

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 604 120**

51 Int. Cl.:

C08J 9/28 (2006.01)

C08J 9/30 (2006.01)

B01F 17/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.10.2013 PCT/FR2013/052465**

87 Fecha y número de publicación internacional: **24.04.2014 WO14060697**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.10.2013 E 13789851 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **31.08.2016 EP 2909260**

54 Título: **Composición que comprende una fase interna dispersada en una fase continua hidrófila**

30 Prioridad:

16.10.2012 FR 1259867

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
03.03.2017

73 Titular/es:

**INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE
AGRONOMIQUE (INRA) (100.0%)
147, rue de l'Université
75007 Paris, FR**

72 Inventor/es:

**CAPRON, ISABELLE;
BIZOT, HERVÉ y
CATHALA, BERNARD**

74 Agente/Representante:

LINAGE GONZÁLEZ, Rafael

ES 2 604 120 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

Composición que comprende una fase interna dispersada en una fase continua hidrófila

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere al campo de las composiciones de fase interna elevada, ventajosamente una emulsión o una espuma, preferentemente una emulsión denominada de "fase interna media" o "fase interna elevada".

10

Técnica anterior

Ciertas composiciones comprenden una fase interna dispersada en una fase continua, a saber, en particular, emulsiones y espumas.

15

Una emulsión es una mezcla macroscópicamente homogénea, pero microscópicamente heterogénea, de dos sustancias líquidas no miscibles.

20

Las dos sustancias líquidas presentes se denominan fases. Una fase es continua; la otra fase discontinua interna está dispersada en la primera fase en forma de gotitas.

25

Una espuma es muy similar a una emulsión: el gas (a menudo el aire) está dispersado en muchas burbujas (se habla de "fase dispersada" o de "fase interna"), mientras que el líquido acuoso es completamente continuo (se habla de "fase continua").

30

La obtención de emulsiones de tipo aceite en agua, estabilizadas por nanocristales de quitina, se conoce, por ejemplo, por la publicación TZOUMAKI et al., "Oil-in-water emulsions stabilized by chitin nanocrystal particles", FOOD HYDROCOLLOIDS, 25 (2011), páginas 1521-1529.

35

En este documento, las emulsiones obtenidas comprenden un volumen de fase hidrófoba que es inferior a 50%.

Otras composiciones consisten en sistemas dispersados inmiscibles en los que la fase interna, también denominada fase dispersada, ocupa un volumen superior a aproximadamente 50 por ciento del volumen total de la composición.

40

Las emulsiones de fase interna elevada consisten normalmente en emulsiones denominadas de "fase interna media" o de "fase interna elevada", también denominadas emulsiones de tipo "MIPE" (que corresponde a "Medium Internal Phase Emulsions") o "HIPE" (que corresponde a "High Internal Phase Emulsions") respectivamente.

45

Las emulsiones de fase interna elevada o HIPE consisten en sistemas dispersados inmiscibles líquido/líquido en los que la fase interna ocupa un volumen superior a aproximadamente 74%-75% del volumen total de la emulsión, es decir, un volumen superior al que es posible geoméricamente para el empaquetado compacto de esferas monodispersas.

50

Las emulsiones de fase interna media o MIPE consisten por su parte en sistemas dispersados inmiscibles líquido/líquido en los que la fase interna ocupa un volumen comprendido entre aproximadamente 50% y 74-75% del volumen total de la emulsión.

55

La obtención de emulsiones de tipo agua en aceite de fase interna elevada (de tipo MIPE o HIPE) y su utilización para la fabricación de espumas polímeras se describe, por ejemplo, en la solicitud PCT nº WO-2010/058148.

En esta solicitud PCT nº WO-2010/058148, la emulsión de fase interna elevada es estabilizada por partículas derivadas de celulosa o de quitina, que son funcionalizadas para esto en la superficie mediante hidrofobización.

60

No obstante, el empleo de estas partículas transformadas es susceptible de plantear problemas de seguridad, en particular para aplicaciones alimentarias, con los aspectos de su inocuidad para el consumidor.

La obtención de estas partículas transformadas obliga a una etapa complementaria de modificación de la superficie.

65

Estas partículas transformadas además no están adaptadas para la encapsulación en constituyentes hidrófobos, debido a que están previstas para emulsiones de tipo de agua en aceite.

Teniendo en cuenta lo que antecede, existe una necesidad de nuevas composiciones de emulsión en fase interna elevada de tipo aceite en agua, para diversas aplicaciones industriales, en particular la alimentaria.

70

Más generalmente, existe una necesidad de estas composiciones en particular de emulsiones de fase interna elevada, que estén estabilizadas por agentes disponibles en gran cantidad, biodegradables, no tóxicos, renovables,

poco costosos, de densidades muy bajas y finalmente que sean fácilmente adaptables mediante modificación de la superficie.

Sumario de la Invención

5 La presente invención se refiere a una composición (ventajosamente una emulsión o una espuma) que comprende una fase interna, particularmente hidrófoba o gaseosa, dispersada en una fase continua hidrófila que posee un porcentaje de fase interna superior a 50%.

10 Esta composición se caracteriza porque contiene nanocristales de un polisacárido distinto de la celulosa, localizados en la superficie interfacial entre dicha fase interna y dicha fase continua.

Por tanto, la composición según la invención contiene ventajosamente:

15 (i) nanocristales procedentes de un único polisacárido o de al menos dos polisacáridos diferentes, excluyendo nanocristales de celulosa, o

(ii) nanocristales procedentes de un polisacárido único o de al menos dos polisacáridos diferentes, distintos de la celulosa, en combinación con nanocristales procedentes de celulosa.

20 Los nanocristales de polisacáridos, distintos de los nanocristales de celulosa, se escogen ventajosamente entre nanocristales que tienen carga positiva, a saber, preferentemente, nanocristales de quitina.

Estos nanocristales de polisacáridos se escogen preferentemente entre:

25 (i) exclusivamente nanocristales de polisacárido con carga positiva, excluyendo nanocristales de celulosa, o

(ii) nanocristales de polisacárido con carga positiva, distinto de celulosa, mezclados con nanocristales procedentes al menos un polisacárido con carga negativa.

30 Esta composición consiste ventajosamente en una emulsión o una espuma.

La composición consiste ventajosamente en una composición de emulsión de tipo de fase interna elevada o HIPE, que posee un porcentaje de fase interna superior a 75%.

35 De forma alternativa, la composición de emulsión es tipo de fase interna media o MIPE, que comprende un porcentaje de fase interna comprendido entre 50 y 75%.

40 La presente invención se refiere adicionalmente a un procedimiento de obtención de una composición que comprende una fase interna, particularmente hidrófoba o gaseosa, dispersada en una fase continua hidrófila, que posee un porcentaje de fase interna superior a 50%.

Este procedimiento se caracteriza porque comprende las operaciones siguientes:

45 a) una etapa de incorporación de nanocristales de un polisacárido distinto de la celulosa, en una fase hidrófila,

b) una operación de suministro de dicha fase hidrófila que contiene nanocristales de polisacárido y una fase destinada a constituir la fase interna, en particular una fase interna hidrófoba,

50 c) una operación de formación de dicha composición mediante dispersión de dicha fase interna en dicha fase hidrófila.

Los nanocristales de polisacárido incorporados en la a) se escogen ventajosamente entre nanocristales que tienen carga positiva, a saber, preferentemente, nanocristales de quitina.

55 Estos nanocristales de polisacárido se escogen en particular entre:

(i) exclusivamente nanocristales de polisacárido con carga positiva, excluyendo nanocristales de celulosa, o

60 (ii) nanocristales de polisacárido con carga positiva, distinto de la celulosa, mezclados con nanocristales procedentes de al menos un polisacárido con carga negativa.

Al final de la etapa c) la composición obtenida consiste ventajosamente en una emulsión o en una espuma.

65 Según un primer modo de realización, la operación c) de formación de una emulsión consiste en una operación "secuencial" que comprende:

c.1) una etapa de obtención de una emulsión de aceite en agua, intermedia, que tiene una relación en volumen de fase interna hidrófoba/fase continua hidrófila de al menos 5/95,

5 c.2) una etapa de obtención de la composición de emulsión que posee un porcentaje de fase interna superior a 50%, que comprende:

c.2.1) una etapa de adición de un volumen de fase hidrófoba a la emulsión intermedia obtenida en la etapa c.1), y agitación de la mezcla así obtenida, y/o

10 c.2.2) una etapa de concentración de la emulsión intermedia obtenida en la etapa c.1), mediante retirada de al menos un parte de dicha fase hidrófila.

15 En este caso, en la etapa c.1), la emulsión de aceite en agua intermedia tiene ventajosamente un porcentaje de fase interna superior o igual a 50%.

20 Según un segundo modo de realización, la operación c) de formación de una emulsión consiste ventajosamente en una operación "directa" que consiste en mezclar la fase hidrófila que contiene nanocristales de polisacárido y la fase hidrófoba, para la obtención directamente de dicha emulsión que posee un porcentaje de fase interna superior a 50%.

25 De manera general, al final de la etapa c), la composición de emulsión formada es (i) de tipo de fase interna elevada o HIPE, que posee un porcentaje de fase interna superior a 75% o (ii) de tipo de fase interna media o MIPE, que posee un porcentaje de fase interna comprendido entre 50% y 75%.

25 Descripción de las figuras

30 Figura 1: Distribución del diámetro de las gotas (μm) en función de la concentración de nanocristales de quitina en la fase acuosa (g/l);

Figura 2: Distribución del diámetro de las gotas (μm) en función del pH del medio, ajustado mediante la modificación de la concentración de HCl (nanocristales de quitina de 3 g/l NaCl 20 mM);

35 Figura 3: Distribución de los diámetros de las gotas (μm) después de un almacenamiento a diferentes temperaturas (nanocristales de quitina a 3 g/l HCl 0,01 mM, NaCl 20 mM);

Figura 4: Distribución de los diámetros de las gotas (μm) antes y después del secado (nanocristales de quitina a 5 g/l, HCl 0,01 mM, NaCl 50 mM);

40 Figura 5: Evolución del porcentaje de fase interna para una suspensión mixta de nanocristales de quitina, 1,5 g/l/nanocristales de celulosa 1,5 g/l ("quitina NC 1,5 g/l + celulosa NC 1,5 g/l"), en comparación con una suspensión testigo de nanocristales de quitina a 3 g/l ("testigo de quitina NC 3 g/l"), en función del volumen de aceite añadido en ml.

45 Descripción detallada de la invención

La presente invención proporciona una nueva composición de fase interna elevada, es decir, ventajosamente una composición de emulsión de fase interna media (MIPE) o de fase interna elevada (HIPE), así como procedimientos para la obtención de esta composición.

50 De manera general, el solicitante ha mostrado que, de forma inesperada, una composición de emulsión de tipo MIPE/HIPE puede ser estabilizada mediante nanocristales de un polisacárido distinto de la celulosa.

55 El solicitante ha mostrado igualmente que, de forma inesperada, una composición en forma de espuma puede ser estabilizada mediante nanocristales de un polisacárido distinto de la celulosa.

Los nanocristales de polisacárido, distintos de nanocristales de celulosa, presentan ventajosamente las siguientes ventajas:

60 - una adsorción irreversible que genera una gran estabilidad de las emulsiones MIPE/HIPE (la energía de desprendimiento necesaria para la desorción de los nanocristales de la superficie interfacial es tal que se considera que esta desorción no se producirá de forma espontánea),

- no toxicidad,

65 - biodegradables,

- procedentes de una fuente biológica, y
- fácilmente modificable mediante tratamiento posterior.

5 Estos nanocristales de polisacárido, distintos de los de celulosa, poseen ventajosamente una estructura de tipo varilla anisótropa, que asegura porcentajes de revestimiento y porosidad variables.

10 Incluso preferentemente, los nanocristales de polisacárido, distintos de los de celulosa, se escogen ventajosamente entre nanocristales procedentes de polisacáridos que comprenden monómeros de glucosa, o derivados de glucosa (por ejemplo, de glucosamina o de derivado de glucosamina), unidos mediante enlaces beta 1,4.

15 Los nanocristales de polisacárido escogidos poseen ventajosamente una carga positiva modulable (mientras que la mayor parte de los biopolímeros son de carga negativa), permitiendo combinaciones originales y múltiples.

COMPOSICIÓN SEGÚN LA INVENCION

20 La composición según la invención comprende por tanto una fase interna dispersada en una fase continua hidrófila, que posee un porcentaje de fase interna superior a 50%.

Esta composición contiene nanocristales de un polisacárido distinto de celulosa; estos nanocristales están localizados en la superficie interfacial entre la fase interna y la fase continua hidrófila.

25 Esta composición consiste ventajosamente en:

- una composición de emulsión de tipo fase interna media (MIPE) o de fase interna elevada (HIPE), en la que dicha fase interna está constituida por una fase líquida hidrófoba, o
- una composición en forma de espuma, en la que dicha fase interna está constituida por una fase gaseosa.

Definición general

La composición según la invención consiste ventajosamente en una emulsión o una espuma.

35 Mediante "emulsión" o "composición de emulsión", se entiende una mezcla macroscópicamente homogénea, pero microscópicamente heterogénea, de dos fases líquidas no miscibles.

40 En la presente invención, las definiciones de "emulsión" o de "composición de emulsión" se emplean de forma indiferente.

En una emulsión de la clase "aceite en agua", en el contexto de la invención, (i) la fase continua dispersante hidrófila consiste en una fase acuosa y (ii) la fase interna dispersada es una fase hidrófoba.

45 Una emulsión de aceite en agua puede ser designada también mediante las siglas "H/E" en la presente invención.

Mediante "espuma" se entiende un medio complejo constituido por un material sólido o líquido íntimamente mezclado con un gas.

50 Según la invención, la espuma consiste ventajosamente en una espuma líquida acuosa en la cual (i) la fase continua dispersante hidrófila consiste en una fase acuosa y (ii) la fase interna dispersada es una fase gaseosa.

Esta espuma puede consistir en una espuma denominada "seca", es decir, una espuma poco hidratada.

55 Más precisamente, una espuma se denomina "seca" cuando el líquido sólo ocupa una parte despreciable del volumen total de la espuma; por el contrario, se supone por tanto que la fracción en volumen de líquido es entonces nula.

Experimentalmente, la fracción en volumen de líquido puede descender desde 10^{-2} , aproximadamente 10^{-4} .

60 La fracción en volumen de líquido corresponde a la relación entre el volumen de líquido y el volumen total de espuma ($V_{\text{líquido}}/V_{\text{espuma}}$).

Este valor está asociado a la densidad ρ de la espuma mediante la fórmula siguiente:

$$\rho = \rho_l \phi_l + \rho_g (1 - \phi_l)$$

en la cual:

5 ρ_l y ρ_g , son las densidades respectivas de la solución y del gas,

ϕ_l corresponde a la fracción en volumen de líquido,

10 ϕ_l^* corresponde a la fracción en volumen de líquido crítica, para la cual las gotas no son deformadas (esta definición definida adicionalmente en la publicación "Les mousses: structure et dynamique", L. Cantat et al. Paris; Ed Belin, 2010 - 278 páginas - ISBN: 978-2-7011-4284-5).

Se definen por tanto tres tipos de estructuras de espuma:

15 - si $\phi_l^* < \phi_l$: las burbujas son esféricas y sin contacto corresponden a un líquido burbujeante,

- si $0,05 < \phi_l < \phi_l^*$: las burbujas se tocan y adoptan la forma de esferas rotas, correspondientes a una espuma húmeda,

20 - si $\phi_l < 0,05$: las burbujas se tocan y adoptan la forma de poliedros, correspondientes a una espuma seca.

Dicho de otro modo, el porcentaje de fase interna está comprendido entre 64% y 95%, aproximadamente, para una espuma húmeda; la fracción en volumen de fase interna está por encima de 95% para una espuma seca.

25 Los aspectos técnicos relativos a estas espumas se describen adicionalmente en el documento siguiente: "Les mousses: structure et dynamique", L. Cantat et al. Paris; Ed Belin, 2010 - 278 páginas - ISBN: 978-2-7011-4284-5.

30 En la presente descripción, las expresiones "fase aceitosa" y "fase hidrófoba" pueden ser utilizadas de forma indiferente para designar el líquido aceitoso utilizado para la preparación de una emulsión de la clase de aceite en agua.

La composición según la invención comprende al menos una fase interna.

35 En la presente descripción, con la excepción de los aspectos específicos de las emulsiones, las expresiones "fase interna", "fase interna hidrófoba", "fase dispersada", "fase dispersada hidrófoba" pueden ser utilizadas de forma indiferente para designar:

- la fase aceitosa dispersada de una emulsión de la clase aceite en agua, o

40 - el gas dispersado en una espuma líquida acuosa.

En la presente descripción, las expresiones "fase acuosa" y "fase hidrófila" pueden ser utilizadas de forma indiferente para designar el líquido acuoso utilizado para la preparación de una emulsión de la clase aceite en agua o de una espuma.

45 En la presente descripción, las expresiones "fase continua", "fase continua hidrófila" y "fase continua acuosa" pueden ser utilizadas de forma diferente para designar la fase acuosa dispersante de una emulsión de aceite en agua o de una espuma.

50 Mediante "porcentaje de fase interna" de una composición de emulsión o de una espuma se entiende, según la invención, la relación expresada en porcentaje en volumen entre (i) el volumen de fase interna dispersado en la fase continua hidrófila y (ii) el volumen total de la composición resultante.

55 Para una espuma, la definición de "porcentaje de fase interna" corresponde ventajosamente, de manera equivalente, a la definición de "fracción en volumen de la fase dispersada".

Una composición de "fase interna elevada" es por tanto un sistema dispersado inmiscible líquido/líquido o líquido/gas en el que la fase interna, también denominada fase dispersada, ocupa un volumen superior a aproximadamente 50%, preferentemente a aproximadamente 55% del volumen total de la composición.

60 Una "emulsión de fase interna elevada" es por tanto un sistema dispersado inmiscible líquido/líquido en el que la fase interna, también denominada fase dispersada, ocupa un volumen superior a aproximadamente 50%, preferentemente a aproximadamente 55% del volumen total de la emulsión.

Se recuerda que una emulsión de fase interna elevada (HIPE) consiste en un sistema dispersado inmiscible líquido/líquido en el que la fase interna, también denominada fase dispersada, ocupa un volumen superior a aproximadamente 74-75 por ciento del volumen total de la emulsión, es decir, un volumen superior al que es posible geoméricamente para el empaquetado compacto de esferas monodispersas, es decir, de una población de esferas de tamaño homogéneo.

Se recuerda adicionalmente que una emulsión de fase interna media (MIPE) consiste en un sistema dispersado inmiscible líquido/líquido en el que la fase interna ocupa un volumen comprendido entre 50 y 74-75 por ciento del volumen total de la emulsión.

Según la invención, la emulsión de fase interna media (MIPE) consiste ventajosamente en un sistema dispersado inmiscible líquido/líquido en el que la fase interna ocupa un volumen comprendido entre 50, preferentemente 55 y 74-75 por ciento del volumen total de la emulsión.

En ciertas situaciones, cuando una emulsión de tipo HIPE es preparada según el procedimiento definido con anterioridad, se puede obtener una fase de emulsión que comprende una fase hidrófoba que está dispersada en la fase continua hidrófila en forma de emulsión, eventualmente con (i) una fase aceitosa constituida por un volumen de fase hidrófoba que está presente en la composición en una forma no dispersada (siendo medido este volumen) y/o (ii) una fase acuosa (que no forma de la emulsión).

El porcentaje de fase interna se calcula mediante (i) medición del volumen de la fase hidrófoba no dispersada, la cual en general sobrepasa la fase de emulsión, (ii) medición del volumen de la fase de emulsión y seguidamente (iii) cálculo del volumen de fase hidrófoba que está en forma dispersada en una fase de emulsión, debiendo entenderse que es conocido el volumen total de fase hidrófoba contenido en la composición.

Mediante "relación en volumen de fase interna hidrófoba/fase continua hidrófila", particularmente para una emulsión de tipo MIPE o HIPE, se entiende según la invención la relación entre (i) el volumen de la fase hidrófoba incluida en la emulsión y (ii) el volumen de la fase hidrófila incluida en la emulsión.

Esta última relación es únicamente indicativa, en el sentido de que es igualmente en función de la cantidad de nanocristales incluidos en la emulsión. De manera general, los ensayos se realizaron con una fase hidrófila que contiene nanopartículas en suspensión a una concentración de 0,3 a 0,8 g/l. Esta concentración no es en modo alguno limitativa; el límite más fiable es ventajosamente, sin limitación alguna, un grado de revestimiento de 80% durante la fabricación de la emulsión de Pickering. En el caso de un procedimiento de fabricación "secuencial" desarrollado con posterioridad, si se cumple la condición de estabilidad de la emulsión de Pickering (etapa c.1)), el procedimiento puede estar seguido de la adición de la fase hidrófoba o de la retirada de al menos una parte de la fase hidrófila para formar la emulsión MIPE o HIPE (etapa c.2)).

Porcentaje de fase interna

Según la invención, una composición que comprende una "fase interna elevada" posee un porcentaje de fase interna superior a 50%, preferentemente superior a 55%.

Según un modo de realización, la emulsión formada es ventajosamente del tipo de fase interna media (MIPE), que posee un porcentaje de fase interna comprendido entre 50% y 75%, preferentemente entre 55% y 75%, ventajosamente incluso entre 60% y 75%, ventajosamente incluso entre 65% y 75% y ventajosamente incluso entre 70% y 75%.

Según otro modo de realización, la emulsión formada puede ser incluso del tipo de fase interna elevada (HIPE), que posee un porcentaje de fase interna superior a 75%, preferentemente incluso superior a 80%, preferentemente incluso superior a 85%, todavía incluso superior a 90%. Este porcentaje de fase interna está incluso comprendido ventajosamente entre 80% y 90%, preferentemente entre 85% y 90%.

Según otro modo de realización adicional, la composición se presenta en forma de una espuma cuyo porcentaje de fase interna, correspondiente a la fracción en volumen de fase dispersada, es superior a 50%, preferentemente superior a 55%, preferentemente incluso entre 64% y 95%.

En el caso de una espuma denominada "seca", el porcentaje de fase interna es ventajosamente superior a 95%.

Relación en volumen

En ciertos modos de realización, se forma una composición de emulsión MIPE o HIPE que tiene una relación en volumen de fase interna hidrófoba/fase continua hidrófila superior a 60/40, preferentemente incluso superior a 80/20.

Por "superior a 60/40" o "de al menos 60/40", se entiende una fase interna hidrófoba cuyo valor es ventajosamente superior a 60 en la relación en volumen, a saber, particularmente 65/35, 70/30, 75/25, 80/20, 85/15 o 90/10.

Por "superior a 80/20" o "de al menos 80/20", se entiende una fase interna hidrófoba cuyo valor es ventajosamente superior a 80 en la relación en volumen, a saber, particularmente 85/15 o 90/10.

5 Nanocristales de un polisacárido distinto de la celulosa

La composición, en particular una composición de emulsión, es estabilizada por tanto por nanocristales de polisacárido que consisten, para algunos al menos, en nanocristales distintos de nanocristales de celulosa.

10 Los polisacáridos (a veces denominados glicanos, poliósidos, poliholósidos o glúcidos complejos) son polímeros constituidos por varias osas (denominados azúcares o "unidad de anhidroglucosa" o "AGU") unidas entre ellas.

15 Por "polisacáridos", se entiende en particular polímeros formados por la condensación repetitiva de osas mediante un enlace osídico, ventajosamente de al menos 10 unidades osídicas, para alcanzar varios centenares o millares de unidades.

Los nanocristales de polisacárido son conocidos en la técnica anterior, a menudo con la denominación de "whiskers" o "nanowhiskers".

20 El término "nanocristales" significa que se trata de cristales en los que al menos una dimensión es de tamaño nanoscópico o submicrónico, constituidos por cadenas macromoleculares orientadas en el sentido de la fibra de forma paralela o antiparalela.

25 Estos nanocristales de polisacárido pueden proceder de diversas fuentes, por ejemplo, de origen vegetal, bacteriano, animal, fúngico o amébio; pueden ser obtenidos mediante degradación de la fuente o por recristalización.

La composición según la invención puede contener en particular:

30 (i) nanocristales procedentes de un polisacárido o de una mezcla de polisacáridos, distintos de la celulosa, o

(ii) nanocristales procedentes de un polisacárido o de una mezcla de polisacáridos, distintos de la celulosa, mezclados con nanocristales de la celulosa.

35 Mediante "nanocristales de celulosa" se entiende nanocristales conocidos en la técnica anterior, a menudo con la denominación de "whiskers" de celulosa, "nanowhiskers" de celulosa o "nanocelulosa".

40 Estos nanocristales de celulosa pueden proceder de diversas fuentes: vegetal (por ejemplo, pulpa de madera, algodón o algas), animal (por ejemplo, tuniciado), bacteriano, celulosa regenerada o celulosa mercerizada. Se describen, por ejemplo, en el documento de Samir et al. (2005, Biomacromolecules, Vol.6: 612-626) o en el documento de Elazzouzi-Hafraoui et al. (Biomacromolecules. 2008;9(1):57-65.).

45 Los nanocristales de polisacárido, distintos de los de celulosa, se escogen ventajosamente entre nanocristales procedentes de polisacáridos denominados "de estructura", es decir, polímeros de glucosa o de un derivado de glucosa que no están ramificados y cuyo enlace entre unidad es un enlace anómero de tipo β .

A este respecto, los nanocristales de polisacárido, distintos de los de celulosa, se escogen ventajosamente entre nanocristales procedentes de los polisacáridos siguientes:

50 - glucanos, polímeros de D-glucosa,

- galactanos, polímeros de D-galactosa,

55 - xilanos, polímeros de D-xilosa, y

- polímeros D-glucosamina, que comprenden particularmente quitina.

Por "glucano" se entiende el grupo de los α -glucanos, comprendidos los polisacáridos siguientes:

60 - almidón, α -1,4- y α -1,6-glucano

- amilopectina, α -1,4- y α -1,6-glucano

65 - amilosa, α -1,4-glucano.

Por "glucano" se entiende igualmente el grupo de los β -glucanos, comprendidos los polisacáridos siguientes:

- curdlano, β -1,3-glucano

5 - laminarina, β -1,3- y β -1,6-glucano

- lentinano, para β -1,6: β -1,3-glucano

- pamyron

10

- pleurano, β -1,3- y β -1,6-glucano

- zimosano, β -1,3-glucano.

15 De forma incluso preferida, estos nanocristales de polisacárido, distintos de los de celulosa, se escogen ventajosamente entre nanocristales procedentes de polisacáridos que comprenden monómeros de glucosa, o derivado de glucosa (por ejemplo, glucosamina o de derivado de glucosamina, particularmente, del tipo N-acetil-D-glucosamina), unidos mediante enlaces beta 1,4.

20 Entre los nanocristales de polisacárido, se escogen en particular entre los que comprenden una carga positiva (mientras que la mayor parte de los biopolímeros tienen carga negativa), permitiendo combinaciones originales y múltiples.

Esta carga positiva es ventajosamente modulable.

25

Esta carga positiva puede ser intrínseca a los nanocristales de interés (partículas no funcionalizadas) o puede ser obtenida mediante funcionalización (ventajosamente mediante injertado de una función N-acetilamina).

La composición según la invención puede contener por tanto en particular:

30

(i) exclusivamente nanocristales de polisacárido con carga positiva, excluyendo nanocristales de celulosa, o

(ii) nanocristales de polisacárido con carga positiva, distintos de la celulosa, mezclados con nanocristales procedentes de al menos un polisacárido, ventajosamente con carga negativa.

35

A este respecto, los nanocristales de polisacárido se escogen por tanto ventajosamente entre nanocristales de quitina, designados incluso de forma general en inglés con el nombre de "chitin nano-crystal" o "ChN".

40 El nombre químico de la molécula de quitina es poli-N-acetil-D-glucosamina, β -(1,4)-2-acetamido-desoxi-D-glucosa o más simplemente [N-acetil-D-glucosamina β -(1,4) N-acetil-D-glucosamina]_n.

La quitina abarca ventajosamente polisacáridos compuestos por unidades de N-acetil- β -D-glucosamina (de 50 a 100%) y unidades de D-glucosamina (de 0 a 50%).

45 En el contexto de la invención, se nombrarán ventajosamente "nanocristales de quitina" a objetos cristalinos aciculares formados a partir de una asociación de cadenas copolímeras de glucosamina y N-acetil-D-glucosamina unidas mediante un enlace β , (1-4).

50 Los nanocristales de quitina pueden ser de origen animal o fúngico. Como ejemplo de fuente animal se pueden citar los crustáceos (cangrejos, gambas, langostas, etc.) y ciertos insectos (abejorros, escarabajos, etc.). Como ejemplo de fuente fúngica de la quitina se pueden citar los hongos y las levaduras.

55 Como se desarrolla en lo que sigue, el solicitante ha mostrado que las propiedades físico-químicas de una composición de emulsión del tipo MIPE/ HIPE estabilizada por nanocristales de quitina están condicionadas por los parámetros siguientes:

- los parámetros estructurales de los nanocristales de quitina,

- la densidad de carga en la superficie de los nanocristales de quitina,

60

- el grado de revestimiento por los nanocristales de quitina,

- la relación en volumen de fase dispersada hidrófoba/fase continua hidrófila,

65

- la fuerza iónica o el pH de la composición de emulsión, y

- el método de preparación.

5 Como se desarrolla igualmente en lo que sigue, el solicitante ha mostrado que las propiedades físico-químicas de una composición del tipo espuma estabilizada por nanocristales de quitina están condicionadas por los parámetros siguientes:

- el grado de revestimiento por los nanocristales de quitina,

10 - la fuerza iónica o el pH de la composición de emulsión.

En particular, los nanocristales de quitina presentan, de forma inesperada, cualidades superiores de estabilización (asociadas a la presencia de funciones acetilamina cuyo carácter hidrófobo refuerza el carácter anfifílico que hace que estos nanocristales estén más fácilmente en la superficie interfacial.

15 Los nanocristales pueden proceder incluso de polisacáridos escogidos entre β -1,3-glucano, β -1,3-xilano y β -1,4-manano, que tienen en común una estructura fibrilar semejante a la de la quitina. También, estos polisacáridos pueden presentarse en forma de nanocristales.

20 Estos últimos nanocristales pueden ser de origen vegetal o fúngico. Como ejemplo de fuente vegetal se puede citar, en particular, para el β -1,3-xilano, ciertas algas. Para el β -1,4-manano, se pueden citar igualmente ciertas algas, así como el endospermo de granos de plantas terrestres. Como ejemplo de fuente fúngica de los polisacáridos se pueden citar, para el β -1,3-glucano, ciertos hongos y ciertas levaduras.

25 Los nanocristales pueden proceder incluso de polisacáridos escogidos entre almidón, α -1,4-glucano y α -1,6-glucano.

La composición según la invención puede contener, por tanto, ventajosamente:

30 (i) nanocristales de quitina exclusivamente, o

(ii) nanocristales de quitina, ventajosamente con carga positiva, mezclados con nanocristales procedentes de al menos otro polisacárido (por ejemplo, celulosa) ventajosamente con carga negativa.

35 Según un modo de realización preferido del caso (i), la composición es estabilizada únicamente por nanocristales de quitina, sin adición:

- ni de otros compuestos emulsionantes o estabilizantes,

40 - ni de otras partículas sólidas, en que dichas partículas sólidas están funcionalizadas o no funcionalizadas.

Según el caso (ii), la relación de nanocristales de quitina con carga positiva/ nanocristales procedentes de polisacárido(s) con carga negativa se ajusta ventajosamente según un valor correspondiente a la carga superficial deseada.

45 Esta relación se puede escoger, por ejemplo, entre 1/99 y 99/1, preferentemente entre 10/90 y 90/10, particularmente entre 1/99, 10/90, 20/80, 30/70, 40/60, 50/50, 60/40, 70/30, 80/20, 90/10 o 99/1.

En este caso, la superficie de las gotas o burbujas sería ventajosamente de tipo de iones híbridos (positivo y negativo).

50 La composición puede contener incluso cualquier otro compuesto apropiado para su utilización, para su destino final o para su aplicación.

55 La aplicación de la composición se puede escoger entre composiciones utilizables en los campos alimentarios, cosméticos, farmacéuticos o incluso fitosanitarios.

En función de la aplicación buscada para la composición final según la invención, la composición puede contener, por ejemplo, sin limitación alguna, principios activos y adyuvantes como conservantes, gelificantes, disolventes, materias colorantes, etc.

60 Características dimensionales de los nanocristales de polisacárido

Los nanocristales de polisacárido, particularmente de quitina, son partículas sólidas altamente cristalinas.

65 Estos nanocristales de polisacárido están desprovistos, o al menos prácticamente desprovistos, de parte amorfa. Presentan preferentemente un grado de cristalinidad de al menos 60% y, preferentemente comprendido entre 60% y

95%.

Los nanocristales de polisacárido, distintos de los de celulosa, se presentan ventajosamente en forma de varillas anisótropas (Revol JF and Marchessault RH, Int. J. Biol. Macromol. (15) 1993, 325), de plaquetas o de esferas (esferillas) (Murray S.B. and Neville A.C. Int J. Biol. Macromol. 20 (1997) 123-130).

Mediante "varillas anisótropas" se entienden partículas orientables con una relación de longitud/ anchura superior a 1.

Esta morfología puede ser observada, por ejemplo, mediante microscopio electrónico, en particular mediante microscopía electrónica de transmisión (o "MET").

Estos nanocristales tienen ventajosamente anchuras que varían de 2 a 50 nm, para longitudes máximas de aproximadamente 1 micrómetro.

Ventajosamente, los nanocristales de quitina tienen una forma alargada anisótropa.

Los nanocristales de quitina comprenden generalmente las características dimensionales siguientes: (i) una longitud media comprendida entre 150 y 600 nm y (ii) una anchura comprendida entre 5 y 50 nm.

Como excepción, se conoce igualmente nanocristales procedentes de quitina de "rifia" (animal de las profundidades marinas) cuyas características dimensionales son: (i) una longitud media de aproximadamente 2.200 nm y (ii) una anchura de aproximadamente 18 nm.

Mediante "longitud" se entiende la dimensión más elevada de los nanocristales, que separa dos puntos situados en las extremidades de su eje longitudinal respectivo.

Mediante "anchura" se entiende la dimensión medida a lo largo de los nanocristales, perpendicularmente a su eje longitudinal respectivo y correspondiente a su sección máxima.

En modos de realización preferidos, las nanopartículas de quitina forman una población relativamente homogénea de nanocristales cuyos valores experimentales de longitud siguen una distribución gaussiana centrada sobre el valor de la longitud asignada para dicha población de nanocristales. En estos modos de realización preferidos, se pueden utilizar, por ejemplo, nanocristales de quitina de un "único tamaño determinado", como se ilustra en los Ejemplos.

En la práctica, la morfología y las dimensiones de los nanocristales pueden ser determinados utilizando diferentes técnicas de formación de imágenes como microscopía electrónica de transmisión (MET) o microscopía de fuerza atómica (AFM), difusión de rayos X o de neutrones de ángulos pequeños (respectivamente SAXS para "Small-Angle X-ray Scattering" y SANS para "Small-Angle Neutron Scattering") o incluso la difusión dinámica de la luz (DDL).

Ventajosamente, los nanocristales de quitina tienen una relación de longitud/anchura superior a 1 e inferior a 100, preferentemente comprendida entre 5 y 30.

Una relación de longitud/anchura superior a 1 e inferior a 100 abarca las relaciones de longitud/anchura de al menos 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 y 99.

Por ejemplo, los nanocristales de quitina pueden proceder de:

- caparazón de cangrejo: 240 nm sobre 15 nm (Nair et Dufresne, Biomacromolecules 2003) o 260 ± 80 nm sobre 23 ± 3 nm (Belamie et al. J. Phys. Chem. 2004), o

- caparazón de gamba: 200 a 560 nm sobre 18 a 40 nm (Phonggying et al. Polymer 2007).

Carga en la superficie de los nanocristales de polisacárido

Para optimizar la estabilidad de las composiciones, los nanocristales de polisacárido se escogen ventajosamente en función de sus características superficiales, teniendo en cuenta particularmente aspectos electrostáticos.

En particular, los nanocristales de quitina tienen carga positiva debido a las funciones aminas en la superficie (en particular, un grupo N-acetilglucosamina); la densidad de carga de la superficie varía entonces según el nivel de acetilación.

En lo que se refiere a las características electrostáticas de la superficie, los nanocristales de quitina que estabilizan

la emulsión tienen ventajosamente una densidad de cargas superficiales máxima de aproximadamente 1 e.nm^{-2} . Se aprecia que “e” corresponde a una carga elemental.

5 La densidad de carga superficial se puede escoger ventajosamente en función de la fuerza iónica de la fase acuosa.

El efecto desestabilizante de la densidad de carga superficial puede ser eventualmente neutralizado mediante un aumento de la fuerza iónica en la fase acuosa.

10 Ventajosamente, esta densidad de carga superficial se determina mediante dosificación conductimétrica.

La densidad de carga superficial puede ser obtenida mediante un control del grado de acetilación de los nanocristales.

15 El “grado de acetilación” (o “DA”) es la fracción molar x 100 unidades de N-acetil-D-glucosamina sobre el número total de unidades de glucosamina.

El DA puede ser determinado mediante diferentes métodos: titulación conductimétrica, medición por análisis elemental de la relación de nitrógeno/carbono, espectrometrías IR o UV, RMN líquida ^1H o sólida ^{13}C o mediante reacción enzimática (M. Rinaudo, Progress in Polymer Science, 2006, 31, 603-632).

20 La desacetilación de la quitina se puede efectuar en estado alcalino (NaOH concentrado) o mediante hidrólisis enzimática en presencia de quitina desacetilasa.

25 Es posible desacetilar parcialmente los nanocristales de quitina mediante un tratamiento alcalino, por ejemplo, una solución de NaOH al 33% a 90°C durante 2 h a 4 h con rendimientos de 85% a 90% (Y. M. Fan, T. Saito and A. Isogai, Carbohydrate Polymers, 2010, 79, 1046-1051).

El grado acetilación (DA) define la solubilidad de la cadena y, por tanto, su nomenclatura.

30 Para valores de DA superiores a 50%, la quitina se presenta en una forma sólida insoluble; para valores de DA inferiores a 50%, se obtienen cadenas solubles de quitosano.

35 Según la invención, este grado de acetilación está comprendido ventajosamente entre 50% y 100%, preferentemente al menos 70% (por ejemplo, aproximadamente 74%), preferentemente incluso de aproximadamente 90%.

De forma general, los nanocristales de polisacárido utilizados según la invención son nanocristales que no han sido sometidos a modificaciones de las funciones superficiales.

40 Esto abarca los nanocristales de quitina cuyas funciones aminas no han sido modificadas mediante desacetilación.

Particularmente, se utilizan preferentemente nanocristales de sacarárido que no han sido funcionalizados o injertados con grupos que permiten su reticulación posterior, por ejemplo, grupos de tipo metacrilato o dimetacrilato.

45 Igualmente, se utilizan preferentemente nanocristales de polisacárido que no han sido funcionalizados o injertados por moléculas polímeras, como un polietilenglicol, un poli(hidroxiéster) o incluso un poliestireno.

50 De manera general, parecería que hay un efecto de la densidad de cargas superficiales en ausencia de sal, pero que este efecto desaparece mediante la adición de NaCl (lo que protege las cargas y limita las repulsiones electrostáticas).

Cantidad de nanocristales de polisacárido, distintos de los nanocristales de celulosa, y grado de revestimiento

55 La composición comprende ventajosamente de 0,035% a 2% en peso, preferentemente incluso de 0,05% a 1% en peso de nanocristales de polisacárido, ventajosamente de quitina, con relación al peso total de dicha composición.

Esta proporción en peso de nanocristales de polisacárido puede ser evaluada, por ejemplo, mediante extracción en seco de la fase acuosa o mediante dosificación de los azúcares después de la hidrólisis.

60 Se ha mostrado según la invención que una cantidad de nanocristales de polisacárido suficiente para la obtención de un grado de revestimiento de al menos 50%, preferentemente al menos 60%, preferentemente incluso de al menos 70%, ventajosamente de aproximadamente 80%, en función del tipo de nanocristales utilizados, es necesaria para la obtención de una composición de emulsión MIPE o HIPE final según la invención.

65 En el contexto de la presente descripción, el “grado de revestimiento” por nanocristales de polisacárido representa la proporción de la superficie de gotitas de la fase hidrófoba dispersadas en la fase acuosa, en la superficie interfacial

aceite/agua, que está revestida por los nanocristales de polisacárido.

El grado de revestimiento "C", que la relación entre (i) la superficie de nanocristales de polisacárido presentes en la composición de emulsión susceptible de estabilizarse en la superficie interfacial de fase interna hidrófoba/fase continua hidrófila y (ii) la superficie total de las gotitas de fase hidrófoba en dicha composición de emulsión, se calcula según la fórmula (I):

$$C = S_p / S_d \quad (I),$$

10 en la cual:

- S_p representa la superficie de nanocristales de polisacáridos susceptible de estabilizarse en la superficie interfacial presente en la composición de emulsión, y

15 - S_d representa la superficie total de las gotitas de fase hidrófoba en la composición de emulsión.

La superficie de los nanocristales se asimila a una superficie de un solo plano, adoptando la hipótesis de que los nanocristales están alineados sobre dicha superficie en una cinta plana.

20 En consecuencia, los valores de la superficie de los nanocristales pueden ser calculados según la fórmula (II) siguiente:

$$S_p = N_p L l = \frac{m_p}{h \rho_p} \quad (II),$$

25 en la cual:

$$N_p = \frac{m_p}{V_p \times \rho_p} = \frac{m_p}{L \times l \times h \times \rho_p}$$

en la cual:

30 - S_p representa la superficie de nanocristales de polisacárido susceptible de estabilizarse en la superficie interfacial presente en la composición de emulsión,

35 - N_p significa el número de nanocristales de polisacárido presentes en la fase acuosa,

- L significa la longitud de los nanocristales de polisacárido,

- l significa la anchura de los nanocristales de polisacárido,

40 - h significa la altura de los nanocristales de polisacárido,

- m_p significa el peso de nanocristales de polisacárido, y

45 - ρ significa la densidad de los nanocristales de polisacárido.

La superficie de las gotitas es la superficie en la superficie interfacial aceite/agua, que se calcula para cada diámetro medio de gotitas según D(3,2).

En consecuencia, el valor de la superficie de las gotitas se puede calcular según la fórmula (III) siguiente:

$$S_d = 4\pi R^2 \times N_g = 4\pi R^2 \times \frac{3V_{oil}}{4\pi R^3} = \frac{3V_{oil}}{R} \quad (III),$$

en la cual:

$$55 \quad N_g = \frac{V_{oil}}{4/3\pi R^3} \quad (IV)$$

en la cual:

- N_g significa el número de gotas presentes en la emulsión,

- S_d significa el valor de la superficie de las gotitas de fase hidrófoba,
- R significa el radio medio de las gotitas, y
- V_{oil} significa el volumen total de la fase interna hidrófoba.

El valor final del grado de revestimiento "C" se calcula según la fórmula (I) ya mencionada con anterioridad:

$$C = S_p / S_d (I),$$

en la cual:

- S_p representa la superficie de nanocristales de polisacárido susceptible de estabilizarse en la superficie interfacial y presentes en la composición de emulsión,
- S_d representa la superficie total de las gotitas de fase hidrófoba en la composición de emulsión.

Los ejemplos muestran adicionalmente que una composición en forma de espuma puede ser obtenida a partir de una solución que contiene una concentración de al menos 6 g/l de quitina.

Fuerza iónica y pH

El solicitante ha mostrado igualmente que la estabilidad de la composición de emulsión puede ser aumentada utilizando una fase acuosa que tenga una fuerza iónica mínima determinada.

Como ya se mostró en los ejemplos con nanocristales de quitina, una estabilidad óptima de la emulsión se obtiene a partir de un umbral mínimo de valor de la fuerza iónica de la fase acuosa (por ejemplo, una concentración final de 2 mM de NaCl, para una suspensión de 3 g/l de nanocristales de quitina y una concentración de HCl de 0,1 mM).

Como ya se mostró adicionalmente en los ejemplos, una estabilidad máxima de la composición de emulsión se obtiene para un valor de la fuerza iónica correspondiente a una concentración final de NaCl de 10 a 50 mM en dicha emulsión.

Siempre como se observó en los ejemplos, la ausencia de fuerza iónica o un aumento de la fuerza iónica más allá de 10 mM tienden a una estabilización de una composición de tipo espuma. En este caso, la fuerza iónica está comprendida ventajosamente entre 1 y 5 mM de NaCl.

Sin vinculaciones a teoría alguna, el solicitante cree que el valor umbral de la fuerza iónica de la fase acuosa a partir de la cual se obtiene una estabilidad óptima de la emulsión es aquella para la cual las cargas (contra-iones) presentes en la fase acuosa neutralizan las cargas (iones) presentes en los nanocristales.

Como se mostró igualmente en los ejemplos, la presencia de contra-iones en exceso no influye significativamente sobre las propiedades de estabilidad de la emulsión. Para un exceso masivo de contra-iones, que no se alcanzó en las condiciones operatorias de los ejemplos, se puede prever una variación de las condiciones debido a una precipitación de nanocristales sin alterar necesariamente la estabilidad de la emulsión (el fenómeno de agregación se mostró muy favorable para la estabilización de la emulsión).

Con carácter indicativo, según un modo de realización particular, los nanocristales de quitina comprenden ventajosamente una densidad de cargas superficiales máxima de $0,9 \text{ e.nm}^{-2}$ para estabilizar una composición que comprende una fuerza iónica al menos igual a la fuerza iónica a 5 mM de NaCl.

Para una composición que comprende una fuerza iónica superior a la fuerza iónica equivalente a 10 mM de NaCl, la densidad de cargas superficiales portada por los nanocristales de quitina parece que ya no es un parámetro relevante para la estabilización eficaz de la emulsión.

Una fuerza iónica superior a la fuerza iónica equivalente a 10 mM de NaCl incluye una fuerza iónica superior a 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110, 115, 120, 125, 130, 135, 140, 145, 150, 155, 160, 165, 170, 175, 180, 185, 190, 195, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 275, 280, 290, 300, 310, 315, 320, 325, 330, 335, 340, 345, 350, 360, 370, 375, 380, 390, 400, 410, 420, 430, 440, 450, 460, 470, 480, 490, o superior a 500 mM de NaCl. Preferentemente, la fuerza iónica es inferior a una fuerza equivalente 3 M de NaCl.

El solicitante ha mostrado también que la estabilidad de la composición de emulsión puede ser aumentada utilizando una fase acuosa que tenga un pH determinado, cuyo valor es ajustado ventajosamente mediante la concentración de ácido.

Por ejemplo, el ácido se escoge entre ácidos minerales u orgánicos, ventajosamente entre ácido clorhídrico, ácido perclórico, ácido acético, ácido fórmico, ácido cloroacético, ácido cítrico, ácido pícrico, ácido ascórbico y ácidos grasos que comprenden hasta 12 átomos de carbono; es preferentemente utilizado el ácido clorhídrico.

- 5 Como se mostró en los ejemplos, se obtiene una estabilidad máxima de la composición de emulsión para un valor de pH comprendido entre 3 y 6. Igualmente el aumento de pH de 3 a 5 favorece la estabilización de la composición en forma de espuma.

Adicionalmente en los ejemplos se muestra que la formación de espuma es reversible en función del pH.

10

Estructura de la composición de emulsión

Para definir la estructura de la composición de emulsión, se pueden utilizar en particular características relativas a la distribución de tamaños de las gotitas lípidas constitutivas de la fase hidrófoba dispersada en la fase hidrófila.

15

Se puede citar, por ejemplo, su población de gotitas lípidas más importante en volumen, denominada adicionalmente "modo", medida en μm .

20

La distribución de tamaños de las gotitas lípidas puede estar caracterizada por un diámetro denominado "Sauter" ($d_{3,2}$) y un valor $d_{4,3}$, definidos respectivamente por las fórmulas siguientes:

$$d_{3,2} = \frac{\sum n_i d_i^3}{\sum n_i d_i^2}$$

$$d_{4,3} = \frac{\sum n_i d_i^4}{\sum n_i d_i^3}$$

25

en las que n_i es el número de gotitas lípidas de diámetro d_i .

Estos dos valores permiten evaluar mejor la distribución de tamaños de las gotitas lípidas dispersadas en la fase continua hidrófila.

30

Esta población de gotitas lípidas se determina, por ejemplo, mediante la técnica de granulometría láser.

La fase interna

35

La fase hidrófoba se escoge entre aceites vegetales, aceites animales, aceites minerales, aceites sintéticos, disolventes orgánicos hidrófobos y polímeros líquidos hidrófobos.

La fase hidrófoba puede ser escogida entre un alcano o un cicloalcano, sustituido o no sustituido. Los ejemplos ilustran modos de realización de una emulsión HIPE según la invención, respectivamente, con alcanos y cicloalcanos.

40

Para la fase hidrófoba, un alcano que tiene más de 5 átomos de carbono abarca alcanos que tienen más de 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 o más de 17 átomos de carbono, es decir, particularmente, según la nomenclatura convencional, alcanos C_6 - C_{18} y que son de fórmula C_nH_{2n+2} . Dichos alcanos pueden ser lineales o ramificados.

45

Dichos alcanos abarcan alcanos lineales o ramificados de los tipos hexano, heptano, octano, nonano, decano, undecano, dodecano, tridecano, tetradecano, pentadecano, hexadecano, heptadecano u octadecano.

Los alcanos sustituidos abarcan alcanos lineales o ramificados anteriores en los que al menos un átomo de hidrógeno está sustituido con un átomo de un halógeno escogido entre cloro, bromo, yodo o flúor. La sustitución de al menos un átomo de hidrógeno abarca la sustitución de 2, 3, 4 o 5 átomos de hidrógeno.

50

En ciertos modos de realización, dicho cicloalcano es un cicloalcano no sustituido o sustituido. El ciclohexano puede estar sustituido con 1, 2, 3 o 4 átomos de hidrógeno escogidos entre cloro, bromo, yodo o flúor.

55

La fase hidrófoba puede comprender adicionalmente una mezcla de estos alcanos, por ejemplo, en forma de un aceite o parafina.

En ciertos modos de realización, la fase hidrófoba comprende uno o varios monómeros hidrófobos polimerizables de un tipo conocido.

60

En otros modos de realización, la fase hidrófoba consiste esencialmente en una composición de un monómero hidrófobo o una mezcla de monómeros hidrófobos. Con carácter ilustrativo, la fase hidrófoba puede consistir esencialmente en una composición de monómeros de estireno.

65

Los modos de realización en los que la fase hidrófoba comprende o consiste en un monómero hidrófobo o una composición de monómeros hidrófobos son útiles, en particular, para la fabricación de bolas de material polímero (mediante polimerización de este(s) monómero(s)).

- 5 En el caso de una espuma, la fase interna consiste en un gas, ventajosamente aire, nitrógeno o un gas carbónico.

La fase hidrófila

- 10 Mediante “fase hidrófila” o “fase acuosa” se entiende un líquido inmiscible con la fase hidrófoba. Se utiliza preferentemente una fase hidrófila miscible con agua. La fase hidrófila puede ser agua, como ya se ilustró en los ejemplos.

La fase hidrófila puede ser un disolvente hidrófilo, preferentemente un disolvente que porta grupo hidroxilo, como glicoles. Para la fase hidrófila, los glicoles abarcan glicerol y polietilenglicoles.

- 15 La fase hidrófila puede contener igualmente agentes hidrosolubles texturantes, particularmente espesantes o viscosificantes, como polisacáridos (por ejemplo, dextrano o xantano, siendo utilizado este último en aplicaciones alimentarias).

- 20 La fase hidrófila puede estar constituida, en parte o totalmente, por un líquido orgánico escogido entre un alcohol como etanol o incluso acetona.

La fase hidrófila puede comprender un único líquido o una mezcla de varios líquidos.

- 25 El experto en la técnica puede adaptar fácilmente la constitución de la fase hidrófila, particularmente en función de la emulsión MIPE o HIPE final que se desee.

- 30 En ciertos modos de realización, la fase hidrófila puede comprender diversas sustancias adicionales o combinaciones de sustancias adicionales útiles para la aplicación industrial que se busque para la emulsión MIPE o HIPE, como principios activos de un medicamento.

En ciertos modos de realización, la fase hidrófila comprende uno o varios monómeros hidrófilos, que pueden ser posteriormente polimerizados en la emulsión MIPE o HIPE.

- 35 En ciertos modos de realización, la fase hidrófila comprende uno o varios monómeros hidrófilos polimerizables de un tipo conocido.

- 40 En otros modos de realización, la fase hidrófila consiste esencialmente en una composición de un monómero hidrófilo o una mezcla de monómeros hidrófilos. Con carácter ilustrativo, la fase hidrófila puede consistir esencialmente en una composición de monómeros hidrófilos de tipo acrilato.

Los modos de realización en los que la fase hidrófila comprende o consiste en un monómero hidrófilo o una composición de monómeros hidrófilos son útiles, en particular, para la fabricación de un material polímero poroso.

- 45 Procedimiento de obtención

La presente invención se refiere también al procedimiento de obtención de la composición presente anterior.

- 50 Para la fabricación de una espuma mediante dispersión de una fase acuosa en una fase hidrófila, es posible hacer referencia, por ejemplo, al protocolo descrito en el documento de Lucassen, J. (1981) Lucassen-Reijnders, E. H. ed. Anionic Surfactants - Physical Chemistry of Surfactant Action NY, USA: Marcel Dekker, en el documento de Alargova et al. “Foam superstabilization by polymer microrods”, Langmuir, vol. 20(24), 2004, 10371-10374, o en el documento de Blanco E. et al., “Stability and Viscoelasticity of Magneto-Pickering Foams”, Langmuir 29, (2013), 10019-10027.

- 55 De manera general, son posibles varios métodos para dispersar un gas en un líquido, a saber, en una sustancia, soplar el gas en el líquido, fabricarlo in situ, batir el líquido en presencia del gas o incluso mezclar un gas y un líquido haciéndolo atravesar un material poroso.

- 60 En este caso, se obtiene ventajosamente una espuma hidrófila líquida particular, preferentemente una espuma denominada “seca” como se describió con anterioridad.

Según esta realización, los nanocristales de quitina tienen el interés específico de conferir propiedades de espumabilidad particularmente interesantes a una solución.

- 65 La “espumabilidad” o el “poder espumante” de una solución es una medida cualitativa de su capacidad de producir una espuma cuando es agitada o cuando se inyectan burbujas.

De forma sorprendente, el solicitante ha mostrado adicionalmente que las emulsiones MIPE o HIPE de tipo aceite en agua que poseen un elevado contenido de fase dispersada hidrófoba, superior a 50%, incluso superior a 75% del volumen total de la emulsión, pueden ser obtenidas de forma "secuencial" (diseñada incluso en "dos etapas"), a partir de emulsiones de tipo Pickering estabilizadas mediante nanocristales de polisacárido distinto de la celulosa.

Las emulsiones de tipo Pickering son conocidas en el estado de la técnica y consisten en emulsiones que son estabilizadas por partículas en suspensión coloidal localizadas en la superficie interfacial aceite/agua.

En general, las emulsiones Pickering están desprovistas de agente tensioactivo convencional. En ciertos modos de realización, una emulsión Pickering puede contener uno o varios agentes tensioactivos convencionales, pero en cantidad insuficiente para estabilizar una emulsión.

Las emulsiones de Pickering, estabilizadas por nanocristales de polisacárido distinto de celulosa, que son utilizadas como producto de partida para la obtención de MIPE o HIPE de la clase aceite en agua divulgadas en la presente descripción, son específicas de la presente invención, y su procedimiento de preparación se especifica en detalle con posterioridad.

Más precisamente, el solicitante ha mostrado que, de forma sorprendente, pueden ser obtenidas emulsiones MIPE o HIPE de tipo anteriormente citado cuando se utiliza como composición de partida una emulsión de aceite en agua de Pickering estabilizada mediante nanocristales de quitina.

Particularmente, se ha mostrado según la emulsión que se obtienen emulsiones HIPE cuyas composiciones de emulsión de Pickering estabilizadas por nanocristales de quitina permiten sobrepasar seguidamente el estado de estructuración compacta de las gotas de fase interna hidrófoba (también denominado estado "close packing", es decir, obtener un porcentaje de fase interna superior a 75%.

Por otra parte, el solicitante muestra adicionalmente que los nanocristales de quitina tienen la propiedad específica e inesperada de permitir directamente la obtención de una composición de emulsión de fase interna elevada (procedimiento denominado "directo"), sin necesidad de pasar por la fase intermedia de una emulsión Pickering.

Como se ilustra seguidamente, en el caso de las composiciones de emulsión, la vía "directa" integra la totalidad de la fase hidrófila introducida, mientras que la vía "secuencial" tiene una tendencia a excluir de la fase hidrófila lo que aumenta el porcentaje de la fase interna para las MIPE. Más allá de un 74% de fase interna, los porcentajes de fase interna son iguales en los dos procedimientos.

El procedimiento según la invención comprende ventajosamente las operaciones siguientes:

a) una etapa de incorporación de nanocristales de un polisacárido distinto de celulosa, ventajosamente quitina, en una fase hidrófila,

b) una operación de suministro (i) de dicha fase hidrófila que contiene los nanocristales de polisacárido y (ii) una fase destinada a constituir la fase interna (una fase líquida hidrófoba o una fase gaseosa, según el caso),

c) una operación de dicha composición mediante dispersión de dicha fase interna en dicha fase hidrófila.

De manera general, se ha mostrado en los ejemplos que el procedimiento de obtención de emulsiones HIPE según la invención permite la preparación de composiciones de emulsión con un elevado contenido de fase interna hidrófoba, que tienen hasta más de 95% en volumen de fase interna hidrófoba.

Se ha mostrado también que las emulsiones MIPE o HIPE preparadas según el procedimiento de la invención tienen una relación en volumen de fase interna hidrófoba/fase dispersada hidrófila superior a 60% pueden presentarse en forma de un gel sólido.

Se ha mostrado en los ejemplos que las composiciones de emulsión MIPE o HIPE preparadas mediante el procedimiento según la invención son estables durante un periodo de tiempo largo, en este caso varios meses, incluso cuando son conservadas a una temperatura de aproximadamente 20 °C.

Además, se ha mostrado que las emulsiones MIPE o HIPE obtenidas según el procedimiento de la invención tienen una excelente capacidad de resistencia a la compresión.

Igualmente, el solicitante ha mostrado la reversibilidad de la rotura de una emulsión HIPE según la invención, por ejemplo, mediante cizallamiento (por ejemplo, mediante agitación fuerte) o compresión (por ejemplo, mediante centrifugación fuerte). Por tanto, una emulsión HIPE según la invención tiene la propiedad de formarse nuevamente después de una rotura.

Mediante un estudio de las emulsiones HIPE de la invención mediante microscopía confocal de exploración, se observó que las gotas de aceite dispersadas en la forma continua acuosa se deforman con las relaciones crecientes de fase interna hidrófoba/fase dispersada hidrófila hasta conformarse en poliedros, lo que minimiza el volumen ocupado por la fase continua acuosa.

5 Se mostró también que una emulsión HIPE según la invención puede ser sometida a un tratamiento para realizar una emulsión seca, por ejemplo, cuando la fase interna hidrófoba está constituida por un aceite menos volátil que el agua, polimerizable o no liofilizable y que, consecuentemente, solo es eliminada la fase continua acuosa mediante secado o liofilización.

10 Se mostró también que una emulsión HIPE según la invención puede ser utilizada para realizar espumas secas, por ejemplo (i) ya sea por liofilización de dicha emulsión cuando las dos fases son liofilizadas, (ii) ya sea, cuando la fase dispersada hidrófoba comprende monómeros polimerizables, mediante polimerización de dichos monómeros seguido de eliminación de la fase continua acuosa.

15 Suministro de los nanocristales de polisacárido

Ciertos polisacáridos, particularmente la quitina, están compuestos por una parte denominada “amorfa”, mientras que una segunda parte es “cristalina”.

20 Los nanocristales de polisacáridos ventajosamente proceden de la parte cristalina aislada, mediante eliminación de la parte amorfa del polisacárido.

25 A partir de la materia prima escogida, los nanocristales de polisacárido se preparan mediante un procedimiento ventajosamente escogido entre uno de los procedimientos siguientes: fraccionamiento mecánico, hidrólisis química suave y disolución/recristalización.

Mediante “fraccionamiento mecánico” se entiende una operación clásica de homogeneización a presión elevada.

30 Mediante “hidrólisis química suave” se entiende un tratamiento mediante un compuesto químico ácido del polisacárido en condiciones que aseguren la eliminación de su parte amorfa.

El compuesto químico ácido se escoge ventajosamente entre ácido sulfúrico o ácido clorhídrico.

35 Como se describe en los ejemplos posteriores, según el tipo de ácido, la temperatura y el tiempo de hidrólisis, la carga de la superficie puede ser modulada.

40 Mediante “disolución/recristalización” se entiende un tratamiento ácido o básico o mediante un disolvente, por ejemplo, ácido fosfórico, urea/NaOH, líquidos iónicos, etc., seguido de una recristalización. Este procedimiento se describe, por ejemplo, por A. Osorio-Madrazo et al., Carbohydrate Polymers 83(4), (2011), 1730-1739.

45 Antes de su integración en la composición, los nanocristales de polisacárido obtenidos pueden ser sometidos a un procedimiento de modificación posterior, al final del cual su densidad de cargas superficiales y/o su hidrofiliidad son modificadas, con la condición de que la modificación posterior no genere nanocristales únicamente hidrófobos.

Esta modificación posterior pretende optimizar las características superficiales de los nanocristales, particularmente en función de la emulsión en la que son introducidos, de manera que se optimice su estabilización.

50 Para modificar la densidad de cargas superficiales de la quitina, el procedimiento de modificación posterior consiste ventajosamente en un tratamiento con NaOH durante 2 a 4 h anteriormente descrito (Y. M. Fan, T. Saito and A. Isogai, Carbohydrate Polymers, 2010, 79, 1046-1051).

55 Para modificar la hidrofobicidad y la carga superficial de nanocristales de polisacárido neutro, el procedimiento de modificación posterior se dirige ventajosamente a generar grupos N-acetilglucosamino en estos nanocristales de polisacárido.

De forma alternativa y preferida, los nanocristales de polisacárido obtenidos no presentan modificación alguna de carga superficial, como se desarrolló anteriormente.

60 Con carácter indicativo, los nanocristales de quitina suministrados en la etapa a) del procedimiento de obtención de una emulsión MIPE o HIPE según la invención se obtienen ventajosamente mediante un procedimiento de fabricación a partir de quitina.

65 La etapa de incorporación de los nanocristales de polisacárido en la fase acuosa corresponde a las etapas realizadas para la incorporación de partículas coloidales durante la fabricación de emulsiones de Pickering.

Procedimiento “secuencial” o de “dos etapas”

Según un modo de realización denominado “secuencial” o de “dos etapas”, la operación c) para la formación de la composición de emulsión mediante dispersión de la fase hidrófoba en la fase hidrófila se compone de dos etapas sucesivas:

c.1) una etapa de dispersión de dicha fase hidrófila en dicha fase hidrófoba, con una relación en volumen de fase hidrófoba/fase hidrófila de al menos 5/95, para la obtención de una emulsión de aceite en agua intermedia de tipo Pickering, seguida de

c.2) una etapa de obtención de la composición de emulsión de interés que posee un porcentaje de fase interna superior a 50%, en su caso de tipo MIPE o HIPE, que comprende:

c.2.1) una etapa de adición de un volumen de fase hidrófoba a la composición de emulsión intermedia obtenida en la etapa c.1), y agitación de la mezcla así obtenida, y/o

c.2.2.) una etapa de concentración de la composición de emulsión obtenida en la etapa c.1), mediante retirada de al menos una parte de dicha fase hidrófila.

Suministro de una emulsión de aceite en agua intermedia de tipo Pickering, estabilizada por nanocristales de polisacárido

La emulsión intermedia de Pickering utilizada para la obtención de una emulsión MIPE o HIPE según la invención consiste en una composición en forma de una emulsión que comprende una fase hidrófoba dispersada en una fase acuosa y que contiene partículas emulsionantes (o dicho de otro modo “partículas emulsionantes”) que comprenden nanocristales de un polisacárido distinto de la celulosa.

Como ya se precisó, la emulsión de Pickering es de la clase de “aceite en agua”.

Los nanocristales utilizados, así como las fases hidrófoba e hidrófila utilizadas son como se desarrollaron con anterioridad.

La emulsión de Pickering es así estabilizada al menos por nanocristales de un polisacárido distinto de la celulosa, ventajosamente nanocristales de quitina.

Según un modo de realización preferido, la composición de emulsión de Pickering intermedia es estabilizada únicamente por nanocristales de un polisacárido distinto de la celulosa, ventajosamente nanocristales de quitina, sin adición de otro compuesto emulsionante o estabilizante.

La composición comprende ventajosamente de 0,5% en peso de nanocristales de un polisacárido distinto de la celulosa, ventajosamente nanocristales de quitina con relación al peso total de dicha emulsión de Pickering.

Como se desarrolló con anterioridad, se ha mostrado según la invención que una cantidad de nanocristales de un polisacárido distinto de la celulosa, suficiente para la obtención de un grado de revestimiento de al menos 50%, en función del tipo de nanocristales utilizados, es necesaria para la preparación de una composición de emulsión de Pickering que está adaptada para la obtención de una composición de emulsión MIPE o HIPE final según la invención.

En la etapa c.1), la emulsión de aceite en agua de tipo Pickering, presenta ventajosamente una relación en volumen de fase hidrófoba/fase hidrófila ventajosamente de al menos 5/95 y, preferentemente, como máximo 50/50, incluso como máximo 60/40.

Mediante “al menos 5/95”, se entiende un valor mínimo de 5 para la fase hidrófoba en la relación en volumen.

Mediante “como máximo 50/50” o “como máximo 60/40”, se entiende el valor máximo de 50 o 60, respectivamente, para la fase hidrófoba en la relación en volumen.

En este contexto, la relación en volumen de fase hidrófoba/fase hidrófila se escoge ventajosamente entre 5/95, 10/90, 15/85, 20/80, 25/75, 30/70, 35/65, 40/60, 45/55, 50/50, 55/45 o 60/40.

Esta emulsión de aceite en agua de tipo Pickering según la invención posee ventajosamente un porcentaje de fase interna inferior o igual a 50%.

En este contexto, la emulsión de aceite en agua de tipo Pickering comprende ventajosamente un porcentaje de fase interna comprendido entre 5 y 30%.

Procedimiento de obtención de la composición de emulsión de Pickering

El procedimiento para la fabricación de la composición de emulsión intermedia de Pickering comprende, ventajosamente, las etapas siguientes:

- 5 a) el suministro de nanocristales de un polisacárido distinto de la celulosa, ventajosamente nanocristales de quitina, como se definieron con anterioridad, seguidamente
- 10 b) la incorporación de dichos nanocristales en la fase acuosa de dicha composición, en una cantidad en peso adecuada para generar un grado de revestimiento de al menos 50%, preferentemente de al menos 80% en dicha emulsión intermedia de Pickering y estabilizar dicha emulsión intermedia.

Las etapas generales para la fabricación de la emulsión pueden ser realizadas según procedimientos clásicos, particularmente empleados para la fabricación de una emulsión de Pickering.

15 Se podrá hacer referencia en particular al documento de Tzoumaki et al., "Oil-in water emulsions stabilized by chitin nanocrystal particles", Food Hydrocolloids 25 (2011) 1521-1529.

20 En particular, la etapa de incorporación de los nanocristales de polisacárido en la fase acuosa corresponde a las etapas realizadas para la incorporación de partículas coloidales durante la fabricación de emulsiones de Pickering.

La dispersión de la fase hidrófoba en la fase hidrófila (que contiene los nanocristales estabilizadores) se puede realizar mediante cualquier técnica de realización de una emulsión conocida por el experto en la técnica.

25 Por tanto, se puede emplear una técnica de obtención de emulsión por ultrasonidos, como se realiza de manera convencional. Se puede emplear también una técnica de obtención de emulsión por agitación por medio de un dispositivo dispersor homogeneizador de tipo rotor-estator, por ejemplo, un dispositivo rotor-estator conocido con el nombre de Ultraturax®, bien conocido por experto en la técnica.

30 Con carácter ilustrativo, se puede obtener una emulsión de Pickering estabilizada mediante nanocristales de quitina sometiendo una mezcla (i) fase hidrófila/(ii) fase hidrófoba (comprendiendo dicha mezcla la cantidad apropiada de nanocristales de quitina) a una etapa de homogeneización mediante ultrasonidos durante un periodo desde algunos segundos hasta algunos minutos, según la potencia del dispositivo y el volumen de emulsión.

35 Igualmente, con carácter ilustrativo, se puede obtener una emulsión de Pickering estabilizada por nanocristales de quitina sometiendo una mezcla (i) fase hidrófila/(ii) fase hidrófoba (comprendiendo dicha mezcla la cantidad apropiada de nanocristales de quitina) a una etapa de homogeneización por medio de un dispositivo rotor/estator de tipo Heidolph (Roth – marca registrada) a una velocidad de al menos 5.000 rpm durante un periodo de 1 a 3 minutos.

40 Obtención de la composición de emulsión de tipo fase interna media (MIPE) o fase interna elevada (HIPE) partiendo de la emulsión intermedia de Pickering

Si se cumple la condición de estabilidad de la emulsión intermedia de Pickering (etapa c.1)), el procedimiento puede estar seguido de la o las etapas para formar la emulsión MIPE o HIPE (etapa c.2)).

45 Según la invención, la obtención de la emulsión MIPE/HIPE puede ser realizada:

c.2.1) mediante adición de un volumen de fase hidrófoba a la composición de emulsión intermedia obtenida en la etapa c.1), y/o

50 c.2.2) mediante concentración de la composición de emulsión intermedia obtenida en la etapa c.1), mediante retirada de al menos una parte de dicha fase hidrófila.

La obtención de la emulsión HIPE necesita alcanzar una concentración de gotas hidrófobas que sobrepase el umbral de "close packing", o congestión máxima teórica de esferas de tamaño idéntico, correspondiente a un porcentaje de fase interna superior a 74-75%.

A este respecto, sin ser limitativos, se pueden prever dos vías:

- 60 - un tamaño variable de gotitas de la fase interna, y
- un inflamiento de gotitas de la fase interna, seguido de sus deformaciones.

65 Los ejemplos siguientes muestran que la emulsión de Pickering según la invención permite la obtención de la emulsión HIPE de interés, cuyo porcentaje de fase interna es superior a 74-75%.

Adición de un volumen de fase hidrófoba

Según un primer modo de realización, el procedimiento puede ser realizado mediante la adición de la fase hidrófoba para formar la emulsión MIPE o HIPE (etapa c.2.1)).

5 Para la obtención de la emulsión MIPE o HIPE según la invención, a partir de una emulsión intermedia de Pickering preparada como se describió con anterioridad, se añade ventajosamente una cantidad deseada de fase hidrófoba a dicha emulsión antes de realizar una agitación de la mezcla de emulsión de Pickering/fase hidrófoba añadida.

10 Esta fase hidrófoba añadida puede ser igual o diferente con respecto a la fase hidrófoba incorporada para formar la emulsión de Pickering.

De forma sorprendente, el solicitante ha mostrado que la realización de una simple agitación con un dispositivo homogeneizador (por ejemplo, Ultraturrax®) de la mezcla de emulsión intermedia de Pickering/fase hidrófoba añadida permite la obtención directa de una emulsión MIPE o HIPE.

20 Como se muestra en los Ejemplos, en una emulsión MIPE o HIPE según la invención, el valor de la relación en volumen de fase dispersada hidrófoba/volumen de emulsión (y, por tanto, igualmente el valor de la relación de volumen de fase dispersada hidrófoba/volumen de fase continua hidrófila) depende directamente del volumen de fase hidrófoba añadido a la emulsión de Pickering de partida.

Como ya se mostró igualmente en los Ejemplos, no parece que exista un límite específico para el valor de la relación en volumen de fase dispersada hidrófoba/fase continua acuosa en la emulsión HIPE así obtenida.

25 En una emulsión MIPE o HIPE según la invención, el valor de la relación en volumen de fase dispersada hidrófoba/emulsión se determina por adelantado en función del volumen de fase hidrófoba añadida a la emulsión de Pickering de partida para las condiciones óptimas de agitación.

30 La etapa de agitación de la mezcla de emulsión de Pickering/fase hidrófoba añadida se puede realizar fácilmente por medio de un dispositivo homogeneizador/dispersador convencional, por ejemplo, un dispositivo de agitación de tipo Ultraturrax®.

35 Con carácter ilustrativo, cuando se utiliza un dispositivo de agitación de tipo Ultraturrax®, la emulsión HIPE puede ser obtenida agitando durante un periodo de al menos 15 segundos a una velocidad de rotación de al menos 5.000 revoluciones por minuto, preferentemente al menos 5.500 revoluciones por minuto para un contenido de 4 ml.

40 El experto en la técnica adapta las condiciones de la etapa de agitación de la mezcla sobre la base de las indicaciones de la presente descripción y de sus conocimientos generales en el campo de la fabricación de composiciones de emulsión.

Para la etapa de agitación de la mezcla, un periodo de al menos 15 segundos abarca periodos de al menos 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 90, 95, 100, 110, 115, 120, 125, 130, 135, 140, 145, 150 segundos.

45 En su caso, la etapa de agitación puede tener una duración superior a 20 segundos, si bien esto no es útil para la obtención de la emulsión HIPE final.

50 Para la etapa de agitación, una fuerza de agitación de al menos 1.000 revoluciones por minuto abarca fuerzas de agitación de al menos 1.050, 1.100, 1.150, 1.200, 1.250, 1.300, 1.350, 1.400, 1.450, 1.500, 1.550, 1.600, 1.650, 1.700, 1.750, 1.800, 1.850, 1.900, 2.000, 2.100, 2.200, 2.300, 2.400, 2.500, 2.600, 2.700, 2.800, 2.900, 3.000, 3.100, 3.200, 3.300, 3.400, 3.500, 4.000, 4.100, 4.200, 4.300, 4.400, 4.500, 4.600, 4.700, 4.800, 4.900, 5.000, 5.100, 5.200, 5.300, 5.400, 5.500, 5.600, 5.700, 5.800, 5.900, 6.000, 6.100, 6.200, 6.300, 6.400, 6.500, 6.600, 6.700, 6.800, 6.900, 7.000, 7.100, 7.200, 7.300, 7.400, 7.500, 7.600, 7.700, 7.800, 7.900, 8.000, 8.100, 8.200, 8.300, 8.400, 8.500, 8.600, 8.700, 8.800, 8.900, 9.000 o de al menos 10.000 revoluciones por minuto.

55 En su caso, puede ser aplicada una fuerza de agitación superior a 15.000 revoluciones por minuto, si bien esto no es útil para la obtención de la emulsión HIPE final.

60 Preferentemente, en las condiciones generales de agitación definidas con anterioridad, la fuerza de agitación es inferior a 20.000 revoluciones por minuto, con el fin de evitar alterar la estructura de la emulsión. La fuerza de agitación puede ser fácilmente adaptada por el experto en la técnica considerando el contenido de la presente descripción y, en su caso, sus conocimientos generales. En particular, la fuerza de agitación puede ser adaptada por el experto en la técnica en función de la viscosidad de la emulsión de Pickering de partida, en función del aumento de la viscosidad durante la preparación de la emulsión HIPE, que depende particularmente de la viscosidad de la fase hidrófoba que se añade.

65 En ciertos modos de realización, la etapa de agitación con un dispositivo de tipo Ultraturrax® se puede realizar

según dos fases, respectivamente, una primera fase en el transcurso de la cual se aplica una primera fuerza de agitación y una segunda fase en el transcurso de la cual se aplica una fuerza de agitación.

5 Con carácter ilustrativo, se puede realizar la etapa de agitación con (i) una primera fase de agitación a 11.000 revoluciones por minuto y (ii) una segunda fase de agitación a 15.000 revoluciones por minuto, por ejemplo, con una duración aproximadamente igual para primera y la segunda fase de agitación.

10 Ventajosamente, la etapa de agitación de la mezcla de emulsión de Pickering/fase hidrófoba añadida se realiza a temperatura ambiente, es decir, en general a una temperatura que va de 15 a 25 °C y, lo más a menudo, que va de 18 °C a 23 °C.

Concentración de la composición de emulsión

15 Según un segundo modo de realización, el procedimiento puede llevarse a cabo mediante una etapa de concentración, para formar la emulsión MIPE o HIPE (etapa c.2.2)).

Esta etapa de concentración conduce a retirar la fase continua hidrófila mediante una técnica adaptada escogida, por ejemplo, entre:

20 - cremación/ sedimentación por gravedad,

- centrifugación (por ejemplo 2.000 g durante 10 minutos),

25 - filtración (ventajosamente sistema de membrana porosa clásica o ultrafiltración continua),

- métodos osmóticos,

- métodos de crío-concentración o secado (en condiciones para las que solo se evapore la fase continua).

30 Como se muestra en los Ejemplos, en una emulsión MIPE o HIPE según la invención, el valor de la relación en volumen de fase dispersada hidrófoba/volumen de emulsión depende en particular:

- de la concentración de cada uno de los constituyentes (fase hidrófila, fase hidrófoba, nanocristales),

35 - del procedimiento de obtención de la emulsión (ultrasonidos, rotor-estator, etc.), y

- de las condiciones utilizadas (velocidad, tiempo, temperatura, energía, volumen, etc.).

Los parámetros de estas técnicas se adaptarán en función de la muestra.

40 Estos procedimientos se describen, por ejemplo, en los siguientes documentos: "Emulsions: Theory and Practice", Paul Becher Third Edition, Oxford University Press 2001 (ISBN 0-8412-3496-5) o "High internal phase emulsions (HIPEs) - Structure, properties and use in polymer preparation", Cameron NR; Sherrington DC, BIOPOLYMERS LIQUID CRYSTALLINE POLYMERS PHASE EMULSION, ADVANCES IN POLYMER SCIENCE, Volumen: 126, 45 páginas: 163-214, 1996.

Procedimiento directo

50 De forma inesperada, los inventores han observado que los nanocristales de quitina permiten la obtención de una emulsión de fase interna elevada, mezclando directamente la fase hidrófoba con la fase hidrófila (que contiene los nanocristales) en proporciones apropiadas.

55 La dispersión de la fase hidrófoba en la fase hidrófila se puede realizar mediante cualquier técnica de realización de una emulsión conocida por el experto en la técnica. Por tanto, se puede emplear una técnica de obtención de emulsión por ultrasonidos, como se realiza de manera convencional. Se puede emplear también una técnica de obtención de emulsión por agitación mediante un dispositivo dispersador homogeneizador de tipo rotor-estator, por ejemplo, un dispositivo rotor-estator conocido con el nombre de Ultraturax® bien conocido por el experto en la técnica.

60 Con carácter ilustrativo, se puede obtener una emulsión según la invención, estabilizada por nanocristales de quitina, sometiendo una mezcla (i) fase hidrófila((ii) fase hidrófoba (comprendiendo dicha mezcla la cantidad apropiada de nanocristales de quitina) a una etapa de homogeneización por medio de un dispositivo rotor/estator de tipo Heidolph (Roth – marca registrada) a una velocidad de 8.000 rpm, el tiempo para tener una emulsión homogénea.

65

Aplicaciones industriales de las composiciones según la invención

Como se mencionó anteriormente en la presente descripción y se ilustra en los Ejemplos, una emulsión MIPE o HIPE según la invención puede ser obtenida con el objetivo de preparar una espuma sólida o incluso una emulsión sólida, por ejemplo, mediante simple liofilización de la emulsión MIPE o HIPE.

5 De manera general, el producto procedente de la composición según la invención se escoge ventajosamente entre una emulsión seca, una emulsión sólida, un material polímero poroso o bolas de material polímero.

10 Para la preparación de una espuma sólida, se utiliza preferentemente una fase hidrófoba que pueda evaporada por liofilización. Por tanto, sometiendo una emulsión MIPE o HIPE de la invención a una etapa de liofilización, se evapora a la vez la fase hidrófila y la fase hidrófoba, de manera que se obtiene una espuma formada por un retículo polisacárido, resultando dicho retículo polisacárido de los nanocristales de polisacárido localizados en la superficie interfacial de la fase hidrófoba/fase hidrófila.

15 Particularmente, los ejemplos ilustran la fabricación de un material de espuma de quitina mediante simple liofilización de una emulsión HIPE según la invención.

20 En particular y de manera no limitativa, las emulsiones de MIPE proporcionan estructuras alveolares esféricas y las emulsiones de tipo HIPE proporcionan estructuras alveolares no esféricas.

La espuma sólida puede ser utilizada como soporte sólido en diversas aplicaciones industriales, comprendido como material de aislamiento térmico o sonoro o incluso biomaterial de soporte.

25 El producto resultante, es decir, la espuma polisacárida, posee una gran superficie específica de material polisacárido y puede ser utilizado particularmente como soporte de principio(s) activo(s), por ejemplo, como soporte de principio(s) activo(s) farmacéuticos, humanos o veterinarios.

30 Con carácter ilustrativo, estos soportes de interés farmacéutico pueden ser obtenidos cuando el o los principio(s) activo(s) es o son añadido(s) previamente a la emulsión MIPE o HIPE, ya sea en la fase hidrófoba, ya sea en la fase hidrófila, en función de las características de hidrofiliidad del o los principio(s) activo(s) considerado(s).

35 En ciertos modos de realización, dichos soportes polisacáridos pueden comprender a la vez (i) uno o varios principio(s) activo(s) hidrófobo(s), (ii) uno o varios principio(s) activo(s) hidrófilo(s) y, en su caso, (iii) uno o varios principio(s) activo(s) anfifílico(s).

40 En estos modos de realización, cada principio activo puede ser añadido (i) ya sea en una de las fases hidrófila o hidrófoba utilizadas para la preparación de la composición de emulsión, (ii) ya sea en la emulsión de Pickering utilizada para obtener la emulsión MIPE o HIPE final en el caso de un procedimiento "secuencial", (iii) ya sea incluso en la fase hidrófoba que se añade en la etapa c) del procedimiento "secuencial" para obtener la emulsión MIPE o HIPE final.

Por tanto, la invención tiene adicionalmente por objeto un procedimiento de preparación de una espuma sólida de polisacárido que comprende las etapas siguientes:

45 a) suministrar una emulsión MIPE o HIPE como se define en la presente descripción, preferentemente una emulsión MIPE o HIPE obtenida según el procedimiento especificado en la presente descripción,

50 b) eliminar la fase hidrófila y la fase hidrófoba de dicha emulsión MIPE o HIPE por evaporación, preferentemente por liofilización, con el fin de obtener la espuma sólida particular.

Una emulsión MIPE o HIPE según la invención puede ser igualmente utilizada para la fabricación de una emulsión seca, mediante evaporación de la fase hidrófila, por ejemplo, por liofilización, y mantenimiento de la fase hidrófoba. En estos modos de realización, la fase hidrófoba puede contener una o varias sustancias de interés, por ejemplo, uno o varios principio(s) activo(s) de interés farmacéutico.

55 Una emulsión MIPE o HIPE según la invención puede ser igualmente utilizada para la fabricación de materiales polímeros porosos, principalmente mediante adición de monómeros hidrófilos polimerizables en la fase acuosa, seguido de polimerización in situ de dichos monómeros hidrófilos.

60 En otros aspectos, una emulsión MIPE o HIPE según la invención puede ser utilizada para la fabricación de bolas de material polímero, principalmente mediante adición de monómeros hidrófobos a la fase dispersada hidrófoba, seguido de polimerización de dichos monómeros.

65 Los materiales polímeros pueden ser utilizados como material para la fabricación de dispositivos médicos, comprendido un material de soporte para principios activos fisiológicamente activos o incluso un material de soporte para prótesis médicas.

Las técnicas de obtención de materiales polímeros, ya sea de bloques de material polímero poroso, ya sea de bolas de material polímero, a partir de diferentes tipos de emulsión, son conocidas por sí mismas en el estado de la técnica.

5 En ciertos modos de realización, dichos monómeros de interés están ya presentes en la fase continua hidrófila o en la fase dispersada hidrófoba que se utiliza para la obtención de la composición de emulsión según la invención.

10 En otros modos de realización del procedimiento "secuencial", dichos monómeros de interés están presentes en la fase hidrófoba que es añadida a la emulsión de Pickering de partida, en la etapa de realización de la emulsión MIPE o HIPE propiamente dicha.

15 Incluso en otros modos de realización, dichos monómeros de interés son añadidos posteriormente a la emulsión MIPE o HIPE que ya ha sido obtenida.

Incluso en otros modos de realización, los monómeros de interés pueden ser añadidos sucesivamente en diferentes etapas, en el procedimiento de obtención de la emulsión MIPE o HIPE según la invención y/o después de la obtención de la composición de emulsión MIPE o HIPE según la invención.

20 En ciertos modos de realización, el o los polímeros son utilizados en combinación con uno o varios agentes de reticulación.

25 Para polimerizar el o los polímeros de interés, se añade normalmente uno o varios compuestos iniciadores de la polimerización apropiados.

Con carácter ilustrativo, la utilización de emulsiones, comprendidas las emulsiones HIPE de aceite en agua, para la fabricación de materiales polímeros, se describe, por ejemplo, en la solicitud PCT n° WO 2009/013500 o adicionalmente en las patentes US 6.218.440 y US 4.472.086.

30 La presente invención se ilustra además, sin ser limitada, por medio de los Ejemplos siguientes.

Ejemplo: Preparación de una emulsión de aceite en agua estabilizada por nanocristales de quitina

A. PROTOCOLOS

35 Protocolo 1: Preparación de nanocristales de quitina

40 El procedimiento de obtención de los nanocristales de quitina se describe en los documentos "In vitro chiral nematic ordering of chitin crystallites", Revol, J.-F.; Marchessault, R.H.; Int. Journal of Biological Macromolecules, 1993, 15, 329-335, y "Structure and chirality of the nematic phase in chitin suspensions" Belamie, E; Davidson, P; Giraud-Guille, M.M. Journal of Physical Chemistry B, 2004, 108 (39), 14991-15000.

45 Más precisamente, se mantienen en ebullición 4 g de quitina en 80 ml de HCl 3 N y bajo agitación durante 90 minutos.

La suspensión seguidamente se diluye, se lava con agua ultra pura mediante centrifugaciones sucesivas a 10.000 rpm durante 20 minutos y se analiza frente a HCl =,01 mM durante 5 días.

50 La dispersión final, constituida por nanocristales de quitina, se somete a un tratamiento de ultrasonidos, se filtra sobre 5 µm y seguidamente 1,2 µm y seguidamente se conserva a 4 °C.

Protocolo 2: Microscopía electrónica de transmisión (TEM)

55 Se depositan 20 µl de una suspensión acuosa de nanocristales de quitina (0,0025% peso/volumen) sobre una rejilla carbonada para microscopía electrónica.

Después de 2 minutos, se absorbe el exceso de disolvente y la muestra se marca mediante adición de 20 µl de acetato de uranilo (2% en agua); el exceso se absorbe después de 2 minutos.

60 Esta rejilla para microscopía electrónica se seca seguidamente en una estufa a 40 °C.

Las rejillas se observan seguidamente con un microscopio electrónico de transmisión de marca JEOL (80kV).

Protocolo 3: Preparación de una emulsión H/E estabilizada por nanocristales de quitina

65 Esta emulsión H/E puede ser preparada según dos protocolos diferentes, a saber, en dos etapas o en una sola

etapa.

(a) Protocolo en dos etapas

- 5 Se prepara una primera emulsión de Pickering de aceite en agua utilizando una fase acuosa que contiene una concentración conocida de nanocristales de quitina en HCl 0,01 mM y NaCl 20 mM.

10 Las emulsiones se prepararon utilizando una relación 20/80 de aceite/agua a partir de una fase acuosa que contiene nanopartículas a una concentración de 0,3% en peso, con respecto al volumen de la fase acuosa (sin dilución complementaria).

En un tubo se añaden 0,2 ml de hexadecano a 8 ml de la suspensión acuosa durante 5 segundos, la mezcla se somete a un tratamiento alternado 1 segundo de tratamiento con ultrasonidos y 2 segundos de reposo.

- 15 La emulsión de tipo HIPE se obtiene seguidamente mediante la adición de un volumen escogido entre hexadecano en rotor-estator a 5.500 rpm, durante 30 segundos a 2 minutos para 1 a 20 ml, respectivamente.

(b) Protocolo en una etapa

- 20 Las fases acuosa y aceitosa se ponen directamente en el tubo.

La emulsión de tipo HIPE se obtiene mediante mezcla en el rotor-estator a 5.000 rpm durante 30 segundos a 2 minutos.

- 25 Protocolo 4: Microscopio óptico y granulometría

Se incorporan aproximadamente 20 µl de la muestra de emulsión a 1 ml de agua destilada.

- 30 El producto se mezcla mediante giro forzado, seguidamente se deposita una gota sobre una laminilla para la observación en microscopio.

35 El diámetro y la distribución de los tamaños de las gotas se determinan mediante un dispositivo Malvern MasterSizer mediante difracción de la luz con un granulómetro Malvern 2000 equipado con un láser He-Ne (Malvern Instruments, U.K.), con un análisis mediante la ecuación de Fraunhofer.

El riego de agregación está en este caso limitado por la adición de 0,1% de SDS (dodecil-sulfato de sodio) y HCl 0,01 mM hasta antes de la medición.

- 40 Protocolo 5: Microscopio electrónico de exploración (MEB)

45 Para preparar la muestra de emulsión destinada a su observación mediante microscopio electrónico de exploración (MEB) se mezclan 150 µl de una mezcla de estireno/iniciador (relación estireno:AIBN (azobisisobutironitrilo) 100:1 peso/peso) con 1,0 a 1,5 ml de solución al 0,3% de una solución de muestra de HCl 0,01 mM en NaCl 20 mM, previamente sometida a ultrasonidos durante 1-2 minutos. La mezcla se desgasifica con nitrógeno durante 10 minutos.

La emulsión se obtuvo mediante tratamiento de ultrasonidos durante 30 segundos (impulsos de 2 segundos, separados por 5 segundos).

- 50 Este sistema se desgasifica con nitrógeno durante 10 minutos y la polimerización se lleva a cabo a 50 °C, entre 6 h y 24 h sin agitación.

55 En la preparación resultante se aclara con HCl 0,01 mM mediante centrifugaciones repetidas y seguidamente se somete a una etapa de metalización según técnicas convencionales de microscopía electrónica de exploración antes de la observación.

Protocolo 6: Cálculo del porcentaje de fase interna

- 60 El porcentaje de fase interna es igual al volumen de aceite de la emulsión dividido por el volumen total de la emulsión.

Este volumen puede ser obtenido, por ejemplo, mediante exploración, pesada o medida de la altura de la emulsión en un tubo de diámetro conocido.

- 65 Protocolo 7: Desacetilación/desacetilación

El procedimiento de desacetilación de los nanocristales de quitina se describe por Fan et al. Carbohydrate polymers, 2012, 79, 1046-1051.

5 Más precisamente, se añaden 240 ml de NaOH al 40% a 50 ml de suspensión de nanocristales de quitina al 1,2% que contienen 0,3 g de NaBH₄. La mezcla se lleva 3 h a 90 °C bajo agitación.

Al cabo de 3 h de lavado mediante centrifugaciones repetidas, se someten a diálisis frente a HCl 0,1 mM y seguidamente a filtración a 5 µm y seguidamente 1 µm.

10 Protocolo 8: Preparación de espumas sólidas

Las emulsiones en tubos de 10 ml se centrifugan a 2.000 g durante 2 a 5 minutos.

15 Esta etapa permite concentrar las emulsiones y desgasificarlas.

Una vez que se termina la centrifugación, el fondo del tubo es cortado por medio de un tubo cortador para vaciar toda la fase acuosa y recuperar solo la emulsión concentrada.

20 Las emulsiones se colocan seguidamente en el congelador a -18 °C y seguidamente se liofilizan.

Protocolo 9: Preparación de espumas secas

25 Se efectuaron ensayos de formación de espumas sobre la base del Protocolo descrito en el documento de Alargova et al. – “Foam superstabilization by polymer microrods”, Langmuir, vol. 20(24), 2004, 10371-10374.

Este procedimiento consiste en una aireación mediante una fuerte agitación lateral manual de 2 ml de una suspensión en una probeta de 10 ml durante 30 segundos a 1 minuto.

30 El volumen de espuma formado se mide en la probeta mediante una medición del grosor de espuma por medio de un calibrador electrónico. Todas las mediciones se efectuaron por el mismo experimentador.

B. RESULTADOS

35 B.1. Evolución del diámetro medio en función de diferentes parámetros para emulsiones de Pickering

Un método para evaluar la estabilidad de una emulsión es medir el tamaño de las gotas para verificar si hay coalescencia.

40 Por tanto, se midió el diámetro medio mediante granulometría (Protocolo 4).

(a) Concentración de nanocristales de quitina

Los resultados obtenidos se presentan en la tabla 1 siguiente y en Figura 1.

45 Tabla 1: Evolución del diámetro medio en función de la concentración de nanocristales de quitina, en una solución de NaCl 20 mM y HCl 0,01 mM

Concentración de nanocristales (g/l)	D3,2 (µm)	D4,3 (µm)	Polidispersidad
0,5	11,45 ± 0.64	13,25 ± 0.49	1,51
1	8,51 ± 0.21	10,06 ± 0.57	1,58
2	6,67 ± 0.12	8,76 ± 0.21	1,31
3	5,21 ± 0.16	6,96 ± 0.36	1,34
5	4,54 ± 0.07	6,19 ± 0.10	1,36

50 A la vista de estos resultados, hay una disminución continua del diámetro con el aumento del número de nanocristales de quitina introducidos, seguido de una estabilización.

Un valor preferido para la concentración de nanocristales de quitina sería de 3 g/l.

(b) Variación del pH

55 Los resultados obtenidos se presentan en la tabla 2 siguiente y en la Figura 2.

Tabla 2: Evolución del diámetro medio (μm) en función del pH ajustado mediante la concentración de HCl (para emulsiones de 3 g/l de nanocrisales de quitina en una solución de NaCl 20 mM)

Concentración de HCl (mM)	D3,2 (μm)	D4,3 (μm)	Polidispersidad
0	$5,83 \pm 0,17$	$7,61 \pm 0,18$	1,31
0,01	$5,21 \pm 0,16$	$6,96 \pm 0,36$	1,34
0,1	$5,10 \pm 0,15$	$6,58 \pm 0,22$	1,29
1	$5,78 \pm 0,22$	$7,60 \pm 0,27$	1,32

5 Estos resultados ponen de manifiesto que no hay influencia del pH sobre la preparación de emulsiones de Pickering a partir de nanocrisales de quitina.

Un valor preferido para el pH sería de 0,01 a 0,1 mM de HCl.

(c) Variación de la salinidad

10

Los resultados obtenidos se presentan en la tabla 3.

Tabla 3: Evolución del diámetro medio (μm) en función de la salinidad (mM) por la variación de la concentración de NaCl (para emulsiones de 3 g/l de nanocrisales de quitina y una concentración de HCl de 0,01 mM)

Concentración de NaCl (mM)	D3,2 (μm)	D4,3 (μm)	Polidispersidad
0	$8,32 \pm 0,32$	$13,00 \pm 0,13$	1,56
2	$5,84 \pm 0,16$	$7,53 \pm 0,38$	1,29
5	$5,85 \pm 0,08$	$7,32 \pm 0,34$	1,25
10	$6,23 \pm 0,10$	$8,03 \pm 0,16$	1,29
20	$6,43 \pm 0,21$	$8,43 \pm 0,32$	1,31
50	$6,39 \pm 0,20$	$8,25 \pm 0,35$	1,29
100	$5,35 \pm 0,24$	$7,02 \pm 0,37$	1,31

15

En ausencia de fuerza iónica, la producción de la emulsión es posible pero se hace menos controlable y la distribución de tamaños de gotas es más polidispersa.

A partir de una concentración 2 mM de NaCl en estas condiciones, no hay influencia de la fuerza iónica.

20

Un valor preferido sería de 20 a 50 mM de NaCl, según la densidad de carga superficial y la concentración.

(d) Estabilidad en almacenamiento a diferentes temperaturas

25 Las muestras en condiciones estándar (3 g/l de nanocrisales de quitina en NaCl 20 mM y HCl 0,01 mM) se almacenaron durante 1 semana a diferentes temperaturas.

Los resultados obtenidos se presentan en la tabla 4 siguiente y en Figura 3.

30

Tabla 4: Evolución del diámetro medio (μm) en función de la temperatura de almacenamiento ($^{\circ}\text{C}$)

Temperatura de almacenamiento	D3,2 (μm)	D4,3 (μm)	Polidispersidad
25 $^{\circ}\text{C}$	$5,21 \pm 0,16$	$6,96 \pm 0,36$	1,34
4 $^{\circ}\text{C}$	$4,94 \pm 0,18$	$6,36 \pm 0,23$	1,29
40 $^{\circ}\text{C}$	$5,60 \pm 0,15$	$7,10 \pm 0,08$	1,27

Después de estos tratamientos térmicos, las emulsiones estaban visiblemente inalteradas.

35 El valor de 25 $^{\circ}\text{C}$ sirve como valor de referencia y la ausencia coalescencia muestra la estabilidad de las emulsiones en estas condiciones.

B.2. Estabilidad por secado para la aplicación como emulsión seca

ES 2 604 120 T3

Una muestra de emulsión de 5 g/l de nanocrisales de quitina en NaCl 50 mM y HCl 0,01 mM se mantuvo en un tubo no tapado a 50 °C durante 8 h y seguidamente a 25 °C durante 5 días (tiempo necesario para secar de forma homogénea).

5 Seguidamente se dispersó en HCl 0,01 mM y se hizo pasar al granulómetro.

Los resultados obtenidos se presentan en la tabla 5 siguiente y en la Figura 4 aneja.

Tabla 5: Evolución del diámetro medio (μm) antes y después del secado

	D3,2 (μm)	D4,3 (μm)	Polidispersidad
No secado	5,07 \pm 0,04	6,33 \pm 0,07	1,25
Secado a 50 °C y seguidamente 25 °C	5,05 \pm 0,13	6,50 \pm 0,35	1,29

10

El diámetro de las gotas es igual, mostrando la capacidad de formar emulsiones secas.

B.3. Evolución del porcentaje de fase interna en función de diferentes parámetros para las HIPE producidas según 2 protocolos ("directo" y "dos etapas")

15

Las emulsiones se preparan según los protocolos descritos con anterioridad y, después de un tiempo de espera de 24 h, se miden los volúmenes para calcular los porcentajes de fase interna (Protocolo 6).

20

Finalmente los tubos se inclinan, o se invierten, para proporcionar una indicación sobre la textura: S: sólido, C: vertible, L: líquido.

Los resultados obtenidos se exponen en las tablas 6 a 9 siguientes.

25

Tabla 6: Evolución de las condiciones de referencia: nanocrisales de quitina a 3 g/l en la fase acuosa de NaCl 20 mM y HCl 0,01 mM

V de aceite añadido (ml)	0,5	1	1,5	2,5	4	9	15	20
% fase interna "dos etapas"	70,2 \pm 1,3	76,8 \pm 0,7	74,3 \pm 3,1	77,0 \pm 0,0	83,6 \pm 0,1	91,6 \pm 0,1	94,4 \pm 0,1	94,9 \pm 0,3
	S	S	S	S	S	S	S	S/C
% fase interna en directo	64,2 \pm 5,1	64,7 \pm 0,6	68,0 \pm 0,0	77,1 \pm 0,0	83,9 \pm 0,0	91,6 \pm 0,2	94,9 \pm 0,0	84,8
	S	S	S	S	S	S	S	S

Tabla 7: Evolución en función del pH, a acidez más elevada: nanocrisales de quitina a 3 g/l en la fase acuosa NaCl 20 mM y HCl 1 mM

V aceite añadido (ml)	0,5	1	1,5	2,5	4	9	15	20
% fase interna en "dos etapas"	72,6 \pm 4,3	74,2 \pm 0,5	75,1 \pm 1,1	76,9 \pm 0,1	83,6 \pm 0,0	91,3 \pm 0,3	94,2 \pm 0,1	96,1 \pm 0,0
	S	S	S	S	S	S	S	S/C
% fase interna en directo	69,8 \pm 1,9	67,8 \pm 0,9	67,7 \pm 0,1	76,7 \pm 0,1	83,6 \pm 0,0	91,5 \pm 0,0	94,5 \pm 0,4	96,0
	S	S	S	S	S	S	S	S

30

Tabla 8: Evolución en función de la salinidad, en ausencia de NaCl: nanocrisales de quitina a 3 g/l en la fase acuosa HCl 0,01 mM

V aceite añadido (ml)	0,5	1	1,5	2,5	4	9	15	20
% fase interna en "dos etapas"	70,3 \pm 0,2	74,6 \pm 3,3	77,7 \pm 3,3	77,6 \pm 3,1	83,0 \pm 0,0	91,7 \pm 0,1	94,6 \pm 0,0	95,6 \pm 0,8
	C	C	C	S	S	S	S	S/C
% fase interna en directo	72,3 \pm 3,4	69,7 \pm 1,1	71,8 \pm 2,0	83,7 \pm 4,6	83,5 \pm 0,2	91,9 \pm 0,3	94,6 \pm 0,1	96,0 \pm 0,1
	L	L	L	C	S	S	S	S/C

Tabla 9: Evolución en función de la salinidad, a concentración elevada de NaCl: nanocrisales de quitina a 3 g/l en la fase acuosa con NaCl 100 mM y HCl 0,01 mM

V aceite añadido (ml)	0,5	1	1,5	2,5	4	9	15	20
-----------------------	-----	---	-----	-----	---	---	----	----

% fase interna en "dos etapas"	67,1 ± 5,1	70,2 ± 1,2	69,8 ± 1,8	76,9 ± 0,1	82,2 ± 2,1	91,3 ± 0,1	94,3 ± 0,3	93,4 ± 0,2
	S	S	S	S	S	S	S	S/C
% fase interna en directo	40,7 ± 0,3	60,0 ± 0,0	68,0 ± 0,0	77,1 ± 0,1	83,6 ± 0,0	91,7 ± 0,0	94,8 ± 0,0	95,9 ± 0,2
	C	S	S	S	S	S	S	S/C

Si las diferencias se observan para los primeros puntos de emulsiones menos estables y menos estructuradas en ausencia de sal (gel vertible/gel sólido), más allá de aproximadamente 74% de fase interna, todas las emulsiones presentan un porcentaje de fase interna idéntico, independientemente del método y de los parámetros ensayos.

5

En la mayoría de los casos, se obtiene un gel sólido.

Solo la ausencia de sal conduce a emulsiones menos estructuradas, pero siempre es posible formar HIPEs. A una salinidad elevada, siendo el gel muy estructurado, es más difícil de poner en práctica.

10

La vía "directa" integra la totalidad del agua introducida, mientras que la vía de "dos etapas" tiene una tendencia a excluir el agua, aumentando así el porcentaje de fase interna para las MIPE.

15

Más allá de aproximadamente 74% de fase interna, los porcentajes de fase interna son iguales para los dos procedimientos.

No obstante, se apreciará una diferencia de textura considerable entre los dos métodos. La estructuración del gel según el modo de preparación parece por tanto que es diferente.

20

Si se desea un gel más estructurado (gel sólido) y un porcentaje de fase interna superior, es preferible hacerlo según la vía de dos etapas.

Además, los resultados (no presentados) ponen de manifiesto que es posible preparar MIPEs y HIPEs a partir de nanocristales de quitina después de 1 y 2 horas de desacetilización según el protocolo 7.

25

B.4. Preparación de espumas sólidas a partir de emulsión de Pickering o de MIPE

Las emulsiones preparadas basadas en nanocristales de quitina y de ciclohexano se congelan y seguidamente se liofilizan (Protocolo 8).

30

Este protocolo permite obtener espumas alveolares cuyos tamaños de células son controlables según el volumen de fase interna (ciclohexano) añadida a una emulsión de Pickering.

35

Las imágenes de MEB ponen de manifiesto estas estructuras alveolares. Esto ilustra la gran estabilidad de los nanocristales de quitina en la superficie interfacial, lo que permite conservar la estructura para una porosidad muy elevada y de las paredes extremadamente finas, es decir, de aproximadamente 10 a 50 nanómetros.

40

Estos resultados están asociados a las propiedades de las emulsiones de Pickering ya que adsorción irreversible en la superficie interfacial y la elevada estabilidad de estas emulsiones permite el mantenimiento de la estructura en la congelación.

Para una vía en dos etapas (resultados no presentados), la estructura de la espuma es análoga.

45

B.5. Combinación de nanocristales de polisacárido

Se prepararon emulsiones mixtas de nanocristales de quitina/celulosa según el Protocolo 3(a) en "dos etapas" anterior, de forma que se obtiene una combinación de nanocristales de quitina a 1,5 g/l y nanocristales de celulosa a 1,5 g/l en la fase acuosa que contiene NaCl 20 mM y HCl 0,01 mM.

50

Después de un tiempo de espera, se miden los volúmenes para calcular los porcentajes de fase interna (Protocolo 6).

55

Finalmente los tubos se inclinan, o se invierten, para proporcionar una indicación sobre la textura: S: sólido, C: vertible, L: líquida.

Los resultados obtenidos se presentan en la tabla 10 siguiente y en la Figura 5 aneja.

Tabla 10: Evolución del porcentaje de fase interna para una suspensión mixta de quitina/celulosa

V aceite añadido (ml)	0,5	1	1,5	2,5	4	9	15	20
-----------------------	-----	---	-----	-----	---	---	----	----

% fase interna en "dos etapas"	79,9 ± 5,4	78,6 ± 1,6	80,2 ± 2,1	76,2 ± 0,1	82,9 ± 0,1	91,0 ± 0,2	89,3 ± 7,1	94,9 ± 0,5
	S	S	S	S	S	S	S	C

Las propiedades permanecen inalteradas, siendo modificada solamente la naturaleza de la superficie interfacial.

5 Una suspensión que comprende 50% de nanocristales de quitina y 50% de nanocristales de celulosa conduce a MIPEs y HIPEs equivalentes en textura y en porcentaje de fase interna para una suspensión que comprende 100% de nanocristales de quitina, pero cuyas cargas superficiales serán a la vez positivas y negativas, lo que puede ser interesante para ciertas aplicaciones.

10 B.6. Formación de una espuma seca estable

Se realizaron ensayos de formación de espuma según el Protocolo 9 siguiente.

Se estudiaron los diferentes parámetros siguientes:

- 15 - una concentración de nanocristales de quitina de 2 g/l a 13 g/l,
 - una fuerza iónica entre 0 y 5 mM de NaCl,
 - un pH de HCl 0,01 mM (pH 5), HCl 0,1 mM (pH 4) y HCl 1 mM (pH 3).

20 *Concentración de quitina*

Los resultados obtenidos se presentan en la tabla 11 siguiente, en fracción en volumen de espuma con respecto al volumen total de emulsión.

25 Tabla 11: Comparación de las fracciones de espuma según las concentraciones de nanocristales de quitina y estabilidad con el tiempo (HCl 0,01 mM, NaCl 2 mM)

		Concentración en nanocristales de quitina (g/l)			
		2	6	10	13
Tiempo	0	25%	41%	47%	89%
	2 min	21%	33%	41%	78%
	20 min	10%	30%	40%	76%
	12 h	10%	29%	40%	75%
	2 días	8%	23%	28%	61%
	5 días	4%	22%	25%	55%

30 La formación de espuma se observa efectivamente a partir de una concentración de 6 g/l de nanocristales de quitina. Para concentraciones inferiores a 6 g/l, la espuma es muy débil e inestable.

Fuerza iónica y pH

Los resultados obtenidos se presentan en la tabla 12.

35 Tabla 12: Comparación de las evoluciones de las fracciones en volumen de espuma en porcentaje, según las condiciones de fuerza iónica y pH a 13 g/l de nanocristales de quitina y t= 20 min

		NaCl (mM)			
		0	1	2	5
HCl (mM)	0,01	67%	79%	76%	70%
	0,1	32%	41%	61%	40
	1	0,03%	0,7%	28%	25%

40 Como muestran las evoluciones del volumen de espuma medido, la ausencia de fuerza iónica (NaCl a 0 mM) no permite la formación de espuma para valores del pH inferiores a 4. Igualmente, el aumento de la fuerza iónica más allá de 10 mM tiende a una desestabilización de la espuma cualquiera que sea el pH.

ES 2 604 120 T3

Además, el aumento del pH de 3 a 5 favorece la estabilización de la espuma.

5 Se observó igualmente que una espuma de origen a pH 5 desaparece a pH 2 (mediante la adición de 20 μ l de HCl 1 M); solo subsiste una corona. Se forma una espuma cuando vuelve a pH 5 (mediante la adición de 20 μ l de NaOH 1 M).

Estos resultados muestran el carácter reversible de la espuma en función del pH.

10 *Estudio de la estabilidad de las espumas con el tiempo*

Una solución de quitina de 2 g/l a 13 g/l (HCl 0,01 mM y NaCl 5 mM) se somete a una agitación horizontal según el Protocolo 9 anteriormente citado.

15 Los resultados obtenidos se presentan en la tabla 11 anterior.

Se observa una estabilidad muy buena con el tiempo.

REIVINDICACIONES

1. Composición que comprende una fase interna dispersada en una fase continua hidrófila, que posee un porcentaje de fase interna superior a 50% en volumen, caracterizada porque dicha composición contiene nanocristales de un polisacárido distinto de la celulosa que están localizados en la superficie interfacial entre dicha fase interna y dicha fase continua hidrófila.
2. Composición según la reivindicación 1, caracterizada porque los nanocristales de un polisacárido distinto de la celulosa se escogen entre nanocristales que tienen cargas positivas.
3. Composición según la reivindicación 2, caracterizada porque los nanocristales de polisacárido se escogen entre:
- (i) exclusivamente nanocristales de polisacárido con carga positiva, excluyendo nanocristales de celulosa, o
 - (ii) nanocristales de polisacárido con carga positiva, distinto de celulosa, mezclados con nanocristales procedentes al menos un polisacárido con carga negativa.
4. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 2 ó 3, caracterizada porque los nanocristales de un polisacárido distinto de la celulosa se escogen entre nanocristales de quitina.
5. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizada porque consiste en una emulsión o una espuma.
6. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizada porque dicha composición consiste en una emulsión (i) de tipo de fase interna elevada o HIPE, que posee un porcentaje de fase interna superior a 75% en volumen, o (ii) de tipo de fase interna media o MIPE, que posee un porcentaje de fase interna comprendido entre 50 y 75% en volumen.
7. Procedimiento de obtención de una composición que comprende una fase interna dispersada en una fase continua hidrófila, que posee un porcentaje de fase interna superior a 50% en volumen, procedimiento que se caracteriza porque comprende las operaciones siguientes:
- a) una operación de incorporación de nanocristales de un polisacárido distinto de la celulosa, en una fase hidrófila,
 - b) una operación de suministro de dicha fase hidrófila que contiene nanocristales de polisacárido y una fase destinada a constituir dicha fase interna,
 - c) una operación de formación de dicha composición mediante dispersión de dicha fase interna en dicha fase hidrófila.
8. Procedimiento según la reivindicación 7, caracterizado porque los nanocristales de polisacárido incorporados en la operación a) se escogen entre nanocristales que tienen cargas positivas.
9. Procedimiento según la reivindicación 8, caracterizado porque los nanocristales de polisacárido incorporados en la operación a) se escogen entre:
- (i) exclusivamente nanocristales de polisacárido con carga positiva, excluyendo nanocristales de celulosa, o
 - (ii) nanocristales de polisacárido con carga positiva, distinto de celulosa, mezclados con nanocristales procedentes al menos un polisacárido con carga negativa.
10. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 8 ó 9, caracterizado porque los nanocristales de polisacárido incorporados en la operación a) se escogen entre nanocristales de quitina.
11. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 10, caracterizado porque al final de la operación c), la composición obtenida consiste en una emulsión o en una espuma.
12. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 11, caracterizado porque la composición es una composición de emulsión que comprende una fase interna hidrófoba y una fase continua hidrófila y porque la operación c) de formación de la emulsión comprende:
- c.1) una etapa de obtención de una emulsión de aceite en agua, intermedia, que tiene una relación en volumen de fase interna hidrófoba/fase continua hidrófila de al menos 5/95,
 - c.2) una etapa de obtención de la composición de emulsión que posee un porcentaje de fase interna superior a 50% en volumen, que comprende:

c.2.1) una etapa de adición de un volumen de fase hidrófoba a la emulsión intermedia obtenida en la etapa c.1), y agitación de la mezcla así obtenida, y/o

5 c.2.2) una etapa de concentración de la emulsión intermedia obtenida en la etapa c.1), mediante retirada de al menos un parte de dicha fase hidrófila.

13. Procedimiento según la reivindicación 12, caracterizado porque en la etapa c.1), la emulsión de aceite en agua intermedia tiene un porcentaje de fase interna en volumen inferior o igual a 50% en volumen.

10 14. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 11, caracterizado porque la composición es una composición de emulsión que comprende una fase interna hidrófoba y una fase continua hidrófila y porque la operación c) de formación de la emulsión consiste en mezclar la fase hidrófila que contiene nanocristales de polisacárido y la fase interna hidrófoba, para la obtención directamente de dicha emulsión que posee un porcentaje de fase interna superior a 50% en volumen.

15 15. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 14, caracterizado porque al final de la etapa c), la composición de emulsión formada es (i) de tipo de fase interna elevada o HIPE, que posee un porcentaje de fase interna superior a 75% en volumen, o (ii) de tipo de fase interna media o MIPE, que posee un porcentaje de fase interna comprendido entre 50% y 75% en volumen.

20

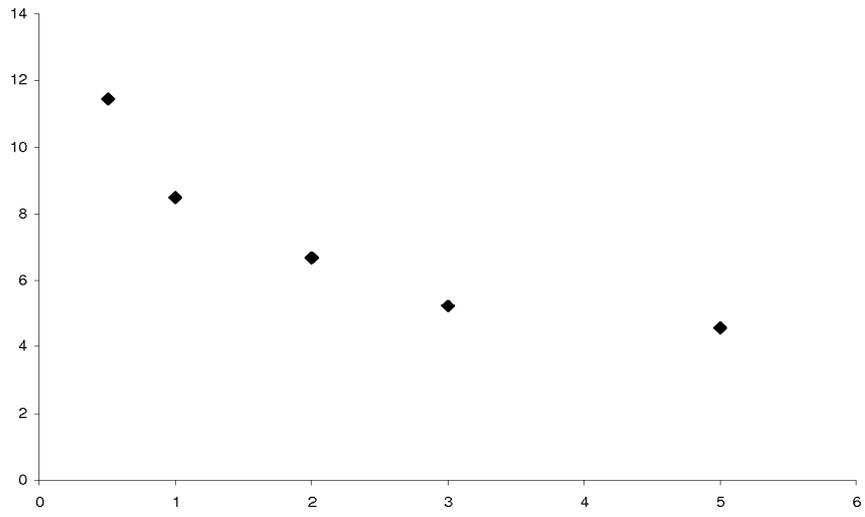


Figura 1

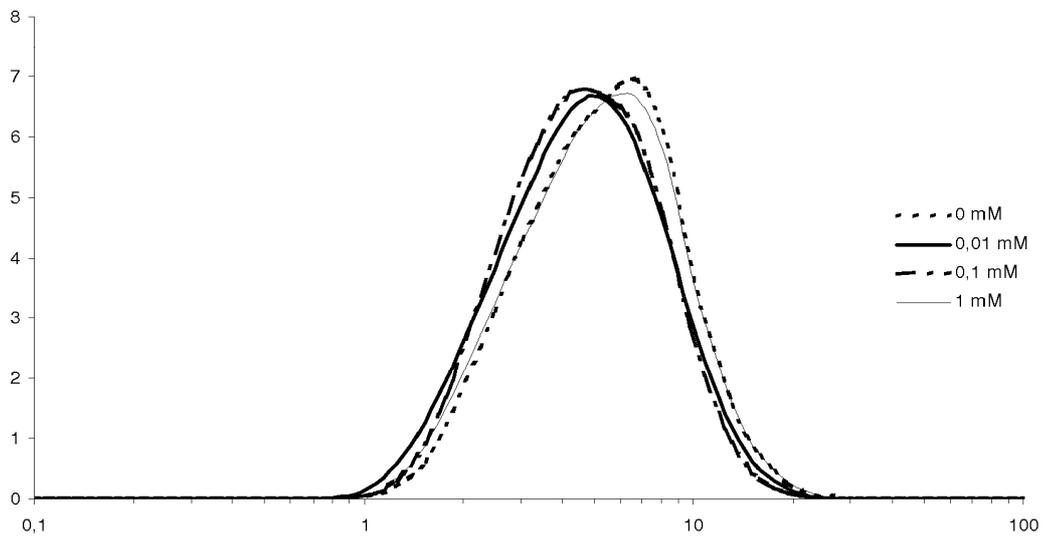


Figura 2

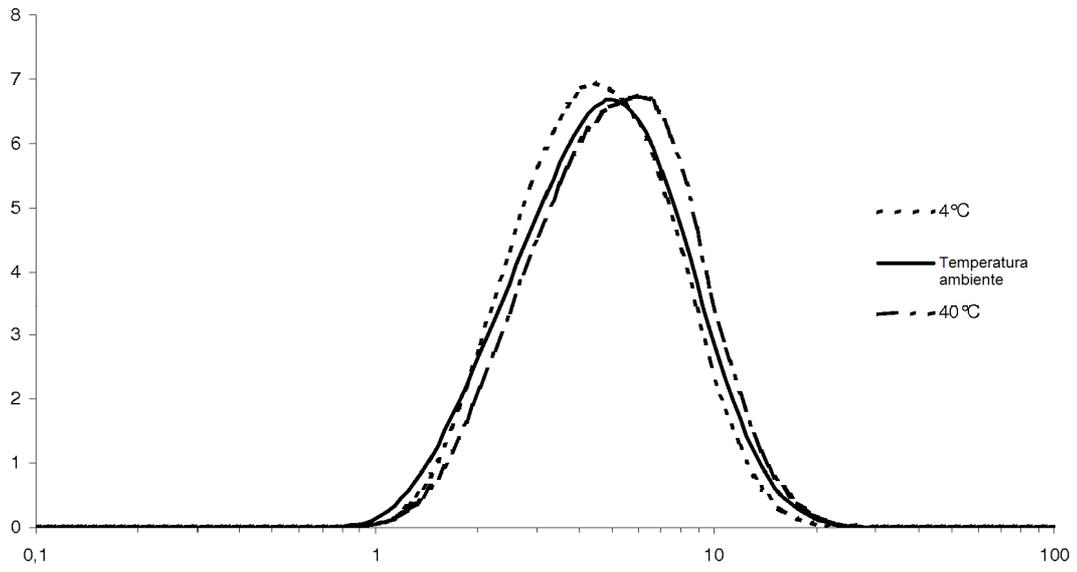


Figura 3

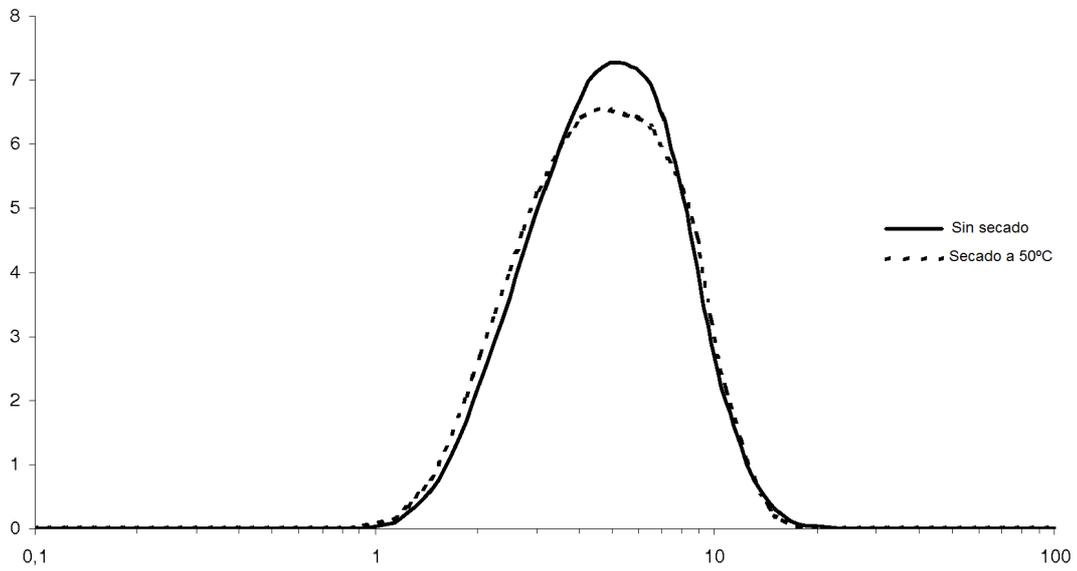


Figura 4

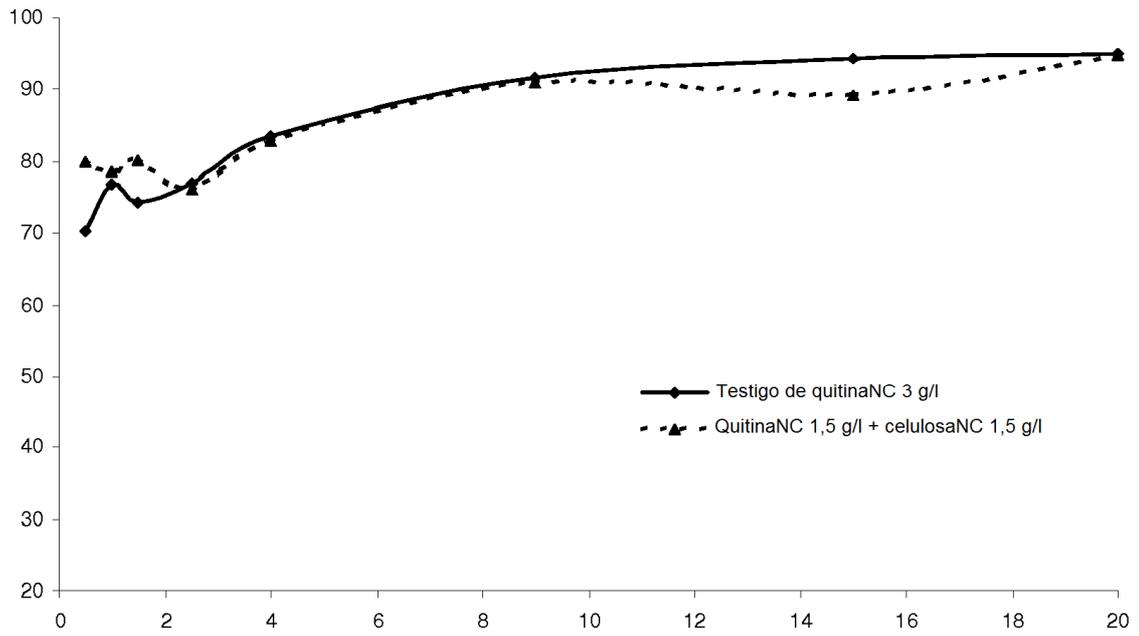


Figura 5