재료의 불용성 담배 매트릭스로부터 방출시키는 단계; (c) 상기 방출된 담배 특이 니트로사민(들)의 적어도 일부를 상기 담배 재료로부터 제거하는 단계; (d) 상기 담배 재료를 하나 이상의 시트로 구조하는 단계; (e) 상기 구조된 시트(들)를 건조시키는 단계; 및 (f) 선택적으로 상기 시트(들)를 담배 제품으로 통합시키는 단계를 포함한다.

[0034] 추가 측면에서 본원에 기재된 방법에 의해 수득되었거나 수득가능한 재구성 담배가 제공된다.

[0035] 추가 측면에서 담배 각초로 사용하기 위한 담배 제조 방법이 제공되는데, (a) 하나 이상의 담배 특이 니트로사민을 포함하는 담배 재료- 예컨대 담배 주맥-를 제공하는 단계; (b) 액체 또는 증기의 존재 시에 약 100°C 보다 높은 온도로 적어도 약 30초 동안 상기 담배 재료를 가열해서, 상기 담배 특이 니트로사민(들)의 적어도 일부를 상기 담배 재료의 불용성 담배 매트릭스로부터 방출시키는 단계; (c) 상기 방출된 담배 특이 니트로사민(들)의 적어도 일부를 상기 담배 재료로부터 제거하는 단계; 및 (d) 상기 담배 재료를 말고 절단하는 단계를 포함한다.

[0036] 추가 측면에서 만 담배 주맥을 포함하는 담배 각초 생산 방법이 제공되는데, (a) 하나 이상의 담배 특이 니트로사민을 포함하는 담배 주맥을 제공하는 단계; (b) 액체 또는 증기의 존재 시에 약 100°C 보다 높은 온도로 적어도 약 30초 동안 상기 담배 주맥을 가열해서, 상기 담배 특이 니트로사민(들)의 적어도 일부를 상기 담배 주맥의 불용성 담배 매트릭스로부터 방출시키는 단계; (c) 상기 방출된 담배 특이 니트로사민(들)의 적어도 일부를 상기 담배 주맥으로부터 제거하는 단계; (d) 상기 처리된 주맥을 담배 박층, 팽화된 담배 또는 재구성 담배 중의 적어도 한 종류와 블렌딩하는 단계; 및 (e) 각초를 생산하는 단계를 포함한다.

[0037] 추가 측면에서 본원에 기재된 방법에 의해 수득되었거나 수득가능한 담배 각초가 제공된다.

[0038] 추가 측면에서 담배 재료 내의 적어도 매트릭스-결합 NNK의 양을 감소시키는 방법이 제공되는데, (a) 적어도 매트릭스-결합 NNK를 포함하는 담배 재료를 제공하는 단계; (b) 상기 담배 재료를 제1 수성 용액 또는 용매로 세척하는 단계; (c) 액체 또는 증기의 존재 시에 약 100°C 보다 높거나 약 110°C 보다 높은 온도로 적어도 약 30초 동안 상기 담배 재료를 가열해서, 상기 매트릭스-결합 NNK의 적어도 일부를 상기 담배 재료의 불용성 담배

매트릭스로부터 방출시키는 단계; (d) 단계 (c)로부터의 담배 재료를 제2 수성 용액 또는 용매로 세척하는 단계; 및 (e) 적어도 매트릭스-결합 NNK를 상기 담배 재료로부터 제거하거나 방출시키는 단계를 포함한다. 상기에서 논의한 구현예들 각각은 본 발명의 측면들 각각의 구현예들로서 개시되어 있다. 하나 이상의 구현예들의 조합이 고려된다.

도면의 간단한 설명

도 1은 선별된 담배 샘플 내의 유리된 NNK 및 매트릭스-결합 NNK 농도를 보여주고 있다.

도 2는 본 발명의 구현예 중 하나에 따른 물로 세척한 버얼리종 주막에서 오토클레이브에 의한 NNK의 방출을 보여주고 있다.

도 3은 본 발명의 구현예 중 하나에 따른 3R4F 충전제에서 오토클레이브에 의한 NNK의 방출을 보여주고 있다.

도 4는 본 발명의 구현예 중 하나에 따른 버얼리종 주막 내의 유리된 NNK 및 결합 NNK에 대한 오토클레이브 및 세척 효과를 보여주고 있다.

도 5는 유리 솜(glass wool) 및 시험 중인 담배 재료로 채워진 파스퇴르 피펫의 팁에서 열전대를 사용하여 측정된 바와 같이 증가하는 온도에서 버얼리종 주막 또는 세척-오토클레이브-세척 버얼리종 주막으로부터 NNK, NNN, 니코틴의 방출을 보여주고 있다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

정의

본 출원의 범위 내에서 사용되는 기술적 용어 및 표현들은 식물 및 분자 생물학의 관련된 분야에서 통상적으로 적용되는 의미가 일반적으로 주어져야 한다. 모든 이하의 용어 정의는 본 출원의 완전한 내용에 적용된다. 용어 "포함하는(comprising)"은 다른 요소 또는 단계를 배제하지 않고 부정관사 "a" 또는 "an"는 복수를 배제하지 않는다. 단일 단계는 청구항에 인용된 여러 개의 특징의 기능을 충족시킬 수도 있다. 속성 또는 값과 관련하여 용어 "본질적으로", "약", "대략" 기타 등등은 특히 정확하게 그 속성 또는 정확하게 그 값을 각각 정의하기도 한다. 주어진 숫자 값 또는 범위의 맥락에서 용어 "약"은 주어진 값 또는 범위의 20% 이내, 10% 이내, 또는 5% 이내인 값 또는 범위를 의미한다.

본원에서 사용된 용어 "감소하다", "감소된", "억제하다" 또는 "억제된"이란, 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98%, 적어도 99% 또는 최대 약 100%의 양의 감소를 포함한다.

본원에서 사용된 용어 "적어도 일부"란, 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 99%의 양을 포함한다.

용어 "담배 재료"는 담배 식물 또는 다양한 담배 식물의 혼합물의 어느 부분을 의미하며 제한하지 않고 담배 잎 스크랩, 담배 녹색 잎 스크랩, 담배 주막, 담배 가공 도중에 생성된 담배 가루, 및 담배 잎 주 박층 조각 및 이들의 조합을 포함한다. 담배 재료는 가공된 담배 부분 또는 조각의 형태, 본질적으로 천연 박층 또는 주막 형태로 건조되고 숙성된 담배, 담배 추출물 또는 전술한 혼합물, 예를 들어 추출된 담배 펄프를 과립화되고 건조되고 숙성된 천연 담배 박층과 결합시키는 혼합물을 가지고 있을 수 있다. 상기 담배 재료는 고체 형태, 액체 형태, 반고체 형태 등일 수 있다. 담배 재료는 이에만 한정되지 않지만, 절단 및 연마를 포함한, 균질화를 거친 담배 균질물의 형태일 수 있다. 담배 균질물은 전체 담배 식물 또는 균질화를 거친 식물 성분의 혼합물-예컨대 주막과 잎의 혼합물-로부터 제조될 수도 있다. 상기 담배 재료는 담배 재료의 현탁액 또는 수성 용액 또는 용매 내의 담배 균질물을 포함한, 담배 슬러리 형태일 수 있다. 상기 슬러리는 수성 용액 또는 용매 중의 5% (w/v), 10% (w/v), 15% (w/v), 20% (w/v) 또는 25% (w/v) 또는 그 이상의 담배 혼합물일 수 있다.

용어 "담배 제품"은 흡연 또는 흡연가능한 물품 및 무연 담배 제품을 포함한다.

본원에서 사용된 용어 "유리된 니트로사민(free nitrosamine)" 또는 이의 문법적 변형물은 담배 추출물에서 산출된 니트로사민 농도를 의미한다.

본원에서 사용된 용어 "총 니트로사민(total nitrosamine)" 또는 이의 문법적 변형물은 (예를 들어, 약 4 시간

동안 약 130℃로 가열하여) 상기 추출 혼합물을 본원에 기재된 방법에 거치게 한 후에 산출된 니트로사민 농도를 의미한다.

[0048] 본원에서 사용된 용어 "결합된 니트로사민(bound nitrosamine)" 또는 "매트릭스-결합 니트로사민(matrix-bound nitrosamine)" 또는 이의 문법적 변형물은 "총 니트로사민" 및 "유리된 니트로사민" 농도 간의 차이를 나타낸다.

[0049] **발명의 상세한 설명**

[0050] 본 발명은 인간이 소비하고자 하는 수확된 담배의 처리에 적용할 수 있다. 일반적으로 말하면, 상기 방법들은 NNK를 포함하는 담배 특이 니트로사민(들)을 포함하는 임의의 형태의 담배 재료에 적용될 수 있다. 적절하게는, 담배 특이 니트로사민(들)의 적어도 일부는 불용성 담배 매트릭스에 결합된다. 적절하게는, NNK의 적어도 일부는 불용성 담배 매트릭스에 결합된다. 유리된 니트로사민(들) 및 불용성 담배 매트릭스에 결합된 니트로사민(들)을 측정하기 위한 방법들이 당 기술분야에 주지되어 있고 본 명세서에 설명되어 있다. 간략하게, 담배 샘플의 부분 표본(aliquot)을 추출하고 그 안의 니트로사민 함량이 초고성능 액체 크로마토그래피-탠덤 질량 (ultra performance liquid chromatography-tandem mass; UPLC-MS/MS)을 사용하여 분석한다. 통상적으로, 정량화되어 있는 니트로사민에 대응하는 하나 이상의 표준이 담배 샘플의 부분 표본에 포함될 것이다. 추출물로부터 계산된 샘플 농도는 샘플 내의 "유리된 NNK" 농도에 대응한다. 본원에서 설명되어 있는 방법들로(예를 들면, 약 4시간 동안 약 130℃로 가열함으로써) 추출 혼합물을 처리한 후, 니트로사민 농도가 UPLC-MS/MS 에 의해 재차 측정된다. 이들 값들로부터, 샘플 내의 "총 NNK" 농도가 계산될 수 있다. "결합된 NNK" 농도는 "총 NNK" 농도와 "유리된 NNK" 농도 간의 차이이다. 많은 연구가 담배에 대해, 특히 담배-특이 니트로사민과 관련하여 수행되었다. 갓 수확한 담배 잎이 "녹색 담배(green tobacco)"라고 지칭되며, 공지된 발암물질을 함유하지 않는다고 여겨지지만, 녹색 담배는 인간이 소비하기에 적절하지 않다. 녹색 담배잎을 건조하는 공정은 수확된 담배의 종류에 의존한다. 예를 들어, 버지니아 플루(Virginia flue)(bright) 담배는 일반적으로 화력-건조되며, 버얼리(Burley) 및 특정 다크 종은 보통 공기-건조한다. 담배의 화력-건조는 통상적으로 한 달 내지 두 달 동안의 공기-건조형과 비교해서 5일 내지 7일의 기간에 걸쳐서 행해진다. 대부분의 화학적 생화학적 변화가 건조 공정 동안에 시작되고 잎 건조의 초기 단계에 걸쳐서 계속된다. 담배의 황색으로부터 갈색으로의 변환은 일반적으로 니트로사민의 형성 및 실질적인 축적과, 증가된 미생물 함량을 초래한다. 담배-특이 니트로사민이 형성되는 정확한 기작은 분명하지 않지만, 건조 공정 동안에 아질산염의 발생에 있어서 미생물 질산 환원 효소를 포함하는, 미생물 활성화에 의해 향상된다고 여겨진다.

[0051] 한 구현예에 따르면, 본 발명은 담배 재료 내의 하나 이상의 담배 특이 니트로사민의 수준, 양 또는 농도를 감소시키는 방법을 제공하고 있다. 다른 구현예에 따르면, 본 발명은 담배 재료 내의 적어도 NNK의 수준, 양 또는 농도를 감소시키는 방법을 제공하고 있다. 한 구현예에 따르면, 본 발명은 담배 재료 내의 불용성 매트릭스에 결합된 하나 이상의 담배 특이 니트로사민 - 예컨대 NNK -의 수준, 양 또는 농도를 감소시키는 방법을 제공하고 있다.

[0052] 일 측면에서, 담배 재료 내의 하나 이상의 담배 특이 니트로사민의 양을 감소시키는 방법이 제공되는데, (a) 하나 이상의 담배 특이 니트로사민을 포함하는 담배 재료를 제공하는 단계; (b) 선택적으로 상기 담배 재료를 제1 수성 용액 또는 용매와 결합시키는(예를 들어, 혼합) 단계; 및 (c) 액체 또는 증기의 존재 시에 약 100℃ 보다 높거나 약 101℃ 보다 높은 온도로 적어도 약 30초 동안 상기 담배 재료를 가열해서, 상기 담배 특이 니트로사민(들)의 적어도 일부를 상기 담배 재료의 불용성 담배 매트릭스로부터 방출시키는 단계를 포함한다. 한 구현예에서, 단계 (c)에서 가열되는 담배 재료는 습윤되거나 습식이다. 예를 들어, 상기 담배 재료는 적어도 5%(w/v) 혼합물의 형태일 수 있다. 한 구현예에서, 단계 (c)는 단계 (b)로부터의 담배 재료를 함유하는 혼합물을 가열하는 단계를 포함한다. 상기 방출된 담배 특이 니트로사민의 적어도 일부는 한 번 이상의 세척 단계에 의해 상기 담배 재료로부터 방출된다. 상기 방법은 담배 재료 내의 하나 이상의 담배 특이 니트로사민의 총량을 감소시킬 수 있다. 상술한 바와 같이, 담배 특이 니트로사민은 4-(메틸니트로사미노)-1-(3-피리딜)-1-부타논(NNK), N-니트로소니코틴(NNN), N-니트로소아나타빈(NAT) 및 N-니트로소아나바신(NAB)을 포함한다. 상기 방법은 담배 재료 내의 적어도 NNK의 총량을 감소시킬 수 있다. 상기 방법은 담배 재료 내의 불용성 매트릭스에 결합되어 있는 하나 이상의 담배 특이 니트로사민의 총량을 감소시킬 수 있다. 상기 방법은 담배 재료 내의 불용성 매트릭스에 결합되어 있는 적어도 NNK의 총량을 감소시킬 수 있다.

[0053] 한 구현예에서, 상기 담배 재료는 재구성 담배, 예컨대 재구성 담배 (잎) 시트의 제조에 사용될 수 있다. 이 시트는 재활용 담배 미분, 담배 주맥 및 모든 담배 가공 단계에서 수집되는 크기가 일반적으로 30 메쉬 미만인 담

배 입자로 구성되는, "등급 담배"로 만들 수 있는 종이 같은 재료이다. 상기 재구성 담배는 담배 부산물 내의 가용성 화학물질을 추출하고, 추출로부터 남은 담배 섬유를 종이로 가공하고 나서, 농축 형태의 상기 추출된 물질을 상기 종이 상에 다시 적용하여 제조될 수 있다.

[0054] 따라서, 한 측면에서 재구성 담배 생산 방법이 제공되는데, (a) 하나 이상의 담배 특이 니트로사민을 포함하는 담배 재료를 제공하는 단계; (b) 액체 또는 증기의 존재 시에 약 100℃ 보다 높은 온도로 적어도 약 30초 동안 상기 담배 재료를 가열해서, 상기 담배 특이 니트로사민(들)의 적어도 일부를 상기 담배 재료의 불용성 담배 매트릭스로부터 방출시키는 단계; (c) 상기 방출된 담배 특이 니트로사민(들)을 상기 담배 재료로부터 제거하는 단계; (d) 단계 (c)에서 수득된 담배 재료를 재구성 담배로 제조하는 단계; 및 (e) 선택적으로 상기 재구성 담배를 담배 제품으로 통합시키는 단계를 포함한다.

[0055] 추가 측면에서 재구성 담배 생산 방법이 제공되는데, (a) 하나 이상의 담배 특이 니트로사민을 포함하는 담배 재료를 제공하는 단계; 및 (b) 선택적으로 상기 담배 재료를 제1 수성 용액 또는 용매와 결합시키는 단계; (c) 액체 또는 증기의 존재 시에 약 100℃ 보다 높은 온도로 적어도 약 30초 동안 상기 담배 재료를 가열해서, 상기 담배 특이 니트로사민(들)의 적어도 일부를 상기 담배 재료의 불용성 담배 매트릭스로부터 방출시키는 단계; (d) 상기 방출된 담배 특이 니트로사민(들)의 적어도 일부를 상기 담배 재료로부터 제거하는 단계; (e) 상기 방출된 담배 특이 니트로사민(들)의 적어도 일부를 상기 담배 재료로부터 제거하는 단계; (f) 상기 담배 재료를 하나 이상의 시트로 주조하는 단계; (g) 상기 주조된 시트(들)를 건조시키는 단계; 및 (h) 선택적으로 상기 시트(들)를 담배 제품으로 통합시키는 단계를 포함한다.

[0056] 한 구현예에서, 담배 재료는 필수적으로 건조 담배 재료를 포함하거나 그것으로 구성되거나 필수적으로 그것으로 구성된다. 담배 잎, 특히 녹색 담뱃잎을 건조하는 공정은 공기-건조(air-curing), 화건(fire-curing), 화력-건조(flue-curing) 및 양건(sun-curing)을 비제한적으로 포함하는 본 기술분야에 공지된 기술이다. 담배 재료를 건조하는 공정은 수확된 담배의 종류에 의존한다. 예를 들어, 버지니아 플루(Virginia flue)(bright) 담배는 일반적으로 화력-건조되며, 버얼리(Burley) 및 특정 어두운 색깔의 종은 보통 공기-건조하고, 그리고 파이프 담배, 썩는 담배, 및 코담배는 보통 화건한다. 임의의 종류의 담배로부터 담배 재료가 사용될 수 있지만, 소정의 종류의 담배가 바람직하다. 특히 바람직한 담배 재료는 황색종, 터키종, 버얼리종, 버지니아종, 매릴랜드종, 오리엔트종, 또는 그들의 2개 이상의 임의의 조합으로 이루어지는 그룹으로부터 선택된다. 담배 재료의 형상은 한정되지 않는다. 그 형상은 균질화 담배(homogenized tobacco) 재료의 형태일 수 있다. 그 형상은 분쇄 담배(ground tobacco) 재료의 형태일 수 있다. 그 형상은 미세 분쇄 담배 재료의 형태일 수도 있다. 미세 분쇄 담배 재료는 통상적으로 약 30 내지 600µm의 입자 크기를 갖는다. 미세 분쇄 담배 재료는 담배 제품을 제조하기 위해 공지된 임의의 공정들로부터 이들 공정들의 부산물로서 수득될 수도 있거나, 충격 분쇄(impact grinding) 및 롤러 분쇄(roller grinding)를 포함하는 분쇄 기술과 같은 또 다른 크기 감소 공정에 의해 수득될 수도 있다. 담배 균질물(Tobacco homogenate) - 예를 들면 한정되지 않지만 건조 담배 균질물 -이 당 기술분야에 공지된 다양한 방법을 사용하여 담배 재료로부터 준비될 수도 있고, 예를 들면, 담배는 잘린 형태, 분쇄된 형태, 알갱이로 된 형태, 미립자 형태, 또는 분말 형태일 수도 있다. 담배는 소위 "미분 살(fine-cut)" 담배 제품에서 사용되는 잘린 담배의 부분 또는 조각보다도 작은 평균 입자 크기를 갖는 부분 또는 조각의 형태로 이용될 수도 있다. 담배가 매우 미세하게 분할된 담배 입자 또는 조각으로 형성되면, 그들은 약 18 타일러 메쉬(Tyler mesh), 약 20 타일러 메쉬, 약 50 타일러 메쉬, 약 60 타일러 메쉬, 약 100 타일러 메쉬, 또는 약 200 타일러 메쉬 이상의 스크린을 통과하도록 하는 크기로 될 수도 있다. 원하는 경우, 상이한 크기로 된 담배 균질물이 함께 혼합될 수도 있다. 적절하게는, 담배 균질물이 분쇄, 밀링 등을 행하기 위한 장비 및 기술을 사용하여 분말 종류의 형태로 갈리거나 분쇄된다. 적절하게는, 담배는 해머 밀(hammer mill), 커터 헤드(cutter head), 에어 컨트롤 밀(air control mill) 등과 같은 장비를 사용하여 분쇄 또는 밀링하는 동안에 비교적 건조 형태이다. 예를 들면, 담배 부분 또는 조각은 그의 수분 함량이 약 15중량% 미만 내지 약 5중량% 미만인 때에 분쇄 또는 밀링될 수도 있다. 담배 재료는 담배 잎의 부분 - 예를 들면 박층(lamina) 및 주맥(stem) - 또는 담배 주맥, 담배 잎 및 담배 가루(tobacco dust)로 형성될 수도 있다.

[0057] 사용 전에, 담배 재료는 선택적으로 예비 세척될 수 있거나 제1 수성 용액 또는 용매와 접촉될 수 있다. 소정의 구현예들에서, 제1 수성 용액은 물을 포함하는 무독성 수성 용액이다. 소정의 구현예들에서, 제1 수성 용액은 오직 물이다. 소정의 구현예들에서, 제1 수성 용액은 버퍼 또는 버퍼를 함유하는 무독성 수성 용액이다. 버퍼가 사용되면, 버퍼는 일반적으로 바람직한 pH - 예를 들면 적어도 약 pH 5.0, pH 6.0 또는 pH 7.0 이상 -로 존재할 것이다. 담배 재료와 조합 또는 혼합된 때에 제1 수성 용액 또는 용매는, 예를 들면 5%(w/v), 10%(w/v), 15%(w/v), 20%(w/v), 25%(w/v), 30%(w/v), 35%(w/v), 40%(w/v) 또는 45% (w/v) 이상의 혼합물일 수 있다. 소정

의 구현예들에서, 1:5 또는 1:10 비율의 담배 재료: 수성 용액 또는 용매의 혼합물이 사용된다. 소정의 구현예들에서, 예비 세척 단계는 실온 정도에서 적어도 약 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 90, 120, 150 또는 180분 이상 동안 수행된다. 소정의 구현예들에서, 예비 세척 단계는 실온 정도 또는 실온보다 높거나 낮은 온도 - 예를 들면 약 20°C, 약 30°C, 약 40°C, 약 50°C, 약 60°C, 약 80°C, 또는 약 90°C 이상 -에서 수행된다. 소정의 구현예들에서, 예비 세척 단계는 물리적 교반(physical agitation) 및/또는 보다 엄격한 세척 조건 - 예를 들면 보다 높은 온도 및/또는 엄격한 물리적 교반 -의 존재 시에 수행될 수 있다. 보다 엄격한 세척 조건은 총 담배 특이 니트로사민 함량을 더욱 감소시킬 수 있다고 생각된다.

[0058] 담배 재료는 수성 용액 또는 용매와 조합되어 혼합물을 형성할 수 있다. 수성 용액 또는 용매는 예비 세척 또는 접촉 단계에서 사용되는 제1 수성 용액 또는 용매와 동일하거나 다를 수 있다. 담배 재료는 담배 슬러리 또는 건조 담배 슬러리를 형성하는 데에 사용될 수 있다. 담배 슬러리는 균질화 또는 분쇄 담배 재료를 포함하는 담배 재료를 수성 용액 또는 용매와 혼합함으로써 준비될 수 있다. 수성 용액 또는 용매의 정확한 종류 또는 속성은 한정되지 않지만, 수성 용액 또는 용매가 임의의 추가 동물학적 관련 화합물을 담배에 도입하지 않는 것이 본 발명의 이점이다. 따라서, 수성 용액 또는 용매는 일반적으로 처리 공정에서 사용되는 농도로는 인간의 건강에 독성이 없을 것이다. 소정의 구현예들에서, 수성 용액은 물을 함유하는 무독성 수성 용액이다. 소정의 구현예들에서, 수성 용액은 버퍼 또는 버퍼를 함유하는 무독성 수성 용액이다. 버퍼가 사용되면, 버퍼는 바람직한 pH - 예를 들면 적어도 약 pH 6.0 또는 pH 7.0 이상 -로 존재할 것이다. 담배 재료와 조합된 때에 수성 용액 또는 용매는, 예를 들면 5%(w/v), 10%(w/v), 15%(w/v), 20%(w/v), 25%(w/v), 30%(w/v), 35%(w/v), 40%(w/v) 또는 45%(w/v) 이상의 혼합물일 수 있다.

[0059] 상기 방법의 추가 단계에서, 상기 담배 재료는 적어도 약 10초, 20초, 30초, 40초, 50초 또는 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, 60분 또는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8시간 이상 동안 약 100°C 보다 높은 온도로 가열되어서, NNK의 적어도 일부를 상기 불용성 담배 매트릭스로부터 상기 담배 재료로 방출할 수 있다. 일반적으로, 상기 가열 단계는 약 100°C 보다 높은 온도에서 증기가 될 수 있는 액체의 존재 시에 수행되어서, 상기 담배 특이 니트로사민(들)의 적어도 일부를 상기 담배 재료의 불용성 담배 매트릭스로부터 방출시킨다. 적절하게는, 가열되는 담배 재료는 가열 전에 습윤되거나 습식이다. 예를 들어, 상기 담배 재료는 적어도 5% (w/v) 혼합물의 형태일 수 있다. 적절하게는, 상기 담배 재료는 본원에서 기재된 혼합물의 형태이고, 이 혼합물은 본원에서 기재된 바와 같이 적어도 약 10초, 20초, 30초, 40초, 50초 또는 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, 60분 또는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8시간 이상 동안 약 100°C 보다 높은 온도 또는 약 200°C 보다 높은 온도로 가열되어서, NNK의 적어도 일부를 상기 불용성 담배 매트릭스로부터 상기 담배 재료로 방출한다. 상기 담배 재료, 상기 습윤된 또는 습식 담배 재료 또는 상기 담배 재료를 포함하는 혼합물은 적어도 약 10초, 20초, 30초, 40초, 50초 또는 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, 60분 또는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 시간 이상 동안 약 100°C 보다 높은 온도로 가열되어서, 하나 이상의 담배 특이 니트로사민-에컨대 NNK-의 적어도 일부를 상기 불용성 담배 매트릭스로부터 상기 담배 재료로 방출할 수 있다. 소정의 구현예들에서, 상기 담배 재료, 상기 습윤된 또는 습식 담배 재료 또는 상기 담배 재료를 포함하는 혼합물은 약 100°C 보다 높은 온도로 적어도 약 30초 동안 가열된다. 소정의 구현예들에서, 상기 담배 재료, 상기 습윤된 또는 습식 담배 재료 또는 상기 담배 재료를 포함하는 혼합물은 약 100°C 보다 높은 온도로 적어도 약 5분 동안 가열된다. 소정의 구현예들에서, 상기 담배 재료, 상기 습윤된 또는 습식 담배 재료 또는 상기 담배 재료를 포함하는 혼합물은 약 100°C 보다 높은 온도로 적어도 약 10분 동안 가열된다. 소정의 구현예들에서, 상기 담배 재료, 상기 습윤된 또는 습식 담배 재료 또는 상기 담배 재료를 포함하는 혼합물은 약 100°C 보다 높은 온도로 적어도 약 20분 동안 가열된다. 소정의 구현예들에서, 상기 담배 재료, 상기 습윤된 또는 습식 담배 재료 또는 상기 담배 재료를 포함하는 혼합물은 약 100°C 보다 높은 온도로 적어도 약 30분 동안 가열된다. 소정의 구현예들에서, 상기 담배 재료, 상기 습윤된 또는 습식 담배 재료 또는 상기 담배 재료를 포함하는 혼합물은 약 100°C 보다 높은 온도로 적어도 약 45분 동안 가열된다. 소정의 구현예들에서, 상기 담배 재료, 상기 습윤된 또는 습식 담배 재료 또는 상기 담배 재료를 포함하는 혼합물은 약 100°C 보다 높은 온도로 적어도 약 60분 동안 가열된다. 소정의 구현예들에서, 상기 담배 재료, 상기 습윤된 또는 습식 담배 재료 또는 상기 담배 재료를 포함하는 혼합물은 약 100°C 보다 높은 온도로 적어도 약 90분 동안 가열된다. 소정의 구현예들에서, 상기 담배 재료, 상기 습윤된 또는 습식 담배 재료 또는 상기 담배 재료를 포함하는 혼합물은 약 100°C 보다 높은 온도로 적어도 약 120분 동안 가열된다.

[0060] 상기 담배 재료, 상기 습윤된 또는 습식 담배 재료 또는 상기 담배 재료를 포함하는 혼합물이 가열되는 온도는

온도로 적어도 약 30분 동안 가열된다. 소정의 구현예들에서, 상기 담배 재료, 상기 습윤된 또는 습식 담배 재료 또는 상기 담배 재료를 포함하는 혼합물은 적어도 약 120℃의 온도로 적어도 약 60분 동안 가열된다. 소정의 구현예들에서, 상기 담배 재료, 상기 습윤된 또는 습식 담배 재료 또는 상기 담배 재료를 포함하는 혼합물은 적어도 약 130℃의 온도로 적어도 약 30초 동안 가열된다. 소정의 구현예들에서, 상기 담배 재료, 상기 습윤된 또는 습식 담배 재료 또는 상기 담배 재료를 포함하는 혼합물은 적어도 약 130℃의 온도로 적어도 약 20분 동안 가열된다. 소정의 구현예들에서, 상기 담배 재료, 상기 습윤된 또는 습식 담배 재료 또는 상기 담배 재료를 포함하는 혼합물은 적어도 약 130℃의 온도로 적어도 약 30분 동안 가열된다. 소정의 구현예들에서, 상기 담배 재료, 상기 습윤된 또는 습식 담배 재료 또는 상기 담배 재료를 포함하는 혼합물은 적어도 약 130℃의 온도로 적어도 약 60분 동안 가열된다.

[0062] 소정의 구현예들에서, 상기 담배 재료, 상기 습윤된 또는 습식 담배 재료 또는 상기 담배 재료를 포함하는 혼합물이 가열되는 온도는 적어도 약 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290 또는 300℃ 이상일 수 있다. 상기 담배 재료, 상기 습윤된 또는 습식 담배 재료 또는 상기 담배 재료를 포함하는 혼합물이 가열되는 온도는 다양한 온도 범위 이내일 수 있다. 한 예로서, 상기 담배 재료, 상기 습윤된 또는 습식 담배 재료 또는 상기 담배 재료를 포함하는 혼합물이 가열되는 온도는 약 200 내지 300℃, 약 200 내지 290℃, 약 200 내지 280℃, 약 200 내지 270℃, 약 200 내지 260℃ 약 200 내지 250℃ 범위 이내일 수 있다.

[0063] 소정의 구현예들에서, 상기 담배 재료, 상기 습윤된 또는 습식 담배 재료 또는 상기 담배 재료를 포함하는 혼합물은 적어도 약 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290 또는 300℃의 온도로 적어도 약 20초 동안 가열된다. 소정의 구현예들에서, 상기 담배 재료, 상기 습윤된 또는 습식 담배 재료 또는 상기 담배 재료를 포함하는 혼합물은 적어도 약 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290 또는 300℃의 온도로 적어도 약 30초 동안 가열된다. 소정의 구현예들에서, 상기 담배 재료, 상기 습윤된 또는 습식 담배 재료 또는 상기 담배 재료를 포함하는 혼합물은 적어도 약 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290 또는 300℃의 온도로 적어도 약 40초 동안 가열된다. 소정의 구현예들에서, 상기 담배 재료, 상기 습윤된 또는 습식 담배 재료 또는 상기 담배 재료를 포함하는 혼합물은 적어도 약 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290 또는 300℃의 온도로 적어도 약 1분 동안 가열된다. 소정의 구현예들에서, 상기 담배 재료, 상기 습윤된 또는 습식 담배 재료 또는 상기 담배 재료를 포함하는 혼합물은 적어도 약 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290 또는 300℃의 온도로 적어도 약 5분 동안 가열된다. 소정의 구현예들에서, 상기 담배 재료, 상기 습윤된 또는 습식 담배 재료 또는 상기 담배 재료를 포함하는 혼합물은 적어도 약 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290 또는 300℃의 온도로 적어도 약 10분 동안 가열된다. 소정의 구현예들에서, 상기 담배 재료, 상기 습윤된 또는 습식 담배 재료 또는 상기 담배 재료를 포함하는 혼합물은 적어도 약 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290 또는 300℃의 온도로 적어도 약 15분 동안 가열된다. 소정의 구현예들에서, 상기 담배 재료, 상기 습윤된 또는 습식 담배 재료 또는 상기 담배 재료를 포함하는 혼합물은 적어도 약 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290 또는 300℃의 온도로 적어도 약 20분 동안 가열된다. 소정의 구현예들에서, 상기 담배 재료, 상기 습윤된 또는 습식 담배 재료 또는 상기 담배 재료를 포함하는 혼합물은 적어도 약 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290 또는 300℃의 온도로 적어도 약 30분 동안 가열된다. 소정의 구현예들에서, 상기 담배 재료, 상기 습윤된 또는 습식 담배 재료 또는 상기 담배 재료를 포함하는 혼합물은 적어도 약 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290 또는 300℃의 온도로 적어도 약 60분 동안 가열된다. 상기 담배 재료, 상기 습윤된 또는 습식 담배 재료 또는 상기 담배 재료를 포함하는 혼합물이 가열되는 온도는 약 200 내지 300℃, 약 200 내지 290℃, 약 200 내지 280℃, 약 200 내지 270℃, 약 200 내지 260℃, 약 200 내지 250℃ 약 200 내지 240℃, 약 200 내지 230℃, 약 200 내지 220℃, 또는 약 200 내지 210℃범위 이내일 수 있다.

[0064] 담배 재료, 습윤된 또는 습식 담배 재료 또는 담배 재료를 포함하는 혼합물은 일반적으로 물 및/또는 증기의 존재 시에 - 본 발명의 방법들로 - 가열된다. 담배 재료, 습윤된 또는 습식 담배 재료 또는 담배 재료를 포함하는 혼합물은 일반적으로 오직 물 및/또는 오직 증기의 존재 시에 - 본 발명의 방법들로 - 가열될 수 있다. 바람직하게는, 증기만이 사용되는 경우, 담배 재료는 습윤된 또는 습식 담배 재료의 형태 또는 혼합물의 형태이다. 가열 단계는 액체의 비등점을 상승시킬 수 있게 하는 압력 하에서 일어날 수 있다. 한 구현예에서, 가열 단계는 가압 증기(pressurized steam)를 포함하는 증기로 담배 재료를 처리하는 조건 하에서 수행된다. 다른 구현예에서, 담배 재료는 수용된 체적 또는 용기(vessel)에서의 가압 증기로 처리된다. 예시적인 압력 수준이 본원에서 논의된다. 가압 포화 증기가 사용될 수 있다. 포화 증기는 동일한 압력에서 가열된 물과 평형을 이루는 증기이다. 가압 포화 증기가 오토클레이브(autoclave)에서 생성되고 사용될 수 있다. 숙련자에게 잘 이해될 수 있는 바와 같이, 오토클레이브는 압력의 사용을 통해 밀봉형 인클로저(sealed enclosure) 내의 온도를 상승시킴으로

써 작동한다. 물이 도입되어, 건조 공기보다도 더욱 효율적으로 물이 열을 이송할 때에 열의 침투를 돕는다. 일반적으로, 온도는 일정 기간에 걸쳐서 121°C 부근 또는 그보다 높게 상승될 필요가 있다. 압력 상승은 증기의 온도를 그의 인화점(기화점) 이상으로 상승시키는 것을 돕는다. 과열 증기(superheated steam) 형태의 증기가 또한 사용될 수 있다. 과열 증기는 온도 측정이 이루어진 절대 압력에서 그의 기화(비등)점보다도 높은 온도에서의 증기이다. 과열 증기의 사용은 과열 증기 건조기를 사용함으로써 달성될 수 있다.

[0065] 가열 및 선택적 가압 단계 이후에, 담배 재료는 선택적으로 사후-세척(post-washing) 단계에서 제2 수성 용액 또는 용매로 세척될 수 있다. 제2 수성 용액 또는 용매는 예비 세척 단계에서 사용되는 제1 수성 용액 또는 용매 및/또는 가열/가압 단계에서 사용되는 액체와 동일하거나 다를 수 있다. 소정의 구현예들에서, 제2 수성 용액은 물을 포함하는 무독성 수성 용액이다. 소정의 구현예들에서, 제2 수성 용액은 버퍼 또는 버퍼를 포함하는 무독성 수성 용액이다. 버퍼가 사용되면, 버퍼는 바람직한 pH - 예를 들면 적어도 약 pH 6.0 또는 pH 7.0 이상 -로 존재할 것이다. 담배 재료와 조합될 때에 제2 수성 용액 또는 용매는, 예를 들면 5%(w/v), 10%(w/v), 15%(w/v), 20%(w/v), 25%(w/v), 30%(w/v), 35%(w/v), 40%(w/v) 또는 45%(w/v) 이상의 혼합물일 수 있다. 소정의 구현예들에서, 1:5 또는 1:10 비율의 담배 재료: 수성 용액 또는 용매의 혼합물이 사용된다. 소정의 구현예들에서, 사후 세척 단계는 실온에서 적어도 약 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 90, 120, 150 또는 180분 동안 수행된다. 소정의 구현예들에서, 사후 세척 단계는 실온 정도 또는 보다 상승된 온도 - 예를 들면 약 20°C, 약 30°C, 약 40°C, 약 50°C, 약 60°C, 약 80°C, 또는 약 90°C 이상 -에서 수행된다. 소정의 구현예들에서, 사후 세척 단계는 물리적 교반 및/또는 보다 엄격한 세척 조건의 존재 시에 수행될 수 있다. 보다 엄격한 세척 조건 - 예를 들면 보다 높은 온도 및/또는 엄격한 물리적 교반 -은 총 담배 특이 니트로사민 함량을 더욱 감소시킬 수 있다고 생각된다.

[0066] 또 다른 선택적 단계에서, 본원에서 설명되어 있는 방법들을 사용하여 수득되었거나 수득가능한 가공되거나 처리된 담배 재료가 건조된다. 담배 재료를 건조하기 위한 적절한 조건은 당 기술분야에 잘 공지되어 있고, 예를 들면 약 17시간 동안 약 50°C의 온도를 포함한다.

[0067] 이러한 공정의 어느 단계에서도, 담배 특이 니트로사민 함량 - 예를 들면 적어도 NNK 함량 -이 측정될 수 있다. 한 구현예에서, 하나 이상의 담배 특이 니트로사민이 공정의 시작 시 및/또는 공정의 종료 시에 측정된다. 다른 구현예에서, 하나 이상의 담배 특이 니트로사민이 공정의 종료 시에 측정되어 담배 특이 니트로사민 함량이 요구되는 양 또는 농도로 존재하는지를 검사한다. 다른 구현예에서, 하나 이상의 담배 특이 니트로사민이 가열 단계 전 및 그 후에 측정된다. 따라서, 본원에서 설명되는 방법들은 본원에서 설명되는 하나 이상의 담배 특이 니트로사민을 측정하는 다른 선택적인 단계를 포함할 수도 있다. 상기 방법들은 하나 이상의 담배 특이 니트로사민을 그들의 유리된 형태 및/또는 결합된 형태로 측정하는 단계를 포함할 수도 있다. 한 구현예에서, NNK의 적어도 수준 또는 양이 측정된다. 이들 화합물들의 수준은 담배 재료, 담배 공급 원료 또는 담배 균질물 등에서 측정될 수도 있다. 이러한 하나 이상의 화합물의 수준은 본원에서 설명되는 방법들을 사용하는 처리 이후에 측정될 수도 있다. 이러한 하나 이상의 화합물의 수준은 본원에서 설명되는 방법들을 사용하는 처리 전에, 본원에서 설명되는 방법들을 사용하는 처리 동안에, 또는 본원에서 설명되는 방법들을 사용하는 처리의 종료 시에 측정될 수도 있다. 이들 화합물들의 수준은 심지어 본원에서 설명되는 방법들을 사용하는 처리 동안에 간헐적으로 측정될 수도 있다. 수준은, 예를 들면 본원에서 설명되는 방법들로 처리되지 않은 대조군 담배 재료와 비교될 수도 있다. 따라서, 측정 단계는 선택적으로 비교 단계를 동반해서 담배 내의 니트로사민(들)의 수준을 비교할 수도 있다. 당 기술분야에 공지된 다양한 방법 - 예를 들면 초고성능 액체 크로마토그래피 및 당 기술분야에 주지된 탠덤 질량 분석(tandem mass spectrometry) 을 포함하는 질량 분석을 포함하는 액체 크로마토그래피법 -이 담배 특이 니트로사민을 측정하기 위해 사용될 수도 있다. 한 구현예에서, 초고성능 액체 크로마토그래피-이중 질량 분석(UPLC-MS/MS)이 사용된다.

[0068] 추가 측면에서, 담배 재료 내의 불용성 담배 매트릭스에 결합된 하나 이상의 담배 특이 니트로사민의 양을 감소시키는 방법이 제공되는데, (a) 상기 불용성 담배 매트릭스에 결합된 하나 이상의 담배 특이 니트로사민을 포함하는 담배 재료를 제공하는 단계; (b) 선택적으로 상기 담배 재료를 제1 수성 용액 또는 용매와 결합시키는 단계; 및 (c) 액체 또는 증기의 존재 시에 약 100°C 보다 높은 온도로 적어도 약 30초 동안 상기 담배 재료를 가열해서, 상기 담배 특이 니트로사민(들)의 적어도 일부를 상기 담배 재료의 불용성 담배 매트릭스로부터 방출시키는 단계; 및 (d) 상기 방출된 담배 특이 니트로사민(들)의 적어도 일부를 상기 담배 재료로부터 제거하는 단계를 포함한다. 한 구현예에서, 단계 (c)에서 가열되는 담배 재료는 가열 전에 습윤되거나 습식이다. 예를 들어, 상기 담배 재료는 적어도 5%(w/v) 혼합물의 형태일 수 있다. 한 구현예에서, 단계 (c)는 단계 (b)로부터의 담배 재료를 함유하는 수성 용액 또는 용매를 가열하는 단계를 포함한다. 또 다른 측면에서, 담배 재료 내의

불용성 담배 매트릭스에 결합된 NNK의 양을 감소시키는 방법이 제공되는데, (a) 상기 불용성 담배 매트릭스에 결합된 NNK을 포함하는 담배 재료를 제공하는 단계; (b) 선택적으로 상기 담배 재료를 제1 수성 용액 또는 용매와 결합시키는 단계; 및 (c) 액체 또는 증기의 존재 시에 약 100°C 보다 높은 온도로 적어도 약 30초 동안 상기 담배 재료를 가열해서, 상기 담배 특이 니트로사민(들)의 적어도 일부를 상기 담배 재료의 불용성 담배 매트릭스로부터 방출시키는 단계; 및 (c) 상기 방출된 담배 특이 니트로사민(들)의 적어도 일부를 상기 담배 재료로부터 제거하는 단계를 포함한다. 한 구현예에서, 단계 (c)에서 가열되는 담배 재료는 가열 전에 습윤되거나 습식이다. 예를 들어, 상기 담배 재료는 적어도 5%(w/v) 혼합물의 형태일 수 있다. 한 구현예에서, 단계 (c)는 단계 (b)로부터의 담배 재료를 함유하는 혼합물을 가열하는 단계를 포함한다.

[0069] 소정의 구현예들에서, 담배 특이 니트로사민, 예를 들어 NNK, 방출의 최대 비율은 상기 담배 재료를 가열한지 30-60분 이내에 발생한다. 소정의 구현예들에서, 적어도 약 10,000ng/g NNK는 상기 담배 재료를 가열한지 30-60분 이내에 방출되거나 적어도 약 13,000ng/g NNK는 상기 담배 재료를 가열한지 30-60분 이내에 방출된다. 소정의 구현예들에서, 상기 방출 비율은 높은 온도에서 증가한다. 예를 들어, 약 10,000ng/g NNK는 상기 담배 재료를 가열한지 30-60분 이내에 약 130°C에서 방출될 수 있는 반면, 약 13,000ng/g NNK는 상기 담배 재료를 가열한지 30-60분 이내에 140°C에서 방출될 수 있다. 상기 NNK 방출 양은 약 130°C에서 약 4시간 보다 오래 그리고 140°C에서 약 8시간 보다 오래 지속될 수 있다.

[0070] 총 NNK, 즉, 유리된 NNK 및 결합된 NNK의 온도 의존성 감소가 관찰될 수 있다. 예를 들어, 약 110°C에서 약 1시간 후에 담배 재료 내의 총 NNK 함량은 약 3400ng/g일 수 있다. 약 120°C에서 약 1시간 후에 총 NNK 함량은 약 2900ng/g일 수 있다. 약 130°C에서 약 1시간 후에 총 NNK 함량은 약 2600ng/g일 수 있다.

[0071] 매트릭스-결합 NNK의 온도 의존성 감소가 관찰될 수 있다. 약 110°C에서 약 1시간 후에 매트릭스-결합 NNK 함량은 약 2480ng/g일 수 있다. 약 120°C에서 약 1시간 후에 매트릭스-결합 NNK 함량은 약 1520ng/g일 수 있다. 약 130°C에서 약 1시간 후에 매트릭스-결합 NNK 함량은 약 810ng/g일 수 있다.

[0072] 상기 담배 재료는 이들에만 한정되는 것은 아니지만, 다음과 같은 구성 성분뿐만 아니라 이들의 조합 중 하나 이상을 포함하는 첨가제를 포함할 수도 있다: 향미제, 유기 및 무기 충전제 (예를 들면, 곡류, 가공 곡물, 빵튀기, 말토덱스트린, 텍스트로스, 탄산 칼슘, 인산 칼슘, 옥수수 전분, 락토오스, 만니톨, 자일리톨, 소르비톨, 미분 셀룰로오스, 기타 등등), 결합제 (예를 들면, 포비돈, 카르복시메틸셀룰로오스 나트륨 및 기타 변형된 셀룰로오스형 결합제, 알긴산 나트륨, 크산탄 검, 전분계 결합제, 아라비아 검, 레시틴 기타 등등), 착색제 (예를 들면, 카라멜 색소 및 이산화 티탄 기타 등등을 포함한 염료 및 안료), 습윤제 (예를 들면, 글리세린, 프로필렌 글리콜 기타 등등), 구강 관리 첨가제, 보존제 (예를 들면, 소르빈산 칼륨 기타 등등), 시럽 (예를 들면, 꿀, 고 과당 옥수수 시럽, 및 향미제로서 사용된 것 등), 및 봉해 보조제 (예를 들면, 미세결정 셀룰로오스, 크로스 카르멜로스 나트륨, 크로스포비돈, 전분 글리콜산 나트륨, 예비젤라틴화 옥수수 전분 기타 등등). 이러한 첨가제는 당해 기술분야의 숙련자에게 공지되어 있으며, 기술 분야에 공지된 양과 형태로 존재할 수도 있다.

[0073] 임의의 특정 이론에 구속되지 않고, 건조 동안 그들의 형성에 추가하여, 담배 특이 니트로사민은 담배의 가공 도중에 형성되는 것으로 이해된다. 따라서, 본원에 기재된 방법은 높은 담배 특이 니트로사민 수준이 축적할 수도 있는 건조 담배나 담배 슬러리로부터 제조된 담배 제품을 포함한, 담배 제품에서 생성되는 담배 특이 니트로사민-예컨대 NNK-의 하나 이상의 수준, 양 또는 농도를 감소시키기 위해 특히 효과적일 수도 있다. 본원에서 논의된 바와 같이, 본원에 기재된 방법은 재구성 담배의 제조에 특히 적합할 수도 있다.

[0074] 추가 측면에서, 불용성 담배 매트릭스 내의 약 2400ng/g 미만의 NNK 및 적어도 약 900ng/g의 유리된 NNK를 포함하는 (가공되었거나 처리된) 담배 재료를 제공한다. 소정의 구현예들에서, 상기 (가공되었거나 처리된) 담배 재료는 불용성 담배 매트릭스 내의 약 2480ng/g 미만의 NNK 및 적어도 약 930ng/g의 유리된 NNK를 포함하고 있다. 소정의 구현예들에서, 상기 (가공되었거나 처리된) 담배 재료는 불용성 담배 매트릭스 내의 약 2481ng/g 미만의 NNK 및 적어도 약 934ng/g의 유리된 NNK를 포함하고 있다. 소정의 구현예들에서, 상기 (가공되었거나 처리된) 담배 재료는 불용성 담배 매트릭스 내의 약 1550ng/g 미만의 NNK 및 적어도 약 1300ng/g의 유리된 NNK를 포함하고 있다. 소정의 구현예들에서, 상기 (가공되었거나 처리된) 담배 재료는 불용성 담배 매트릭스 내의 약 1520ng/g 미만의 NNK 및 적어도 약 1390ng/g의 유리된 NNK를 포함하고 있다. 소정의 구현예들에서, 상기 (가공되었거나 처리된) 담배 재료는 불용성 담배 매트릭스 내의 약 1520ng/g 미만의 NNK 및 적어도 약 1397ng/g의 유리된 NNK를 포함하고 있다. 소정의 구현예들에서, 상기 (가공되었거나 처리된) 담배 재료는 불용성 담배 매트릭스 내의 약 810ng/g 미만의 NNK 및 적어도 약 1800ng/g의 유리된 NNK를 포함하고 있다. 소정의 구현예들에서, 상기 (가공되었거나 처리된) 담배 재료는 불용성 담배 매트릭스 내의 약 809ng/g 미만의 NNK 및 적어도 약

1850ng/g의 유리된 NNK를 포함하고 있다. 소정의 구현예들에서, 상기 (가공되었거나 처리된) 담배 재료는 불용성 담배 매트릭스 내의 약 809ng/g 미만의 NNK 및 적어도 약 1859 또는 1860ng/g의 유리된 NNK를 포함하고 있다.

[0075] 소정의 구현예들에서, 상기 (가공되었거나 처리된) 담배 재료는 불용성 담배 매트릭스 내의 약 2500ng/g NNK 내지 및 800ng/g NNK 사이 및 약 900ng/g 내지 1900ng/g 사이의 유리된 NNK를 포함하고 있다. 소정의 구현예들에서, 상기 (가공되었거나 처리된) 담배 재료는 불용성 담배 매트릭스 내의 약 2480ng/g NNK 내지 및 810ng/g NNK 사이 및 약 930ng/g 내지 1860ng/g 사이의 유리된 NNK를 포함하고 있다. 소정의 구현예들에서, 상기 (가공되었거나 처리된) 담배 재료는 불용성 담배 매트릭스 내의 약 2481ng/g NNK 내지 및 809ng/g NNK 사이 및 약 934ng/g 내지 1859ng/g 사이의 유리된 NNK를 포함하고 있다.

[0076] 본원에서 설명된 방법에 의해 획득되었거나 획득가능한 담배 재료는 다양한 소비 제품-예컨대 담배 제품-에 통합될 수도 있다. 또한 본원에서 설명된 방법에 의해 획득되었거나 획득가능한 담배 재료로부터 형성된 담배 제품이 본원에서 설명되어 있다. 또한 이러한 담배 제품을 제조하기 위한 방법이 본 발명에 의해 포괄된다. 담배 제품은 제한 없이 흡연 물품 또는 흡연성 물품 및 불연성 담배 제품, 가열식 제품, 및 에어로졸 발생 제품을 포함한 무연 담배 제품을 포함한다. 흡연 물품 또는 흡연성 물품의 비제한적인 예로는 쉘런, 가는 엽쉘런, 엽쉘런 및 파이프 담배를 포함한다. 무연 담배 제품의 비제한적인 예로는 씹는 담배, 코담배(snuff) 및 에어로졸 발생 제품에 사용하기 위한 기재를 포함한다. 무연 담배 제품은, 건조 입자, 세질, 과일, 분말, 또는 슬러리를 포함한 임의의 형태, 또는 박편, 필름, 탭, 폼(foam), 또는 구슬(bead) 같은 임의의 형태로 된 다른 성분들에 피착되거나, 혼합되거나, 둘러싸인 담배를 포함할 수도 있다. 무연 담배 제품의 액체 내용물은 장치에 함유되거나 구슬 같은 형태에 동봉되어서 수용성 래퍼와의 상호 작용을 배제시킨다. 상기 래퍼는 파우치 형상이어서 담배 내장형 조성물을 부분적으로 또는 완전히 둘러싸거나, 또는 접촉제로서 작용해서 복수의 탭, 구슬, 또는 담배 플레이크를 함께 고정할 수도 있다. 래퍼를 구성하기 위한 예시적인 재료는 HPMC, CMC, 펙틴, 알긴산염, 풀루란, 및 기타 상업적으로 이용가능한, 식용 필름 형성 고분자를 포함하는 필름 조성물을 포함한다. 다른 포장 재료는 젤라틴, HPMC, 전분/카라기난, 또는 기타 상업적으로 입수 가능한 물질로부터 생산된 예비 형성된 캡슐을 포함할 수도 있다. 이러한 포장 재료는 성분으로서 담배를 포함할 수도 있다. 구두로 붕괴할 수 없는 래퍼는 직물 또는 부직포 직물로 구성된 것이거나, 코팅 또는 미-코팅 종이로 구성된 것이거나, 또는 천공되었거나 그렇지 않으면 다공성 플라스틱 필름으로 구성된 것일 수도 있다. 래퍼는 향미제 또는 착색제를 포함할 수도 있다. 무연 제품은 소형 포장재가 수직 형태/충진/밀봉 포장 기계로 형성될 수 있는, 블리스터 포장 같은 방법을 포함하여, 상업 포장 분야의 숙련자에게 공지된 임의의 방법을 이용하여 함께 조립될 수 있다.

[0077] 한 측면은 담배 재료로부터 에어로졸을 생산하는 방법에 관한 것으로, (a) 본원에 기재된 방법에 의해 획득되었거나 획득가능한 담배 재료를 제공하는 단계; 및 (b) 상기 담배 재료를 가열해서 에어로졸을 생산하는 단계를 포함한다. 추가 측면은 에어로졸에서 하나 이상의 담배 특이 니트로사민-예컨대 NNK-의 양 또는 농도를 감소시키는 방법에 관한 것이다. 일반적으로, 에어로졸은 연기의 형태가 될 것이다. 상기 방법은 다음의 단계를 포함한다: (a) 하나 이상의 담배 특이 니트로사민을 포함하는 담배 재료를 제공하는 단계; (b) 액체 또는 증기의 존재 시에 약 100°C 보다 높은 온도로 적어도 약 30초 동안 상기 담배 재료를 가열해서, 상기 하나 이상의 담배 특이 니트로사민(들)의 적어도 일부를 상기 담배 재료의 불용성 담배 매트릭스로부터 방출시키는 단계; (c) 상기 방출된 담배 특이 니트로사민(들)의 적어도 일부를 상기 담배 재료로부터 제거하는 단계; 및 (d) 단계 (c)로부터의 담배 재료를 가열해서 에어로졸을 생산하는 단계를 포함한다. 또한 본원에 기재된 방법에 의해 획득되었거나 획득가능한 에어로졸이 제공된다. 적절하게는, 획득되는 에어로졸은 적어도 단계 (b)를 실시하지 않은 대조군 담배 재료로부터의 에어로졸에 비해 낮은 수준의 NNK를 갖는다. 본원에 기재된 방법에 의해 획득되었거나 획득가능한 담배 재료는 재구성 담배로 형성될 수도 있다. 재구성 담배는 일반적으로 다양한 방식으로 형성될 수도 있다. 예를 들어, 한 구현예에서, 밴드 구조를 이용해서 재구성 담배를 형성할 수 있다. 밴드 구조는 전형적으로 미세하게 분할된 담배 부속물 슬러리와 스틸 밴드 상에 코팅된 후 건조되는 결합체를 사용한다. 건조 후, 시트는 천연 담배 스트립과 배합되거나 파쇄되고 및 쉘런 충전제 같은 것을 포함한, 다양한 담배 제품에 사용된다. 재구성 담배 생산 공정들의 일부 예는 US 3,353,541, US 3,420,241, US 3,386,449, US 3,760,815 및 4,674,519에 설명되어 있다. 재구성 담배는 제지 공정에 의해 형성될 수도 있다. 이 공정에 따라 재구성 담배를 형성하기 위한 공정들의 예는 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; 및 US 5,765,570에 설명되어 있다. 예를 들면, 제지 기술을 이용하여 재구성 담배를 형성하는 것은 담배를 물과 혼합하는 단계, 그로부터 가용성 성분을 추출하는 단계, 상기 가용성 성분을 농축시키는 단계, 상기 담배를 정제시키는 단계, 웹을 형성하는 단계, 상기 농축된 가용성 성분을 재적용하는 단계, 건조시키는 단계, 및 타작하는 단계를 포함할 수 있다. 다양한 성

분-에컨대 향미제 또는 색상 처리제-이 웹에 적용될 수 있다. 따라서, 추가 측면에 있어서, 재구성 담배 생산 방법이 제공되는데, (a) 하나 이상의 담배 특이 니트로사민을 포함하는 담배 재료를 제공하는 단계; (b) 약 100 °C 보다 높은 온도로 적어도 약 30초 동안 상기 담배 재료를 가열하는 단계; 및 (c) 단계 (b)로부터 수득된 담배 재료를 재구성 담배로 제조하는 단계를 포함한다. 적절하게는, 상기 재구성 담배는 밴드 주조 공정 또는 제지 공정에 의해 제조된다. 상기 담배 재료는 선택적으로 상기 가열 단계 전 및/또는 후에 세척 가능하다.

[0078] 다른 구현예에 따르면, 본원에 기재된 방법에 의해 수득되었거나 수득가능한 담배 재료는 담배 시트-에컨대 재구성 담배 시트로 형성될 수도 있다. 본 구현예에 따르면, 상기 방법은 (a) 본원에 기재된 방법에 따라 (처리되거나 가공된) 담배 재료-에컨대 담배 균질물-를 수득하는 단계; (b) 담배 균질물 슬러리를 제조하는 단계; (c) 담배 균질물 슬러리를 주조하는 단계; 및 (d) 담배 균질물 슬러리를 건조하여 재구성 담배 시트를 형성하는 단계를 포함할 수도 있다.

[0079] 다른 구현예에 따르면, 상기 방법은 (a) 본원에 기재된 방법에 따라 (처리되거나 가공된) 담배 재료-에컨대 담배 균질물-를 수득하고 담배 균질물 슬러리를 제조하는 단계; (b) 담배 균질물 슬러리를 주조하는 단계; 및 (c) 담배 균질물 슬러리를 건조하여 담배 시트를 형성하는 단계를 포함할 수도 있다.

[0080] 상기 담배 균질 슬러리를 주조하는 단계는 당 기술분야에 공지되어 있는 주조 또는 제지 공정 중 하나를 이용하여 수행될 수도 있다. 예로서, 주조 공정은 US 5,724,998 및 US 5,584,306에 기재되어 있고; 제지 공정은 US 4,341,228; US 5,584,306 및 US 6,216,706에 기재되어 있다. 주조 공정은 일반적으로 슬러리를 연속 스테인레스 스틸 벨트 상에 주조하는 단계, 상기 주조된 슬러리를 건조시켜서 재구성 담배 시트를 형성하는 단계, 및 상기 시트를 제거하는 단계를 포함한다. 제지 공정은 일반적으로 원하는 시트를 형성하기 위해 헤드 박스로부터의 수성 슬러리를 와이어 스크린 상에 주조하는 단계를 포함한다. 상기 수성 슬러리는 가용성 부분과 섬유상 부분으로 분리될 수도 있다. 물은 상기 섬유상 부분으로부터 배출되고, 이어서 그렇게 형성되는 시트가 처리되고, 건조된다.

[0081] 담배 슬러리는 하나 이상의 결합제 - 예를 들면 검(gum) 및 펙틴(pectin) -를 더 포함할 수도 있다. 상술한 바와 같이, 재생 담배 시트(reconstituted tobacco sheet)를 준비하는 데에 사용되는 담배 슬러리는, 이들에만 한정되지는 않지만, 하나 이상의 다음과 같은 구성 성분, 즉 목재 셀룰로오스 섬유, 에어로졸 형성제, 당분, 및 향미제 및 결합제 뿐만 아니라 이들의 조합을 포함하는, 공용 첨가제를 더 포함할 수 있다. 상술한 첨가제 목록은 당 기술분야에 숙련자에게 공지되어 있고, 당 기술분야에 공지된 양 및 형태로 이들 수용성 슬러리 내에 존재할 수 있다.

[0082] 본원에서 설명되는 재생 담배 시트는, 준비되면, 쉘런 및 다른 담배 제품에 적절한 담배 충전제(tobacco filler)를 생성하도록 전체 잎 담배와 유사한 방식으로 절단될 수도 있다. 본원에서 설명되는 재생 담배 시트는 한 측면 상에 약 50 내지 100mm 사이로, 기계식 핑거에 의해 천연 담배 박층 스트립과 유사한 크기의 조각으로 또한 부서지거나 벗겨질 수 있거나 다이아몬드 형상의 조각으로 절단될 수도 있다. 본원에서 설명되는 재생 담배 시트 조각은 황색종 담배, 버얼리종 담배, 매릴랜드종 담배, 오리엔트종 담배, 레어 담배(rare tobacco), 특수 담배(specialty tobacco), 팽화 담배(expanded tobacco) 등과 같은 다른 담배와 또한 블렌딩될 수도 있다. 특정 쉘런 브랜드의 제조에서 사용되는 담배 블렌드 내의 각 종류의 담배의 정확한 양은 브랜드마다 다르다. 예를 들면, Tobacco Encyclopaedia, Voges (Ed.) p. 44-45 (1984), Browne, The Design of Cigarettes, 3rd Ed., p.43 (1990) 및 Tobacco Production, Chemistry and Technology, Davis et al. (Eds.) p. 346 (1999)을 참조한다. 그런 다음, 전체 블렌드가 각초(cut filler)로 잘릴 수 있거나 담배 제품에 포함될 수도 있다. 따라서, 방법들은 감소된 양의 담배 특이 니트로사민 - 예를 들면 NNK -을 갖는 담배(예를 들면, 재구성 담배 시트)를 포함하는 담배 제품을 제조하기 위해 제공된다.

[0083] 본원에서 개시에 따라 수득되었거나 수득가능한 담배 재료는 담배 각초 및 그 각초의 담배 로드로 형성된 흡연 물품에서 또한 사용될 수 있다. 통상적으로, 흡연 물품용 각초 담배 제품은 타작 공정(threshing process) 동안에 잎의 주맥 부분으로부터 분리되는 담배 잎의 박층 부분으로 대부분 형성된다. 박층이 제거되고 분리된 후에 남아 있는 대부분의 주맥 부분은 사용되지 않는다. 상용적으로 사용될 수 있는 담배 재료의 양을 증가시키기 위해서, 일부 담배 주맥이 박층과 함께 각초에 다시 첨가될 수 있다. 각초에서 사용하기 위해 담배 주맥의 맛 및 연소 특징을 개선하기 위해서, 주맥에는 종종 본원에서 설명되는 절차들을 포함할 수 있는 하나 이상의 처리 절차가 우선 실시된다. 말기(rolling) 단계가 본 발명의 방법이 실시되어 있는 담배 주맥에 대해 수행될 수 있다. 주맥은 원하는 두께 - 예를 들면 약 0.6mm 내지 0.8mm의 평균 두께 -로 말아진다. 차후의 처리 및 보관 단계들 동안에, 주맥은 약 0.8mm 내지 약 1.0mm의 최종 두께로 팽화될 수 있다. 말기 후, 주맥은 건조되고,

그들이 절단되어 담배 각초에 첨가되는 담배 제조 공장으로 이송된다. 일부의 경우에서, 말기 단계는 대안적으로 각초에 대한 온라인 생산 공정의 일부로서 포함될 수도 있다. 통상적으로, 담배 주맥의 수분 함량은 주맥의 구조에 대한 손상을 방지하기 위해서 말기 전에 약 28% 내지 약 34% 오븐 볼러타일(oven volatile)이다. 필요한 경우, 담배 주맥은 수분 함량을 이러한 수준으로 증가시키기 위해서 말기 전에 컨디셔닝될 수 있다. 담배 주맥을 컨디셔닝하기 위한 공지된 공정은 주맥을 물, 증기 또는 물과 증기의 혼합물과 접촉시키는 것을 포함한다. 말기 단계가 온라인에 포함되고 건조된 주맥이 사용되는 방법에서, 컨디셔닝 단계는 통상적으로 더 오래 걸릴 것이고 주맥을 말기 전에 다수의 시간 동안 물 속에 담그는 침지 단계를 필요로 할 수도 있다. 담배 주맥이 1 단계의 말기 공정을 사용하여 말아서서 주맥의 두께를 원하는 평균 두께로 감소시킬 수 있다. 말기 후, 주맥은 약 0.1mm와 0.2mm 사이의 절단 폭으로 절단될 수 있다. 그런 다음, 절단되고 말아진 주맥이 공지된 주맥 팽화 기술을 사용하여 선택적으로 팽화되고, 그 다음에 건조된다. 주맥이 사전 말아지고 건조된 경우, 통상적으로 담배 주맥의 수분 함량을 약 28%와 34% 오븐 볼러타일(oven volatile) 사이로 다시 증가시키기 위해서 절단 전에 주맥을 컨디셔닝할 필요가 있을 것이다. 이는 담배 주맥의 유연성(pliability)을 증가시켜서 절단 동안에 주맥의 손상 또는 파손을 제한한다. 마지막으로, 절단되고 말아진 주맥이 담배 절단 박층 및 추가 담배 재료들과 조합되어 적어도 5중량%의 절단되고 말아진 담배 주맥을 갖는 각초를 형성한다. 따라서, 추가 측면에서, 담배 각초로서 사용하기 위한 담배 제조 방법이 제공되는데, (a) 하나 이상의 담배 특이 니트로사민을 포함하는 담배 재료를 제공하는 단계; (b) 액체 또는 증기의 존재 시에 약 100°C 보다 높은 온도로 적어도 약 30초 동안 상기 담배 재료를 가열해서, 상기 담배 특이 니트로사민(들)의 적어도 일부를 상기 담배 재료의 불용성 담배 매트릭스로부터 방출시키는 단계; (c) 상기 방출된 담배 특이 니트로사민(들)의 적어도 일부를 상기 담배 재료로부터 제거하는 단계; (d) 단계 (c)로부터의 담배 재료를 수성 용액 또는 용매로 세척해서 담배 특이 니트로사민(들)을 상기 담배 재료로부터 방출하는 단계; 및 (e) 상기 담배 재료를 말고 절단하는 단계를 포함한다. 또한 담배 각초에 사용하기 위해 담배 재료-예컨대 담배 주맥-를 처리하는 방법이 기재되어 있는데, 상기 방법은 (a) 하나 이상의 담배 특이 니트로사민을 포함하는 담배 재료를 제공하는 단계; (b) 액체 또는 증기의 존재 시에 약 100°C 보다 높은 온도로 적어도 약 30초 동안 상기 담배 재료를 가열해서, 상기 담배 특이 니트로사민(들)의 적어도 일부를 상기 담배 재료의 불용성 담배 매트릭스로부터 방출시키는 단계; (c) 상기 방출된 담배 특이 니트로사민(들)의 적어도 일부를 상기 담배 재료로부터 제거하는 단계; (d) 단계 (c)로부터의 담배 재료를 수성 용액 또는 용매로 세척해서 담배 특이 니트로사민(들)을 상기 담배 재료로부터 방출하는 단계; (e) 상기 담배 재료를 마는 단계; (f) 상기 재-담배 재료를 절단하는 단계; 및 (g) 선택적으로 상기 절단된 말아진 주맥을 건조시키는 단계를 포함한다. 상기 만 담배 주맥(rolled tobacco stem)은 담배 박층과 결합됨으로써 상기 단계들이 결합된 담배 주맥과 박층 상에서 수행될 수 있다. 상기 절단 단계는 상기 말아진 주맥을 약 0.3mm와 1.3mm 사이의 절단 폭으로 절단하는 것을 포함할 수 있다. 상기 방법은 다음의 단계를 포함할 수 있다: 담배 잎에서 주맥을 제거하는 단계; 상기 주맥을 약 15mm 내지 80mm의 평균 길이로 절단하는 단계; 및 상기 주맥을 0.1mm와 0.5mm 사이의 두께로 마는 단계. 만 담배 주맥을 포함하는 각초를 생산하는 방법 또한 제공되는데, 상기 방법은 본원에 기재된 방법을 이용하여 담배 주맥을 처리하는 단계; 및 상기 처리된 주맥을 담배 박층, 팽화된 담배 또는 재구성 담배 중의 적어도 한 종류와 배합시켜서 각초를 생산하는 단계를 포함한다.

[0084] 본원에 기재된 방법에 의해 수득되었거나 수득가능한 담배 각초는 0.8mm 및 1.1mm, 바람직하게는 약 0.9mm 사이의 평균 절단 폭과 약 0.2mm의 평균 두께를 갖는 담배 박층을 적어도 60중량%, 바람직하게는 적어도 80중량% 포함할 수 있다. 담배 각초는 0.8mm 및 1.1mm, 더욱 바람직하게는 약 0.9mm 사이의 평균 절단 폭과 약 0.2mm의 평균 두께를 갖는 담배 박층을 최대 95중량% 포함할 수 있다. 따라서 각초 내의 담배 박층의 입자들은 담배 주맥의 입자들과 비슷한 크기를 갖는다. 이와 같이, 담배 주맥은 높은 함유율에서조차도, 시각적으로 담배 박층과 구별되지 않는다. 또한, 담배 주맥과 박층의 배합물은 유리하게도 주맥을 중대하게 설정하지 않고 효과적으로 운반되고 처리될 수 있다. 적절하게는, 절단된 만 담배 주맥의 절단 평균 폭은 각초 내의 담배 박층의 평균 두께의 약 0.1mm 이내, 더욱 적합하게는 약 0.05mm 이내이다. 각초는 다양한 흡연 물품으로 통합될 수도 있다. 예를 들면, 각초는 필터 쥘런, 가는 엽쥘런 또는 엽쥘런 같은 가연성 흡연 물품의 담배 로드(rod)에 이용될 수도 있다. 대안적으로, 각초는 증류 기반 흡연 물품의 담배 에어로졸 발생 기재, 또는 전기 가열식 흡연 시스템을 제공하는 데 사용될 수도 있다. 대안적으로, 각초는 예를 들어, 파이프에 사용하기 위해, 말아피는 제품(roll-your-own product), 또는 느슨한 담배(loose tobacco) 제품으로서 사용될 수도 있다.

[0085] 상기 담배 재료는 자연발생 담배 식물, 돌연변이 담배 식물, 비-자연발생 담배 식물 또는 형질전환 담배 식물로부터 유래될 수도 있다.

[0086] 상기 담배 재료는 담배 식물로부터 유도되거나 유도될 수 있는데, 니코티아나(Nicotiana) 속 식물, *N. rustica* 및 *N. tabacum*을 포함한, 다양한 니코티아나 종을 포함한다. 상기 담배 재료는 일반적으로 플루(flue) 또는 브

라이트(bright) 품종, 버얼리 품종(Burley varieties), 다크 품종 및 오리엔탈/터키 품종이라고 공지된, 니코티아나 종의 품종들로부터 유도될 수 있다. 일부 구현예에서, 상기 담배 재료는 버얼리, 버지니아, 배기-건조, 공기-건조, 화력-건조, 오리엔탈, 또는 다크 담배 식물로부터 유도된다. 일부 구현예에서, 담배 재료는 예를 들어 이하의 품종 중 하나 이상으로부터 유도된다: 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 from cross N. tabacum BU21 x N. tabacum Hoja Parado, line 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, 및 N. tabacum Petit Havana.

- [0087] 본 발명의 추가 측면들이 하기 단락들에 개시되어 있다.
- [0088] 1. 담배 재료 내의 하나 이상의 담배 특이 니트로사민의 양을 감소시키는 방법이 제공되는데, (a) 하나 이상의 담배 특이 니트로사민을 포함하는 담배 재료를 제공하는 단계; (b) 액체 또는 증기의 존재 시에 약 100℃ 보다 높은 온도로 적어도 약 30초 동안 상기 담배 재료를 가열해서, 상기 하나 이상의 담배 특이 니트로사민의 적어도 일부를 상기 담배 재료의 불용성 담배 매트릭스로부터 방출시키는 단계; 및 (c) 상기 방출된 담배 특이 니트로사민(들)의 적어도 일부를 상기 담배 재료로부터 제거하는 단계를 포함한다.
- [0089] 2. 1 단락에 따른 방법에 있어서, 상기 담배 특이 니트로사민(들)은 NNK을 포함하거나, 그것으로 구성되거나 또는 필수적으로 구성되어 있다.
- [0090] 3. 1 단락 또는 2 단락에 따른 방법에 있어서, 단계 (a)에 제공된 담배 재료는 단계 (b) 이전에 제1 수성 용액 또는 용매와 접촉된다.
- [0091] 4. 1 단락 내지 3 단락 중 어느 하나에 따른 방법에 있어서, 상기 담배 특이 니트로사민(들)은 제2 수성 용액 또는 용매로 한 번 이상 세척하여 샘플로부터 제거된다.
- [0092] 5. 3 단락 또는 4 단락에 따른 방법에 있어서, 상기 제1 및/또는 제2 수성 용액 또는 용매는 동일하거나 상이하다.
- [0093] 6. 1 단락 내지 5 단락 중 어느 하나에 따른 방법에 있어서, 상기 담배 재료는 담배 잎 및/또는 담배 주맥 및/또는 담배 가루 및/또는 담배 잎 프라임 박판 스트립 또는 둘 이상의 이들의 조합으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 것이다.
- [0094] 7. 1 단락 내지 6 단락 중 어느 하나에 따른 방법에 있어서, 상기 담배 재료는 물 또는 물에서 생성된 수증기의 존재 시에 가열된다.
- [0095] 8. 1 단락 내지 7 단락 중 어느 하나에 따른 방법에 있어서, 상기 담배 재료는 가압 증기 및/또는 과열 증

기의 존재 시에 단계 (b)에서 가열된다.

- [0096] 9. 1 단락 내지 8 단락 중 어느 하나의 방법에 의해 수득되었거나 수득가능한 담배 재료.
- [0097] 10. 불용성 담배 매트릭스 중의 약 2400ng/g 미만의 NNK 및 적어도 약 900ng/g의 유리된 NNK를 포함하는 담배 재료.
- [0098] 11. 에어로졸에서 하나 이상의 담배 특이 니트로사민의 양 또는 농도를 감소시키는 방법으로, (a) 하나 이상의 담배 특이 니트로사민을 포함하는 담배 재료를 제공하는 단계; (b) 액체 또는 증기의 존재 시에 약 100°C 보다 높은 온도로 적어도 약 30초 동안 상기 담배 재료를 가열해서, 상기 하나 이상의 담배 특이 니트로사민의 적어도 일부를 상기 담배 재료의 불용성 담배 매트릭스로부터 방출시키는 단계; (c) 상기 방출된 담배 특이 니트로사민(들)의 적어도 일부를 상기 담배 재료로부터 제거하는 단계; 및 (d) 단계 (b)로부터의 담배 재료를 가열해서 에어로졸을 생산하는 단계를 포함한다.
- [0099] 12. 재구성 담배 생산 방법으로, (a) 하나 이상의 담배 특이 니트로사민을 포함하는 담배 재료를 제공하는 단계; (b) 약 100°C 보다 높은 온도로 적어도 약 30초 동안 상기 담배 재료를 가열하는 단계; (c) 단계 (b)로부터의 담배 재료를 수성 용액 또는 용매로 세척해서 담배 특이 니트로사민(들)을 상기 담배 재료로부터 방출하는 단계; (d) 단계 (c)에서 수득된 담배 재료를 재구성 담배로 제조하는 단계; 및 (e) 선택적으로 상기 재구성 담배를 담배 제품으로 통합시키는 단계를 포함한다.
- [0100] 13. 재구성 담배 생산 방법으로, (a) 하나 이상의 담배 특이 니트로사민을 포함하는 담배 재료를 제공하는 단계; (b) 가용성 물질로부터 담배 섬유를 분리하여 상기 담배 재료를 재구성 담배로 제조하는 단계; (c) 액체 또는 증기의 존재 시에 적어도 100°C의 온도로 적어도 약 30초 동안 상기 분리된 섬유를 가열해서, 상기 담배 특이 니트로사민(들)의 적어도 일부를 상기 분리된 섬유의 불용성 담배 매트릭스로부터 방출시키는 단계; (d) 상기 섬유를 수성 용액 또는 용매로 세척하는 단계; (e) 상기 섬유와 가용성 물질을 재결합시켜서 재구성 담배 시트를 형성하는 단계; 및 (f) 선택적으로 상기 재구성 담배를 담배 제품으로 통합시키는 단계를 포함한다.
- [0101] 14. 담배 각초로 사용하기 위한 담배 제조 방법으로, (a) 하나 이상의 담배 특이 니트로사민을 포함하는 담배 재료-예컨대 담배 주맥-를 제공하는 단계; (b) 액체 또는 증기의 존재 시에 약 100°C 보다 높은 온도로 적어도 약 30초 동안 상기 담배 재료를 가열해서, 상기 담배 특이 니트로사민(들)의 적어도 일부를 상기 담배 재료의 불용성 담배 매트릭스로부터 방출시키는 단계; (c) 상기 방출된 담배 특이 니트로사민(들)의 적어도 일부를 상기 담배 재료로부터 제거하는 단계; 및 (d) 상기 담배 재료를 말고 절단하는 단계를 포함한다.
- [0102] 15. 만 담배 주맥(rolled tobacco stem)을 포함하는 각초 생산 방법으로, (a) 하나 이상의 담배 특이 니트로사민을 포함하는 담배 주맥을 제공하는 단계; (b) 액체 또는 증기의 존재 시에 약 100°C 보다 높은 온도로 적어도 약 30초 동안 상기 담배 주맥을 가열해서, 상기 담배 특이 니트로사민(들)의 적어도 일부를 상기 담배 주맥의 불용성 담배 매트릭스로부터 방출시키는 단계; (c) 상기 방출된 담배 특이 니트로사민(들)의 적어도 일부를 상기 담배 주맥으로부터 제거하는 단계; (d) 상기 처리된 주맥을 담배 박층, 팽화된 담배 또는 재구성 담배 중의 적어도 한 종류와 블렌딩하는 단계; 및 (e) 각초를 생산하는 단계를 포함한다.
- [0103] 다음의 실시예들은 예시로서 제공되며 한정으로서 제공되는 것이 아니다. 달리 명시하지 않으면, 본 발명은 분자 생물학 및 식물 생물학의 종래 기술 및 방법들을 채택한다.
- [0104] **실시예**
- [0105] 실시예 1
- [0106] 담배 내의 유리된 NNK 및 결합된 NNK의 분석 방법
- [0107] 담배 샘플들(예를 들면, 약 750mg)의 부분 표본들을 대략 실온에서 약 1시간 동안 흔들어서 약 30mL의 Tris-HCl 버퍼(50mM; pH 7.4)로 추출한다. 내부 표준(100 ng/mL NNK-d₄)을 첨가한다. 0.2µm 필터를 사용하여 추출물들의 샘플들(0.4mL)을 여과시키고 초고성능 액체 크로마토그래피-탠덤 질량(UPLC-MS/MS)을 사용하여 NNK 함량을 분석한다. 이들 추출 농도로부터 계산된 샘플 농도는 샘플 내의 "유리된 NNK" 농도에 대응한다. 추출 혼합물들을 처리하고(예를 들면, 약 4시간 동안 약 130°C로 가열함으로써) 추출물들의 부분 표본들을 여과시킨 후, UPLC-MS/MS에 의해 NNK 농도를 재차 측정한다. 이들 값들로부터, 샘플들 내의 "총 NNK" 농도를 계산할 수 있다."결합된 NNK" 농도는 "총 NNK" 농도와 "유리된 NNK" 농도 간의 차이이다.
- [0108] "총 NNK" 추출을 위한 대안적인 방법은 농축된 HCl(예를 들면, 30mL에 첨가된 37% HCl의 3mL)과의 추출 혼합물

들의 산성화(acidification) 및 80℃에서 48시간 동안의 배양(incubation)을 포함한다. 산성 추출물들은 320 μL의 추출물에 NaOH용액(6N, 40 μL) 및 수산화마그네슘 현탁액(10%; 40 μL)을 첨가함으로써 여과 및 UPLC 분석 전에 중화된다.

[0109] 실시예 2

[0110] UPLC 분석

[0111] 사용된 컬럼(column)은 Waters Acquity BEH C18, 1.7 μm, 2.1 x 50mm이다. 사용된 용리제들은, (A) 중탄산 암모늄(10mM; 암모니아로 pH 9.8로 조절됨) + 2%(v/v) 아세트니트릴; (B) 아세트니트릴이다. 사용된 구배(gradient)는 0min - 5% B; 0.5min - 5% B; 3.3min -18.3% B이다. 사용되는 유량(flow)은 0.5mL/min이다. 사용되는 컬럼 온도는 50℃이다.

[0112] 실시예 3

[0113] MS/MS 방법론

[0114] 이러한 분석은 다음의 MRM 이행들을 사용하여 Waters TQ 스펙트로미터 상에서 수행된다: NNK: 208.2 → 122.2; 체류 시간(dwel1 time) 100ms; NNK-d4: 212.2 → 126.2; 체류 시간 100ms; 모세관 전압(capillary voltage): 0.6kV; 콘 전압(cone voltage): 25V; 충돌 에너지(collis1on energy): 11 eV; 소스 온도(source temperature): 120℃; 탈용매화 온도(desolvation temperature): 400℃; 탈용매화 가스 흐름: 800 L/h.

[0115] 실시예 4

[0116] 담배 샘플 내의 유리된 NNK 및 매트릭스-결합 NNK의 분석

[0117] 매트릭스-결합 NNK가 1N HCl(2일 동안 80℃에서)로 추출에 의해 방출된다는 결과를 사용함으로써, 상술한 바와 같이 UPLC-MS/MS를 사용하여 담배 샘플들에서 유리된 NNK 및 매트릭스-결합 NNK를 분석한다. 이러한 방법을 적용함으로써, 버얼리종 잎, 버얼리종 주맥 및 재생 담배 내의 NNK의 대부분이 매트릭스-결합 형태로 존재한다는 것을 알게 되었다.

[0118] 도 1에 도시된 바와 같이, 이러한 분석에서의 가장 높은 총 NNK 함량은 재생 담배 및 버얼리종 주맥에서 발견되었다. 총 유리된 NNK 함량 및 총 결합 NNK는 재생 담배 및 버얼리종 주맥에서 가장 높았다.

[0119] 실시예 5

[0120] 물 세척된 버얼리종 주맥으로부터 매트릭스-결합 NNK의 방출

[0121] 매트릭스-결합 NNK의 상기한 산성(또는 알칼리성) 방출은, 담배의 물리적 무결성에 대한 그의 영향 때문에, 일반적으로 인간이 사용하고자 하는 담배 재료로부터 NNK 제거를 위해 사용될 수 없다. 따라서, 다른 방법들이 요구된다.

[0122] 물 세척된 버얼리종 주맥을 실험실용 오토클레이브에서 130℃ 또는 140℃로 물로 가열한다. 이는 4시간 이내에 상당한 양의 매트릭스-결합 NNK를 방출한다. 도 2에서 알 수 있는 바와 같이, NNK의 최대 비율은 130℃에서 방출되는 대략 10,000ng/g 및 140℃에서 방출되는 약 13,000ng/g로 처음 30-60분 이내에 발생하였다. 소정 양의 NNK 방출은 130℃에서 약 4시간까지의 동안 및 140℃에서 약 8시간까지의 동안에 계속되었다.

[0123] 110℃ 내지 130℃의 온도에서 물 속에서 추출된 3R4F 실험용 킨들로부터의 충전제에 대하여 동일한 전체 효과가 관찰된다. NNK 방출 비율의 분명한 온도 의존성이 관찰된다. 도 3에서 알 수 있는 바와 같이, NNK의 빠른 방출 비율이 110℃, 120℃ 및 130℃에서 각각 방출되는 약 1,400ng/g, 1,700ng/g alc 2,000ng/g로 처음 60분 이내에 생겼다. 약 60분 후에, 방출 비율이 감소되었지만 약 200분 후에도 여전히 NNK의 계속되는 방출이 관찰되었다.

[0124] 실시예 6

[0125] 버얼리종 주맥으로부터 매트릭스-결합 NNK의 제거

[0126] 담배 재료들로부터 매트릭스-결합 NNK의 제거를 위해 본원에서 설명되는 방법의 가능성을, 담배 특이 니트로사민들이 풍부한 버얼리종 주맥에 대하여 3단계의 세척/오토클레이빙/세척 절차를 적용함으로써 평가한다. 우선 주맥을 대략 실온에서 약 2시간 동안 물(100g의 주맥에 대해 1.5L)로 세척하였고; 그런 다음 젖은 주맥을 오토클레이빙하고 약 2시간 동안 물로 재차 세척하였다. 이러한 처리 후에, 재료를 건조시켰고(약 17시간 동안 약

50℃) 양쪽의 유리된 NNK 및 매트릭스-결합 NNK 함량에 대해 분석하였다. 그 결과들이 표 1 및 도 4에 보여지고 있다.

- [0127] 도 4에 도시된 바와 같이, 총 NNK(= 유리된 + 결합 NNK)의 온도 의존 감소가 관찰된다. 110℃에서 1시간의 방법은 약 3415ng/g의 총 NNK 함량을 초래하였다. 120℃에서 1시간의 방법은 약 2917ng/g의 총 NNK 함량을 초래하였다. 130℃에서 1시간의 방법은 약 2668ng/g의 총 NNK 함량을 초래하였다. 비교 시, 미처리된 주맥 내의 총 NNK 함량은 약 3680ng/g이었다. 무-오토클레이빙 방법(no-autoclaving method)에서, 총 NNK 함량은 약 5024ng/g이었다.
- [0128] 또한 도 4에 도시된 바와 같이, 매트릭스-결합 NNK의 강한 온도 의존 감소가 관찰된다. 110℃에서 1시간의 방법은 약 2481ng/g의 매트릭스-결합 NNK 함량을 초래하였다. 120℃에서 1시간의 방법은 약 1520ng/g의 매트릭스-결합 NNK 함량을 초래하였다. 130℃에서 1시간의 방법은 약 809ng/g의 매트릭스-결합 NNK 함량을 초래하였다. 비교 시, 미처리된 주맥 내의 매트릭스-결합 NNK 함량은 약 2715ng/g이었다. 무-오토클레이빙 방법에서, 매트릭스-결합 NNK 함량은 약 4848ng/g이었다.
- [0129] 또한 도 4에 도시된 바와 같이, 유리된 NNK의 강한 온도 의존 증가가 관찰된다. 110℃에서 1시간의 방법은 약 934ng/g의 유리된 NNK 함량을 초래하였다. 120℃에서 1시간의 방법은 약 1397ng/g의 유리된 NNK 함량을 초래하였다. 130℃에서 1시간의 방법은 약 1859ng/g의 유리된 NNK 함량을 초래하였다. 비교 시, 미처리된 주맥 내의 매트릭스-결합 함량은 약 2715ng/g이었다. 무-오토클레이빙 방법에서, 매트릭스-결합 함량은 약 4848ng/g이었다.
- [0130] 미처리된 주맥에 비해서 "무-오토클레이빙(no autoclaving)" 샘플들 내의 보다 높은 결합-NNK 함량은 미처리된 주맥 내의 건조 중량의 ~30-40%를 차지하는 제1 세척 단계 동안의 수용성 물질(water-solubles)의 소실에 기인하는 것으로 여겨진다. 오토클레이빙된 주맥 내의 대부분의 유리된 NNK는, 최종 세척 단계가 철저히 않은 것과 총 NNK 함량의 추가 감소가 개선된 세척 방법을 적용함으로써, 예를 들면 물/주맥 혼합물의 보다 격렬한 물리적 교반으로 달성될 수 있음을 나타낸다.
- [0131] 실시예 7
- [0132] 첨가된 물-세척된 버얼리종 주맥을 갖는 쉘런들의 연기 NNK 분석
- [0133] 본원에서 설명된 바와 같이 처리된 20%의 첨가되고 세척된 버얼리종 주맥 또는 20%의 오토클레이빙되고 세척된 버얼리종 주맥 재료를 갖는 쉘런들의 연기를 분석해서, 오토클레이빙 동안에 방출된 매트릭스-결합 NNK가 연기 NNK에 기여하는지를 입증하였다.
- [0134] *세척/오토클레이빙된 버얼리종 주맥의 준비*: 잘린 버얼리종 주맥을 각각 1200mL 물(70℃에서 1시간)로 순차적으로 3회 추출한다. 각각의 추출 후, 진공 여과에 의해 고체들을 분리한다. 세번째의 추출 후, 고체들을 냉동하고 동결 건조시킨다. 그런 다음, 추출된 주맥을 MeOH/H₂O(1:1; 각각 480mL; 각 단계 후에 10분 동안 4000rpm으로 원심 분리됨)로 4회 세척하고, 480mL의 물(동일 조건)로 2회 세척하며, 그런 다음 재차 동결 건조시켜 47g의 세척된 버얼리종 주맥(washed Burley stem; wBS)를 제공한다. 이 wBS의 일부(20g)를 물(300mL; 130℃에서 4시간)속에서 오토클레이빙한다. 그런 다음, 혼합물을 원심 분리하고(10분, 4000rpm), 침전물을 각 세척 단계 후에 원심 분리하는 물(300mL)로 3회 세척한다. 세척된 재료를 동결 건조시키면, 10.9g의 오토클레이빙되고 세척된 버얼리종 주맥(autoclaved washed Burley stem; aBS)을 제공한다.
- [0135] *쉘런 준비*: wBS 또는 aBS로 버얼리종 각초의 블렌드들을 핸드-말기(hand-rolling)함으로써 쉘런들을 준비한다. 60-65%RH에서 1-2시간 동안 말기 전에 담배를 조절한다. 700mg의 담배가 쉘런마다 사용된다. 3개의 샘플 종류, 즉 쉘런 A: 100% 버얼리종 쉘런; 쉘런 B: 80% 버얼리종 + 20% wBS; 쉘런 C: 80% 버얼리종 + 20% aBS 각각에 대해 15개의 쉘런을 생성한다.
- [0136] *연기 분석*: 캐나다 보건부 흡연 체도를 이용하여 쉘런들을 흡연하고; 쉘런마다 55mL의 부피 및 30초의 퍼프 간격으로 15회의 퍼프를 수집한다. 3개의 쉘런의 연기를 유리 섬유 필터(캠브리지 패드(Cambridge pad)) 상에 축적한다. 쉘런 종류마다 15개의 쉘런을 흡연한다. Tris-HCl 버퍼(30mL; pH 7.5; 100ng/mL에서 내부 표준 NNK-d4 및 NNN-d4를 가짐)로 흔들어서 패드들을 즉시 추출한다. 그런 다음, 추출물들을 NNK, NNN 및 니코틴에 대해 분석한다.
- [0137] wBS 내의 결합 NNK 함량은 7082ng/g이고; aBS 내의 결합 NNK 함량은 1594ng/g이며; 버얼리종 각초 내의 니코틴 수준은 29.2mg/g이다.

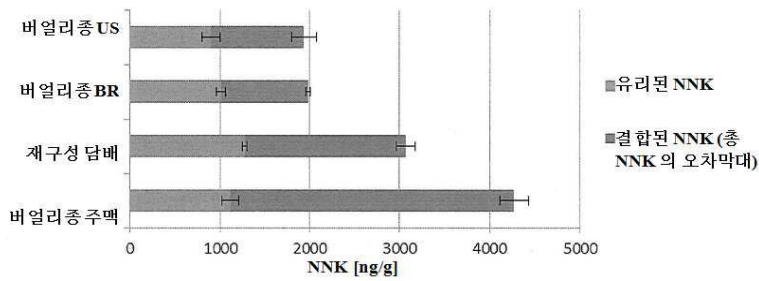
- [0138] 20% wBS 또는 20% aBS가 없는 버얼리종 블렌드에서, 니코틴은 5mg/궐련이고, NNK는 245ng/궐련이며, NNN은 129ng/궐련이다.
- [0139] 20% wBS를 갖는 버얼리종 블렌드에서, 니코틴은 4mg/궐련이고, NNK는 701ng/궐련이며, NNN은 118ng/궐련이다.
- [0140] 20% aBS를 갖는 버얼리종 블렌드에서, 니코틴은 5mg/궐련이고, NNK는 390ng/궐련이며, NNN은 112ng/궐련이다.
- [0141] 첨가되고 세척된 버얼리종 주맥(wBS)을 갖는 궐련들의 연기에서 NNK 수준의 상당한 증가가 발견되었다. 또한, aBS를 갖는 궐련들의 연기 NNK 수준은 wBS를 갖는 궐련들보다도 상당히 낮다. NNN 또는 니코틴에 대해서는 상당한 감소가 관찰되지 않았다. 이는, 오토클레이빙 시에 방출되는 동일한 매트릭스-결합 NNK가 흡연 동안에 에어로졸로 또한 전이되는 것을 나타낸다. 흥미롭게도, aBS를 갖는 궐련들은 순수 버얼리종 궐련들보다도 상당히 많은 연기 NNK를 전달하였다. 어떠한 이론에도 얽매이지 않고, 이는 매트릭스-결합 NNK의 일부가 오토클레이빙 방법에 의해 방출되지 않는 것을 나타낸다. wBS 및 aBS 궐련들의 연기-NNK와 wBS의 결합-NNK 함량(오토클레이브 추출에 의해 측정됨)의 차로부터, 결합-NNK의 연기 전이 산출량(이러한 특수 궐련 디자인 및 흡연 제도에 대해)은 30%로 계산될 수 있다. 이러한 전이 산출량이 니코틴(26%)과 매우 유사하기 때문에, 매트릭스-결합 상태로부터의 방출이 결합 NNK의 연기 전달에 상당한 방해가 없다고 결론을 내릴 수 있다. 이는, 결합 NNK가 미결합된 "유리된"의 미리 형성된 NNK로서의 연기 NNK 농도에 유사한 방식으로 기여하는 것을 의미한다.
- [0142] 실시예 8
- [0143] 세척된 버얼리종 주맥으로부터 NNK의 열 방출
- [0144] 세척된 주맥 분말의 부분들을 유리 솜(glass wool)의 플러그들 사이의 파스테르 피펫(Pasteur pipette)들의 선단 내에 삽입한다. 따라서, 가열 중에 증발하는 임의의 NNK가 피펫의 차가운 부분들에서 응축되고 유리 표면으로부터 추출될 수 있다.
- [0145] 추가 오토클레이빙 및 세척에 따른 분말로 되고 세척된 버얼리종 주맥 또는 세척된 버얼리종 주맥을 유리 솜의 플러그들 사이의 파스테르 피펫들의 선단들에 배치한다. 이 샘플들을 열선총(heat gun)의 노즐에서 35초간 가열한다. 이어서, 샘플 또는 응축물을 함유하는 피펫들의 부분을 으깨고, 유리 하드(glass hard), 유리 솜 및 담배 분말을 Tris-HCl 버퍼(5ml; 50mM; pH7.5; 내부 표준들을 가짐: 100ng/mL 에서의 NNK-d4 및 NNN-d4)로 실온에서 1시간 동안 흔들어서 함께 추출한다. 추출물들의 부분 표준들을 여과시키고, 유리된 NNK, NNN 및 니코틴을 LC-MS에 의해 결정한다. 남아 있는 추출 혼합물들을 오토클레이브(4시간 동안 130°C)에서 가열한다. 총 NNK는 오토클레이빙된 추출 혼합물들의 NNK를 측정함으로써 결정된다. 이러한 실험 설정에서 도달되는 실제 온도들은 유리 솜으로 채워진 파스테르피펫의 선단에 열전쌍을 배치함으로써 측정된다. 시간 의존 온도 측정은 ~20초 후에 T-10°C에 도달한 것으로 나타났다.
- [0146] 결과들이 도 5에 제시되어 있다. 결합 NNK의 유리된 형태로의 방출은 200°C 이상의 온도에서 관찰된다. 40초 동안 270°C의 타겟 온도로 가열하는 것 - 샘플이 ~20초 동안 260°C인 것을 의미함 -은 결합 NNK의 거의 완전한 유리(liberation)를 초래한다. 이러한 온도에서, NNK의 작은 부분(~20%)이 감성된다. 결합 NNK의 ~90%가 오토클레이빙 및 물 세척에 의해 제거되는 물질은 잔여의 결합 NNK 농도로부터 예상되는 농도를 넘어서는 유리된 NNK의 방출 또는 형성을 나타낸다. 니코틴 및 NNN의 방출이 또한 200°C에서 시작해서 관찰되지만, 원래의 버얼리종 주맥 조각들 내의 함량(니코틴: 8.2 mg/g; NNN: 13 µg/g; 유리된 NNK: 2.9 µg/g)과 비교했을 때에 매우 낮은 농도를 갖는다. 200-250°C의 관찰된 NNK방출 온도들은, 매트릭스-결합 NNK가 통상의 궐련들 및 담배가 외부 열원들에 의해 가열되는 신규의 흡연 장치들 양쪽에서 연기 NNK에 기여할 수 있음을 시사한다.
- [0147] 본원에 인용된 또는 설명된 간행물은 이전에 본 출원의 출원일에 앞서 공개된 관련 정보를 제공한다. 본원에서 언급된 것은 그러한 공개에 선행하지 않음을 발명자가 인정하는 것으로 해석되지 않는다. 상기 명세서에서 언급된 모든 간행물은 본원에 참조로 인용된다. 발명의 다양한 조절 및 변형은 발명의 범위 및 의미에서 벗어나지 않으며 본 기술분야의 숙련자에게 명백할 것이다. 발명이 특정한 선호되는 구현예와 관련하여 설명되었지만, 청구범위에 기재된 발명은 특정한 구현예들에 부당하게 한정되지 않아야 하는 것이 이해되어야 한다. 실제로, 세포적, 분자적 및 식물 생물학 또는 관련 분야의 본 기술분야의 숙련자에게 명백한 것을 포함하는, 본원 발명을 실시하기 위하여 기술된 모드들의 다양한 변형들이 이하의 청구범위에 포함된다.

표 1

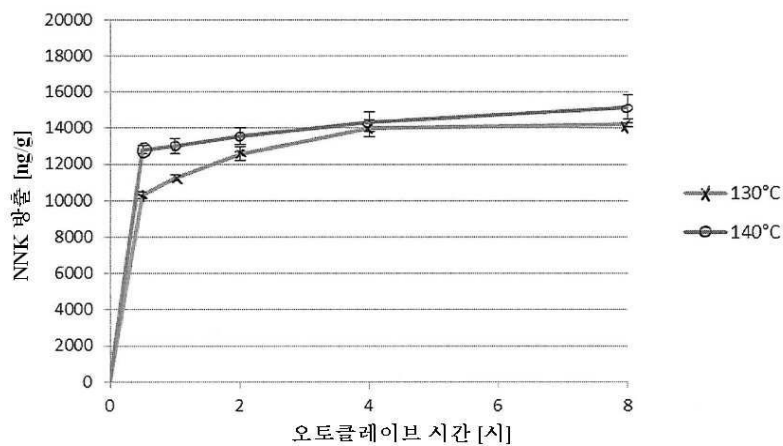
| 샘플 공정 | 유리된 NNK [ng/g] | 결합된 NNK [ng/g] | NNN [ng/g] | 니코틴 [mg/g] |
|----------------------|-------------------|-------------------|---------------|---------------|
| 세척 / (110℃/10분) / 세척 | 792 | 3209 | 1297 | 1.09 |
| 세척 / (130℃/30분) / 세척 | 1543 | 1386 | 1253 | 1.21 |
| 세척 / (130℃/1시간) / 세척 | 1859 | 809 | 1329 | 1.11 |
| 세척 / (120℃/1시간) / 세척 | 1397 | 1520 | 1413 | 1.15 |
| 세척 / (110℃/1시간) / 세척 | 934 | 2481 | 1496 | 1.16 |
| 세척 / 가열 안함 / 세척 | 716 | 4848 | 1394 | 1.28 |
| 미처리 주막 | 965 | 2715 | 6658 | 6.73 |

도면

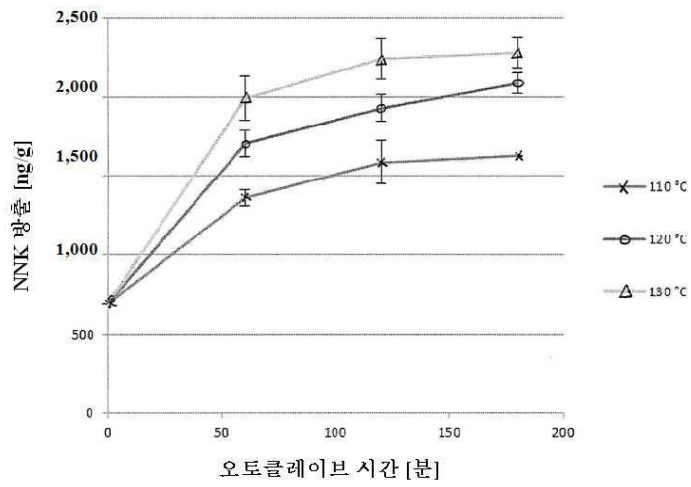
도면1



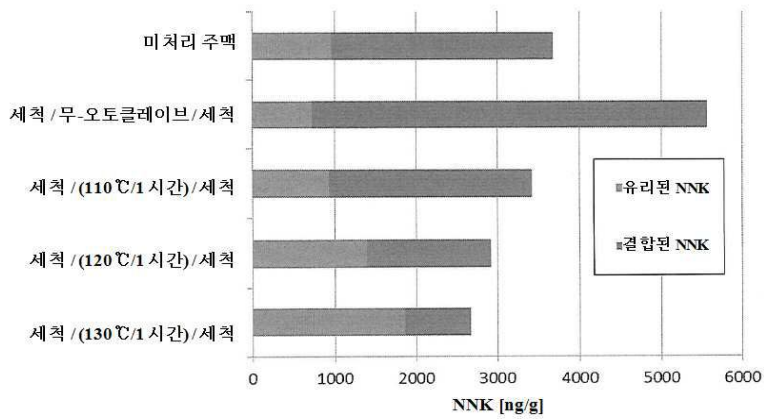
도면2



도면3



도면4



도면5

