(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 102781264 B
(45)授权公告日 2016.10.19

(21)申请号 201180013190.5

(22)申请日 2011.03.08

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 102781264 A

(43)申请公布日 2012.11.14

(30)优先权数据
1003887.5 2010.03.09 GB

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2012.09.10

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/GB2011/050455 2011.03.08

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2011/110843 EN 2011.09.15

(73)专利权人 英美烟草(投资)有限公司
地址 英国伦敦

(72)发明人 J.默菲

(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001
代理人 吕彩霞 林森

(51)Int.Cl.
A24B 15/24(2006.01)
B01D 11/02(2006.01)
A23L 27/10(2016.01)

(56)对比文件
CN 101040701 A,2007.09.26,
CN 101040701 A,2007.09.26,
CN 101289377 A,2008.10.22,
CN 1605618 A,2005.04.13,
CN 1400300 A,2003.03.05,
GB 2014425 A,1979.08.30,
US 5017397 A,1991.05.21,
US 5120558 A,1992.06.09,
US 5497792 A,1996.03.12,
US 5252729 A,1993.10.12,

审查员 李伊乐

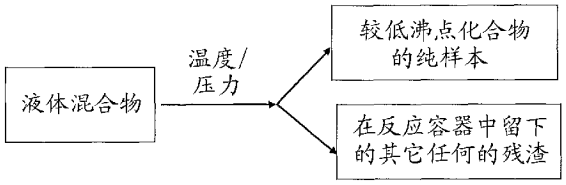
权利要求书2页 说明书23页 附图2页

(54)发明名称

萃取及分离纤维素材料的成分的方法

(57)摘要

一种用于萃取及分离纤维素材料的成分的方法，包括提供纤维素材料；使该纤维素材料与超临界流体接触；自该纤维素材料分离该超临界流体，借此生成萃取物与萃余物；及经蒸馏而分离在萃取介质中存在的至少一种化合物。



CN 102781264 B

1.一种用于自烟草材料萃取及分离成分的方法，该方法包括：

(a) 在提供萃取物的条件下，使烟草材料与超临界流体接触；

(b) 自该萃取物去除不溶的材料；及

(c) 经减压蒸馏而分馏该萃取物以提供一或多种的经分离的成分，

其中步骤(c)包括在80与150℃之间的温度下进行的第一蒸馏步骤。

2.如权利要求1所述的方法，其中在步骤(a)中使用的该超临界流体是二氧化碳。

3.如权利要求2所述的方法，其中在步骤(a)的期间内的温度是40℃，及在步骤(a)的期间内的压力是30MPa。

4.如权利要求1至3中任一项所述的方法，其中该方法另外包括在步骤(b)后的水去除步骤。

5.如权利要求1所述的方法，其中步骤(c)包括在90-120℃之间的温度下进行的第一蒸馏步骤。

6.如权利要求1所述的方法，其中步骤(c)包括在100与110℃之间的温度下进行的第一蒸馏步骤。

7.如权利要求1所述的方法，其中步骤(c)包括在90-130毫巴的压力下进行的第一蒸馏步骤。

8.如权利要求1所述的方法，其中步骤(c)包括在100-110毫巴的压力下进行的第一蒸馏步骤。

9.如权利要求1所述的方法，其中步骤(c)包括在100毫巴的压力下进行的第一蒸馏步骤。

10.如权利要求1所述的方法，其中步骤(c)包括一或多个另外的蒸馏步骤。

11.如权利要求10所述的方法，其中第一个另外的蒸馏步骤是在1与5毫巴之间的压力下进行的。

12.如权利要求10所述的方法，其中第一个另外的蒸馏步骤是在1与3毫巴之间的压力下进行的。

13.如权利要求10所述的方法，其中第一个另外的蒸馏步骤是在2毫巴的压力下进行的。

14.如权利要求10所述的方法，其中第一个另外的蒸馏步骤是在110与180℃之间的最初温度下进行的。

15.如权利要求14所述的方法，其中第一个另外的蒸馏步骤是在135与155℃之间的最初温度，降低至在110与150℃之间进行的。

16.如权利要求14所述的方法，其中第一个另外的蒸馏步骤是在135与155℃之间的最初温度，降低至140℃下进行的。

17.如权利要求10所述的方法，其中第二个另外的蒸馏步骤是在1与5毫巴之间的压力下进行的。

18.如权利要求17所述的方法，其中第二个另外的蒸馏步骤是在1与3毫巴之间的压力下进行的。

19.如权利要求17所述的方法，其中第二个另外的蒸馏步骤是在2毫巴的压力下进行的。

20.如权利要求17所述的方法，其中第二个另外的蒸馏步骤是在110与180℃之间的最初温度下进行的。

21.如权利要求20所述的方法，其中第二个另外的蒸馏步骤是在120-160℃的最初温度下进行的。

22.如权利要求20所述的方法，其中第二个另外的蒸馏步骤是在135与155℃之间的最初温度，降低至在110与140℃之间进行的。

23.如权利要求22所述的方法，其中第二个另外的蒸馏步骤是在135与155℃之间的最初温度，降低至130℃下进行的。

24.如权利要求1-3任一项所述的方法，其中该烟草材料是烟草叶片。

25.如权利要求1所述的方法，其中根据该方法分离的成分是基本纯的，或相较于该成分从中分离的烟草材料、或当处理至可比较的程度时与该成分从中分离的烟草材料相比具有降低含量的一或多种尼古丁、一或多种亚硝基胺类、或苯并[a]芘。

26.如权利要求1所述的方法，其中根据该方法分离的成分是基本纯的，或相较于该成分从中分离的烟草材料、或当浓缩至可比较的程度时与该成分从中分离的烟草材料相比具有降低含量的一或多种尼古丁、一或多种亚硝基胺类、或苯并[a]芘。

27.如权利要求1所述的方法，其中该经萃取的成分基本不含尼古丁、一或多种亚硝基胺类和/或苯并[a]芘。

28.如权利要求10所述的方法，其中该经萃取的成分基本不含尼古丁、一或多种亚硝基胺类和/或苯并[a]芘。

29.如权利要求17所述的方法，其中该经萃取的成分基本不含尼古丁、一或多种亚硝基胺类和/或苯并[a]芘。

30.如权利要求27、28或29所述的方法，其中该经萃取的成分具有低于0.1微克/毫升的亚硝基胺类含量、和/或低于25毫克/毫升的尼古丁含量、和/或低于2纳克/克的苯并[a]芘含量。

31.如权利要求1所述的方法，其中该经分离的成分是一或多种的香豆素、蒲勒酮、胡椒醛、反-茴香脑、黄樟油精、甲基丁香酚或肉豆蔻醚。

32.如权利要求27所述的方法，其中该经分离的成分是一或多种的香豆素、蒲勒酮、胡椒醛、反-茴香脑、黄樟油精、甲基丁香酚或肉豆蔻醚。

33.一种用于自烟草材料萃取成分的装置，其包括用于在足以自烟草材料萃取一或多种溶质的条件下使该烟草材料与超临界流体接触的构件，由此形成萃取物与萃余物；用于自该萃余物分离该萃取物的构件；及在减压下和用于第一蒸馏步骤的在80与150℃之间的温度下自该萃取物内分离一或多种溶质的蒸馏构件。

萃取及分离纤维素材料的成分的方法

技术领域

[0001] 本发明在涉及一种用于萃取及分离纤维素材料的成分的方法，及使用该方法而分离的该成分。更特定的，本发明在涉及包括纤维素材料(诸如烟草)的超临界萃取，随后由蒸馏分离存在于萃取介质中的至少一种成分的方法。

[0002] 被萃取及被分离的纤维素材料的成分具有调味剂和/或香气性质，因为它们对于它们从中分离的纤维素材料、或对于它们随后被加入的纤维素材料赋予一种风味或香气。

[0003] 经分离的成分是计划使用于增进产品的风味和/或香气性质，具体而言，易燃及非易燃的烟草产品，或者烟草-或尼古丁-替代产品。

背景技术

[0004] 易燃及非易燃的烟草产品的使用者对于其使用的产品的味道可是很敏感的。制造此类产品中涉及的方法可导致有助在味道和/或香气的烟草成分的去除。因此在加工前、加工期间内或加工后增进烟草的风味可是期望的。

[0005] 此外，生产提供使用者一种与烟草产品结合的味道或香气感觉，但其本身不包含烟草的产品，例如不含烟草或尼古丁-替代产品，可是期待的。

[0006] 生产提供使用者一种特殊的味道或香气感觉的产品，例如，一种薄荷脑风味和/或气味，亦可为所期望的。

[0007] 此目的可是经由调味剂和/或香气剂的使用而达成。

[0008] 调味剂是能在使用者的口中提供一种感觉的物质。该感觉主要是由味道及气味的知觉而察觉，但是亦可经由在口中的触觉及热感的受体而检测，其检测三叉神经的感觉，诸如涩味、辛辣及热/冷的。

[0009] 在口中产生风味的大多数物质是极性，非挥发性及水溶性的。提供香气的物质必须具有足够的挥发性以容许在嗅觉的受体内或经由鼻或口通路的检测。一个使用者能检测的众多的风味是自化学的化合物与味道、三叉神经及香气的受体的交互作用而产生。

[0010] 非挥发性及挥发性香气及调味剂化合物种类的部分实施例是在以下的表1中提供，然而，应该被了解的是单一种类的化学品可能引发许多不同的风味，特别在不同的浓度下。

[0011] 表1

[0012]

化合物种类	感觉的特征	实施例
醛类	水果味的	己醛、戊醛、乙醛、香草醛
醇类	甜味的	薄荷醇、麦芽醇
酯类	苦味的	乙酸乙酯、丁酸乙酯
酮类	焦糖味的	双乙酰、紫罗酮、呋喃酮类
酚类	药味的，烟熏的	酚(类)、愈创木酚类

[0013] 具有调味剂和/或香气性质的剂可是自多种来源衍生。许多的此等来源是天然的，

例如纤维素材料诸如*Mentha arvensis*(薄荷)或*Mentha piperita*(西洋薄荷),自其可分离一种薄荷调味剂;*Zingiber officinale*(姜),自其可分离一种姜调味剂;*Ribes nigrum*(黑醋栗)的芽,自其可分离调味剂茄酮;*Trigonella foenum-graecum*(葫芦巴),自其可分离调味剂二氢猕猴桃内酯;及*Cichorium intybus*(菊苣),自其可分离菊苣调味剂。

[0014] 调味剂的另一种来源是烟草,已知其包含调味剂诸如蒲勒酮;胡椒醛;香叶草基丙酮;3-甲基丁醛;苯乙醇;十四酸甲酯;芳族醛类诸如苯甲醛及苯乙醛;烷基醛类诸如壬醛、戊醛及己醛;烷基苯类诸如黄樟油精、反-大茴香脑、肉豆蔻醚及甲基丁香酚;酮类诸如紫罗酮、茄酮;萜烯醇类诸如沉香醇;及单环或挥发性萜烯类诸如烟草烯及二氢猕猴桃内酯。

[0015] 能自纤维素材料萃取成分,该成分可具有调味剂和/或香气性质,是所期望的。

[0016] 使用溶剂以萃取纤维素材料的成分是可能的。例如,CN 1166 753揭示,石油醚及纯乙醇在热或冷条件下,应用于自烟草萃取成分,藉以提供"烟草浸出物(extractum)" 的用途。然而,此种萃取方法具有缺点,其需要处理步骤(例如过滤或蒸馏步骤)以自该萃取物分离及去除溶剂。需要去除溶剂这一另外处理步骤是耗费时间且为昂贵的,及亦可能造成具有与该溶剂相似的物理性质的纤维素材料的成分自该"浸出物"被去除。例如,藉由蒸馏(其根据成分的沸点区分)分离的结果,具有与该溶剂相似的沸点的经萃取的芳香或风味化合物可能连同该溶剂被去除。此可能造成该溶剂受到该经萃取的芳香或风味化合物污染,及该风味/芳香化合物自该萃取物中损失。亦已知,纤维素材料的可溶性成分可使用在超临界状态中的溶剂而萃取。此种方法是已知为超临界萃取,或超临界流体萃取。

[0017] 超临界流体是在高于其热力学的临界点的温度或压力的任何物质。当流体接近其临界点时,在压力或温度中的小改变会造成性质,诸如密度,的大改变。

[0018] 超临界流体萃取的基本原理是将进料材料接触超临界流体,造成在该进料材料内的挥发性物质被分隔进入超临界相中。在任何可溶性材料溶解后,去除包含该经溶解的物质的超临界流体,以及自该超临界流体分离出该进料材料的经溶解的成分。

[0019] 如在本文中使用,"超临界流体"表示其温度及压力在或高于其临界点,优选高于其临界点,的介质。当温度及压力是沿着该液体/气体相线增加时,在液体与气体状态之间的区别逐渐消失至一点,即为所谓的"临界点",在该情况中液体及气体相变成一种相。因此,超临界流体的特征在于纯粹的液体与气体之间的物理及热性质。因此,该词汇"超临界流体"涵盖当压力和/或温度是低于或接近临界点时具有两种相的一种介质、及当压力和/或温度是在或高于临界点时具有仅一种相的一种介质。接近及高于该临界点,该介质的性质随着压力和/或温度的仅轻微的变异而快速改变。超临界流体具有相似于液体有机溶剂的溶解能力(solvating powers),但具有更高的扩散率、较低的粘度及较低的表面张力,因此能迅速渗透多孔及纤维的固体。超临界流体的溶解能力因此可是经由改变压力或温度而调节。

[0020] WO 01/65954揭示一种方法,包含使用超临界流体萃取介质在提高的温度及压力下,以处理烟草从而去除亚硝基胺类。

[0021] CN1899142揭示使用超临界CO_2以自烟草叶去除尼古丁包含物。

[0022] 超临界萃取具有优于其它萃取技术的优点,溶剂可是自萃取物去除而无另外的处理步骤的需要。在萃取之后该系统可返回至大气(或非临界)条件,借此使溶剂蒸发。此优点在于在该系统内可以纯粹形式(即未受到经萃取的成分污染)收集及回收再使用该溶剂,同

时无任何经萃取的成分损失至溶剂中。

[0023] 然而，超临界萃取不容许单独的成分自该进料材料有选择性的去除。因此，倘若期望自进料材料移出一或多种特殊的成分，则必须自该超临界流体分离该期望的成分，及剩余的物质再循环回至进料材料。

[0024] 例如，超临界萃取可在足够以自纤维素进料材料萃取基本所有溶质的条件下进行。萃取后是接着分离步骤，其中自超临界流体分离该构成成分。当其它成分是连同超临界流体循环至纤维素进料材料时，一种经分离的成份可被去除，藉以有效再构成进料材料。

[0025] 此种程序的一个实施例是由EP 0 280 817所提供，其揭示一种方法，其企图提供具有经降低的尼古丁含量，而其它成分的含量维持基本未受影响的烟草。EP 0 280 817的方法是有关于以一种在超临界状态或液体状态中的溶剂流通过烟草。然后该溶剂接着流动通过含酸的阱，在该情况中其基本不含尼古丁。该溶剂已经去除尼古丁，但仍然富含其它成分，所述其它成分已经分隔进入该超临界相中，该溶剂再循环返回至烟草的纤维素成分。

[0026] CN1459256揭示超临界CO_2萃取的用途，其是用以自烟草去除有害的成分。包含烟草碎片萃取物的超临界CO_2是在压力及控制温度下进料进入包含吸附的材料(诸如活化炭)的精馏分离器中，从而去除有害的烟草成分。然后使超临界CO_2再与烟草碎片接触，及降低温度及压力，从而达成期望的成分有效转移返回至该碎片。

[0027] 用于自超临界流体分离成分的方法亦是已知的。例如，US 6,637,438揭示高压液体色谱法(HPLC)的使用以分离经由超临界流体萃取而获得的部分。然而，分离的方法诸如色谱法所使用的溶剂是具有潜在毒性，对于环境不友善的和/或易燃的，及其通常需要自分离后的成分去除。此溶剂包括苯、环己烷、二甲亚砜、乙腈、三氟乙酸、三乙胺及甲醇。

[0028] 此外，自超临界流体有效分离单独的构成成分可能是很困难的。特别是在该被期望的成分是以很小数量存在于进料材料内的情况下，或当将被分离的成分的性质是与在进料材料中发现的其它成分的性质很相似时的情况。例如，色谱技术，诸如HPLC及气体色谱法，是依赖于被分离的样品之间的极性差异。凝胶过滤色谱法是依赖于分子量的差异。因此，使用此技术以分离具有相似的分子量或极性的成分是很困难的。

[0029] 另一种已知用于分离互溶混的液体的混合物的方法是蒸馏。VTA Verfahrenstechnische Anlagen GmbH & Co. KG(Nicderwinkling，德国)等公司在蒸馏领域具有重要经验。蒸馏是加热液体直到其沸腾，收集及冷却该得到的热蒸汽，接着收集该得到的经冷凝的样品的方法。以沸腾的液体混合物中的成分的挥发性的差异为根据使用蒸馏以分离混合物，是可能的。蒸馏的理想化的模型主要是由拉乌尔定律及道尔顿定律控制。

[0030] 拉乌尔定律假设，一种成分对混合物的总蒸汽压的贡献是与该成分在该混合物中的百分率及当其为纯的时的蒸汽压成比例。

[0031] 道尔顿定律陈述，由一种气体混合物施加的总压力等于在该气体混合物中的每一单独成分的分压总和。当加热一种液体混合物时，在该混合物内的每种成分的蒸汽压将增加，因此致使总蒸汽压增加。当总蒸汽压达到环绕该液体的压力时，沸腾发生以及遍及液体的整体中的液体转变成气体。当成分是互相可溶时，具有特定组成的混合物在特定压力具有一个沸点。

[0032] 在沸点，混合物的所有挥发性成分沸腾，但是一种单一成分在蒸汽中的百分率是相同于其在总蒸汽压中的百分率。较轻的成分具有较高的分压及因此是在蒸汽中浓缩，但

较重的挥发性成分亦具有一分压及必然亦蒸发，虽然在蒸汽中是较低浓缩的。

[0033] 通常，蒸馏是使用分馏塔而进行。加热混合物直到其汽化。蒸汽向上流过该分馏塔，在其中其逐渐冷却。蒸汽的不同成分在该分馏塔内的不同高度冷凝，容许该原来的混合物的(现在液体)成分被分离。

[0034] 其中使用单一汽化及冷凝相的简单蒸馏程序的一个缺点是，其不能有效分离其沸点差异低于60-70℃的混合物。重复的分馏循环，以企图分离具有较相似的沸点的混合物，可是昂贵的，且仍然不能达成提供在该混合物中的物质之一的纯粹馏出物的目标，特别是当该成分具有相同，或很相似的沸点时。

[0035] 例如，CN 1166 753揭示，多阶段分子蒸馏方法的使用以自浸出物分离烟草成分，该浸出物是已由经压碎的烟草碎片在热或冷条件下曝露于石油醚而获得。

[0036] 当考虑自烟草分离对于烟草提供一种风味或香气的成分时，在自经由超临界萃取而提供的萃取物有效分离单独的组成成分的困难呈现特殊问题。此是由于对于烟草的被认为不被期望的成分，许多的此成分本质是相似的，以及具有相似的物理性质的缘故。

[0037] 例如，确保经分离的成分未受到亚硝基胺类污染是所期望的。亚硝基胺类是在超过100年前首先在化学文献中叙述的一种类型的化学化合物。已知烟草包含某些亚硝基胺类，其是以烟草-特殊的亚硝基胺类(TSNAs)公知。TSNAs是由四种化学化合物组成：N-亚硝基降尼古丁(NNN)；4-甲基-N-亚硝基胺基-1-(3-吡啶基)-丁酮(NNK)；N-亚硝基新尼古丁(N-nitrosoanatabine)(NAT)；及N-亚硝基新烟草碱(N-nitrosoanabasine)(NAB)。TSNAs不被认为以任何显著的量存在于生长的烟草植物或新收割的烟草(绿烟草)中，但被认为是在烟草的加工处理(curing)及老化中生成。

[0038] 理想的自烟草萃取物有选择去除的另一种化合物是苯并[a]芘(B[a]P)，其是在环境中、及在烟草烟雾中发现的多环烃。

[0039] 对于被分离出从而利用其所期望的风味或香气特性的烟草的成分，被苯并[a]芘和/或TSNAs明显污染可是不被期望的。由于这些化合物的物理性质对于期望被分离的烟草成分的物理性质的相似性，所以使用分离化合物的某些方法具有发生此种污染的潜在性。

[0040] 对于被分离出从而利用其风味或香气特性的纤维素材料的成分，受到尼古丁显著污染亦可是不被期望的。例如，在一种无尼古丁的产品中使用此成分可是被期望的。使用某些分离方法具有发生受到尼古丁污染的潜在性，其是由于尼古丁的物理性质对于期望被分离的纤维素进料材料的成分的物理性质的相似性。

[0041] 例如，尼古丁具有162.24克的分子量，及调味剂黄樟油精具有162.2克的分子量。因此，使用一种标准的凝胶过滤分离法的程序(其根据其分子量自一种混合物分离化合物)，不能自一种已经与亦包含尼古丁的进料材料接触的超临界流体中获得黄樟油精的基本纯粹的样品。

[0042] 如下的表2中，详述通常在烟草中发现的香气化合物的部分物理性质。表2亦提供，可认为不被期望的烟草的成分的部分物理性质。

[0043] 表2

[0044]

名称	风味/味道描述	BPt (℃)	MPt (℃)	MWt (g/mol)	溶度 (克/100 毫升水)	密度 (g/cm^3)
NNN	-	153	47	177.2		
NNK	-		71-73	207.23		
NAT	-			189.21		
NAB	-			191.23		
B[a]P	-	495	179	252.31	不可溶	1.24
尼古丁	苦味	247	-79	162.26	迅速可溶	1.01
茄酮	烟草烟雾			194.31		
苯甲醛	杏仁	178.1	-26	106.12	0.6	1.0415
苯乙醛	似蜂蜜/甜/玫瑰/青草味	193	-10	120.15		
壬醛	强烈水果味/花味	195	-18	142.24	不可溶	0.827
烟草烯	似淡淡的蜡	150-152		272.47		
沉香醇	具有少量的芳香的花	198-199	<20	154.25	0.1589	0.86-0.87
十四酸甲酯	似蜡具有蜂蜜的底香 (undertone)			242.4	0.866	
香豆素	香草	301	71	146.14		0.935
薄荷酮	薄荷，樟脑	224		152.23	不可溶	0.9346
胡椒醛	茴香特征	264	35-37	150.13		
反-茴香脑	大茴香/茴香	234	20-21	148.2		0.998
黄樟油精		232-234	11	162.2		1.096
丁香酚甲酯	有香味，似木的，似丁香	256	-9	164.2		1.06
肉豆蔻醚	肉豆蔻	173	<25	192.2		1.1437

[0045] NNN:N-亚硝基降尼古丁;NNK:4-甲基- N-亚硝基胺基-1-(3-吡啶基)-丁酮;NAT:N-亚硝基新尼古丁;NAB:N-亚硝基新烟草碱;B[a]P:苯并[a]芘

[0046] Mwt:分子量;BPt:沸点;MPt:熔点。

[0047] 一或多种的期望的成分受到不良化合物的污染造成进一步处理该样品的需要。此可是昂贵的并且耗费时间的。

[0048] JP 9-10502揭示一种程序以自天然的固体原料萃取一种“目标成分”，诸如尼古

丁，该程序包含将该原料接触第一高压流体。然后使该流体、与溶解在其中的成分接触一种吸收剂。然后使该可溶在吸收剂中的成分接触第二高压流体，该流体已经经历一温度梯度。该温度梯度确保仅有该目标成分溶解在第二高压流体中。将包含该目标成分的第二高压流体引进入一分离器中，其中该一或多种的目标成分是经由降低目标成分在第二高压流体中的溶解度而分离出。

[0049] WO 2007/053096，其是关于亚硝基胺类自烟草的分离及去除，揭示一种需要超过10个处理步骤的方法。

发明内容

[0050] 本发明的一种目的是提供一种简单的方法，其容许来自纤维素进料材料的成分的选择性的分离。

[0051] 具体而言，本发明的一种目的是提供一种简单的方法，其容许沸点和/或蒸汽压相似的化合物的分离。

[0052] 本发明的一种另外的目的是提供一种方法，其包含少于5个处理步骤。

[0053] 本发明的一种另外目的是提供一种对于环境相对友善，其中不需要污染分离基质的方法。

[0054] 本发明的又另一种目的是提供一种方法，为了自纤维素材料萃取可溶的成分，其不需要使用具有潜在毒性或易燃性的萃取溶剂；以及为了自萃取物分离组分，其不需要使用溶剂。

[0055] 本发明的一种另外目的是提供一种方法，其对于市售的仪器和/或机器具有高程度的可控制性以进行步骤。

[0056] 本发明的一种另外目的是提供相对不昂贵的一种方法。

[0057] 本发明的一种另外目的是提供相对清洁的一种方法，其中在该方法中相关的机器不需要过度的清洁循环以返回至原来的操作顺序。

[0058] 于是，在本发明的第一方面中，提供一种用于自纤维素材料萃取及分离成分的方法，该方法包括：

[0059] (a) 在提供萃取物的条件下使纤维素材料与超临界流体接触；

[0060] (b) 自该萃取物去除不溶的材料；以及

[0061] (c) 经蒸馏而分馏该萃取物以提供一或多种经分离的成分。

[0062] 在本发明中所使用的术语“纤维素材料的成分”或“来自纤维素材料的成分”，是关于可被超临界流体溶解的化合物。

附图说明

[0063] 图1是在一种典型的蒸馏方法中的步骤的略图。

[0064] 图2是叙述根据本发明的第一方面的一种实施方案的萃取及蒸馏的流程图。

[0065] 图3是如在以下的实施例1中使用的蒸馏事件的序列的流程图。请注意，来自废物流的材料是在该表中详述的蒸馏单元的起动及停止运转的期间内、及在参数(例如温度及压力)中的改变的期间内收集。因此废物是当单元在不稳定的条件下运转时产生。

具体实施方式

[0066] 在超临界应用中可实际使用的流体的实例是：二氧化碳、六氟化硫、一氧化二氮、具有至多4个碳原子的经卤化的烃类(诸如CF_4、CHF_3、$CClF_3$、$CBrF_3$、$CF_2=CH_2$、$CF_3-CF_2CF_3$、$CHClF_2$、CCl_2F_2、$CHCl_2F$、CCl_3F、$CBrF_3$、$CFCl=CF_2$、CH_3-CF_3)、八氟环丁烷、以及包含至多7个碳原子的烃类(诸如丙烷、丁烷、戊烷、己烷、环己烷、甲苯)、乙醇、丙酮，乙酸甲酯、乙醚、二氯甲烷、四氯化碳。其它有用的流体包括N_2O、SF_6及氩。

[0067] 在优选实施方案中，超临界流体不是具有毒性的、易燃的或对于环境不友善的萃取溶剂。于是，在某些实施方案中，超临界流体不是甲醇或己烷。在优选实施方案中，超临界流体是二氧化碳(CO_2)。

[0068] 该纤维素材料可衍生自植物界的任何物种，诸如树、花、药草、灌木、草、藤、羊齿植物、苔及其类似物。

[0069] 在某些实施方案中，该纤维素材料是衍生自毛蕊花、丁香、薄荷、茶、桉树、或甘菊。

[0070] 在优选实施方案中，该纤维素材料是衍生自维管束植物，及最优选产生种子的维管束植物，诸如Pinophyta(针叶树)、Cycadophyta(苏铁科植物)、Ginkophyta(银杏)、Gnetophyta(买麻藤植物)、及Magnoliophyta(木兰亚纲)。存在于木兰亚纲的族群下的植物材料的族包括Cannabaceae(大麻科)(其包括属Humulus(蛇麻子))、及Solanaceae(茄科)，其亦被称为颠茄植物或马铃薯族。在茄科族内，Nicotiana(烟草属)是特别优选的属，以及对于使用于本发明中特别优选的纤维素材料，是被称为烟草植物或简单烟草的烟草属物种。

[0071] 烟草包含在自纤维基质起始的范围内的远超过3,000种化合物，例如高分子量聚合的化合物诸如纤维素、及主要是非挥发性的多种的中间分子量成分(例如半纤维素及木质素)、及低分子量成分(包括香气及风味化合物)。

[0072] 烟草成分的实例包括类胡萝卜素衍生物类、生物碱类、亚硝基胺类、润湿剂类、金属类、以尼古丁例示的非聚合的化合物类、降尼古丁、新烟草碱、麦斯明(myosmine)、去氢新尼古丁(antabine)、甘油、丙二醇、三甘醇、氨、镍、铅、镉、铬、砷、硒、汞、苯并[a]芘、硝酸盐、甘油三乙酸酯、丙酸钠、山梨酸、及丁香酚。

[0073] 在本发明的优选实施方案中，经由根据本发明的第一方面的方法而萃取及分离的纤维素材料的成分具有调味剂和/或香气性质，其中其对于该成分从中分离的该纤维素材料、或对于随后其将加入的纤维素材料提供风味或香气。

[0074] 在某些实施方案中，该成分可是一种或一种以上的香豆素、蒲勒酮、苯乙醛、壬醛、烟草烯、沉香醇、紫罗酮、香叶草基丙酮、3-甲基丁醛、戊醛、己醛、苯乙醇、十四酸甲酯、苯甲醛、胡椒醛、反-茴香脑、茄酮、二氢猕猴桃内酯、黄樟油精、甲基丁香酚、肉豆蔻醚及其佐剂或衍生物。

[0075] 在优选实施方案中，经由根据本发明的第一方面的方法而萃取及分离的纤维素材料的成分基本不含尼古丁、一或多种的亚硝基胺和/或苯并[a]芘。在最优选实施方案中，经由根据本发明的第一方面的方法而萃取及分离的纤维素材料的成分基本不含尼古丁。

[0076] 在优选实施方案中，根据本发明分离的成分基本是纯的。

[0077] 在某些实施方案中，根据本发明分离的成分是有在80-100％、90-100％、95-

100％、98-100％、99-100％、或99.5-100％之间纯度的。在某些实施方案中，该经分离的成分是有在75-95％、75-90％或85-90％之间纯度的。

[0078] 该词语“纯的”，如在本文中使用，意味着该一或多种的经分离的成分是仅由一或多种的期望的成分组成，以及未受到该纤维素材料的其它一或多种成分污染。

[0079] 在优选实施方案中，在根据本发明的第一方面的方法中使用的纤维素材料包含来自植物的茎或叶片的材料或由其组成。在特别优选实施方案中，该纤维素材料包含烟草茎或烟草叶片或由其组成。在最优选的实施方案中，使用的纤维素材料包含烟草叶片或由其组成。通常，多数的风味化合物是维持在植物的叶的叶片部分之内，及在根据本发明的方法中使用该叶片因此改良调味剂/香气化合物的产量。然而，该叶片亦包含多种的糖类及尼古丁。此外，大多数的亚硝基胺类及B[a]P是在经烟道气加工处理的维吉尼亚烟草(Virginia tobacco)的叶片中、及在经空气加工处理的白莱烟草(Burley tobacco)的叶片及茎中发现。因此，自叶片萃取的成分有可能受到尼古丁、和/或一或多种的亚硝基胺类和/或B[a]P污染。

[0080] 如在本发明的第一方面的步骤(a)中详述，为了获得最适的萃取特性，在超临界萃取步骤前可以一或多种方法任选处理该纤维素材料。例如，可以化学碱诸如碳酸氢铵预处理该纤维素材料。

[0081] 或者，或除此之外，在超临界萃取之前可预水合(pre-hydratyed)该纤维素材料。此可是藉由，例如，取一种已知水分含量(如经由标准的分析程序而确定)的纤维素材料，及在一个容器中安置已知重量的该纤维素材料连同合适数量的水而达成。混合该纤维素材料与水，及密封该容器及将其留置在约4℃、历时约24小时以容许达到平衡。水分含量可是经由使用标准的分析程序以测试该纤维素材料的样品而确定。

[0082] 纤维素材料的水分含量优选应不超过形成含水浆料的水平，其导致该纤维素材料的瓦解。通常，在以超临界流体萃取之前，该纤维素材料(特定烟草)具有自以重量计低于10％至以重量计约50％的水分(水)含量；优选以重量计自低于约10％至约35％；更优选以重量计自低于约10％至约20％；及再更优选以重量计低于1、2、3、4或5％至约10％的水分含量。

[0083] 可使用纤维素材料以，例如水，的预处理，以转移在使用根据本发明的方法而萃取的纤维素材料的成分的种类中的平衡。由于水与超临界流体的混合的结果，该纤维素起始材料的水合作用可影响经萃取的化合物的平衡。在与在存在最少水的情况中的超临界流体的极性和/或pH的比较中，此种混合导致超临界流体/水萃取溶剂的极性和/或pH的改变。

[0084] 纤维素材料经由研磨、粉碎或其它方式减小其尺寸(例如产生经切割的碎片)的预处理可致增进的萃取容量，此因为在曝露至萃取溶剂的纤维素材料的表面积中的增加的缘故。此容许在根据本发明的第一方面的方法的步骤(a)的期间内使用的萃取液体与纤维素材料密切接触。

[0085] 只要该流体是在或高于临界点，则在超临界萃取的期间内可施加任何压力及温度。对于二氧化碳，温度可是低至约30℃，更优选至少约31.1℃。适合的，该温度是至少约35℃，优选约40℃，及可是至少约100℃。该温度可是在约30℃至约150℃的范围内；更优选自约35℃至约100℃；再更优选自约35℃至约80℃。

[0086] 在萃取的期间内施加的压力可是在或高于使用于该方法中的超临界流体的临界

压力。对于二氧化碳，压力可是低至约7.0MPa，优选压力是至少约7.38或7.382MPa。更优选，该压力是至少约15MPa；更优选至少约25MPa；及再更优选至少30MPa。该压力优选是自约7.382MPa至约100MPa；更优选自约15MPa至约80MPa；及最优选自约20MPa至约60MPa。

[0087] 当使用二氧化碳作为超临界流体时，40℃的在超临界萃取的期间内的温度及30MPa(300巴)的压力是特别优选的。

[0088] 在一种特别优选的实施方案中，超临界萃取是每kg的纤维素材料使用70kg的二氧化碳作为超临界流体，在约或精确的40℃的在超临界萃取的期间内的温度及约或精确的30MPa的压力进行。

[0089] 已发现40℃的温度及30MPa的压力对于烟草提供最适的溶解能力，借此确保在烟草进料材料中的尽可能多种及多量的挥发性物质是去除及分隔进入超临界相中。

[0090] 以超临界流体接触纤维素材料的期间可变动及适合的是这样一种长度，以求容许以重量计至少20％的溶质从该纤维素材料去除。萃取的期间是受到使用的超临界流体的类型、使用的纤维素材料的类型、纤维素材料的形状、使用的萃取条件及萃取容器的类型影响。通常，纤维素材料接触超临界流体历时至少5分钟；更优选历时至少20分钟；及最优选历时至少60分钟。

[0091] 在根据本发明的超临界萃取后的萃取机器的清洁可是经由进行一或多次的“干运转”，经由在任何纤维素进料材料的不存在下将一种超临界溶剂流动通过该机器而达成。本发明的优选实施方案，其使用无毒性或不易燃/对于环境友善的萃取超临界流体(诸如二氧化碳(CO_2))，如在本发明的实施方案中，协助该清洁方法。此特别的是在对于单一种类的纤维素进料材料(诸如烟草)使用该机器的情况。

[0092] 在超临界萃取之后，包含来自纤维素材料的溶质的超临界流体是自该纤维素材料分离，优选在维持的超临界条件下。此种分离产生萃取物(亦称作萃取介质/萃取溶液)与萃余物，其是经萃取后(不溶)的纤维素材料。萃余物自萃取物的分离可是经由任何适合的分离方法而完成，诸如过滤、倾析、沉降或筛分。

[0093] 接着经由蒸馏而分离在萃取物内的溶质。已发现使用本发明以在蒸馏方法中可能达到一高灵敏度。此容许在萃取物内的具有很相似的沸点(诸如5-10℃或较小的沸点差异)的成分的分离，因此容许香气化合物的分离，同时将经由不被期望的物质(诸如亚硝基胺类、苯并[a]芘和/或尼古丁)的污染降至最低。此种灵敏度是经由在蒸馏方法中涉及的参数(及具体而言，在蒸馏的期间内使用的一或多种的温度及一或多种的压力、及该萃取物引入蒸馏室中的速率)的谨慎的选择而达成。

[0094] 经由谨慎的控制在蒸馏方法的期间内的某些参数，甚至小数量的纤维素材料成分可自该萃取溶剂分离。经萃取的成分可是高度浓缩的形式，且此形式可是有利的，因为对于提供或增进将其组合入的产品的风味或香气可需要仅很小量的该成分。此意味着该方法是有效率的并且为成本有效的。

[0095] 在根据本发明的优选实施方案中，蒸馏是在降低的压力(与大气压力比较)下进行。此可是经由在真空中进行蒸馏方法而达成。真空蒸馏以当液体的蒸汽压超过周围压力时发生沸腾的原理为操作原则。例如，尼古丁在大气压力下在247℃沸腾，但是在0.022大气压力下(17托；22.6毫巴(mbar))则在124℃沸腾。降低的压力的使用可因此使蒸馏方法较有效率并且为较成本有效的。

[0096] 在某些实施方案中，根据本发明的第一方面的蒸馏步骤是分子蒸馏。“分子蒸馏”是意味着，真空蒸馏的使用是提供很低的压力，诸如低于5、2、1或0.5毫巴。

[0097] 视使用的超临界萃取条件而定，自根据本发明的方法的超临界萃取步骤生成的萃取物可是富含水的，包含约80％的水。在某些情况中，萃取物可包含多达98％的水含量。于是，在根据本发明的某些实施方案中，第一蒸馏步骤可包括过量的水的去除。在进行蒸馏的进一步步骤之前，自萃取物去除过量的水可是有利的，此由于自该萃取物分离得到的成分会较为浓缩的缘故。此外，在很低的压力下（诸如可是在该蒸馏方法的后期步骤的期间内使用的那些）不可能使水冷凝，并且过量的水的存在可能影响所使用的任何真空泵的吸入容量。去除水作为最初蒸馏的一部分因此协助改良进一步蒸馏步骤的效率。于是，在某些实施方案中，富含水的萃取物是加热至100-110℃，任选在降低的压力下，诸如100-130毫巴。在优选实施方案中，使用100-110℃的温度及100毫巴的压力。

[0098] 蒸馏方法通常产生三种馏分：“重”馏分（也称为“残渣”）；“中间”馏分（也称为“馏出物”）；及“轻”馏分（也称为“冷阱样品”）。在萃取物内的成分被分隔进入不同馏分中是由挥发性决定：蜡及其类似物通常积聚在残渣中；较挥发性的物质通常积聚在馏出物中；而最挥发性的物质积聚在冷阱中。在其中该萃取物是富含水的情况中，该馏出物可是富含水的。

[0099] 在优选实施方案中，萃取物是在降低的压力（优选经由真空、与热的使用而产生）的持续的条件下引进入蒸馏室中。经由在此等条件下、以及以适合的速率引进萃取物，在该室内形成萃取物的薄膜。挥发性成分开始自该膜蒸发，以及该系统是足够灵敏以容许不同挥发性的成分在该装置内的特定位置（所谓“冷手指”）冷凝，自该位置可将其去除，因此有效的分离在该萃取物内的成分。经由调节真空、温度、萃取物的引进速率以及因此在该室内形成的薄膜的流动速率，可控制留在该萃取物中的“轻”与“重”馏分的相对比例。

[0100] 通常使用冷阱以收集任何超-挥发性成分，其等在使用的条件下不冷凝在冷手指上，而持续挥发。在某些实施方案中，冷阱可单纯的发挥作用以保护所使用的任何真空泵免于最挥发性的成分。

[0101] 在优选实施方案中，该萃取物是充分缓慢的引进入蒸馏室中，以容许在该室内形成薄膜。

[0102] 在优选实施方案中，第一蒸馏步骤包括在降低的压力（诸如90-130毫巴）下加热该萃取物至在100-110℃之间的温度。更优选，使用100-110℃的温度及约100毫巴的压力。自该系统去除馏出物及冷阱样品以及接着可改变蒸馏参数，从而获得另外的馏分。

[0103] 于是，在某些实施方案中，自第一蒸馏步骤生成的残渣是经由在该系统内的压力改变至介于1与5毫巴之间，更优选在1与3毫巴之间，及最优选使用2毫巴的压力；连同在110与180℃之间，更优选在120与160℃之间，再更优选在135与155℃之间，及最优选为150℃的最初温度；降低至在110与150℃之间，及更优选为140℃而进一步分馏。

[0104] 一种或另外的蒸馏运转可是经由进一步改变系统的压力和/或温度而进行，因此产生另外的馏分。例如，自在110与180℃之间，更优选在120与160℃之间，再更优选在135与155℃之间，及最优选150℃的最初温度，可降低该系统的温度至在110与140℃之间，及更优选130℃，同时维持该系统内的压力在1与5毫巴之间，更优选在1与3毫巴之间，及最优选2毫巴。

[0105] 自该蒸馏方法获得的馏分可浓缩作为香气化合物使用，例如经由加热以去除过量的水。

[0106] 尼古丁、B[a]P及TSNAs在该馏分中的量可是使用标准的操作程序而测定，诸如在以下的实施例2及3中略述者，本领域技术人员对于其等将是精通的。

[0107] 使用超临界萃取以自纤维素材料萃取成分，接着使用蒸馏来分馏该萃取物以容许来自萃取物内的一或多种成分的有选择性分离，相对于用于隔离与分离纤维素材料的成分的已知技术具有数种优点。

[0108] 首先，根据本发明的方法容许沸点及蒸汽压相似的化合物的分离。此意味着在纤维素材料内的化合物可是精确的萃取及分离，产生基本纯的样品。

[0109] 相较于已知的萃取/分离技术，该方法是简单的，在某些实施方案中，包括低于5个处理步骤。

[0110] 本方法对于环境是相对友善的，此由于其不需要具污染性的分离基质诸如二氧化硅、氧化铝或珠粒从而自萃取溶剂分离纤维素材料的成分的缘故。分离基质的不存在同时也代表本方法是相对不昂贵的。

[0111] 此外，分馏该萃取物从而分离成分的步骤不需要使用溶剂。此避免与许多溶剂的使用相关的环境及健康危险。其亦降低成本，此由于溶剂自系统的去除可为能量密集的，及因此昂贵的缘故。

[0112] 此外，在根据本发明的第一方面的优选实施方案中，自纤维素材料萃取可溶性成分的步骤不需要使用具有潜在毒性、对于环境不友善或易燃的萃取溶剂(诸如甲醇或己烷)。此再度避免与此等溶剂的使用相关的环境及健康的危险，及降低与自该系统去除此等溶剂相关的成本。

[0113] 本方法亦是相对清洁的，此由于其不需要过度的清洁循环从而将萃取和/或蒸馏机器还原至原始的操作条件的缘故。对于使用该机器只处理纤维素材料，及具体而言，处理烟草尤其如此。

[0114] 就用于进行该等步骤的市售的仪器和/或机器而言，本方法具有高度的可控制性。例如，市售的设备通常容许在超临界萃取程序中涉及的压力及时间；及在蒸馏程序中涉及的温度、时间及压力的谨慎的控制。此致使该方法能在很精确的条件下进行。此亦意味着在其下进行萃取及分离的条件可是巨量的变动，从而使特定的化合物的分离最优化。

[0115] 根据本发明的第一方面的方法因此容许来自纤维素材料的成分的分离，该成分基本不含一或多种的下列：亚硝基胺类(及具体而言，一或多种的烟草特殊的亚硝基胺类(TSNAs))、尼古丁、及苯并[a]芘(B[a]P)，或相较于该成分从中分离的纤维素材料、或与当浓缩和/或处理至一种可比较的程度时与该成分从中分离的纤维素材料，该成分具有降低含量的一或多种此等化合物。

[0116] 在本发明的另一方面中，提供经由根据本发明的第一方面的方法而可获得纤维素材料的一或多种的成分。

[0117] 在优选实施方案中，该经分离的成分对于该成分从中分离的纤维素材料、或对于该成分随后被加入的纤维素材料提供一种风味或香气。

[0118] 在某些实施方案中，该成分可是一或多种的香豆素、蒲勒酮、苯乙醛、壬醛、烟草烯、沉香醇、紫罗酮、香叶草基丙酮、3-甲基丁醛、戊醛、己醛、苯乙醇、十四酸甲酯、苯甲醛、

胡椒醛、反-茴香脑、茄酮、二氢猕猴桃内酯、黄樟油精、甲基丁香酚、肉豆蔻醚及其等的佐剂或衍生物。

[0119] 对于在烟草产品中的使用，可使用根据本发明分离的成分以增进烟草的风味。或者，可使用此等成分以生产不含烟草的产品、或作为该产品的一部分，诸如烟草-或尼古丁-替代产品。例如，根据本发明分离的成分可是组合入锭剂、或吸入产品中，诸如由放弃吸烟的人使用的那些。

[0120] 或者，可使用根据本发明分离的成分以产生对于使用者提供一种特殊的味道或香气感觉的产品，例如，可将经分离的成分组合入可溶解的条片或膜、锭剂、胶囊、鼻喷雾、口腔喷雾、雾剂及口香糖中。

[0121] 在优选实施方案中，根据本发明分离的成分基本不含一或多种的亚硝基胺类(及具体而言，烟草特殊的亚硝胺类(TSNAs))、尼古丁和/或苯并[a]芘(B[a]P)，或相较于该成分从中分离的纤维素材料、或当处理和/或浓缩至可比较的程度时与该成分从中分离的纤维素材料，具有降低的含量。

[0122] 在优选实施方案中，根据本发明分离的成分的尼古丁含量是低于25毫克/毫升，及更优选低于20、19、18、17或16毫克/毫升。

[0123] 在优选实施方案中，在根据本发明分离的成分中的总TSNA含量是低于8、7、6.9或6微克/毫升；更优选低于5、4、3、2或1微克/毫升；及再更优选低于0.5或0.1微克/毫升。

[0124] 在优选实施方案中，在根据本发明分离的成分中的N-亚硝基降尼古丁(NNN)的含量是低于3.5微克/毫升；更优选低于3微克/毫升；及再更优选低于2微克/毫升或低于可定量的含量。

[0125] 在优选实施方案中，在根据本发明分离的成分中的4-甲基-N-亚硝基胺基-1-(3-吡啶基)-丁酮(NNK)的含量是低于1.7微克/毫升；更优选低于1.6微克/毫升；及再更优选低于1.5微克/毫升或低于可定量的含量。

[0126] 在优选实施方案中，在根据本发明分离的成分中的N-亚硝基安那他品(NAT)的含量是低于2.4微克/毫升；更优选低于2微克/毫升；及再更优选低于1.8微克/毫升、或低于可定量的含量。

[0127] 在优选实施方案中，在根据本发明分离的成分中的N-亚硝基新烟草碱(NAB)的含量是低于0.14微克/毫升；及更优选低于0.1微克/毫升；或低于可定量的层级。

[0128] 在优选实施方案中，在根据本发明分离的成分中的苯并[a]芘的含量是低于40纳克/克；优选低于30纳克/克；更优选低于25或20纳克/克；再更优选低于10或5纳克/克；及最优选低于1、0.5、0.4、0.3、0.2或0.1纳克/克。

[0129] 在某些实施方案中，根据本发明分离的成分具有在80-100％、90-100％、95-100％或98-100％之间纯度。在某些实施方案中，根据本发明分离的成分具有在75-95％之间的纯度、75-90％纯度或85-90％纯度。

[0130] 在本发明的另一方面中，提供一种用于自纤维素材料萃取成分的装置，包含用于在足以自植物材料萃取一或多种溶质的条件下使纤维素材料与超临界流体接触的构件，藉以形成萃取物与萃余物；用于自该萃余物分离该萃取物的构件；及自该萃取物内分离一或多种成分的蒸馏构件。

[0131] 容许其中萃取溶剂以超临界状态存在的条件下操作的装置在本领域中是已知的，

且通常包含一或多个的抗压的容器与结合的设备构件。

[0132] 在某些实施方案中，该装置包含萃取槽，超临界流体，诸如超临界的二氧化碳，是自工作槽经由一或多个的泵而引进入其中。该二氧化碳可是引导经过热交换器以致使其到达方法温度。然后使该二氧化碳与植物材料密切的接触。此可是经由引导该超临界流体通过以并联连接的一或多个容器(其包含该植物材料)而进行。

[0133] 自该萃余物分离该萃取物的构件在本领域中是已知的。在某些实施方案中，该分离构件包含缓冲槽或分离器容器，其包含用于基本成分的阱，借此去除粒子和/或某些经溶解或经悬浮的物质。

[0134] 蒸馏构件在本领域中是已知的，及通常包含蒸馏烧瓶、蒸馏头或分馏塔、检测温度的构件、冷凝器及一或多个的接收容器。该蒸馏头/分馏塔以该蒸馏烧瓶连结该冷凝器。检测温度的构件通常是位在该蒸馏头的分枝，从而测量蒸汽气体的温度。冷凝器通常是双层塔，其具有在外层中流动的冷水。可将沸腾的碎片加入该蒸馏烧瓶中以容许均衡的沸腾。该系统可另外包含用于经分离的一或多种的溶质的处理的构件。

具体实施方式

[0135] 实施例1

[0136] (i) 超临界CO_2萃取

[0137] 以超临界CO_2萃取约5kg的烟草。经切割的碎片烟草是使用一种CO_2萃取设备，在表3中表示的条件下萃取。

[0138] 表3 用于经切割的碎片烟草的超临界CO_2萃取的条件

[0139]

条件	细节
萃取溶剂：	在30MPa及40℃的超临界CO_2
流动速率：	每小时8kgCO_2
进料的次数*	16
进料基准	CX249/090 - CX249/105
每次进料的原料	308.9克±1.5
每kg烟草的CO_2 kg	69.0±1.5
萃取产率	9.0%重量/重量±0.1%重量/重量
经萃取的烟草的总数量	4941.8克
萃取物的总数量	443.2克
使用烟草的总数量	4491.8克
萃取物的产率	8.97%

[0140] *除了进料6外，来自所有进料的萃取物是集中及放置在冷储存，以用于蒸馏的中间储存。来自进料6的萃取物亦是放置在冷储存，以用于分析。

[0141] 来自4941.8克的经切割的碎片烟草的超临界CO_2萃取的粗萃取物的产量是443.2克(8.97%)。此一种样品被送至分析，及剩余的数量(307.9克)是使用蒸馏而分馏。

[0142] (ii) 蒸馏

[0143] 被蒸馏的烟草萃取物(416.65克)是蜡状固体的富含水的悬浮液。估计该萃取物的

水含量是80％。用于蒸馏的方法是如以下陈述。

[0144] 1．第一阶段蒸馏，包括水去除，是经由在130毫巴压力及100℃操作该系统而进行。获得61.4克的残渣，连同246克的馏出物(馏分1)，即20:80的分配，如预估自在粗烟草萃取物中的水的估计数量。

[0145] 2．在2毫巴的压力，及150℃的最初温度，降低至140℃进一步分馏来自以上的阶段1 的残渣(以提供馏分2)，在该期间内具有该残渣的某些炭化，及降低至130℃(以提供馏分3)。

[0146] 蒸馏事件的顺序及如何收集该样品是在图3中表示。具有9种样品以用于分析。此外，具有4种废物流，其等是在该蒸馏的起动或停止运转步骤的期间内，即当该蒸馏单元不是在稳定的条件下运转时收集。

[0147] 表4 来自蒸馏的样品细节。

[0148]

馏分	号码	样品	细节
1	1613/01	进料	进料材料的样品
	1613/01	馏出物	自第一蒸馏获得的馏出物
	1613/01	残渣	在第一蒸馏后留下的样品
	1613/01	冷阱	在第一蒸馏后在冷阱中收集的挥发性材料
2	1613/02	馏出物	自残渣 1613/01 在 140℃及 2 毫巴的条件下的蒸馏获得的馏出物
	1613/02	残渣	在蒸馏后留下的样品
3	1613/03	馏出物	自残渣 1613/01 在 130℃及 2 毫巴的条件下的蒸馏获得的馏出物
	1613/03	残渣	在蒸馏后留下的样品
	1613/03	冷阱	来自试验 2 及 3 在冷阱中收集的挥发性材料

[0149] 结果

[0150] 第一蒸馏步骤产生246.0克的馏分1(1613/01馏出物;79.9％)。

[0151] 来自此步骤的残渣，“1613/01残渣”(产量＝61.4克，19.9％)，被分离及使用于两种不同的条件下的蒸馏:1) 10.7克的1613/01残渣在2毫巴压力下，最初在150℃然后降低至140℃的蒸馏，产生3.3克的馏分2(馏出物1613/02;30.8％);及2) 14.0克的1613/01残渣在2毫巴压力下在130℃的蒸馏，产生3.7克的馏分3(馏出物1613/03;26.4％)。

[0152] 使用标准程序测定在烟草进料材料、粗萃取物及蒸馏馏分1-3中的尼古丁、苯并[a]芘及TSNAs的数量，该程序对于本领域技术人员是熟悉的，如在实施例2及3中详述。结果是在以下的表5中，连同对应的产量信息。

[0153] 表5 来自烟草萃取物的蒸馏的被分析物及反应产量

[0154]

细节	烟草	粗萃取物	馏分		
			1	2	3
关税号码	CR07 / 00025	-	-	-	-
代码	CRT B297	-	-	-	-
PSP-代码	PA-07-1040	PA-07-1272	PA-08-0283	PA-08-0283	PA-08-0283
开始材料(克)	-	4941.8	307.9	10.7	14.0
产量(克)	-	443.23 (9.0%)	-	-	-
馏出物(克)	-	-	246.0 (79.9%)	3.3 (30.8%)	3.7 (26.4%)
残渣(克)	-	-	61.4 (19.9%)	7.3 (68.2%)	10.2 (72.9%)
冷阱(克)	-	-	0.6 (0.2%)	0.1 (1.0%)	0.1 (0.7%)
尼古丁(毫克/毫升)	23.1	42.40	15.45	54.00	63.50
还原糖(毫克/毫升)	100.0	12.0	-	-	-
总糖(毫克/毫升)	109.0	18.0	-	-	-
NAB(微克/毫升)	0.04	0.204	0.002	3.57	1.85
NAT(微克/毫升)	0.58	2.98	0.026	53.4	29.0
NNK(微克/毫升)	0.49	3.61	0.011	28.0	9.07
NNN(微克/毫升)	0.83	6.22	0.042	82.3	41.8
总 TSNA 含量(NAB+NAT+NNK+NNN) 微克/毫升	1.94	13.014	0.081	167.27	81.72
B[a]P(纳克/毫升)	41.2	0.40	<0.40	137.93	23.76
NIR 水(%)	12.7	-	-	-	-
烘箱水分(%)	13.3	-	-	-	-

[0155] 可定量的限制(LOQs):B[a]P=0.04纳克/克;TSNAs:NAB=0.04微克/克;NAT=0.08微克/克;NNK=0.08微克/克;NNN=0.08微克/克。

[0156] 为了比较，经处理的烟草(即已经被浓缩及处理至一种可比较的程度以成为在本实施例中使用的烟草，及其是准备好以组合入一种吸烟产品中)通常具有下列含量的烟草-特殊的亚硝基胺类、尼古丁及B[a]P：

[0157] 尼古丁(以掺合的烟草为基础)：24毫克/克

[0158] B[a]P：0.8纳克/克

[0159] TSNAs：

[0160] NAB：140.55纳克/克(0.1405微克/克)

[0161] NAT：2473.78纳克/克(2.474微克/克)

[0162] NNK：1791.49纳克/克(1.791微克/克)

[0163] NNN：3539.25纳克/克(3.539微克/克)

[0164] 总TSNA含量：7945.07纳克/克(7.945微克/克)。

[0165] 如自表5可观察到，馏分3包含比该烟草进料材料显著低的B[a]P。

[0166] 此外，在馏分1中的所有TSNAs的含量是低于可定量的限制(LOQ)。此外，在馏分1中的每种的NAB、NAT、NNK、NNN、B[a]P及尼古丁的含量是比在未经处理的烟草起始材料中的可比较含量低。此外，在馏分1中的每种的NAB、NAT、NNK、NNN、B[a]P及尼古丁的含量是比在经处理至一种可比较的程度的烟草中的可比较含量低。

[0167] 然而，馏分1是一种水性馏出物。倘若馏分1是经浓缩(经由去除水，例如经由冷冻干燥)以提供3.5克的一种馏出物，则在馏分1中的烟草、TSNA(总含量)、及B[a]P的含量近似的是如下：

[0168] 尼古丁：1085.1毫克/毫升

[0169] B[a]P：＜28.11纳克/毫升

[0170] 总TSNA含量：5.69微克/毫升。

[0171] 于是，浓缩形式的馏分1包含比该未经处理的烟草起始材料显著低的B[a]P；及比经处理至可比较的程度的烟草低的总TSNA含量。

[0172] 实施例2：

[0173] 用于测定B[a]P含量的方法(至多至5纳克/克的浓度)

[0174] 概括的说，一种2克试验样品是在含氢氧化钾的甲醇中萃取及使用液体/液体分离而清洗。然后该样品是经由气体色谱法质谱测定法(GCMS)而分析及对水分校正，以产生以干重量计的以纳克/克的方式表示结果。

[0175] 试剂：

[0176] 萃取溶液

[0177] 60克的氢氧化钾在约500毫升的甲醇及100毫升的水中。搅拌该混合物直到其冷却为止，及在体积中的任何减少是经由甲醇的添加而校正。

[0178] 二甲基甲酰胺(DMF)/H_2O溶液

[0179] 100毫升的H_2O及约500毫升的DMF。充分的摇动该混合物及容许其冷却。一旦已经冷却后，在体积中的任何减少是经由另外的DMF的添加而校正。

[0180] 饱和的氯化钠溶液

[0181] 500毫升的H_2O及足够的氯化钠致使其不完全溶解。充分的摇动。

[0182] 10％的经去活化的二氧化硅

[0183] 将200克的经活化的二氧化硅引进入具有聚四氟乙烯密封盖的1升肖特(schott)瓶中，并插入一个玻璃塞子。将20毫升的水以5毫升的等分量引进入该瓶中，在添加之间滚动该瓶。留置该瓶历时至少2小时以达到平衡。

[0184] 内部标准添加溶液(Internal Standard Spiking solution)

[0185] 以环已烷稀释10毫升的内部标准(ISTD)原液至500毫升(浓度＝10纳克/毫升)。

[0186] 校正标准

[0187] 原液A(B[a]P浓度＝500纳克/毫升)：以HPLC等级环已烷稀释溶在环已烷中浓度为100纳克/微升的0.5毫升的B[a]P至100毫升。

[0188] 原液B(B[a]P浓度＝50纳克/毫升)：以HPLC等级甲醇稀释10毫升的原液A至100毫升。

[0189] ISTD原液(B[a]P-D_{12}浓度＝500纳克/毫升)：以HPLC等级环已烷稀释溶在环已烷中浓度为100纳克/微升的0.5毫升的经氘化的B[a]P至100毫升。

[0190] ISTD原液及原液B，以在以下的表中表示的量，是以HPLC等级环已烷补至50毫升。

[0191]

量（毫升）				
原液 B	ISTD 原液	稀释至 /毫升	B[a]P 浓度 纳克/毫升	ISTD 浓度 纳克/毫升
0.5	1	50	0.5	10
1	1	50	1	10
2	1	50	2	10
3	1	50	3	10
5	1	50	5	10
10	1	50	10	10

[0192] 样品的制备

[0193] 对于每组的萃取，必须萃取参考烟草(2R4F; www.2r4f.com)的样品作为对照样品。

[0194] 萃取

[0195] 将2克(±0.01克)的样品加入1毫升的内部标准添加溶液中。将60毫升的含氢氧化钾的甲醇及塞子加入。摇动及置入60℃水浴中历时2小时，不时的摇动。将其移出及置在一种通风橱中以冷却。

[0196] 自甲醇转移B[a]P至环已烷

[0197] 将约5毫升的环已烷置入分离漏斗中。以玻璃绒将漏斗塞置在该分离漏斗的顶部上，以及通过该玻璃绒将萃取物过滤进入该分离漏斗中。以约100毫升的环已烷清洗该锥形烧杯及该漏斗。塞住该分离漏斗及剧烈的摇动。容许该两层分离及倾析出该甲醇层(底部层)。倾析该环已烷层，将甲醇层返回至该分离漏斗及将另外的100毫升的环已烷加入，剧烈的摇动。容许该两层分离。丢弃该甲醇层及将第一环已烷层返回至该漏斗。

[0198] 自环已烷去除氢氧化钾

[0199] 将约50毫升的水加入在分离漏斗中的环已烷中及充分的摇动。容许该两层分离，

及丢弃底部水性层。重复三次，在摇动的期间内将形成一种乳液，且此可是在分离的期间内丢弃。一旦完成所有的水洗涤之后，倾析剩下的环己烷层进入样品快速浓缩管中。在40℃转移该管至样品快速浓缩装置，及浓缩该萃取物(blow the extract down)至约50毫升。

[0200] 自环己烷转移B[a]P至DMF/H_2O

[0201] 将50毫升的环己烷转移至分离漏斗及将相等体积的DMF/H_2O加入该漏斗中，剧烈的摇动。容许该两层分离。倾析该DMF/H_2O(底部层)进入一烧瓶中。将另外的50毫升的DMF/H_2O加入该分离漏斗中及充分的摇动。容许该两层分离及倾析出该DMF/H_2O(底部层)。丢弃顶部环己烷层。

[0202] 自DMF/H_2O转移B[a]P至环己烷

[0203] 以环己烷清洗该分离漏斗若干次以去除任何残渣。将该合并的DMF/H_2O萃取物转移至分离漏斗。将相等体积的环己烷及50毫升的饱和氯化钠溶液加入。充分的摇动。容许该两层分离；在该两层之间将形成一层的盐，丢弃该DMF/H_2O(底部)层。在玻璃漏斗中松散的安置一个玻璃绒及倾倒约2-3厘米的粒状无水硫酸钠进入该漏斗中。将该漏斗安置在样品快速浓缩管中，及通过该硫酸钠过滤该环己烷层进入该样品快速浓缩管中。在样品快速浓缩装置中在40℃下浓缩该样品(blow the sample down)至约10毫升。

[0204] 二氧化硅塔清洁

[0205] 秤重5克(±0.05克)的10％的经去活化的二氧化硅及将约10毫升的环己烷加入：一种浆液将形成。转移此进入一玻璃塔中；维持冲涮烧杯进入该塔中，直到该二氧化硅已经冲提出(washed out)为止。将2厘米深度的粒状硫酸钠加入。在该塔下安置样品快速浓缩管。倾倒10毫升的样品进入该塔中及容许该环己烷通过该塔过滤进入该样品快速浓缩管中。以约50毫升的环己烷清洗该原来的样品快速浓缩管及谨慎的转移此至该塔中，确定不扰动该二氧化硅。将另外的100毫升的环己烷缓慢的加入，以自该塔溶析该B[a]P。

[0206] GCMS参数

[0207]

注射器：

样品洗涤：	2
样品泵：	2
注射体积：	2 微升
注射器大小：	10 微升
后注射溶剂 A 洗涤：	5
后注射溶剂 B 洗涤：	5
粘度延迟：	0 秒
柱塞速率：	快速
前注射停留：	0.00min
后注射停留：	0.00min

入口：

模式：	脉动式不分流
温度：	250℃
压力：	8.51 psi
脉动压力：	25.0 psi
脉动时间：	2.00 分钟
洗涤流率：	50.0 毫升/分钟
洗涤时间：	2.00 分钟
总流率：	54.2 毫升/分钟
气体保存器：	开动
保存流率：	20.0 毫升/分钟
保存时间：	2.00 分钟
气体种类：	氦

[0208]

塔：

塔：	HP5-MSI 30 米 × 0.25 毫米 × 0.25 微米
方式：	固定流动
最初流率：	1 毫升/分钟
标称最初压力：	8.52 psi
平均速度：	37 厘米/秒

烘箱：

最初温度：	60℃		
最初时间：	2.00		
斜坡（Ramps）：			
#	速率	最后温度	最后时间
1	30.0	250℃	15.0 分钟
2	40.0	310℃	10.0 分钟
3	0.0(切断)		
后温度：	0℃		
后时间：	0.00 分钟		
运转时间：	34.67 分钟		

[0209] 质谱检定法(MSD)转移线：

[0210]

溶剂延迟/分钟：	14.0 分钟	
SIM 离子：	离子	停留时间/毫秒
	252	150 5
	250	150
	264	150
	264	150
分辨率：	低	
MS 象限：	150℃	10
MS 来源：	230℃	
MS 切断/分钟：	23.0 分钟	

MS 信息：
MSD 转移线：
最初温度：280℃
最初时间：0.00 分

[0211] 分析

[0212] 一种校正曲线可是经由将经氘化的B[a]P对B[a]P响应面积，相对于B[a]P在标准样品中的浓度的响应比作图而产生，及计算斜率及截距。

[0213] 仪器计算

[0214] (响应比－截距)×内部标准浓度纳克/毫升＝B[a]P纳克/毫升

[0215] 斜率

[0216] 纳克/毫升的转换成纳克/克湿重量基础

[0217] 最后样品体积(毫升)×B[a]P(纳克/毫升)＝B[a]P纳克/克湿重量基础

[0218] 湿样品的重量(克)

[0219] 纳克/克的湿样品的转换成纳克/克的干样品

[0220] B[a]P纳克/克湿样品× (100) ＝B[a]P纳克/克干重量基础

[0221] (100－水分%)

[0222] 实施例3：TSNAs的含量的测定

[0223] TSNAs在烟草中的定量的测定可使用液体色谱法-串联质谱测定术(LC-MS/MS)而进行。

[0224] 概括的说,将约0.5克的经磨碎的烟草秤重进入离心机管中,及将100微升的包含四种不同内部标准样品的混合物加入。此等内部标准样品是以数量表示的该四种TSNAs(NAB、NAT、NNK及NNN)的经氘化的相当物(NAB-d_4、NAT-d_4、NNK-d_4及NNN-d_4)。该样品随后是经由将20毫升的甲醇加入而萃取。然后以超音波震荡处理该悬浮液历时30分钟及以每分钟5,000转的速率离心历时5分钟。自上清液,将约1.4毫升转移至一种自动取样器小玻璃瓶,以经由LC-MS/MS而分析。该系统是以一组内部标准化的TSNA标准品而校正。在TSNA校正标准中的内部标准的峰值形成含量(spiking levels)是与在样品中的内部标准的峰值形成含量可比较的。

[0225] 内部标准原液

[0226]

标记	[NAB-d_4]	[NAT-d_4]	[NNK-d_4]	[NNN-d_4]	称重的数量(毫克)	甲醇最后体积(毫升)
	(微克/毫升)	(微克/毫升)	(微克/毫升)	(微克/毫升)		
IS-NAB-STOCK_200	200	0	0	0	10	50
IS-NAT-STOCK_200	0	200	0	0	10	50
IS-NNK-STOCK_200	0	0	200	0	10	50
IS-NNN-STOCK_200	0	0	0	200	10	50

[0227] 使用内部标准原液以制备中间物内部标准原液:

[0228] 中间物内部标准原液

[0229]

标记	[NAB-d_4] (微克/毫升)	[NAT-d_4] (微克/毫升)	[NNK-d_4] (微克/毫升)	[NNN-d_4] (微克/毫升)	取出的体积(毫升)	来自溶液	加入的甲醇(毫升)
IS-NAB-STOCK_10	10	0	0	0	1	IS-NAB-STOCK_200	19
IS-NAT-STOCK_10	0	10	0	0	1	IS-NAT-STOCK_200	19
IS-NNK-STOCK_10	0	0	10	0	1	IS-NNK-STOCK_200	19
IS-NNN-STOCK_10	0	0	0	10	1	IS-NNN-STOCK_200	19

[0230] 使用此等中间物内部标准原液以制备操作内部标准原液：

[0231] 操作内部标准原液

[0232]

标记	[NAB-d_4] (微克/毫升)	[NAT-d_4] (微克/毫升)	[NNK-d_4] (微克/毫升)	[NNN-d_4] (微克/毫升)	取出的体积(毫升)	自溶液取出(标记)	加入的甲醇(毫升)	最后体积(毫升)
	10	0	0	0	2	IS-NAB-STOCK_10	0	2
	3.3	6.7	0	0	4	IS-NAT-STOCK_10	0	6
	2	4	4	0	4	IS-NNK-STOCK_10	0	10
IS_2	1	2	2	2	4	IS-NNN-STOCK_10	6	20
IS_0.1	0.05	0.1	0.1	0.1	1	IS_2	19	20

[0233] 操作标准品是经由标准原液的稀释而制备：

[0234] 操作标准溶液的制备

[0235]

标记	[NAB](纳克/毫升)	[NAT](纳克/毫升)	[NNK](纳克/毫升)	[NNN](纳克/毫升)	取出的体积(微升)	来自溶液(标记)	加入的甲醇(微升)	最后体积(微升)
STD_100	50	100	100	100	200	STD-STOCK_1	1800	2000
STD_50	25	50	50	50	100	STD-STOCK_1	1900	2000
STD_10	5	10	10	10	200	STD_100	1800	2000
STD_5	2.5	5	5	5	200	STD_50	1800	2000
STD_1	0.5	1	1	1	200	STD_10	1800	2000
STD_0.1	0.05	0.1	0.1	0.1	200	STD_1	1800	2000
STD_0.05	0.025	0.05	0.05	0.05	100	STD_1	1900	2000
STD_0.01	0.005	0.01	0.01	0.01	200	STD_0.1	1800	2000

[0236] 内部标准化的标准品及质量管理(QC)是经由将内部标准溶液(IS_0.1)加入该操作标准溶液及一种质量管理原液标准品中而制备：

[0237] 内部标准化的标准品及QC溶液的制备

[0238]

标记	[NAB](纳克/毫升)	[NAT](纳克/毫升)	[NNK](纳克/毫升)	[NNN](纳克/毫升)	取出的体积(微升)	来自溶液(标记)	加入的IS_0.1(微升)	最后体积(微升)
STD-IS_100	45	90	90	90	900	STD-100	100	1000
STD-IS_50	22.5	45	45	45	900	STD-50	100	1000
STD-IS_10	4.5	9	9	9	900	STD_10	100	1000
STD-IS_5	2.25	4.5	4.5	4.5	900	STD_5	100	1000
STD-IS_1	0.45	0.9	0.9	0.9	900	STD_1	100	1000
STD-IS_0.1	0.045	0.09	0.09	0.09	900	STD_0.1	100	1000
STD-IS_0.05	0.0225	0.045	0.045	0.045	900	STD_0.05	100	1000
STD-IS_0.01	0.0045	0.009	0.009	0.009	900	STD_0.01	100	1000
QC	4.5	18	18	18	900	STD_QC	100	1000

[0239] 在所有的内部标准化的标准品及质量管理溶液中，NAB-d_4，NAT-d_4、NNK-d_4、及NNN-d_4的浓度因此分别是5、10、10、10纳克/毫升。

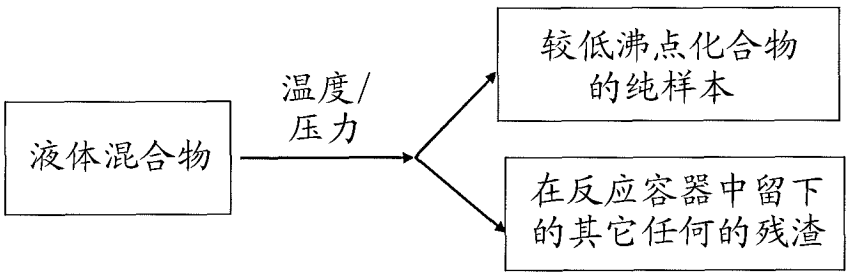

液体混合物
温度/
压力
较低沸点化合物
的纯样本
在反应容器中留下
的其它任何的残渣

图 1

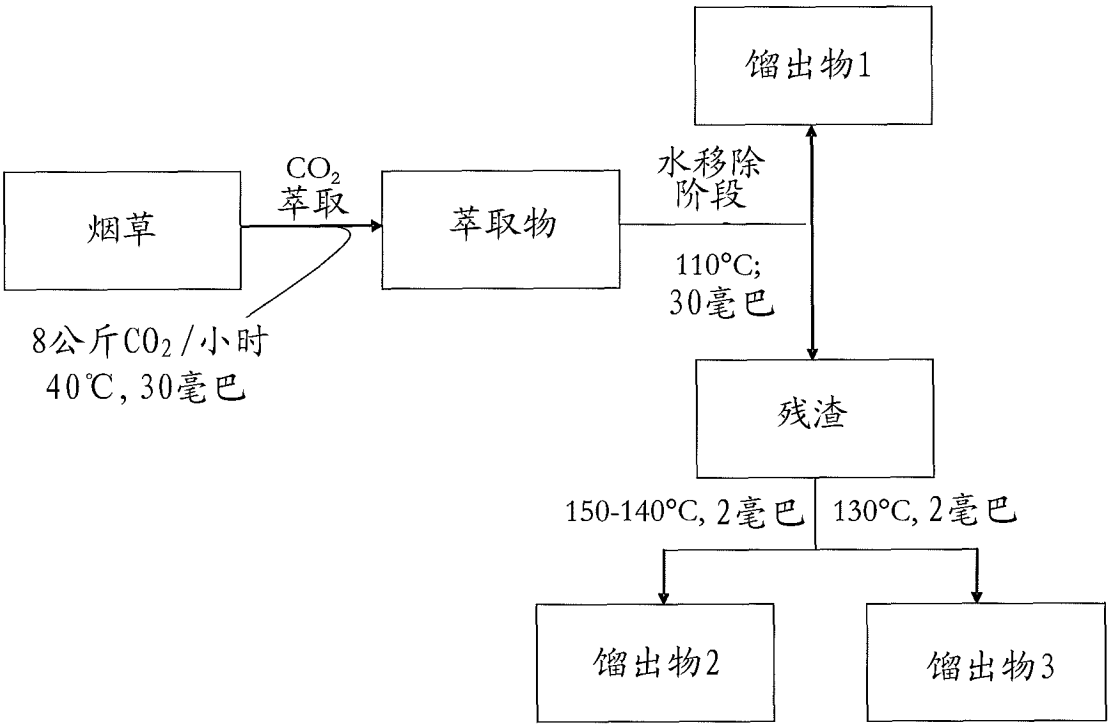

烟草
CO_2
萃取
萃取物
8公斤CO_2/小时
40℃, 30毫巴
馏出物1
水移除
阶段
110°C;
30毫巴
残渣
150-140°C, 2毫巴
130°C, 2毫巴
馏出物2
馏出物3

图 2

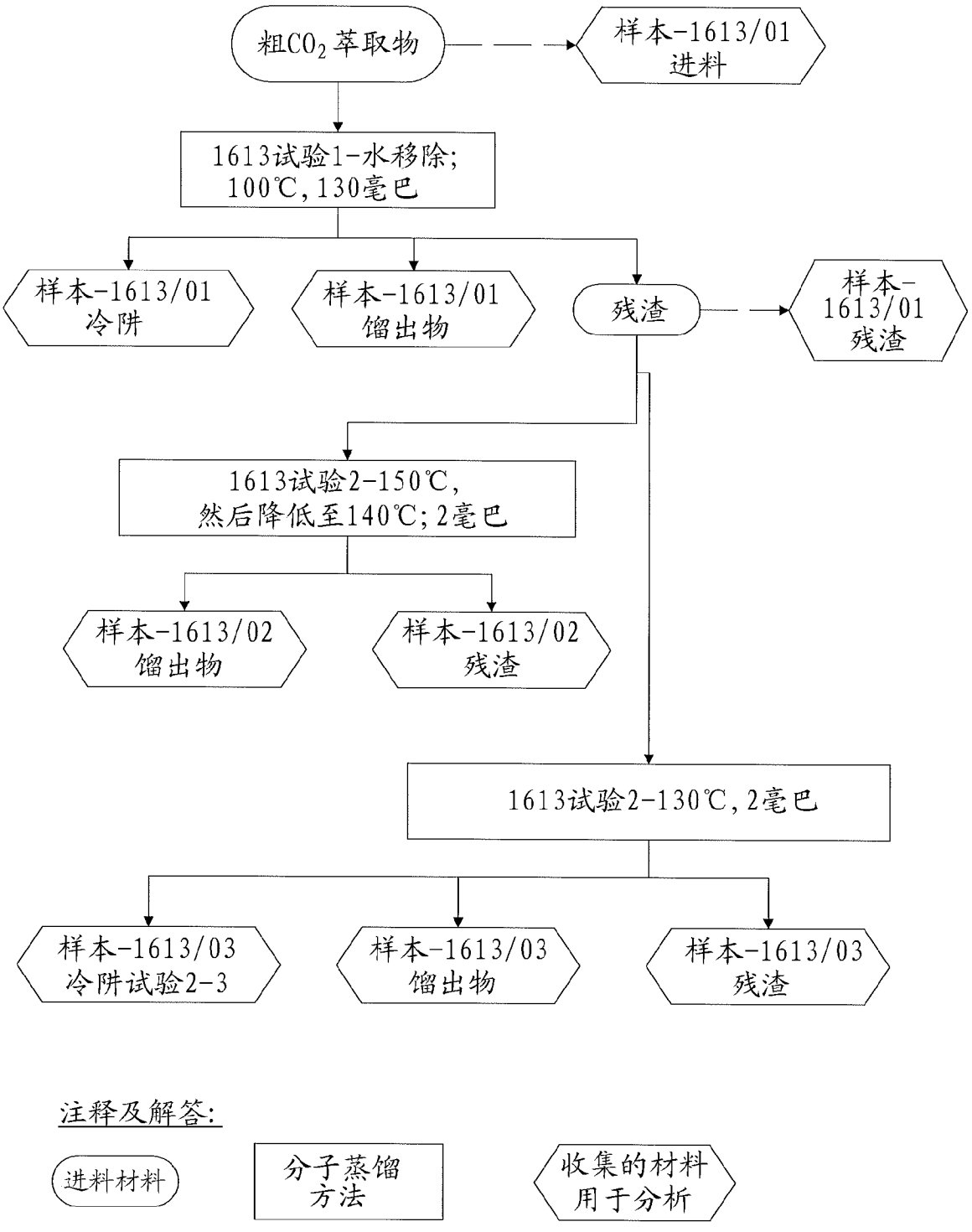

粗CO_2萃取物
样本-1613/01
进料
1613试验1-水移除;
100℃,130毫巴
样本-1613/01
冷阱
样本-1613/01
馏出物
残渣
样本-
1613/01
残渣
1613试验2-150℃,
然后降低至140℃;2毫巴
样本-1613/02
馏出物
样本-1613/02
残渣
1613试验2-130℃,2毫巴
样本-1613/03
冷阱试验2-3
样本-1613/03
馏出物
样本-1613/03
残渣
注释及解答:
进料材料
分子蒸馏
方法
收集的材料
用于分析

图 3