

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 473 840**

51 Int. Cl.:

**D21H 21/36** (2006.01)

**A01N 63/02** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.08.2009 E 09809317 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.04.2014 EP 2340330**

54 Título: **Estabilización de preparaciones minerales acuosas mediante reuterina**

30 Prioridad:

**28.08.2008 EP 08163214**

**04.09.2008 US 190951 P**

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

**08.07.2014**

73 Titular/es:

**OMYA INTERNATIONAL AG (100.0%)**

**Baslerstrasse 42**

**4665 Oftringen, CH**

72 Inventor/es:

**SCHWARZENTRUBER, PATRICK y**

**DI MAIUTA, NICOLA**

74 Agente/Representante:

**CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel**

**ES 2 473 840 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

Estabilización de preparaciones minerales acuosas mediante reuterina

5 La presente invención se refiere a un procedimiento para estabilizar una preparación acuosa de minerales con respecto a microbicidas, al uso de reuterina para la estabilización microbiana de tales preparaciones minerales acuosas y a las preparaciones minerales acuosas que contienen reuterina.

10 En la práctica, las preparaciones acuosas y especialmente las suspensiones, dispersiones y suspensiones espesas de sólidos insolubles en agua tales como minerales, cargas o pigmentos se usan ampliamente en las industrias del papel, la pintura, la goma y los plásticos como recubrimientos, cargas, diluyentes y pigmentos para la fabricación de papel así como de pinturas y lacas acuosas. Por ejemplo, se usan suspensiones o suspensiones espesas de carbonato de calcio, talco o caolín en la industria del papel en grandes cantidades como carga y/o como un componente en la preparación de papel recubierto.

15 Las preparaciones acuosas típicas de sólidos insolubles en agua se caracterizan porque comprenden agua, un compuesto sólido insoluble en agua y, opcionalmente, aditivos adicionales en forma de una suspensión, una suspensión espesa o dispersión con un contenido de sólidos insolubles en agua de entre el 1% y el 80% en peso basándose en el peso total de la preparación.

Una preparación acuosa típica es una dispersión mineral blanca (WMD, *white mineral dispersion*) que tiene un contenido de sólidos de entre el 45% y el 78% en peso. También se sabe bien que tales WMD con alto contenido en sólidos se estabilizan con dispersantes como poliacrilatos de sodio tal como se describe, por ejemplo, en el documento US 5.432.239.

20 Las preparaciones acuosas anteriormente mencionadas se ven sometidas a menudo a contaminación por microorganismos tales como bacterias aerobias y anaerobias, hongos, algas y similares, lo que da como resultado cambios en las propiedades de preparación tales como cambios en la viscosidad y/o el pH, alteración del color o reducciones en otros parámetros de calidad, que afectan negativamente a su valor comercial. Por tanto, los fabricantes de tales preparaciones acuosas adoptan habitualmente medidas para estabilizar las suspensiones, dispersiones o suspensiones espesas. Por ejemplo, se sabe que los biocidas que liberan aldehídos reducen el crecimiento y la acumulación de tales microorganismos en preparaciones acuosas y, por tanto, reducen la tendencia de alteraciones no deseadas de estas preparaciones, como cambios en la viscosidad u olores desagradables.

30 Para garantizar una calidad microbiológica aceptable de preparaciones acuosas, se usan conservantes y biocidas a lo largo de todo el ciclo de vida de la preparación (producción, almacenamiento, transporte y uso). En la técnica, se han propuesto varios enfoques para mejorar la calidad microbiológica de preparaciones acuosas.

Por ejemplo, los documentos EP 1 139 741 y EP 1 283 822 describen suspensiones o dispersiones acuosas de minerales, cargas y/o pigmentos, que contienen un agente microbicida en forma de una disolución y derivados de fenol en forma parcialmente neutralizada.

35 El documento US 5.496.398 se refiere a un procedimiento para la reducción de microorganismos en suspensiones espesas de arcilla de caolín mediante una combinación de calor a baja temperatura y niveles reducidos de un agente microbicida.

El documento WO 02/052941 describe composiciones biocidas para su incorporación en pinturas, recubrimiento, yesos y plásticos que comprenden al menos un óxido metálico y al menos una sal metálica.

40 El documento US 2006/0111410 menciona una mezcla que comprende 1,2-benzisotiazolinona (BIT) y tetrametilacetilendiurea (TMAD) para proteger productos y materiales industriales contra el ataque y la destrucción por microorganismos.

Además, se sugiere en la técnica la adición de sustancias que liberan formaldehído a tales preparaciones acuosas para mejorar la calidad microbiológica. Por ejemplo, el documento US-A-4 655 815 menciona una composición antimicrobiana que comprende un donador de formaldehído.

45 Además, el documento WO 2006/079911 describe un método de protección contra microorganismos mediante el aumento de la concentración de ión OH<sup>-</sup> de la suspensión.

50 Sin embargo, debido al limitado espectro de actividad de varios biocidas, la eficacia de tales biocidas contra microorganismos (principalmente determinadas especies de bacterias) no siempre es satisfactoria y, por tanto, la acción obtenida es en algunos casos insuficiente para evitar la alteración de preparaciones minerales acuosas inducida por microorganismos.

Generalmente, el uso de microbicidas "naturales" tales como reuterina es una ventaja debido a su accesibilidad fácil y respetuosa con el medio ambiente.

Sin embargo, muchos de los microbicidas naturales usados comúnmente no son adecuados para su uso en preparaciones minerales acuosas debido a los valores de pH habitualmente altos de éstas y a su química compleja.

- 5 El pH no solamente es importante con respecto a la estabilidad de la fórmula biocida, sino también con respecto al medio en el que se usa. Debido a la inestabilidad de muchos microbicidas a pH altos, a menudo se formulan en un medio ligeramente ácido. Sin embargo, esto provoca un cambio no deseado del pH de la preparación que va a estabilizarse.

- 10 Además, muchos microbicidas padecen múltiples resistencias de los microbios que van a tratarse, de manera que hay una necesidad continua de microbicidas nuevos y eficaces para su uso en diferentes medios.

La reuterina se conoce por sus propiedades antimicrobianas en otros campos técnicos como en la industria alimentaria y tiene un amplio espectro de actividad antimicrobiana. Comprende una mezcla de sustancias producidas por *Lactobacillus reuteri*, una sustancia que se produce de manera natural que reside en el tracto gastrointestinal de seres humanos y animales, a partir de glicerol.

- 15 Se sabe que la reuterina inhibe el crecimiento de algunas bacterias Gram-negativas y Gram-positivas dañinas, junto con levaduras, hongos y protozoos.

- 20 Sin embargo la reuterina es bastante sensible con respecto a valores altos de pH, y hasta ahora sólo se conoce como conservante en la industria alimentaria, administración de fármacos, materiales biomédicos y como complemento dietético, ya que se trata de una sustancia poco citotóxica (por ejemplo es menos citotóxica que aldehídos de alto peso molecular).

Por ejemplo, los documentos US 5.849.289 y JP 8289769 describen conservantes para alimentos que tienen una amplia actividad antimicrobiana sin afectar a la calidad del alimento mediante la combinación de reuterina obtenida a partir de *Lactobacillus reuteri* con un emulsionante para alimentos como monoglicéridos de ácidos grasos, ésteres de ácidos grasos de glicerina o ésteres de ácidos grasos de sacáridos.

- 25 En el documento EP 0 698 347 se describe una composición alimenticia que comprende *Lactobacillus reuteri* que produce reuterina en presencia de glicerol o gliceraldehído para el alivio de trastornos gastrointestinales.

Sin embargo, no se ha podido encontrar una descripción que indique que la reuterina pueda usarse también ventajosamente en preparaciones minerales acuosas.

- 30 Por el contrario, en "Production and Isolation of Reuterin, a Growth Inhibitor Produced by *Lactobacillus reuteri*" (Talarico T. *et al.*, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, diciembre de 1988, vol. 32, n.º 12, págs. 1854-1858) se muestra incluso que la reuterina se degrada tras su exposición a un entorno alcalino a 37°C.

Además, las cepas de microbios existentes en preparaciones minerales acuosas difieren generalmente de las que se encuentran en un entorno de alimentos, principalmente debido al pH superior, contenido de agua inferior y al escaso contenido en nutrientes de las preparaciones minerales acuosas.

- 35 Por tanto, existe una necesidad continua de un método para reducir el crecimiento y la acumulación de microorganismos en preparaciones acuosas que contienen minerales, que reduzca la tendencia a alteraciones de estas preparaciones, y que mantenga la viscosidad y el pH deseados, el brillo y el color y que prevenga el mal olor, mediante microbicidas que sean adecuados para su uso en preparaciones minerales acuosas.

- 40 Por consiguiente, es un objeto de la presente invención proporcionar un procedimiento para estabilizar eficazmente preparaciones acuosas que contienen minerales con respecto a microbios mediante un microbicida fácilmente accesible, también a valores de pH altos, así como proporcionar las preparaciones acuosas resultantes.

Además, otro objeto de la presente invención es el uso de microbicidas alternativos para estabilizar preparaciones acuosas que contienen minerales, que son fácilmente accesibles y aplicables y que tienen buenas características de aplicación.

- 45 Sorprendentemente se encontró que la reuterina puede usarse ventajosamente para la estabilización microbiana en el complejo entorno de las preparaciones minerales acuosas.

Por tanto, los objetos anteriores y otros se han solucionados mediante un procedimiento para estabilizar

preparaciones acuosas de minerales con respecto a microbios contenidos en las mismas mediante la adición de reuterina a las preparaciones acuosas, en el que las preparaciones acuosas de minerales son dispersiones, suspensiones o suspensiones espesas acuosas de minerales insolubles en un medio acuoso y tienen un contenido en sólidos de desde el 40 al 85% en peso del peso total de la preparación.

- 5 En el contexto de la presente invención, "estabilización" comprende desinfección y conservación frente a y cualquier tipo de control de la contaminación microbiana de preparaciones minerales acuosas.

Preparaciones minerales acuosas según la presente invención son cualquier tipo de dispersión, suspensión o suspensión espesa acuosa de minerales insolubles, en un medio acuoso.

- 10 Es preferible que los minerales contenidos en la preparación acuosa se seleccionen del grupo que comprende minerales naturales, minerales sintéticos, cargas o pigmentos tales como carbonato de calcio natural triturado en seco y en húmedo tal como tiza, piedra caliza, calcita, mármol y dolomía; carbonato de calcio precipitado en sus formas aragonítica, calcítica y vaterítica; sulfato de calcio; cuarzo; atapulgita; arcillas tales como caolín, arcilla caolinítica, arcilla caolinítica calcinada y montmorillonita; mica; talco; tierra de diatomeas; sílice finamente dividida; óxido de aluminio; hidróxido de aluminio; silicatos como silicato de aluminio; óxido de hierro; dióxido de titanio; piedra  
15 pómez; sepiolita, y mezclas de los mismos así como materiales compuestos que comprenden una o más de las sustancias mencionadas anteriormente, por ejemplo, materiales compuestos de pigmento que incluyen carbonato de calcio precipitado, mica, dióxido de titanio y mezclas de los mismos.

- 20 Preferiblemente, la preparación acuosa es una "dispersión mineral blanca" (WMD), que comprende dispersiones de carbonato de calcio tal como carbonato de calcio natural, carbonato de calcio triturado, carbonato de calcio precipitado, caolín, dolomía, arcilla caolinítica, arcilla caolinítica calcinada o mezclas de los mismos.

El carbonato de calcio se usa por ejemplo como pigmento de recubrimiento y de relleno, ya que se sabe que mejora notablemente las propiedades ópticas del producto terminado, tales como brillo, opacidad o luminosidad.

El carbonato de calcio puede ser de dos tipos: carbonato de calcio triturado o natural denominado GCC o NCC respectivamente, y carbonato de calcio sintético o precipitado denominado PCC.

- 25 PCC en el significado de la presente invención es un material sintético, obtenido generalmente mediante precipitación debida a la reacción de dióxido de carbono y cal en un entorno acuoso o mediante precipitación de una fuente de iones calcio y carbonato en agua. Puede tener estructuras rombohédrica, escalenohédrica, aragonítica, calcítica y/o vaterítica.

- 30 NCC en el significado de la presente invención es un carbonato de calcio obtenido de fuentes naturales como piedra caliza, mármol, tiza o dolomía, y puede procesarse mediante un tratamiento tal como trituración, tamizado y/o fraccionamiento mediante métodos en húmedo y/o en seco, por ejemplo mediante un ciclón o clasificador.

El carbonato de calcio natural triturado se denomina habitualmente GCC.

- 35 Cualquiera de los materiales mencionados anteriormente útiles en la presente invención puede tratarse habitualmente en su superficie, por ejemplo con ácidos grasos tales como ácido esteárico y sus sales. Además pueden hacerse reaccionar carbonatos de calcio en la superficie, por ejemplo con ácidos de medios a fuertes tales como ácido fosfórico. Además, pueden usarse materiales compuestos que comprenden carbonato de calcio.

- 40 La arcilla se refiere generalmente a partículas pequeñas cristalinas de hidrosilicatos de aluminio principalmente, algunas veces con sustitución parcial o total del aluminio por magnesio y/o hierro. Los principales grupos de arcillas son: caolinita, el principal constituyente del caolín; haloisita; ilita; montmorillonita y vermiculita. El término "arcilla caolinítica" usado en el presente documento se refiere a una arcilla blanca blanda que está compuesta principalmente del mineral caolinita.

- 45 El caolín se usa especialmente en la industria del papel para recubrir y rellenar papeles y cartones y mejorar las propiedades ópticas del producto final, tales como su brillo, opacidad o luminosidad. Sin embargo, los productos a base de caolín también incluyen pinturas, composiciones agrícolas, productos de fibra de vidrio, composiciones de polímero y caucho, aplicaciones cerámicas, soportes de catalizador, productos farmacéuticos, cosméticos, adhesivos, adyuvantes de filtro, y muchos más.

En una realización específica, la preparación mineral acuosa es una dispersión de carbonato de calcio que comprende carbonato de calcio precipitado. En este caso, la reuterina puede añadirse antes, durante y/o después de la precipitación del carbonato de calcio, o cualquier otro mineral obtenido por precipitación.

- 50 Además, el carbonato de calcio triturado que se produce de manera natural podría componerse en la preparación

acuosa, en cuyo caso la reuterina puede añadirse antes, durante y/o después de la trituración del carbonato de calcio o cualquier otro mineral sometido a etapas de pulverización como trituración.

5 La adición de reuterina a la preparación mineral acuosa según la invención puede llevarse a cabo por métodos conocidos en la técnica, por ejemplo dispersando, suspendiendo o produciendo una suspensión espesa de sólidos insolubles en agua, preferiblemente minerales, pigmentos o cargas con, si es apropiado, adición de un agente dispersante y, si es apropiado, aditivos adicionales en agua. Insoluble en el significado de la presente invención significa que se disuelve no más del 1% en peso, preferiblemente el 0,1% en peso, más preferiblemente el 0,01% en peso de los sólidos, preferiblemente minerales, pigmentos o cargas.

10 Una preparación acuosa según la presente invención comprende sólidos minerales insolubles, agua y, opcionalmente, aditivos adicionales.

Preferiblemente, la preparación mineral acuosa tiene un contenido de sólidos comprendido de desde el 45% hasta el 82% en peso, especialmente desde 70% hasta el 80% en peso y particularmente desde el 72% hasta el 78% en peso, por ejemplo el 75% del peso total de la preparación.

15 El contenido de agua de la preparación mineral acuosa es preferiblemente de desde el 15% hasta el 60% en peso, más preferiblemente desde el 18% hasta el 55% en peso, especialmente desde el 20% hasta el 30% en peso y particularmente desde el 22% hasta el 28% en peso, por ejemplo el 25% del peso total de la preparación).

El contenido total de sólidos en el significado de la presente solicitud corresponde al peso residual de la preparación después de secarla durante 3 horas a 105°C.

20 Los sólidos insolubles en agua en la preparación pueden tener una distribución de tamaño de partícula tal como se emplea convencionalmente para el/los material(es) implicado(s) en este tipo de productos. En general, el 90% en peso de las partículas tendrán un "dee" (diámetro equivalente esférico medido por la técnica bien conocida de sedimentación usando un instrumento Sedigraph de la serie 5100 de Micromeritics) de menos de 5 µm. Los minerales gruesos, las cargas o los materiales de pigmento pueden tener un dee de generalmente (es decir, al menos el 90% en peso) en el intervalo de 2 µm y 5 µm. Los minerales finos, las cargas o los materiales de pigmento pueden tener un dee de partícula generalmente inferior a 2 µm, por ejemplo el 90% inferior a 2 µm.

25 Se prefiere que las partículas sólidas de la preparación tengan un valor de  $d_{50}$  de desde 0,1 µm hasta 50 µm, preferiblemente desde 0,2 µm hasta 6 µm y lo más preferiblemente desde 0,4 µm hasta 2 µm, por ejemplo 0,7 µm tal como se mide usando un instrumento Sedigraph™ 5100 de Micromeritics Instrument Corporation. El método y el instrumento los conoce el experto en la técnica y se usan comúnmente para determinar los tamaños de grano de cargas y pigmentos. La medición se lleva a cabo en una solución acuosa de  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$  al 0,1% en peso. Las muestras se dispersan usando un agitador de alta velocidad y supersonidos.

La estabilización microbiana con reuterina de las preparaciones minerales mencionadas anteriormente, especialmente dispersiones de carbonatos, mediante reuterina es especialmente sorprendente en vista del hecho de que el pH de estas suspensiones es habitualmente alto.

35 El valor de pH de las preparaciones minerales según la invención puede estar en el intervalo de desde por encima de 7 hasta 10,5, preferiblemente desde 8,5 hasta 10, por ejemplo de 9 a 9,5 tal como se mide a 25°C.

Normalmente, las preparaciones acuosas según la presente invención tienen una viscosidad en el intervalo de desde 50 hasta 800 mPa·s y preferiblemente de 150 mPa·s a 600 mPa·s, tal como se mide con un viscosímetro Brookfield DV-II a una velocidad de 100 rpm y equipado con un husillo LV-3.

40 La reuterina útil en la presente invención comprende 3-hidroxiopropionaldehído, tal como 3-hidroxiopropionaldehído monomérico ("monómero"), 3-hidroxiopropionaldehído monomérico hidratado ("hidrato"), 3-hidroxiopropionaldehído dimérico ("dímero"), o formas cíclicas de los mismos o mezclas de los mismos. Habitualmente, el 3-hidroxiopropionaldehído forma un equilibrio dinámico de múltiples componentes junto con el hidrato y el dímero, cuyas razones pueden variar a lo largo de un amplio intervalo.

45 La reuterina, que es especialmente adecuada para la estabilización de las preparaciones minerales acuosas según la invención, puede obtenerse generalmente mediante varias rutas, que implican preferiblemente glicerol deshidratasa (EC 4.2.1.30) que transforma glicerol en reuterina. La reuterina puede producirse de manera natural por fermentación y/o de manera sintética, por ejemplo, haciendo pasar glicerol por medio de acroleína (de una fuente petroquímica o no petroquímica) y por hidrólisis a reuterina.

50 Para la presente invención, generalmente es adecuada reuterina procedente de cualquier fuente. Sin embargo,

desde un punto de vista económico y medioambiental, se prefiere especialmente usar reuterina procedente de la transformación microbiana de glicerol.

5 *In vivo*, la síntesis activa de reuterina se produce en el tracto gastrointestinal, por ejemplo en el colon por medio del metabolismo de *Lactobacillus reuteri*, si existen cantidades suficientes de glicerol disponible como producto de fermentaciones microbianas lumbinales, digestión de grasas lumbinales, moco desprendido y células epiteliales descamadas, y aclaramiento intestinal de glicerol plasmático endógeno.

*In vitro*, la reuterina puede sintetizarse a partir de glicerol y, preferiblemente, *Lactobacillus reuteri* en condiciones de pH, temperatura y anaerobias similares a las del tracto gastrointestinal.

10 La reuterina útil en la presente invención puede ser reuterina sintetizada u obtenida de manera natural, en la que, por motivos prácticos, se prefiere reuterina sintética.

Existen varias cepas de *Lactobacillus reuteri* que son útiles en la producción de reuterina, por ejemplo DSM 8533, DSM 8534, DSM 8535, DSM 17509, DSM 20016, DSM 20053, DSM 20056 y/o ATCC 23272, ATCC 53608, ATCC 53609, ATCC 55148, ATCC 55739, en las que las cepas DSM 20016 y ATCC 23272, ATCC 53608, ATCC 53609, respectivamente son especialmente adecuadas.

15 Existen varias publicaciones que describen la producción de reuterina por *Lactobacillus reuteri* a partir de glicerol. Se describen métodos adecuados para el uso en la presente invención por ejemplo, pero no exclusivamente, en: Y. Doleyres *et al.*, Appl Microbiol Biotechnol (2005) 68; págs. 467 – 474; T.L. Talarico *et al.*, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, diciembre de 1998, págs. 1854 – 1858; A.S. Sani *et al.*, paper, 9<sup>th</sup> International Conference on Agricultural Biotechnology: Ten Years After (ICABR), Ravello (Italia), 6 – 10 de julio de 2005; Q. Lüthi-Peng; Appl Microbiol Biotechnol (2002) 60; págs. 73 – 80.

20 La reuterina se añade a la preparación acuosa en una cantidad eficaz. En el significado de la presente invención, una "cantidad eficaz" de reuterina corresponde a una cantidad que en el momento de la adición conduce a una actividad biocida medible (por ejemplo, reducción o prevención del crecimiento y/o la acumulación de microorganismos) en una preparación acuosa, en comparación con una preparación correspondiente que no contiene reuterina ni ningún otro compuesto biocida.

La reuterina que va a mezclarse con la preparación mineral acuosa que va a estabilizarse, conservarse o controlarse con respecto a su contaminación microbiana puede añadirse en cualquier razón deseada para lograr la actividad biocida deseada.

30 Puede añadirse una vez, por ejemplo antes, durante o después de la fabricación de la preparación mineral acuosa, o varias veces, por ejemplo en intervalos de tiempo específicos, durante el almacenamiento o después y/o durante el transporte de las preparaciones, de una manera conocida por el experto.

35 Las concentraciones de reuterina que van a usarse dependen de la naturaleza y la aparición de los microorganismos que van a controlarse, la carga microbiana inicial y del tiempo de almacenamiento esperado de la preparación acuosa de minerales, cargas o pigmentos que van a protegerse. La cantidad óptima que va a emplearse puede determinarse mediante pruebas preliminares y series de pruebas a escala de laboratorio y mediante pruebas operativas complementarias.

40 En una realización específica, una cantidad adecuada de reuterina añadida a la preparación mineral acuosa está en una cantidad basada en el peso del agua de desde aproximadamente 100 ppm hasta 5000 ppm, preferiblemente desde aproximadamente 200 hasta 2000 ppm, y más preferiblemente desde aproximadamente 450 ppm hasta 1000 ppm, por ejemplo 495 ó 990 ppm.

La adición de la reuterina a la preparación mineral acuosa se lleva a cabo preferiblemente a temperaturas de desde 10°C hasta 90°C, más preferiblemente de 20°C a 60°C, por ejemplo 30°C.

Mediante la adición de reuterina puede proporcionarse estabilización, conservación y/o control de la contaminación microbiana de preparaciones minerales acuosas a lo largo de un periodo de tiempo prolongado.

45 La actividad biocida (estabilización, conservación y/o control de la contaminación microbiana) de preparaciones minerales acuosas puede proporcionarse durante un periodo de tiempo de al menos 2 días, más preferiblemente durante al menos 4 días, todavía más preferiblemente durante al menos 6 días y lo más preferiblemente durante un mínimo de 8 días.

50 La adición o el uso de reuterina en preparaciones minerales acuosas da como resultado una reducción del crecimiento y la acumulación de microorganismos y reduce la tendencia de alteraciones de estas preparaciones,

mientras que pueden mantenerse una baja viscosidad, la calidad de brillo del color y el olor de las preparaciones. Además, la estabilización de tales preparaciones contra el ataque y la destrucción por microorganismos da como resultado una calidad microbiológica potenciada de las preparaciones.

5 Los ejemplos de microorganismos que pueden crecer y acumularse en las preparaciones, dispersiones o suspensiones espesas acuosas de minerales, cargas o pigmentos y que pueden controlarse mediante el uso de reuterina son, en particular, especies bacterianas aerobias y anaerobias.

Se sabe que las siguientes especies están presentes en preparaciones acuosas de minerales, cargas o pigmentos: *Alcaligenes*, tal como *Alcaligenes faecalis*, *Alternaria*, tal como *Alternaria tenuis*, *Bacteroides* tal como *Bacteroides vulgatus*, eubacterias tales como *Eubacterium eligens*, *Pseudomonas*, tal como *Pseudomonas aeruginosa*,  
 10 *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas oleovorans*, *Pseudomonas mendocina*, *Pseudomonas pseudoalcaligenes*, *Pseudomonas rubescens*, *Pseudomonas stutzeri* y *Pseudomonas putida*, enterococos, tales como *Enterococcus faecalis*, *Enterobacter*, tal como *Enterobacter aerogenes*, corinebacterias, tales como *Corynebacterium aquaticum*, *Citrobacter*, tal como *Citrobacter freundii*, bacilos, tales como *Bacillus firmus* y *Bacillus subtilis*, *Desulfovibrio desulfuricans*, metilobacterias, tales como *Methylobacterium extorquens*. En particular, *Pseudomonas aeruginosa* es  
 15 común en suspensiones espesas, tales como suspensiones espesas de carbonato de calcio.

En vista del hallazgo sorprendente de que la reuterina también puede ser eficaz en preparaciones minerales acuosas que tienen un pH alto, el uso de reuterina en tales preparaciones minerales acuosas para estabilizar las mismas con respecto al crecimiento microbiano tal como se describe en detalle anteriormente es un aspecto adicional de la presente invención.

20 Debido a la adición de reuterina, las preparaciones minerales acuosas según la invención son altamente resistentes a ataques por microorganismos, en particular por especies de bacterias aerobias y anaerobias, hongos, algas y similares, permitiendo por tanto la manipulación libre de problemas de los productos durante su fabricación, almacenamiento, transporte y uso final.

Por tanto, las preparaciones acuosas que contienen minerales y reuterina en las que las preparaciones acuosas de minerales son dispersiones, suspensiones o suspensiones espesas acuosas de minerales insolubles en un medio acuoso y tienen un contenido en sólidos de desde el 40 hasta el 85% en peso del peso total de la preparación son también un aspecto de la presente invención .

Debido a su conservación por reuterina, son especialmente útiles en muchas aplicaciones, por ejemplo, en el campo de la fabricación de papel, pinturas, detergentes y cosméticos y especialmente en los campos que requieren microbicidas no tóxicos como la industria alimentaria, el cuidado del hogar, el cuidado personal, la atención sanitaria, la industria farmacéutica, la atención médica, etc.

Los siguientes ejemplos y pruebas ilustran adicionalmente la invención, pero no pretenden restringir la invención de ninguna modo. Los ejemplos a continuación muestran la buena estabilidad microbiológica de las preparaciones acuosas de minerales, los pigmentos y las cargas protegidos con la composición según la presente invención:

## 35 Ejemplos

### Ejemplo 1

#### 1. Producción de reuterina

Se hizo crecer *Lactobacillus reuteri* (cepa DSM 20016) en 2 muestras de 30 ml de MRS (Agar MRS de lactobacilos Difco™ (núm. de catálogo 288130)) a 37°C en condiciones aeróbicas y con mezclado a 140 rpm en frascos estériles de medios de 125 ml.

Esencialmente, el agar MRS tenía la siguiente composición por litro:

|    |                        |        |
|----|------------------------|--------|
|    | Proteosa peptona n.º 3 | 10,0 g |
|    | Extracto de carne      | 10,0 g |
|    | Extracto de levadura   | 5,0 g  |
| 45 | Dextrosa               | 20,0 g |
|    | Polisorbato 80         | 1,0 g  |

## ES 2 473 840 T3

Citrato de amonio 2,0 g

Acetato de sodio 5,0 g

Sulfato de magnesio 0,1 g

Sulfato de manganeso 0,05 g

5 Fosfato de dipotasio 2,0 g

pH  $6,5 \pm 0,2$  tras tratamiento en autoclave a  $121^{\circ}\text{C}$  durante 15 minutos

10 Tras 24 h, se recogen las células mediante centrifugación a 4000 g durante 10 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente, se resuspendió cada uno de los sedimentos resultantes en 5 ml de PBS (solución salina tamponada con fosfato 0,01 M; disponible por ejemplo de SIGMA con el número de producto P3813 como polvo; contenido de una bolsa, que cuando se disuelve en un litro de agua destilada o desionizada producirá una solución salina tamponada con fosfato 0,01 M (NaCl 0,138 M; KCl 0,0027 M); pH 7,4, a  $25^{\circ}\text{C}$ ) y se reunieron en un tubo. Se lavó la muestra reunida dos veces con PBS y se centrifugó a 4000 g durante 10 minutos.

15 Entonces se resuspendió el sedimento resultante en 5 ml de disolución de glicerol estéril 0,25 M para su bioconversión en 3-hidroxipropionaldehído, y se incubó el tubo sin tapón a temperatura ambiente en una cámara anaeróbica ( $\text{N}_2$ ) durante unas 2-3 horas a  $37^{\circ}\text{C}$ .

Tras la bioconversión, se separa la fase líquida de la biomasa mediante filtración usando unidades de filtración steritop<sup>TM</sup> ( $0,2 \mu\text{m}$ ).

### 2. Efectividad de la reuterina en dispersiones minerales blancas

#### Preparación de una suspensión espesa de carbonato de calcio

20 Se trituraron en húmedo 10 kg de mármol del norte de Noruega que tenía un dee (diámetro esférico equivalente) de aproximadamente  $45 \mu\text{m}$  en un molino de bolas Attritor de 2 litros horizontal, con recirculación (Dynamill) usando el 0,6% en peso de un poli(ácido acrílico) polimerizado por radicales (PM 6000 g/mol). Se neutralizaron los grupos ácido carboxílico del poli(ácido acrílico) mediante sodio al 50% en moles y magnesio al 50% en moles. Tras triturar, la suspensión espesa de carbonato de calcio tenía la siguiente distribución de tamaño de partícula:

| Diámetro ( $\mu\text{m}$ ) | % en peso |
|----------------------------|-----------|
| < 2                        | 91,5      |
| < 1                        | 62,2      |
| < 0,2                      | 17,9      |

25 Se midió la distribución de tamaño de partícula usando un instrumento Sedigraph<sup>TM</sup> 5100 de Micromeritics Instrument Corporation. El método y el instrumento los conoce el experto en la técnica y se usan comúnmente para determinar el tamaño de grano de cargas y pigmentos. La medición se lleva a cabo en una disolución acuosa de  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$  al 0,1% en peso. Se dispersan las muestras usando un agitador de alta velocidad y supersonidos.

30 Se determinó la viscosidad Brookfield de la suspensión espesa como 180 mPa·s, tal como se mide con un viscosímetro Brookfield DV-II equipado con un husillo LV-3 a una velocidad de 100 rpm y temperatura ambiente ( $20 \pm 3^{\circ}\text{C}$ ).

35 Se determinó el contenido de sólidos de la suspensión espesa mediante calentamiento de una muestra de suspensión espesa pesada a una temperatura de  $120^{\circ}\text{C}$  hasta que se obtiene un peso constante (dentro de  $\pm 0,1\%$ ). El porcentaje de peso restante en relación con el peso de la muestra original corresponde al contenido de sólidos de la suspensión espesa. El peso perdido relativo durante este proceso de calentamiento representa el contenido de agua.



Concentración de inhibición mínima en dispersiones minerales blancas

Se inocularon 50 g de la suspensión espesa estéril obtenida de carbonato de calcio triturado (contenido de sólidos del 70% en peso) (pH 9,5) con dos cantidades diferentes, concretamente, basándose en el peso total de la suspensión espesa, 165 ppm y 330 ppm de reuterina en forma de una disolución de reuterina que tenía una concentración de 110 mmol/l.

5 Esto corresponde a 495 ppm y 990 ppm respectivamente, calculado según el peso del agua en la suspensión espesa.

Entonces se almacenaron las muestras durante 3 días a 30°C en condiciones aerobias. Tras el almacenamiento, se inocularon las muestras (inoculación 1) con 1 ml de una suspensión espesa de carbonato de calcio triturado (el 60% en peso < 1 µm; el 75% en peso de sólidos; el 25% en peso de agua, pH 9,5) contaminada con un espectro bacteriano convencional (>10<sup>5</sup> ufc/ml), compuesto principalmente por *Pseudomonas spp.* (por ejemplo *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas mendocina*, *Pseudomonas pseudoalcaligenes*) y se incubó durante 24 h a 30°C y se determinó el recuento viable total según el método de recuento en placa. Las muestras que no mostraron ningún crecimiento (<100 ufc/ml) se inocularon adicionalmente con 1 ml de suspensión espesa de carbonato de calcio triturado contaminada (el 60% en peso de partículas < 1 µm) (inoculaciones 2 y 3) y se incubaron durante 24 horas a 30°C. Se determinó el recuento viable total según el método de recuento en placa. No se realizaron más de tres inoculaciones. Los resultados se muestran en la siguiente tabla.

| Lote de reuterina A [ppm] | Recuentos viables totales [TVC·ml <sup>-1</sup> ] |      |      |
|---------------------------|---|------|------|
|                           | 0   | 165  | 330  |
| Inoculación 1             | >>10 <sup>4</sup>                                 | <100 | <100 |
| Inoculación 2             | >>10 <sup>4</sup>                                 | <100 | <100 |
| Inoculación 3             | >>10 <sup>4</sup>                                 | <100 | <100 |

Con el fin de confirmar estos resultados, se repitieron las pruebas usando reuterina procedente de diferentes lotes B a D obtenidos mediante el método descrito anteriormente.

20 Los resultados de estos experimentos de control demostraron claramente la reproducibilidad de la efectividad microbicida de la reuterina en dispersiones minerales blancas tal como se describió anteriormente y se muestra en la siguiente tabla, que también comprende los resultados de un experimento correspondiente de EFGH como ejemplo comparativo (control).

| Lotes de reuterina [ppm] | TVC (ufc/ml)      |              |              |              |                         |
|--------------------------|-------------------|--------------|--------------|--------------|-------------------------|
|                          | 0                 | B<br>163 ppm | C<br>163 ppm | D<br>326 ppm | EGHF control<br>250 ppm |
| inoculación 1            | >>10 <sup>4</sup> | <100         | <100         | <100         | <100                    |
| inoculación 2            | >>10 <sup>4</sup> | <100         | <100         | <100         | <100                    |
| inoculación 3            | >>10 <sup>4</sup> | <100         | <100         | <100         | <100                    |

## REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para estabilizar preparaciones acuosas de minerales con respecto a los microbios contenidos en las mismas mediante la adición de reuterina a la preparación acuosa, en el que las preparaciones acuosas de minerales son dispersiones, suspensiones o suspensiones espesas acuosas de materiales insolubles en un medio acuoso y tienen un contenido de sólidos de desde el 40 hasta el 85% en peso del peso total de la preparación.
2. Procedimiento según la reivindicación 1,
- caracterizado porque los minerales se seleccionan del grupo que comprende minerales naturales, minerales sintéticos, cargas y pigmentos tales como carbonato de calcio natural triturado en seco y en húmedo tal como tiza, piedra caliza, calcita, mármol y dolomía; carbonato de calcio precipitado en sus formas aragonítica, calcítica y vaterítica; sulfato de calcio; cuarzo; atapulgita; arcillas tales como caolín, arcilla caolinítica, arcilla caolinítica calcinada y montmorillonita; mica; talco; tierra de diatomeas; sílice finamente dividida; óxido de aluminio; hidróxido de aluminio; silicatos tales como silicato de aluminio; óxido de hierro; dióxido de titanio; piedra pómez; sepiolita, y mezclas de los mismos así como materiales compuestos que comprenden una o más de las sustancias mencionadas anteriormente, por ejemplo, materiales compuestos de pigmento incluyendo carbonato de calcio precipitado, mica, dióxido de titanio; así como materiales tratados en la superficie que comprenden una o más de las sustancias mencionadas anteriormente, por ejemplo, materiales tratados con ácidos grasos, así como carbonato de calcio, que se hace reaccionar en la superficie, por ejemplo, con un ácido de medio-fuerte a fuerte; y mezclas de los mismos.
3. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 2,
- caracterizado porque la preparación acuosa es una dispersión de carbonato de calcio que comprende carbonato de calcio precipitado y en el que se añade reuterina antes, durante y/o después de la precipitación del carbonato de calcio.
4. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores,
- caracterizado porque la preparación acuosa es una dispersión de carbonato de calcio que comprende carbonato de calcio natural y en el que se añade la reuterina antes, durante y/o después de la trituración del carbonato de calcio.
5. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores,
- caracterizado porque la preparación acuosa tiene un contenido de sólidos de desde el 45% hasta el 82% en peso, especialmente desde el 70% hasta el 80% en peso, particularmente desde el 72% hasta el 78% en peso, por ejemplo el 75% del peso total de la preparación.
6. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores,
- caracterizado porque la preparación acuosa tiene un contenido de agua de desde el 15% hasta el 60% en peso, más preferiblemente desde el 18% hasta el 55% en peso, especialmente desde el 20% hasta el 30% en peso, particularmente desde el 22% hasta el 28% en peso, por ejemplo el 25% en peso del peso total de la preparación.
7. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores,
- caracterizado porque la preparación acuosa tiene un pH en el intervalo de desde por encima de 7 hasta 10,5, preferiblemente desde 8,5 hasta 10, por ejemplo de 9 a 9,5 tal como se mide a 25°C.
8. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores,
- caracterizado porque la reuterina se obtiene a partir de la reacción de glicerol con *Lactobacillus reuteri*.
9. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores,
- caracterizado porque la reuterina comprende 3-hidroxi propionaldehído monomérico, 3-hidroxi propionaldehído monomérico hidratado, 3-hidroxi propionaldehído dimérico o formas cíclicas de los mismos o mezclas de los mismos.
10. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores,
- caracterizado porque la reuterina se añade a la preparación acuosa en una cantidad basada en el peso del agua de desde 100 ppm hasta 5000 ppm, preferiblemente desde aproximadamente 200 ppm hasta 2000 ppm, más

preferiblemente desde aproximadamente 450 ppm hasta 1000 ppm, por ejemplo 495 o 990 ppm.

11. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores,

caracterizado porque la reuterina se añade a la preparación mineral acuosa a temperaturas de desde 10°C hasta 90°C, preferiblemente de 20°C a 60°C, por ejemplo 30°C.

5 12. Uso de reuterina para la estabilización de preparaciones acuosas de minerales con respecto a los microbios, en el que las preparaciones acuosas de minerales son dispersiones, suspensiones o suspensiones espesas acuosas de minerales insolubles en un medio acuoso y tienen un contenido en sólidos de desde el 40 hasta el 85% en peso del peso total de la preparación.

13. Uso según la reivindicación 12,

10 caracterizado porque los minerales se seleccionan del grupo que comprende minerales naturales, minerales sintéticos, cargas y pigmentos tales como carbonato de calcio natural triturado en seco o en húmedo tal como tiza, piedra caliza, calcita, mármol y dolomía; carbonato de calcio precipitado en sus formas aragonítica, calcítica y vaterítica; sulfato de calcio; cuarzo; atapulgita; arcillas tales como caolín, arcilla caolinítica, arcilla caolinítica calcinada y montmorillonita; mica; talco; tierra de diatomeas; sílice finamente dividida; óxido de aluminio; hidróxido de aluminio; silicatos tales como silicato de aluminio; óxido de hierro; dióxido de titanio; piedra pómez; sepiolita, y mezclas de los mismos así como materiales compuestos que comprenden una o más de las sustancias mencionadas anteriormente, por ejemplo, materiales compuestos de pigmento incluyendo carbonato de calcio precipitado, mica, dióxido de titanio; así como materiales tratados en la superficie que comprenden una o más de las sustancias mencionadas anteriormente, por ejemplo, materiales tratados con ácidos grasos, así como carbonato de calcio que se hace reaccionar en la superficie, por ejemplo, con un ácido de medio-fuerte a fuerte; y mezclas de los mismos.

14. Uso según una cualquiera de las reivindicaciones 12 a 13,

25 caracterizado porque la preparación acuosa tiene un contenido de sólidos de desde el 45% hasta el 82% en peso, especialmente desde el 70% hasta el 80% en peso, particularmente desde el 72% hasta el 78% en peso, por ejemplo el 75% en peso del peso total de la preparación.

15. Uso según una cualquiera de las reivindicaciones 12 a 14,

caracterizado porque la preparación acuosa tiene un contenido de agua de desde el 15% hasta el 60% en peso, más preferiblemente desde el 18% hasta el 55% en peso, especialmente desde el 20% hasta el 30% en peso, particularmente desde el 22% hasta el 28% en peso, por ejemplo el 25% en peso del peso total de la preparación.

30 16. Uso según una cualquiera de las reivindicaciones 12 a 15,

caracterizado porque la preparación acuosa tiene un pH en el intervalo de desde 7 hasta 10,5, preferiblemente desde 8,5 hasta 10, por ejemplo de 9 a 9,5.

17. Uso según una cualquiera de las reivindicaciones 12 a 16,

35 caracterizado porque la reuterina se añade a la preparación acuosa en una cantidad basada en el peso del agua de desde aproximadamente 100 ppm hasta 5000 ppm, preferiblemente desde aproximadamente 200 ppm hasta 2000 ppm, más preferiblemente desde aproximadamente 450 ppm hasta 1000 ppm, por ejemplo 495 o 990 ppm.

18. Uso según una cualquiera de las reivindicaciones 12 a 17,

caracterizado porque la reuterina se añade a la preparación mineral acuosa a temperaturas de desde 10°C hasta 90°C, preferiblemente de 20°C a 60°C, por ejemplo 30°C.

40 19. Preparación acuosa que contiene minerales y reuterina,

en la que la preparación acuosa es una dispersión, suspensión o suspensión espesa acuosa que contiene minerales insolubles en un medio acuoso y reuterina y tiene un contenido de sólidos de desde el 40 hasta el 85% en peso del peso total de la preparación.