

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 616 228**

51 Int. Cl.:

**C08B 37/00**

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **16.10.2009 PCT/EP2009/007579**

87 Fecha y número de publicación internacional: **22.04.2010 WO2010043423**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.10.2009 E 09741234 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.11.2016 EP 2350134**

54 Título: **Derivados de alternano**

30 Prioridad:

**17.10.2008 EP 08166936**

**17.10.2008 US 196425 P**

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

**12.06.2017**

73 Titular/es:

**BAYER INTELLECTUAL PROPERTY GMBH**

**(100.0%)**

**Alfred-Nobel-Strasse 10**

**40789 Monheim am Rhein, DE**

72 Inventor/es:

**FROBERG, CLAUS;**

**VORWERG, WALTRAUD y**

**RADOSTA, SYLVIA**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

**ES 2 616 228 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

## Derivados de alternano

La presente invención se refiere a ésteres de ácidos carboxílicos de alternano, a procedimientos para la preparación de ésteres de ácidos carboxílicos de alternano y a composiciones que comprenden ésteres de ácidos carboxílicos de alternano y al uso de ésteres de ácidos carboxílicos de alternano.

El alternano (n.º de registro CAS: 136510-13-9) ya se describió en 1954 por Jeanes (J. Am. Soc. 76, 5041-5052) como fracción de S-glucano producido extracelularmente a partir de *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B-1335. El alternano es un polisacárido compuesto por unidades de glucosa. Las unidades de glucosa se unen entre sí mediante enlaces glucosídicos alfa-1,6 y alfa-1,3, produciéndose estos dos tipos de enlace predominantemente de forma alterna (Miasaki y col., 1980, Carbohydr. Res. 84, 273-285). Además, el alternano puede comprender hasta aproximadamente el 10 % de ramificaciones (Seymour y col., 1979, Carbohydrate Research 74, 41-62). Como el alternano tiene los enlaces glucosídicos alfa-1,3 que se producen de forma alterna con el alfa-1,6 en la cadena principal del polímero y los enlaces glucosídicos alfa-1,6 sucesivos, que se producen muy raramente, si se producen, se diferencia del dextrano, un polímero de glucosa que consiste en la cadena principal de predominantemente enlaces glucosídicos alfa-1,6 (n.º de registro CAS: 9004-54-0). De esta manera, Cote y Robyt (1982, Carbohydr. Res. 101, 57-74) introdujeron el nombre alternano, que es válido generalmente hoy en día, para la fracción de S-glucano especificada a partir de *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B-1335.

El alternano nativo tiene un peso molecular medio ( $M_w$ ) de  $10^6$ - $10^7$ , relativamente es fácilmente hidrosoluble y confiere una baja viscosidad en soluciones acuosas (documento WO 03 010177).

Los derivados de alternano conocidos hasta ahora están limitados porque el peso molecular del alternano nativo se ha reducido por medio de procedimientos físicos y/o biológicos (enzimáticos).

A través de la degradación del alternano nativo con la enzima isomaltodextranasa, se ha preparado el denominado alternano límite (conocido análogamente a las dextrinas límite, que se obtienen tras la degradación del almidón por medio de isoamilasa) que tiene un peso molecular medio de 3500. Las propiedades reológicas (viscosidad en solución acuosa) del alternano límite se corresponden aproximadamente con las de la maltodextrina, es decir, el alternano límite confiere una baja viscosidad y es soluble en agua a altas concentraciones (> 80 % en peso/volumen) (Cote y col., 1997, Capítulo 8 en: Spanier y col. (ed), "Chemistry of novel foods", Carol Steam, IL: Allured Publishing Corp., 95-110, ISBN 093171057X).

Tras la incubación de alternano nativo en presencia de hongos del género *Penicillium*, el peso molecular del alternano nativo se reduce igualmente (documento WO 03 010177). Dependiendo del tiempo de incubación, se obtuvo alternano con un peso molecular de  $5 \cdot 10^5$  (tiempo de incubación de 4 días) o  $1 \cdot 5 \cdot 10^4$  (tiempo de incubación de 7 días). Las enzimas degradadoras de alternano no pudieron detectarse en los hongos usados para este fin, lo que significa que el mecanismo para reducir el peso molecular del alternano nativo mediante hongos del género *Penicillium* no se ha explicado hasta ahora.

Adicionalmente, el peso molecular promedio se ha reducido a menos de  $10^6$  a través del tratamiento con ultrasonidos (Cote, 1992, Carbohydr. Polymers 19, 249-252).

El alternano con un peso molecular reducido que ha sido obtenido tras la incubación con hongos o que ha sido obtenido mediante tratamiento con ultrasonidos tiene similitudes con la goma arábiga en lo que se refiere a su comportamiento reológico. A diferencia de la solubilidad en agua del alternano nativo (12 %-15 % p/v), es fácilmente soluble en agua (hasta el 50 % p/v) y confiere una baja viscosidad a la solución. Con respecto al comportamiento pseudoelástico, las soluciones de alternano con un peso molecular reducido presentan una baja pseudoelasticidad y son líquidos aproximadamente newtonianos. A diferencia de la goma arábiga, ni el alternano nativo ni el alternano con un peso molecular reducido tienen propiedades emulsionantes. Debido a las propiedades reológicas especificadas, ambos derivados de alternano se proponen para el uso como agente de carga, en particular en alimentos que contienen hidratos de carbono (documento WO 03 010177).

Adicionalmente, el alternano es un polímero que sólo es degradado por glucanasas específicas, Biley y col., 1994, Eur. J. Biochem. 226, 633-639. Tales glucanasas degradadoras de alternano se conocen de algunos microorganismos. Por consiguiente, el alternano y el alternano con un peso molecular reducido se han propuesto como agente de carga hipocalórico para productos alimenticios (Cote y col., 1997, Capítulo 8 en: Spanier y col. (ed), "Chemistry of novel foods", Carol Steam, IL: Allured Publishing Corp., 95-110, ISBN 093171057X).

El objeto de la presente invención es proporcionar derivados de alternano. En comparación con el alternano nativo, los derivados de alternano tienen propiedades que los hacen adecuados para ciertas aplicaciones. Estos derivados de alternano son particularmente adecuados para uso en alimentos, productos farmacéuticos o productos cosméticos.

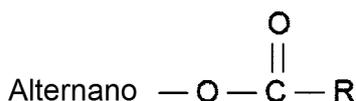
Este objeto se logra mediante las realizaciones citadas en las reivindicaciones.

La presente invención se refiere por lo tanto a ésteres de ácidos carboxílicos de alternano.

Sorprendentemente, se ha descubierto que diversos ésteres de ácidos carboxílicos de alternano confieren viscosidades significativamente mayores a soluciones acuosas que el alternano nativo, que sólo confiere una baja viscosidad. Adicionalmente, en soluciones acuosas de diversos ésteres de ácidos carboxílicos de alternano hay una dependencia de la viscosidad conferida por ellos y la fuerza de cizallamiento que actúa sobre la solución. Por tanto, las soluciones de diversos ésteres de ácidos carboxílicos de alternano tales como, por ejemplo, ésteres de ácido succínico de alternano, no son líquidos newtonianos. El alternano nativo tiene un carácter de solución típico de soluciones newtonianas con bajas interacciones de los polímeros, mientras que los ésteres de ácido succínico de alternano a concentración idéntica son similares a gel, por tanto, se producen interacciones claramente reconocibles entre los polímeros. Por consiguiente, diversos ésteres de ácidos carboxílicos de alternano son particularmente adecuados como aditivos que confieren estructura en alimentos, productos farmacéuticos o productos cosméticos.

En relación con la presente invención, el término "alternano" o "alternano nativo" debe entenderse que significa un polímero que consiste en unidades de glucosa, en el que las unidades de glucosa de la cadena principal se unen casi exclusivamente de manera alternada por medio de enlaces alfa-1,6 y alfa-1,3. El alternano puede tener aproximadamente un 10 % de cadenas laterales que se forman por ramificaciones de las cadenas principales.

En relación con la presente invención, la frase "éster de ácido carboxílico de alternano" debe entenderse que significa alternano que comprende moléculas de glucosa que tienen enlaces éster de ácido carboxílico. Las moléculas de glucosa del alternano pueden tener enlaces éster de ácido carboxílico en los grupos OH libres en la posición C-2, C-3, C-4 y/o C-6 de los átomos de carbono. Como resultado del tipo de unión alterna del alternano, en cada caso todos los grupos OH de las posiciones C-2 y C-4 de las moléculas de glucosa y en cada caso aproximadamente el 50 % de los grupos OH de las posiciones C-3 y C-6 de las moléculas de glucosa están disponibles para la formación de un enlace éster. Por tanto, los ésteres de ácidos carboxílicos de alternano de acuerdo con la invención comprenden predominantemente enlaces éster en las posiciones C-2, C-3, C-4 y/o C-6 de las moléculas de glucosa del polímero. Los ésteres de ácidos carboxílicos de alternano pueden representarse por la siguiente fórmula (fórmula 1):



donde R =  
H,

un resto alquilo de cadena lineal o ramificada que tiene 1 a 30 átomos de carbono, que tiene preferentemente 1 a 11 átomos de carbono, que puede llevar uno o más restos oxo, hidroxí, carboxi y/o que puede estar sustituido con grupos amino y/o halógeno,

un resto alquenilo de cadena lineal o ramificada que tiene 1 a 30 átomos de carbono, que tiene preferentemente 1 a 11 átomos de carbono, que puede llevar uno o más restos oxo, hidroxí, carboxi y/o que puede estar sustituido con grupos amino y/o halógeno,

un resto alcadienilo de cadena lineal o ramificada que tiene 1 a 30 átomos de carbono, que tiene preferentemente 1 a 11 átomos de carbono, que puede llevar uno o más restos oxo, hidroxí, carboxi y/o que puede estar sustituido con grupos amino, azufre y/o halógeno,

un resto alcatrienilo de cadena lineal o ramificada que tiene 1 a 30 átomos de carbono, que tiene preferentemente 1 a 11 átomos de carbono, que puede llevar uno o más restos oxo, hidroxí, carboxi y/o que puede estar sustituido con grupos amino, azufre y/o halógeno,

un resto alcatetraenilo de cadena lineal o ramificada que tiene 1 a 30 átomos de carbono, que tiene preferentemente 1 a 11 átomos de carbono, que puede llevar uno o más restos oxo, hidroxí, carboxi y/o que puede estar sustituido con grupos amino, azufre y/o halógeno,

un resto alquinilo de cadena lineal o ramificada que tiene 1 a 30 átomos de carbono, que tiene preferentemente 1 a 11 átomos de carbono, que puede llevar uno o más restos oxo, hidroxí, carboxi y/o que puede estar sustituido con grupos amino, azufre y/o halógeno, y/o

un resto arilo que puede llevar uno o más radicales oxo, hidroxí, carboxi y/o que puede estar sustituido con grupos amino, azufre y/o halógeno.

Los ésteres de ácidos carboxílicos de alternano de acuerdo con la presente invención también pueden ser ésteres con ácidos grasos saturados o mono o poliinsaturados.

En una realización preferida, los ésteres de ácidos carboxílicos de alternano de acuerdo con la presente invención son ésteres de ácidos carboxílicos con los ácidos carboxílicos listados en la lista 1 a continuación, que pueden llamarse genéricamente ésteres de "nombre trivial" de alternano o ésteres de "nombre químico" de alternano, donde las frases "nombre trivial" o "nombre químico" se sustituyen por uno de los nombres listados bajo estos términos en la lista 1 (por ejemplo, éster de ácido fórmico de alternano o éster de ácido metanoico de alternano).

## Lista 1

Nombre trivial	Nombre químico
Ácido fórmico	(Ácido metanoico)
Ácido acético	(Ácido etanoico)
Ácido glioxálico	(Ácido oxoacético)
Ácido propiónico	(Ácido propanoico)
Ácido láctico	(Ácido 2-hidroxiopropanoico)
Ácido pirúvico	(Ácido oxopropanoico)
Ácido pivalico	(Ácido 2,2-dimetilpropanoico)
Ácido acrílico	(Ácido 2-propenoico)
Ácido cinámico	(Ácido 3-fenilpropenoico)
Ácido benzoico	(Ácido monofenilmetanoico)
Ácido salicílico	(Ácido 2-hidroxibencenocarboxílico)
Ácido malónico	(Ácido 1,3-propanodioico)
Ácido tartárico	(Ácido 2,3-dihidroxiбутanodioico)
Ácido succínico	(Ácido butanodioico, ácido succinílico)
Ácido octenilsuccínico	(Ácido 2-octen-1-ilsuccínico)
Ácido dodecenilsuccínico	(Ácido 2-dodecen-1-ilsuccínico)
Ácido málico	(Ácido 2-hidroxiбутanodioico)
Ácido aspártico	(Ácido 2-aminobutanodioico)
Ácido maleico	(Ácido <i>cis</i> -butenodioico)
Ácido fumárico	(Ácido <i>trans</i> -butenodioico)
Ácido itacónico	(Ácido <i>cis</i> -metilénbutenodioico)
Ácido glutárico	(Ácido pentanodioico)
Ácido adípico	(Ácido 1,6-hexanodioico)
Ácido pimélico	(Ácido heptanodioico)
Ácido <i>o</i> -ftálico	(Ácido 1,2-bencenodicarboxílico)
Ácido <i>m</i> -ftálico	(Ácido 1,3-bencenodicarboxílico)
Ácido <i>p</i> -ftálico	(Ácido 1,4-bencenodicarboxílico)
Ácido cítrico	(Ácido 2-hidroxiopropan-1,2,3-tricarboxílico)
Ácido butírico	(Ácido butanoico)
Ácido valérico	(Ácido pentanoico)
Ácido caproico	(Ácido hexanoico)
Ácido caprílico	(Ácido octanoico)
Ácido palmítico	(Ácido hexadecanoico)
Ácido esteárico	(Ácido octadecanoico)
Ácido cerótico	(Ácido hexacosanoico)
Ácido palmitoleico	(Ácido (9z)-hexadeca-9-enoico)
Ácido oleico	(Ácido (9z)-octadeca-9-enoico)
Ácido erúxico	(Ácido (13z)-docosa-13-enoico)
Ácido linoleico	(Ácido (9z,12z)-octadeca-9,12-dienoico)
Ácido alfa-linoleico	(Ácido (9z,12z,15z)-octadeca-9,12,15-trienoico)
Ácido gamma-linoleico	Ácido (6z,9z,12z)-octadeca-6,9,12-trienoico
Ácido gamma-araquidónico	Ácido (5z,8z,11z,14z)-eicosa-5,8,11,14-tetraenoico

Los ésteres de ácidos carboxílicos de alternano de acuerdo con la presente invención son en particular preferentemente ésteres de ácidos carboxílicos con ácidos dicarboxílicos tales como, por ejemplo, éster de ácido fumárico de alternano (éster de ácido *trans*-butenodioico de alternano), éster de ácido itacónico de alternano (éster

de ácido *cis*-metilbutenodioico de alternano), éster de ácido glutárico de alternano (éster de ácido pentanodioico de alternano) o éster de ácido ftálico de alternano (éster de ácido bencenodicarboxílico de alternano). Es obvio para el experto en la materia que particularmente los ésteres de ácidos carboxílicos de alternano con ácidos di- o tricarboxílicos también pueden, dependiendo de la composición de la solución en la que están presentes, estar presentes como sales. Por consiguiente, las sales de ésteres de ácidos carboxílicos de alternano de acuerdo con la presente invención también se proporcionan por la presente invención.

Los ésteres de ácidos carboxílicos de alternano de acuerdo con la presente invención son en particular preferentemente éster de ácido acético de alternano (éster de ácido etanoico de alternano), éster de ácido succínico de alternano (éster de ácido butanodioico de alternano, éster de ácido succinílico de alternano) o éster de ácido octenilsuccínico de alternano (éster de ácido 2-octen-1-ilsuccínico de alternano, éster de octenilsuccinato de alternano).

Los ésteres de ácidos carboxílicos de alternano de acuerdo con la presente invención pueden tener un grado de sustitución (GS) de 0,005 a 3. En una realización preferida, los ésteres de ácidos carboxílicos de alternano de acuerdo con la presente invención tienen un grado de sustitución de 0,005 a 2,0, preferentemente de 0,008 a 1,0, en particular preferentemente de 0,01 a 1,0, en particular preferentemente de 0,01 a 0,5 y en especial preferentemente de 0,01 a 0,04.

En relación con la presente invención, la frase "grado de sustitución (GS)" debe entenderse que significa el grado de sustitución molar que indica cuántos moles de sustituyente están presentes en forma unida por mol de glucosa. Como todas las posiciones C-2 y C-4 y en cada caso aproximadamente el 50 % de las posiciones C-3 y C-6 de las moléculas de glucosa de alternano pueden estar sustituidas, el grado máximo de sustitución es 3.

Los ésteres de ácidos carboxílicos de alternano de acuerdo con la presente invención tienen preferentemente un peso molecular promedio en peso ( $M_w$ ) de  $10^5$  a  $10^8$ , preferentemente de  $10^6$  a  $10^8$ , en particular preferentemente  $5 \times 10^6$  a  $10^8$  y en especial preferentemente de  $5 \times 10^6$  a  $5 \times 10^7$ . Los procedimientos para determinar el peso molecular promedio en peso ( $M_w$ ) se conocen por el experto en la materia e incluyen, por ejemplo, procedimientos de determinación por medio de GPC (cromatografía de exclusión molecular, por sus siglas en inglés) acoplada a procedimientos de detección correspondientes tales como, por ejemplo, MALLS (dispersión de luz láser a múltiples ángulos, por sus siglas en inglés). Un procedimiento de determinación del peso molecular promedio en peso ( $M_w$ ) preferido en relación con la presente invención se describe en los Procedimientos generales, punto 3.

Los ésteres de ácidos carboxílicos de alternano pueden prepararse usando procedimientos conocidos por el experto en la materia análogamente a la derivatización de polímeros de carbohidratos distintos tales como, por ejemplo, almidón o celulosa. Los procedimientos para la esterificación de almidones se conocen por el experto en la materia y se describen, entre otros, en los documentos US 2.461.139, US 2.661.349, en "Starch Chemistry and Technology" Ed.: Whistler y Paschall, Academic Press, 1965, volumen I, Roberts, Capítulo XIX, 439-493, en "Starch Chemistry and Technology" Ed.: Whistler y Paschall, Academic Press, 1967, volumen II, Roberts, Capítulo XIII, 293-350 y Kruger y Rutenberg, Capítulo XV, 369-401. El almidón y la celulosa nativos son sustancias insolubles en agua que están derivatizadas tanto en forma nativa como en forma disuelta. Para esto se usa cualquier disolvente adecuado como, en el caso del almidón, en primer lugar a través de temperaturas elevadas, se gelatiniza en soluciones acuosas o se disuelve en disolventes adecuados (por ejemplo, formamida). Como el alternano es un polímero relativamente soluble fácilmente en agua, es posible preparar ésteres de ácidos carboxílicos de alternano en soluciones acuosas, aunque también es posible usar otros disolventes (orgánicos) habituales tales como, por ejemplo, formamida. Por consiguiente, en comparación con la esterificación de por ejemplo almidón o celulosa, la preparación de ésteres de ácidos carboxílicos de alternano ofrece la ventaja de que no se requieren etapas de procedimiento particulares para la solución o suspensión antes de poder llevarse a cabo una esterificación.

Debido a su insolubilidad en agua, el almidón y la celulosa nativos se esterifican frecuentemente en suspensiones particuladas acuosas. Esto da lugar, entre otras cosas, al hecho de que el grado de esterificación dentro de una partícula varíe desde fuera hacia adentro, es decir, el grado de enlaces éster disminuye de la superficie al interior de las partículas. Por el contrario, el alternano es relativamente soluble fácilmente en agua, que significa que tiene la ventaja de que, cuando se lleva a cabo la reacción en soluciones acuosas, puede lograrse una distribución uniforme de los enlaces éster con respecto a las moléculas disueltas. El llevar a cabo la reacción de esterificación en solución acuosa ofrece adicionalmente la ventaja de que no se producen disolventes orgánicos que tengan que separarse y/o desecharse por separado.

La esterificación de polímeros que consisten en unidades de glucosa tales como, por ejemplo, almidón, puede llevarse a cabo por diversos procedimientos, por ejemplo, mediante esterificación directa por medio de ácidos carboxílicos o mediante esterificación por medio de anhídridos carboxílicos, haluros de ácidos carboxílicos o ésteres vinílicos.

Para la esterificación por medio de los diversos procedimientos especificados, el alternano puede estar en forma de una solución saturada. Se da preferencia al uso de una cantidad de alternano del 1 % al 18 %, preferentemente del 3 % al 15 %.

El alternano usado en la reacción de esterificación puede tener diversos pesos moleculares. Puede ser alternano nativo, o alternano con un peso molecular reducido, que ha sido reducido en su peso molecular enzimáticamente mediante el efecto de ultrasonidos o mediante incubación con hongos.

Durante la esterificación directa con anhídridos carboxílicos, la reacción tiene lugar en soluciones acuosas de ácidos carboxílicos. Preferentemente, para esto se usa un ácido carboxílico fuerte (por ejemplo, ácido fórmico), particularmente si van a lograrse altos grados de sustitución. Para aumentar la reactividad también es posible añadir catalizadores tales como, por ejemplo, ácido sulfúrico o haluros.

5 La reacción de alternano con anhídridos de ácidos carboxílicos o haluros de ácidos carboxílicos puede llevarse a cabo tanto en soluciones acuosas alcalinas como llevarse a cabo en soluciones a las que se le ha añadido un catalizador tal como, por ejemplo, piridina. Las reacciones catalizadas por piridina se llevan a cabo preferentemente en disolventes orgánicos (por ejemplo, formamida). Añadiendo piridina a la solución es posible establecer un pH alcalino. Además, la piridina sirve aquí de catalizador de la reacción.

10 En comparación con otros polímeros que consisten en unidades de glucosa tales como, por ejemplo, almidón, el alternano ofrece la ventaja que tiene buena estabilidad en soluciones durante un amplio intervalo de pH. Por el contrario, otros polímeros que consisten en unidades de glucosa, en particular almidones, tienen una estabilidad considerablemente menor que conduce a una significativa reducción en el peso molecular de estas sustancias durante la reacción de esterificación. Esto da lugar normalmente a que estas sustancias que tienen un peso molecular demasiado bajo tras la esterificación exhiban las propiedades que se supone que se logran por la reacción de esterificación. La estabilidad considerablemente mayor del alternano en comparación con otros polímeros que consisten en unidades de glucosa tales como, por ejemplo, almidón durante un amplio intervalo de la escala de pH permite, por ejemplo, una esterificación directa del alternano por medio de ácidos carboxílicos sin reducir considerablemente el peso molecular del alternano. Como dichos procedimientos para la esterificación de polímeros que consisten en unidades de glucosa se llevan a cabo en un medio ácido o básico y el alternano es estable en soluciones durante un amplio intervalo de pH, en principio pueden usarse todos los procedimientos conocidos para el experto en la materia para la esterificación de polímeros que consisten en unidades de glucosa tales como, por ejemplo, almidón para preparar ésteres de ácidos carboxílicos de alternano.

20 La presente invención también abarca un procedimiento para la preparación de ésteres de ácidos carboxílicos de alternano en el que el alternano se hace reaccionar con un agente esterificante. El agente esterificante es preferentemente un ácido carboxílico, un ácido carboxílico anhídrido, haluro de ácido carboxílico o un éster vinílico.

25 En lo que se refiere a la presente invención, los ésteres de ácidos carboxílicos de alternano se preparan preferentemente disolviendo en primer lugar el alternano en agua y ajustando el pH de esta solución a un valor básico para activar la reactividad del alternano (procedimiento alcalino acuoso). Después se añade un agente esterificante a esta solución. Con el fin de detener la reacción de esterificación, el pH de la mezcla de reacción puede reducirse a un nivel neutro o ligeramente ácido (por ejemplo, pH 6,0 a 6,5). Los ésteres de ácidos carboxílicos de alternano solubles en agua resultantes pueden aislarse después usando procedimientos conocidos para el experto en la materia. Un sencillo aislamiento es, por ejemplo, la precipitación de los ésteres de ácidos carboxílicos de alternano con la ayuda de agentes de precipitación adecuados (por ejemplo, etanol). Para mejorar adicionalmente la pureza de los ésteres de ácidos carboxílicos de alternano, éstos pueden lavarse una o más veces, después de la precipitación, usando soluciones adecuadas (por ejemplo, que contienen etanol). Si se requiere, puede tener lugar un secado de los ésteres de ácidos carboxílicos de alternano (por ejemplo, a presión reducida, liofilización, secado por pulverización).

30 Los agentes de esterificación adecuados para el procedimiento alcalino acuoso son, además de los haluros de ácidos carboxílicos, en particular anhídridos de ácidos carboxílicos o ésteres vinílicos.

35 En el caso del procedimiento alcalino acuoso, el pH de la solución debe ser más de 7. La solución se ajusta preferentemente a un pH entre 7 y 12, preferentemente de 7,5 a 10, en particular preferentemente de 8 a 10 y en especial preferentemente de 8,0 a 9,0.

40 Para activar el alternano y para ajustar el pH al valor preferido puede usarse cualquier agente alcalino deseado. Los agentes alcalinos adecuados son, por ejemplo, hidróxidos de metales alcalinos o metales alcalinotérreos o hidróxidos, óxidos o carbonatos de los principales grupos I y II de la tabla periódica de los elementos. Los agentes alcalinos son preferentemente hidróxido sódico, hidróxido potásico, hidróxido cálcico, hidróxido de amonio, hidróxido de magnesio, carbonato sódico o fosfato trisódico. Se da preferencia particular al uso de hidróxido sódico.

45 Debido a que, como resultado de la reacción de esterificación y la participación de agentes alcalinos, el pH de la mezcla de reacción cae, debe controlarse mediante la adición adicional de un agente alcalino, particularmente si se desean altos grados de sustitución del alternano. La adición puede tener lugar tanto secuencialmente, por ejemplo si un cierto pH de la mezcla de reacción se encuentra por debajo del valor deseado, como continuamente. Alternativamente, el pH de la mezcla de reacción también puede controlarse mediante la adición continua o secuencial de una mezcla de agente esterificante y/o agente alcalino.

50 La reacción de esterificación puede llevarse a cabo a temperatura ambiente o incluso a temperaturas elevadas dependiendo del agente esterificante usado. Se da preferencia a llevar a cabo la reacción entre 20 °C y 95 °C, en particular preferentemente entre 20 °C y 80 °C, en especial preferentemente de 20 °C a 60 °C y en especial preferentemente de 20 °C a 40 °C.

55 Los agentes esterificantes usados en el procedimiento alcalino acuoso son preferentemente anhídridos de ácidos carboxílicos o ésteres vinílicos. En los procedimientos de acuerdo con la presente invención se da preferencia a usar anhídridos de los ácidos carboxílicos especificados en la lista 1 o anhídridos de ácidos grasos.

En un procedimiento posible alternativo, los ésteres de ácidos carboxílicos de alternano se preparan añadiendo piridina a la solución de reacción como catalizador. Para aumentar el grado de sustitución, la piridina puede añadirse en exceso. Los agentes esterificantes (agentes acilantes) adecuados en este procedimiento son los anhídridos de ácidos carboxílicos ya especificados. Los agentes esterificantes que pueden usarse en este procedimiento también son, especialmente en relación con ácidos grasos de cadena relativamente larga, haluros de ácidos carboxílicos, preferentemente cloruros de carbonilo. Los haluros de ácidos carboxílicos son preferentemente haluros de los ácidos carboxílicos especificados en la lista 1 o haluros de ácidos grasos.

Para preparar ésteres mixtos de ácidos carboxílicos de alternano es posible o bien usar diferentes dichos agentes esterificantes al mismo tiempo en una reacción o bien es posible llevar a cabo diferentes dichos agentes esterificantes en reacciones sucesivas.

Por tanto la presente invención también se refiere a ésteres mixtos de ácidos carboxílicos de alternano. Los ésteres mixtos de ácidos carboxílicos de alternano son moléculas de alternano que tienen al menos dos grupos éster diferentes, caracterizándose los grupos éster diferentes porque su resto R indicado en la fórmula 1 es diferente. Éstos son preferentemente moléculas de alternano que se han esterificado en cada caso con al menos dos de los ácidos carboxílicos indicados en la lista 1 y/o con al menos dos ácidos grasos. Alternativamente son moléculas de alternano que se han esterificado con al menos un ácido carboxílico especificado en la lista 1 y al menos un ácido graso.

Como ya se ha descrito, las soluciones que comprenden ésteres de ácidos carboxílicos de alternano o ésteres mixtos de ácidos carboxílicos de alternano pueden tener una viscosidad considerablemente mayor en comparación con soluciones que comprenden alternano. Las soluciones de ésteres de ácidos carboxílicos de alternano, en particular ésteres de ácido succínico de alternano o ésteres mixtos de ácidos carboxílicos de alternano, pueden formar geles por encima de una concentración (aproximadamente el 5 % en el caso de ésteres de ácido succínico de alternano). Los ésteres de ácidos carboxílicos de alternano o ésteres mixtos de ácidos carboxílicos de alternano pueden tener adicionalmente la propiedad de que las soluciones resultantes tienen poca turbidez. Los ésteres de ácidos carboxílicos de alternano o ésteres mixtos de ácidos carboxílicos de alternano también puede servir para la estabilización de emulsiones (por ejemplo, ésteres de ácido succínico de alternano) o pueden usarse como emulsionante (por ejemplo, éster de ácido octenilsuccínico de alternano).

La presente invención proporciona además un emulsionante que es un éster de ácido carboxílico de alternano de acuerdo con la presente invención. El emulsionante es preferentemente un éster de ácido carboxílico de alternano con ácidos dicarboxílicos, en particular preferentemente un éster de ácido carboxílico de alternano con ácidos dicarboxílicos que tienen 8 a 14 átomos de carbono, teniendo preferentemente 10 a 14 átomos de carbono; es en particular preferentemente éster de ácido octenilsuccínico de alternano.

El emulsionante de acuerdo con la presente invención tiene preferentemente un grado de sustitución (GS) de 0,001 a 0,05, preferentemente de 0,003 a 0,04, preferentemente de 0,008 a 0,03 y en especial preferentemente de 0,01 a 0,03.

La invención proporciona además emulsiones que comprenden ésteres de ácidos carboxílicos de alternano de acuerdo con la presente invención o ésteres mixtos de ácidos carboxílicos de alternano de acuerdo con la presente invención como emulsionante. Las emulsiones de acuerdo con la presente invención son preferentemente emulsiones que comprenden ésteres de ácidos carboxílicos de alternano con ácidos dicarboxílicos, en particular preferentemente emulsiones que comprenden ésteres de ácidos carboxílicos de alternano con ácidos dicarboxílicos que tienen 8 a 14 átomos de carbono, teniendo preferentemente 10 a 14 átomos de carbono; son en particular preferentemente emulsiones que comprenden ésteres de ácido octenilsuccínico de alternano.

En relación con la presente invención, el término emulsión deberá entenderse que significa una mezcla finamente dividida de dos sustancias normalmente inmiscibles sin separación visible. Las mezclas preferidas son las dispersiones.

Además de una sustancia hidrófila (por ejemplo, agua) y una lipófila (por ejemplo, aceite), las emulsiones de acuerdo con la presente invención comprenden preferentemente un éster de ácido carboxílico de alternano de acuerdo con la presente invención. En este punto, dichas emulsiones comprenden los ésteres de ácidos carboxílicos de alternano de acuerdo con la presente invención en una concentración de al menos el 0,1 %, preferentemente de al menos el 0,3 %, preferentemente de al menos el 0,5 %, en particular preferentemente de al menos el 1,0 % y en especial preferentemente de al menos el 3,0 %, medida en fracciones en peso del emulsionante por volumen de la emulsión. Éstas son preferentemente emulsiones que comprenden ésteres de ácidos carboxílicos de alternano de acuerdo con la presente invención en un intervalo de concentración del 0,05 % al 5 %, preferentemente del 0,1 % al 5,0 %, en particular preferentemente del 0,5 % al 5 % y en especial preferentemente del 1,0 % al 3 %, medida en fracciones en peso del emulsionante por volumen de la emulsión.

La cantidad de emulsionante según la invención usada aquí puede ajustarse de acuerdo con la fracción de sustancias lipófilas en la mezcla.

Una materia objeto adicional se refiere a un procedimiento para la preparación de una emulsión en la que ésteres de ácidos carboxílicos de alternano de acuerdo con la presente invención y una mezcla que consiste en sustancias inmiscibles se mezclan juntos.

No es importante si el emulsionante de acuerdo con la presente invención se mezcla en procedimientos de acuerdo con la presente invención para la preparación de una emulsión con sustancias sólidas y/o líquidos. Lo que importa es meramente que se ejerza el efecto emulsionante.

5 Preferentemente, en el procedimiento de acuerdo con la presente invención para la preparación de una emulsión se usan los emulsionantes preferidos de acuerdo con la presente invención que ya se han especificado anteriormente.

Se proporciona igualmente por la presente invención el uso de ésteres de ácidos carboxílicos de alternano o ésteres mixtos de ácidos carboxílicos de alternano de acuerdo con la presente invención como emulsionante.

10 La presente invención proporciona además el uso de un emulsionante según la invención o de una emulsión de acuerdo con la presente invención o de una emulsión obtenible mediante un procedimiento de acuerdo con la presente invención para la preparación de una emulsión para la preparación de aditivos alimentarios o de piensos, de alimentos o piensos, de productos cosméticos o de productos farmacéuticos.

15 La presente invención proporciona además el uso de un éster de ácido carboxílico de alternano de acuerdo con la presente invención o de un emulsionante de acuerdo con la presente invención o de una emulsión de acuerdo con la presente invención como tensioactivo. Preferentemente, el uso como tensioactivo es el uso en composiciones de limpieza (tales como, por ejemplo, composiciones de lavado, aclarado o de limpieza) o en sustancias de cuidado del cuerpo (tales como, por ejemplo, champú, gel de ducha, jabones, cremas) o el uso como agentes espumantes.

En relación con la presente invención, el término "tensioactivo" deberá entenderse que significa una sustancia que reduce la tensión superficial de un líquido o la tensión interfacial entre dos fases y permite o soporta la formación de dispersiones.

20 Debido a las propiedades especificadas de ésteres de ácidos carboxílicos de alternano, éstos pueden usarse por tanto en un gran número de productos diferentes.

25 Por consiguiente, la presente invención proporciona además composiciones que comprenden ésteres de ácidos carboxílicos de alternano de acuerdo con la presente invención y/o ésteres mixtos de ácidos carboxílicos de alternano de acuerdo con la presente invención y/o emulsionantes de acuerdo con la presente invención y/o emulsiones de acuerdo con la presente invención.

Las composiciones de acuerdo con la presente invención son preferentemente alimentos (comestibles y artículos de lujo), composiciones alimenticias, composiciones cosméticas o composiciones farmacéuticas.

30 Las composiciones alimenticias de acuerdo con la presente invención son preferentemente composiciones que comprenden ésteres de ácidos carboxílicos de alternano de acuerdo con la presente invención y/o ésteres mixtos de ácidos carboxílicos de alternano de acuerdo con la presente invención y/o emulsionantes de acuerdo con la presente invención y/o emulsiones de acuerdo con la presente invención y (al menos) una sustancia que se consume por personas con los fines de nutrición. Las sustancias que se consumen por personas con los fines de nutrición incluyen, entre otros, fibra, minerales, agua, hidratos de carbono, proteínas, grasas, vitaminas, materiales vegetales secundarios, oligoelementos, sustancias aromáticas, aromatizantes y/o aditivos alimentarios.

35 Las composiciones cosméticas de acuerdo con la presente invención son preferentemente composiciones que comprenden ésteres de ácidos carboxílicos de alternano de acuerdo con la presente invención y/o ésteres mixtos de ácidos carboxílicos de alternano de acuerdo con la presente invención y/o emulsionantes de acuerdo con la presente invención y/o emulsiones de acuerdo con la presente invención y uno o más componentes listados bajo la nomenclatura de la INCI (INCI: Nomenclatura internacional de componentes cosméticos, por sus siglas en inglés).  
40 Los componentes cubiertos por la nomenclatura de la INCI se publican, entre otros, en "International Cosmetic Component Dictionary and Handbook", 11ª edición, enero de 2006, editorial: CTFA, ISBN: 1882621360. Las composiciones cosméticas son en particular preferentemente cremas.

45 Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la presente invención son preferentemente composiciones que comprenden ésteres de ácidos carboxílicos de alternano de acuerdo con la presente invención y/o ésteres mixtos de ácidos carboxílicos de alternano de acuerdo con la presente invención y/o emulsionantes de acuerdo con la presente invención y (al menos) una sustancia farmacológicamente activa.

50 Pueden ser adecuados diversos ésteres de ácidos carboxílicos de alternano (tales como, por ejemplo, éster de ácido succínico de alternano) o ésteres mixtos de ácidos carboxílicos de alternano como resultado de conferir viscosidad y la formación de geles a una concentración relativamente baja, en particular para uso en alimentos/composiciones alimenticias en los que es de relevancia una cierta capacidad de espesamiento. Por tanto, pueden usarse como regulador de la viscosidad o agente gelificante durante la fabricación y preparación (por ejemplo, en productos lácteos, productos de panadería, bebidas, postres, mermeladas, salsas, pasteles, etc.). Como las soluciones de éster de ácido carboxílico de alternano o de éster mixto de ácido carboxílico de alternano (tales como, por ejemplo,  
55 éster de ácido succínico de alternano) sólo tienen una ligera turbidez, por tanto son particularmente adecuadas para uso en alimentos que no deberían o no deben tener una apariencia transparente. El efecto estabilizante y/o la

actividad emulsionante que tienen diversos ésteres de ácidos carboxílicos de alternano o ésteres mixtos de ácidos carboxílicos de alternano sobre las emulsiones hacen que sean particularmente adecuados para uso en alimentos que tienen tanto constituyentes lipófilos (por ejemplo, grasas) como también constituyentes hidrófilos.

5 En lo que se refiere a composiciones cosméticas o farmacéuticas, las propiedades que confieren viscosidad de ésteres de ácidos carboxílicos de alternano o ésteres mixtos de ácidos carboxílicos de alternano, además de sus propiedades estabilizantes de la emulsión y/o emulsionantes, son asimismo de importancia particular. Por tanto, pueden ser, por ejemplo, constituyentes de tinturas, cremas, lociones, bálsamos, composiciones protectoras contra el sol, composiciones de maquillaje, composiciones de limpieza dental, composiciones de cuidado del cuerpo y de cuidado del pelo, etc. Como diversos ésteres de ácidos carboxílicos de alternano (tales como, por ejemplo, éster de ácido succínico de alternano) o ésteres mixtos de ácidos carboxílicos de alternano pueden formar geles, también son particularmente adecuados para la preparación de hidrogeles. En lo que se refiere a composiciones farmacéuticas, los ésteres de ácidos carboxílicos de alternano (tales como, por ejemplo, éster de ácido succínico de alternano) o ésteres mixtos de ácidos carboxílicos de alternano pueden usarse como disgregantes, por ejemplo, en comprimidos.

15 La presente invención proporciona además un procedimiento para la preparación de una composición en la que ésteres de ácidos carboxílicos de alternano de acuerdo con la presente invención y/o ésteres mixtos de ácidos carboxílicos de alternano de acuerdo con la presente invención y/o emulsionantes de acuerdo con la presente invención y/o emulsiones de acuerdo con la presente invención se mezclan con otras sustancias o se añaden a éstas.

20 Preferentemente, los procedimientos de acuerdo con la presente invención para la preparación de una composición se refieren a procedimientos para la preparación de alimentos (comestibles y comestibles de lujo), composiciones alimenticias, procedimientos para la preparación de composiciones cosméticas o procedimientos para la preparación de composiciones farmacéuticas.

25 En lo que se refiere a procedimientos para la preparación de alimentos (comestibles y artículos de lujo) o composiciones alimenticias, se mezclan ésteres de ácidos carboxílicos de alternano de acuerdo con la presente invención y/o ésteres mixtos de ácidos carboxílicos de alternano de acuerdo con la presente invención y/o emulsionantes de acuerdo con la presente invención y/o emulsiones de acuerdo con la presente invención y (al menos) una sustancia que se consume por personas con los fines de nutrición, o ésteres de ácidos carboxílicos de alternano de acuerdo con la presente invención y/o ésteres mixtos de ácidos carboxílicos de alternano de acuerdo con la presente invención y/o emulsionantes de acuerdo con la presente invención y/o emulsiones de acuerdo con la presente invención se añaden a tales sustancias o mezclas de sustancias (tales como, por ejemplo, leche). Las sustancias que se mezclan con ésteres de ácidos carboxílicos de alternano y/o ésteres mixtos de ácidos carboxílicos de alternano de acuerdo con la presente invención y/o emulsionantes de acuerdo con la presente invención y/o emulsiones de acuerdo con la presente invención son fibra celulósica, minerales, agua, carbohidratos, proteínas, grasas, vitaminas, metabolitos vegetales secundarios, oligoelementos, sustancias aromáticas, aromatizantes y/o aditivos alimentarios.

35 Con respecto a los procedimientos para la preparación de composiciones farmacéuticas, se mezclan ésteres de ácidos carboxílicos de alternano de acuerdo con la presente invención y/o ésteres mixtos de ácidos carboxílicos de alternano de acuerdo con la presente invención y/o emulsionantes de acuerdo con la presente invención y/o emulsiones de acuerdo con la presente invención y (al menos) una sustancia farmacológicamente activa o ésteres de ácidos carboxílicos de alternano de acuerdo con la presente invención y/o ésteres mixtos de ácidos carboxílicos de alternano de acuerdo con la presente invención y/o emulsionantes de acuerdo con la presente invención y/o emulsiones de acuerdo con la presente invención se añaden a tales sustancias o mezclas de materiales que comprenden dichas sustancias.

45 Con respecto a procedimientos para la preparación de composiciones cosméticas, se mezclan ésteres de ácidos carboxílicos de alternano de acuerdo con la presente invención y/o ésteres mixtos de ácidos carboxílicos de alternano de acuerdo con la presente invención y/o emulsionantes de acuerdo con la presente invención y/o emulsiones de acuerdo con la presente invención y uno o más de los ingredientes listados en la nomenclatura de la INCI (INCI: Nomenclatura internacional de componentes cosméticos), o ésteres de ácidos carboxílicos de alternano de acuerdo con la presente invención y/o ésteres mixtos de ácidos carboxílicos de alternano de acuerdo con la presente invención y/o emulsionantes de acuerdo con la presente invención y/o emulsiones de acuerdo con la presente invención se añaden a tales sustancias o mezclas de materiales que comprenden dichas sustancias.

50 Preferentemente, los procedimientos de acuerdo con la presente invención para la preparación de una composición se refieren a procedimientos para la preparación de una composición de acuerdo con la presente invención.

55 El uso de ésteres de ácidos carboxílicos de alternano y/o ésteres mixtos de ácidos carboxílicos de alternano y/o emulsionantes de acuerdo con la presente invención y/o emulsiones de acuerdo con la presente invención para la preparación de una composición de acuerdo con la presente invención se proporciona igualmente por la presente invención.

60 Adicionalmente, la presente invención se refiere al uso de ésteres de ácidos carboxílicos de alternano de acuerdo con la presente invención o ésteres mixtos de ácidos carboxílicos de alternano de acuerdo con la presente invención y/o emulsionantes de acuerdo con la presente invención y/o emulsiones de acuerdo con la presente invención para la preparación de alimentos o para la preparación de composiciones farmacéuticas o para la preparación de composiciones cosméticas.

**Descripción de las figuras**

Figura 1: Distribución de masa molar de alternano y ésteres de ácido succínico de alternano con diferentes grados de sustitución (GS 0,034, GS 0,088, GS 0,161).

5 Figura 2: Comparación del comportamiento de flujo de alternano y ésteres de ácido succínico de alternano con diferentes grados de sustitución (GS 0,034, GS 0,088, GS 0,161) a 25 °C. La viscosidad [Pa x s] se muestra en función de la velocidad de deformación en cizalla [Hz].

Figura 3: Barrido de frecuencias de alternano y ésteres de ácido succínico de alternano con diferentes grados de sustitución (GS 0,034, GS 0,088, GS 0,161). El módulo de almacenamiento (G') y el módulo de pérdida (G''), medidos en pascales [Pa], se muestran en función de la frecuencia [Hz] a estrés de cizalla constante.

10 Figura 4: Formación de gel de alternano, ésteres de ácido succínico de alternano con diferentes grados de sustitución (GS 0,034, GS 0,088, GS 0,161) y almidón de maíz gelatinizado (AMG) y mezclas de los mismos. El módulo de almacenamiento (G') y el módulo de pérdida (G''), medidos en pascales [Pa], se muestran en función de la temperatura [°C].

15 Figura 5: Comparación del estado de gel de alternano, ésteres de ácido succínico de alternano con diferentes grados de sustitución (GS 0,034, GS 0,088, GS 0,161) y almidón de maíz gelatinizado (AMG), y también de mezclas de los mismos en el barrido de frecuencias. El módulo de almacenamiento (G') y el módulo de pérdida (G''), medidos en pascales [Pa], se muestran como una función de la frecuencia [Hz] a una temperatura de medición de 5 °C.

20 Figura 6: Comparación de la solidez del gel y la estabilidad del gel de alternano, ésteres de ácido succínico de alternano con diferentes grados de sustitución (GS 0,034, GS 0,088, GS 0,161) y almidón de maíz gelatinizado (AMG), y también mezclas de los mismos en el barrido de tensiones. El módulo de almacenamiento (G') y el módulo de pérdida (G''), medidos en pascales [Pa], se muestran en función del esfuerzo constante [Pa] a una temperatura de medición de 5 °C.

25 Figura 7: Fotografía de las emulsiones que se obtuvieron con diferentes concentraciones de ésteres de ácido octenilsuccínico de alternano (véase también la Tabla 10).

Figura 8: Distribución de masa molar de ésteres de ácido octenilsuccínico de alternano con un grado de sustitución de 0,024.

**Procedimientos generales****1. Preparación de alternano**

30 El alternano puede prepararse con la ayuda de la enzima alternansucrasa. La enzima alternansucrasa puede prepararse de diversas formas mediante procedimientos conocidos para el experto en la materia.

La preparación de alternansucrasa y alternano con la ayuda de cepas bacterianas de las especies *Leuconostoc mesenteroides* se describen, entre otros, en Reamakers y col. (1997, J. Chem. Tech. Biotechnol. 69, 470-478) o en el documento WO 2006 088884 (véase en particular el Ejemplo 1).

35 Sin embargo, los procedimientos que usan cepas bacterianas de *Leuconostoc mesenteroides* para la preparación de la enzima alternansucrasa tienen la desventaja que estas cepas también producen otras sucrasas, en particular dextransucrasas. Hasta la fecha, estas otras sucrasas han sido imposibles de separar completamente de la alternansucrasa. Por tanto es una mezcla de diferentes enzimas. Por consiguiente, el alternano preparado usando una mezcla de enzimas tal tiene, además de alternano, también dextrano, al menos en pequeñas cantidades. Por  
40 tanto, para preparar alternanos puros se prefieren los procedimientos para la preparación de alternansucrasa por medio de organismos recombinantes.

Los procedimientos para la preparación de alternansucrasa preparada por medio de organismos recombinantes y para la preparación de alternano por medio de la enzima preparada de esta forma se describen, entre otros, en los documentos WO 2000 47727, US 2003 229923 (véanse en particular los Ejemplos 2, 5 y 8) o Joucla y col. (2006, FEBS Letters 580, 763-768).  
45

**2. Determinación del grado de esterificación**

El grado de esterificación de los diversos derivados de alternano se determinó por medio de saponificación alcalina y posterior valoración ácido-base. Se determinó la fracción en porcentaje de la sustitución (masa del sustituyente en %, basado en la sustancia seca de los derivados de alternano). Usando los valores resultantes, el grado de  
50 sustitución (GS) se determinó según la siguiente fórmula:

$$GS_x = 162 \times \% \text{ de } X / (100 \times M_x - \Delta M \times \% \text{ de } X)$$

% de X = Fracción (en %) de la masa del grupo analíticamente determinado (sustituyente) de la masa de la sustancia seca

$M_x$  = Masa molar del grupo determinado analíticamente

$\Delta M$  = MS-ML

5 MS = Masa molar del sustituyente

ML = Masa molar del grupo saponificado

### 3. Determinación de la distribución de masa molar por medio de GPC-MALLS

Para determinar la distribución de masa molar por medio de cromatografía de exclusión molecular, se usaron los siguientes instrumentos:

Instrumentos: Módulo de separación Alliance 2695 de Waters, detector de DRI 2414 de Waters, detector de MALLS Dawn-HELEOS de Wyatt Technology Inc., Santa Barbara, EE.UU., longitud de onda  $\lambda$  = 658 nm y una celda de flujo K5

Columnas: Conjunto de columnas de gel SUPREMA (PSS Mainz), límites de exclusión S30000 con  $10^8 - 10^6$ , S1000 con  $2 \cdot 10^6 - 5 \cdot 10^4$ , S100 con  $10^5 - 10^3$

Eluyente:  $\text{NaNO}_3$  0,5 M

Temperatura: 30 °C

10

Para evaluar los datos obtenidos se usó Software Astra 5.3.0.18.

### 4. Caracterización reológica por medio de reómetro

Para determinar las propiedades reológicas se usaron los siguientes instrumentos con los parámetros establecidos (ajustables):

15 Instrumento: Reómetro CVO 120HR de Malvern (Bohlin)

#### Parámetros

Par de torsión: 0,0001 -120 mNm (6 potencias de diez)

Resolución del par de torsión: mejor de  $10^{-9}$  Nm

Resolución del ángulo:  $5 \cdot 10^{-8}$  rad

Intervalo de frecuencia:  $10^{-5}$  - 150 Hz

Intervalo de velocidad:  $<10^{-5}$  -  $3100 \text{ min}^{-1}$

Con la ayuda del instrumento especificado, el módulo de almacenamiento ( $G'$ ) y el módulo de pérdida ( $G''$ ) se determinaron en función de la frecuencia a estrés por deformación/de cizalla (barrido de frecuencias) y en función del estrés de cizalla a frecuencia constante (barrido de tensiones).

### 20 5. Determinación de la viscosidad por medio de RVA

El material se disuelve en  $\text{H}_2\text{O}$  destilada y se homogeneiza usando un Ultra-Turrax T 25 digital (IKA-Werke GMBH & CO. KG, D-79219 Staufen, Alemania) durante 1 minuto a 9000 rpm. Se usan 27 ml de solución al 10 % de concentración en un vaso de precipitados RVA en un analizador Rapid Visco (Newport Scientific Pty Ltd., Investment Support Group, Warriewood NSW 2102, Australia) para medir la viscosidad. El instrumento funciona de acuerdo con las instrucciones del fabricante. En este punto, los valores de viscosidad se establecen en centipoise ( $1 \text{ cP} = 1 \text{ mPa} \cdot \text{s}$ ) de acuerdo con las instrucciones de funcionamiento del fabricante. Para determinar la viscosidad de la solución acuosa del material, la suspensión se agita en primer lugar a 25 °C durante 10 segundos a 1200 rpm, luego la temperatura se mantiene constante a 25 °C y la mezcla se agita a una velocidad de agitación de 1000 rpm durante otros 2 minutos y 50 segundos. La viscosidad se determina en centipoise (cP) durante el tiempo total de 3 minutos.

### 30 Ejemplos

#### 1. Éster de ácido acético de alternano (éster acetílico de alternano)

##### a) Preparación

En primer lugar se introdujeron inicialmente 80 ml de agua desmineralizada en un vaso de precipitados de 250 ml y luego se disolvieron 10 g de alternano con agitación constante por medio de un agitador magnético. Después de disolverse el alternano se estableció un pH de 8,5 usando NaOH 0,5 M (Merck). En dos mezclas separadas, la reacción se inició añadiendo en cada caso 1 ml (muestra 1) o 2 ml (muestra 2) de acetato de vinilo (Merck). Durante todo el tiempo de reacción el pH se mantuvo constante usando una solución de NaOH 0,5 M (Merck) usando un valorador automático (pH-Stat, Metrohm 719 S Titrimo). La reacción se llevó a cabo a 23 °C.

35

La reacción se terminó por neutralización (pH ≈ 6,3) con la ayuda de HCl 0,5 M (Merck) y, para precipitar el alternano, la mezcla de reacción se vertió en un vaso de precipitados de 500 ml con dos veces el volumen de etanol (desnaturalizado, Monopoly Administration). Después de agitar durante 5 min usando una barra magnética, el derivado de alternano se separó de la mezcla con la ayuda de un filtro de succión a vacío (Ø 100 mm), después la torta de filtración se resuspendió para lavar en aproximadamente 100 ml de etanol/agua desmineralizada (80:20; v:v). El procedimiento de lavado se repitió dos veces, y la torta de filtración se granuló después usando un tamiz de laboratorio (Ø 200 mm, 3 mm de ancho de malla) y los gránulos se secaron después al aire durante dos días. Antes de caracterizar el producto los aglomerados se trituraron usando un molino de laboratorio (IKA modelo A 10).

b) Caracterización

- 10 La medición de la turbidez se llevó a cabo usando una solución al 0,5 % de concentración de alternano o derivados de alternano. Se pesaron 49,75 g de agua desmineralizada en un vaso de precipitados de 150 ml y se disolvieron 0,25 g de alternano/derivados de alternano en su interior a temperatura ambiente y con agitación constante usando un agitador magnético. La turbidez se midió después de agitar durante 1 hora con la ayuda de un fotómetro (PM 200 de Röhle, Berlín) usando un filtro de 525 nm y una celda de 1 cm de espesor.
- 15 La fracción de ácido acético (contenido de acetilo) de los ésteres de ácidos carboxílicos de alternano se determinó de acuerdo con el procedimiento descrito anteriormente en Procedimientos generales en el punto 2.

20 Tabla 1: Medición de la turbidez (columna 4) y cantidad de contenido de acetilo (columna 5) de ésteres de ácido acético de alternano que se han preparado usando diferentes cantidades de acetato de vinilo. La cantidad de acetato de vinilo usada en la reacción de esterificación y la duración de la reacción se muestran en las columnas 2 y 3, respectivamente. La referencia (columna 1) citada es alternano nativo que se ha usado como material de partida en la reacción. Las muestras 1, 2 y 3 (columna 1) se refieren a ésteres de ácido acético de alternano que se han preparado mediante diferentes condiciones de reacción.

Muestra	Cantidad de acetato de vinilo	Tiempo de reacción	Turbidez [absorbancia a 525 nm]	Contenido de acetilo (valor de GS)
Referencia	-	-	0,30	-
Muestra 2	1 ml	1 h	0,24	0,062
Muestra 3	1 ml	2 h	0,23	0,053
Muestra 3	2 ml	2 h	0,23	0,048

**2. Ésteres de ácido succínico de alternano (succinato de alternano)**

25 a) Preparación

Se introdujeron inicialmente 50 g de alternano (peso seco) en un reactor con camisa de 1 litro, se disolvieron en agua desmineralizada y se alcalinizaron usando un valorador automático. Se añadió lentamente anhídrido de ácido succínico. Después de terminar la reacción, el pH se ajustó a 6,5. El éster de ácido succínico de alternano resultante se precipitó con etanol, se lavó y se secó a vacío en una estufa de secado.

30 b) Grado de sustitución

El grado de sustitución (valor de GS) de los ésteres de ácido succínico de alternano resultantes se determinó de acuerdo con el procedimiento descrito en Procedimientos generales, punto 2.

Tabla 2: Grado de sustitución de diversos ésteres de ácido succínico de alternano determinado por saponificación alcalina y valoración ácido-base.

Nombre de muestra	AIS001	AIS002	AIS003
Valor de GS	0,034	0,089	0,161

35

c) Medición de la turbidez de soluciones

Para la medición de la turbidez, los ésteres de ácido acético de alternano resultantes se disolvieron a diferentes concentraciones (véase la Tabla 3) en agua y se midió a 525 nm en un espectrofotómetro.

Sustancia	Absorbancia a 525 nm		
	0,1%	0,5%	1,0%
Alternano	0,048	0,213	0,399

(continuación)

Sustancia	Absorbancia a 525 nm		
	Concentración		
	0,1%	0,5%	1,0%
AIS001	0,038	0,150	0,270
AIS002	0,028	0,104	0,165
AIS003	0,027	0,070	0,089

**Tabla 3: Medición de la turbidez del alternano que se ha usado como material de partida en la reacción y ésteres de ácido succínico de alternano (AIS001, AIS002, AIS003) en soluciones que comprenden diferentes concentraciones de dichas sustancias.**

5 La consideración de los resultados obtenidos en el Ejemplo 2b) revela que la turbidez de soluciones que comprenden ésteres de ácido succínico de alternano disminuye en comparación con el alternano. Cuanto mayor sea el grado de sustitución, menor será la turbidez de la solución a la misma concentración de las sustancias disueltas.

d) Caracterización molecular

10 La distribución de masa molar de los ésteres de ácido succínico de alternano resultantes se analizó con la ayuda de GPC-MALLS (cromatografía de exclusión molecular - dispersión de luz láser a múltiples ángulos) usando los agentes descritos en Procedimientos generales, punto 3. Para esto, las diversas sustancias (alternano, AIS001, AIS002, AIS003) se disolvieron a una concentración de en cada caso el 0,2 % en agua desmineralizada en primer lugar a temperatura ambiente durante 24 horas y luego a 120 °C durante 20 minutos. Para todas las muestras se usó el mismo aumento del índice de refracción ( $dn/dc$ ) de 0,146. Usando este valor se obtuvieron tasas de recuperación de aproximadamente el 90 % en la GPC para todos los derivados.

15 Para la masa molar promedio en peso ( $M_w$ ) se obtuvieron los siguientes resultados (véase también la Fig. 1):

Tabla 2: Masa molar promedio en peso ( $M_w$ ) de ésteres de ácido succínico de alternano con diferentes grados de sustitución (AIS001, AIS002, AIS003) y del alternano que se ha usado como material de partida en la reacción (alternano).

Nombre de muestra	Referencia	AIS001	AIS002	AIS003
$M_w$ [ $10^6$ g/mol]	25,71	18,32	12,24	9,24

20

f) Propiedades reológicas

25 Para determinar las propiedades reológicas, las diversas sustancias (alternano, AIS001, AIS002, AIS003) se disolvieron a una concentración de en cada caso el 5 % en agua desmineralizada con agitación a 95 °C. La concentración del 5 % en cada caso se eligió debido a que los ésteres de ácido succínico de alternano de las muestras AIS001 y AIS002 ya no eran fluidos a una concentración del 5 %. Se formaron geles estables en agua.

Viscosidad

El análisis se llevó a cabo con la ayuda de los agentes descritos en Procedimientos generales, punto 4. El comportamiento de flujo (viscosidad) de las soluciones al 5 % se investigó a 25 °C en función de la velocidad de deformación en cizalla en el intervalo de frecuencia de  $10^0$ -  $10^2$  Hz.

30 La Figura 2 muestra una comparación de las curvas de flujo del alternano que se ha usado como material de partida en la reacción de esterificación y de las curvas de flujo de ésteres de ácido succínico de alternano con grados de sustitución variables (AIS001, AIS002, AIS003). Al aumentar los grados de sustitución (valor de GS), los ésteres de ácido succínico de alternano tienen un aumento en la viscosidad de las soluciones en cuestión. Un valor de GS de 0,161 (AIS003) produjo un aumento en la viscosidad de aproximadamente 2 órdenes de magnitud en comparación con el material de partida alternano. Además de la viscosidad, el estado de solución también cambió.

35

La siguiente tabla da, a modo de ejemplo, viscosidades de ésteres de ácido succínico del alternano que se han medido a diferentes velocidades de cizallamiento.

Tabla 3: Viscosidades del alternano que se ha usado como material de partida para la reacción de carboxilación y ésteres de ácido succínico de alternano con diferentes valores de GS.

	Velocidad de cizalla	Alternano	AIS001	AIS002	AIS003
Valor de GS		-	0,034	0,089	0,161

40

(continuación)

	Velocidad de cizalla	Alternano	AIS001	AIS002	AIS003
Viscosidad [mPa]	5 s <sup>-1</sup>	7,8	48,0	102,1	1063,1
Viscosidad [mPa]	50 s <sup>-1</sup>	10,2	30,9	44,2	247,2

Medición de la oscilación por medio de barrido de frecuencias

- 5 Las mediciones de la oscilación comparativas del alternano, que se usó como material de partida en la reacción de esterificación con los ésteres de ácido succínico de alternano con grados de sustitución variables (AIS001, AIS002, AIS003) se establecieron a 25 °C en un intervalo de frecuencia de 10<sup>-2</sup> Hz a 10<sup>1</sup> Hz usando los agentes descritos en Procedimientos generales, punto 4.

- 10 La Fig. 3 muestra los resultados del barrido de frecuencias comparativo entre el alternano y los ésteres de ácido succínico de alternano (AIS001, AIS002, AIS003). Esto muestra que el alternano tiene el carácter en solución típico de líquidos newtonianos con ligeras interacciones de la sustancia disuelta. Por el contrario, los ésteres de ácido succínico de alternano fueron similares a un gel a la misma concentración, que es evidente del hecho de que el módulo de elasticidad (G') y el módulo de pérdida (G'') tienen una baja dependencia de la frecuencia y de que G' es mayor que G'' (G' > G'').

g) Comportamiento en emulsión

- 15 Se prepararon soluciones de diferente concentración (véase la Tabla 6) de alternano y ésteres de ácido succínico de alternano (AIS001, AIS002) homogeneizando las sustancias en cuestión en agua ultrapura usando un Ultra-Turrax (25 k rpm) durante un minuto. En cada caso a 20 ml de estas soluciones se añadieron en cada caso 20 ml de aceite de girasol. Entonces se llevó a cabo la homogenización durante un minuto usando un Ultra-Turrax (Ultra-Turrax T 25 digital, IKA-Werke GMBH & CO. KG, D-79219 Staufen, Alemania) a aproximadamente 25 k rpm.
- 20 Después las emulsiones resultantes se observaron en cuanto a si se produjo o no la separación de fases.

Tabla 4: Efecto de los ésteres de ácido succínico de alternano (AIS001, AIS002) y el alternano sobre las emulsiones. En comparación con el alternano, los ésteres de ácido succínico de alternano tienen un efecto estabilizante sobre las emulsiones.

Sustancia	Concentración de la sustancia en la mezcla de agua/aceite	Aparición de separación de fases visible
Alternano	0,5 %	Directamente después de la homogeneización
	2,5 %	Directamente después de la homogeneización
	5 %	Directamente después de la homogeneización
AIS001	0,5 %	Después de aproximadamente 4 horas
	2,5 %	Después de aproximadamente 4 horas
AIS002	0,5 %	Después de aproximadamente 4 horas
	2,5 %	Después de aproximadamente 4 horas

- 25 Esto muestra que los ésteres de ácido succínico de alternano tienen un efecto estabilizante sobre emulsiones en comparación con el alternano nativo.

h) Compatibilidad con otros formadores de gel

Almidón de maíz

- 30 Se disolvió almidón de maíz en agua desmineralizada en una concentración del 5 % hirviendo a presión a 150 °C durante 20 minutos. Disolviendo, con agitación, alternano y diversos ésteres de ácido succínico de alternano (AIS001, AIS003), diversas mezclas (composiciones) que contienen alternano y ésteres de ácido succínico de alternano se prepararon a partir de esta solución de almidón. La concentración de alternano o éster de ácido succínico de alternano en las mezclas fue en cada caso del 1 %.

- 35 La solución caliente se introdujo en el sistema de medición, calentado a 80 °C, del reómetro (véase Procedimientos generales, punto 4). A una frecuencia de 10<sup>-2</sup> Hz, la gelificación de las diversas mezclas y de una solución de almidón pura (AMG) se monitorizó durante el enfriamiento a 5 °C registrando los módulos de almacenamiento (G') y los módulos de pérdida (G'') en cuestión (Figura 4). Tras la gelificación de las mezclas, se registró un barrido de

frecuencias (Figura 5) para estimar el estado del gel y un barrido de tensiones (Figura 6) para evaluar la solidez del gel y la estabilidad al cizallamiento a una temperatura de en cada caso 5 °C.

5 Las curvas de enfriamiento (Figura 4) revelan para todas las soluciones que, a 80 °C, el módulo de almacenamiento (G') es menor que el módulo de pérdida (G''). A medida que aumenta el enfriamiento, los valores respectivos para G' y G'' aumentan. A aproximadamente 10 °C, G' y G'' alcanzan para todas las soluciones valores idénticos o al menos aproximadamente idénticos, es decir, en este intervalo de temperatura la transición sol-gel tiene lugar en las muestras respectivas (punto de gelificación). Las soluciones que comprenden mezclas de almidón de maíz y alternano o éster de ácido succínico de alternano tienen aproximadamente el mismo punto de gelificación. La adición de ésteres de ácido succínico de alternano a soluciones de almidón de maíz aumenta tanto las fracciones elásticas como también las viscosas de la solución de almidón, que en el presente experimento es más pronunciado en el caso de la mezcla (composición) de almidón de maíz (AMG) y el éster de ácido succínico de alternano con el nombre AIS003.

Del barrido de frecuencias (Figura 5) puede deducirse que todas las mezclas formaron geles estables a una temperatura de 5 °C.

15 Del barrido de estrés (Figura 6) puede deducirse que la adición de alternano reduce la solidez del gel de geles de almidón de maíz, mientras que la adición de ésteres de ácido succínico de alternano, particularmente aquellos con grados de sustitución relativamente altos (por ejemplo, la sustancia AIS003), aumenta la solidez del gel de geles de almidón de maíz.

#### Estabilidad en alimentos

20 Las soluciones de concentración variable (véase la Tabla 5) de ésteres de ácido succínico de alternano (AIS001, AIS002, AIS003) se prepararon homogeneizando las sustancias en cuestión en leche comercial estándar usando un Ultra-Turrax (Ultra-Turrax T 25 digital, IKA-Werke GmbH & Co. KG, D-79219 Staufen, Alemania) a una velocidad de aproximadamente 25 k rpm durante un minuto. Entonces, las soluciones resultantes se observaron durante varias horas hasta un día en cuanto a si todos los constituyentes permanecieron en solución o no, o en cuanto a si se formaron áreas no homogéneas o no y/o en cuanto a si produjeron precipitados o no.

Tabla 5: Estabilidad de soluciones de los ésteres de ácido succínico de alternano en leche

Sustancia	Concentración de la sustancia en la solución	Observación
AIS001	1 %	Mezcla homogénea estable
	5 %	Mezcla homogénea estable
AIS002	1 %	Mezcla homogénea estable
	5 %	Mezcla homogénea estable
AIS003	1 %	Mezcla homogénea estable
	5 %	Mezcla homogénea estable

### 3. Éster de ácido octenilsuccínico de alternano (octenilsuccinato de alternano)

#### a) Preparación

30 En primer lugar se introdujeron 60 ml de agua desmineralizada en un vaso de precipitados de 250 ml y después se disolvieron 10 g de alternano con agitación continua usando un agitador magnético. Después de disolver el alternano, el pH se ajustó a 8,5 añadiendo solución de NaOH 0,5 M (Merck).

35 En mezclas separadas entre sí, se dosificaron continuamente bien 1 ml o 2 ml de anhídrido octenilsuccínico (OSA) por medio de una bureta durante el transcurso de una hora. Después las diversas mezclas de reacción se agitaron bien durante una hora adicional o bien durante tres horas adicionales, produciéndose un tiempo de reacción total para las mezclas individuales de 2 o 4 horas (véase también la Tabla 8 a este respecto). Durante todo el tiempo de reacción, el pH se mantuvo constante usando una solución de NaOH 0,5 M (Merck) usando un valorador automático (pH-Stat, Metrohm 719 S Titrimo). Las reacciones se llevaron a cabo a 23 °C.

40 La reacción se terminó mediante neutralización (pH ≈ 6,3) con la ayuda de HCl 0,5 M (Merck) y, para precipitar el alternano, la mezcla de reacción se vertió en un vaso de precipitados de 500 ml con dos veces el volumen de etanol (desnaturalizado, Monopoly Administration). Después de agitar durante 5 minutos usando un agitador magnético, el derivado de alternano se separó de la mezcla con la ayuda de un filtro de succión a vacío (Ø 100 mm), después la torta de filtración se resuspendió para el lavado en aproximadamente 100 ml de etanol/agua desmineralizada (80:20; v:v). El procedimiento de lavado se repitió dos veces, la torta de filtración se granuló después usando un tamiz de laboratorio (Ø 200 mm, 3 mm de ancho de malla) y los gránulos se secaron luego al aire durante dos días. Antes de la caracterización del producto, los aglomerados se trituraron usando un molino de laboratorio (IKA modelo A 10).

45

## b) Caracterización

## Medición de la turbidez

5 La medición de la turbidez se llevó a cabo con en cada caso una solución al 0,5 % de concentración que comprendía alternano o los diversos ésteres de ácido octenilsuccínico de alternano. Para su preparación, 49,75 g de agua desmineralizada se pesaron en cada caso en un vaso de precipitados de 150 ml, y 0,25 g de la sustancia correspondiente se agitó en su interior a temperatura ambiente y con agitación continua usando un agitador magnético. La turbidez se midió después de agitar durante 1 hora con la ayuda de un fotómetro (PM 200 de Rühle, Berlín) usando un filtro de 525 nm y una celda con un espesor de 1 cm. En cada caso se ha dado el valor de absorbancia.

## 10 Capacidad emulsionante

15 La capacidad emulsionante del alternano y de los ésteres de ácido octenilsuccínico de alternano preparados bajo diversas condiciones se determinó en cada caso introduciendo inicialmente 20 ml de una solución al 1 % de concentración (solución madre: 0,5 g + 49,5 g de agua desmineralizada) en un vaso de precipitados de valoración de 100 ml (de valoradores de Mettler), luego añadiendo 20 ml de aceite de girasol (aceite comercial estándar de REWE) y homogeneizando inicialmente la mezcla usando un Ultra-Turrax (T 18) a 14.000 rpm durante 1 minuto. Entonces, en cada caso se añadieron en cada etapa 10 ml de aceite, que en cada caso se había homogeneizado durante 1 minuto (Ultra-Turrax, 14.000 rpm). La adición de aceite se llevó a cabo hasta que disminuyó la viscosidad de la emulsión y/o se rompió la emulsión.

20 La capacidad emulsionante se calculó de acuerdo la siguiente fórmula: Capacidad emulsionante [ml de aceite/g de alternano x 100 ml de agua] = volumen total de aceite x 5

Se obtuvieron los resultados mostrados en la siguiente tabla.

25 Tabla 6: Medición de la turbidez (columna 4) y cantidad de capacidad emulsionante (columna 5) de alternano y ésteres de ácido octenilsuccínico de alternano que se han preparado por diversos procedimientos. La cantidad de anhídrido octenilsuccínico usada en la reacción de esterificación y el tiempo de reacción se muestran en las columnas 2 y 3, respectivamente (para parámetros adicionales de reacción véase el Ejemplo 3a)). La referencia (columna 1) citada es alternano nativo que se usó como material de partida en la reacción. Las muestras 1, 2, 3 y 4 (columna 1) se refieren a ésteres de ácido octenilsuccínico de alternano que se han preparado por medio de diferentes condiciones de reacción establecidas.

Muestra	Cantidad de anhídrido octenilsuccínico	Tiempo de reacción	Turbidez	Capacidad emulsionante
Referencia	-	-	0,302	125 ml de aceite/g
Muestra 2	1 ml	2 h	0,167	300 ml de aceite/g
Muestra 1	1 ml	4 h	0,105	300 ml de aceite/g
Muestra 3	2 ml	2 h	0,105	300 ml de aceite/g
Muestra 4	2 ml	4 h	0,109	300 ml de aceite/g

30 La capacidad emulsionante de los ésteres de ácido octenilsuccínico de alternano se aumenta en comparación con el alternano. La turbidez de las soluciones que comprenden éster de ácido octenilsuccínico de alternano se reduce en comparación con el alternano a concentración idéntica.

**4. Propiedades emulsionantes de anhídrido octenilsuccínico de alternano**

## a) Preparación de anhídrido octenilsuccínico de alternano

35 El alternano se hizo reaccionar con anhídrido octenilsuccínico en la relación 1:0,05 en el medio alcalino y se neutralizó cuando la reacción se completó. El éster de ácido octenilsuccínico de alternano resultante se precipitó con etanol, se lavó y se secó.

40 El grado de sustitución (GS) del éster de ácido octenilsuccínico de alternano determinado por medio del procedimiento descrito en Procedimientos generales, punto 2, fue 0,024. Estos ésteres de ácido octenilsuccínico de alternano se analizan más adelante.

## b) Caracterización molecular

45 La distribución de masa molar de los ésteres de ácido succínico de alternano resultante se analizó con la ayuda de GPC-MALLS (cromatografía de exclusión molecular-dispersión de luz láser a múltiples ángulos) usando los agentes descritos en Procedimientos generales, punto 3 (Figura 8). La masa molar promedio resultante ( $M_w$ ) fue  $21,5 \times 10^6$  g/mol.

c) Propiedades reológicas

Viscosidad usando un reómetro

El análisis se llevó a cabo con la ayuda de los medios descritos en Procedimientos generales, punto 4. El comportamiento de flujo (viscosidad) de las soluciones al 10 % de concentración se investigó a 20 °C en función de la velocidad de cizalla en el intervalo de frecuencia mostrado (Figura 9).

Los ésteres de ácido octenilsuccínico de alternano presentaron una viscosidad de aproximadamente 25 mPa x s, que fue ligeramente superior a la viscosidad del alternano (aproximadamente 15 mPa x s).

Viscosidad usando un RVA

Las viscosidades del alternano y los ésteres de ácido octenilsuccínico de alternano se determinaron en comparación con la viscosidad de la goma arábiga con la ayuda de un RVA (anализador Rapid Visco) usando el procedimiento facilitado en el punto 5, Procedimientos generales. En cada caso, se usaron soluciones al 10 % de concentración (p/v). Los resultados se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 9: Viscosidades determinadas con un RVA de goma arábiga, alternano y éster de ácido octenilsuccínico de alternano.

Sustancia	Viscosidad [mPa x s]		
	Después de 30 s	Después de 60 s	60 s a 300 s
Goma arábiga	120	0	0
Alternano	40	120	120
Éster de ácido octenilsuccínico de alternano	250	250	250

d) Propiedades emulsionantes de anhídrido octenilsuccínico de alternano

En cada caso, se disolvieron 20 mg, 40 mg, 200 mg y 1 g de éster de ácido octenilsuccínico de alternano (AI-OSA) en 20 ml de agua desmineralizada con la ayuda de un Ultra-Turrax (1 minuto, (Ultra-Turrax T 25 digital, IKA-Werke GmbH & Co. KG, D-79219 Staufen, Alemania) a aproximadamente 25 k rpm). Después se añadieron 20 ml de aceite de girasol (producto comercial: ja! de REWE). La mezcla resultante se homogeneizó mediante tratamiento durante un minuto usando un Ultra-Turrax (véase anteriormente). Después se evaluaron la consistencia y la estabilidad de la consistencia. La Figura 7 muestra un diagrama de las emulsiones resultantes. Los resultados adicionales se resumen en la tabla a continuación.

Tabla 10: Consistencia y estabilidad de mezclas de aceite/agua que comprenden diferentes cantidades de éster de ácido octenilsuccínico de alternano (AI-OSA). La columna 6 contiene el nombre (n.º) de las mezclas correspondientes como se establece en la Figura 7.

Cantidad de sustancia en la mezcla			Consistencia/deposición de gotitas de aceite	Separación de fases después de aproximadamente 72 h	N.º en la Figura 7
Agua [ml]	Aceite [ml]	AI-OSA [mg]			
20	20	20	Emulsión, similar a clara de huevo batida/elevada	Ninguna	1
20	20	40	Emulsión, similar a clara de huevo batida/ligera	Ninguna	2
20	20	200	Emulsión, similar a clara de huevo batida/ninguna	Ninguna	3
20	20	1000	Emulsión, cremosa/ninguna	Ninguna	4

e) Comparación de la capacidad de emulsión de ácido octenilsuccínico de alternano con goma arábiga

Se prepararon en cada caso soluciones acuosas al 3 % de concentración (p/v) de ácido octenilsuccínico de alternano o goma arábiga. A estas soluciones se añadieron diferentes cantidades de aceite de girasol comercial convencional antes de llevarse a cabo una homogenización usando un Ultra-Turrax (Ultra-Turrax T 25 digital, IKA-Werke GmbH & Co. KG, D-79219 Staufen, Alemania, 1 minuto a 9 k rpm). Después de un periodo de seis días, las emulsiones resultantes se evaluaron como la estabilidad de la emulsión. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla a continuación.

Tabla 11: Estabilidad de emulsiones con goma arábica y éster de ácido octenilsuccínico de alternano.

Cantidad de sustancia en la mezcla			Separación de fases después de 5 días	
Agua [ml]	Aceite [ml]	Emulsionante [mg]	Goma arábica	Éster octenilsuccínico de alternano
18	2	600	Separación significativa	Ninguna
15	5	600	Separación significativa	Ninguna

f) Emulsiones con concentraciones variables de éster de ácido octenilsuccínico de alternano

5 Se prepararon soluciones acuosas con diferentes concentraciones de éster de ácido octenilsuccínico de alternano. A continuación a estas soluciones se añadieron diferentes cantidades de aceite de girasol comercial convencional antes de llevarse a cabo una homogenización usando un Ultra-Turrax (Ultra-Turrax T 25 digital, IKA-Werke GmbH & Co. KG, D-79219 Staufen, Alemania, 1 minuto a 9 k rpm). Después de un periodo de seis días, las emulsiones resultantes se evaluaron como la estabilidad de la emulsión. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla a continuación.

Cantidad de sustancia en la mezcla		Separación de fases a las cantidades de AI-OSA en la mezcla establecida en cada caso						
Agua [ml]	Aceite [ml]	5 mg	10 mg	30 mg	50 mg	100 mg	500 mg	
10,0	0,1	Ninguna	Ninguna	Ninguna	Ninguna	Ninguna	Ninguna	Después de 18 días
9,7	0,3	Ninguna	Ninguna	Ninguna	Ninguna	Ninguna	Ninguna	
9,5	0,5	Completa	Significativa	Ninguna	Ninguna	Ninguna	Ninguna	
9,0	1,0	Completa	Completa	Ninguna	Ninguna	Ninguna	Ninguna	
8,0	2,0	-	Completa	-	Ninguna	Ninguna	-	Después de 6 días
7,0	3,0	-	Completa	-	Significativa	Ninguna	-	

10 **Tabla 12: Estabilidad de emulsiones con contenido de aceite variable con diferentes cantidades de ácido octenilsuccínico de alternano (AI-OSA) después de 6 y 18 días.**

g) Preparación de cremas

15 Los ésteres de ácido octenilsuccínico de alternano se añadieron a una mezcla de agua que comprendía el 30 % (v/v) de aceite de girasol comercial estándar hasta una concentración final del 15 % (peso/volumen) y se homogeneizaron usando un Ultra-Turrax (9 k rpm) durante 1 minuto. Se obtuvo una crema estable. Se obtuvieron resultados similares con una mezcla de agua/aceite que comprendía el 36 % aceite de girasol. A diferencia de la crema preparada a partir de la mezcla que comprendía el 30 % de aceite, la preparada a partir de la mezcla con el 36 % de aceite fue más cremosa.

**REIVINDICACIONES**

1. Un éster de ácido carboxílico de alternano.
2. Un procedimiento de preparación de ésteres de ácidos carboxílicos de alternano, en el que el alternano se hace reaccionar con un ácido carboxílico o con su anhídrido o con un haluro de ácido carboxílico o con un éster vinílico.
- 5 3. Un emulsionante que es un éster de ácido carboxílico de alternano de acuerdo con la reivindicación 1.
4. Una emulsión que comprende un emulsionante de acuerdo con la reivindicación 3.
5. Una composición que comprende ésteres de ácidos carboxílicos de alternano de acuerdo con la reivindicación 1, emulsionantes de acuerdo con la reivindicación 3 o emulsiones de acuerdo con la reivindicación 4.
- 10 6. Un procedimiento de preparación de una composición, en el que los ésteres de ácidos carboxílicos de alternano de acuerdo con la reivindicación 1, los emulsionantes de acuerdo con la reivindicación 3 o las emulsiones de acuerdo con la reivindicación 4 se mezclan con otras sustancias o se añaden a estas.
7. El uso de un éster de ácido carboxílico de alternano de acuerdo con la reivindicación 1, como tensioactivo.
- 15 8. El uso de un éster de ácido carboxílico de alternano de acuerdo con la reivindicación 1, de un emulsionante de acuerdo con la reivindicación 3 o de una emulsión de acuerdo con la reivindicación 4 para la preparación de alimentos, composiciones cosméticas o composiciones farmacéuticas.

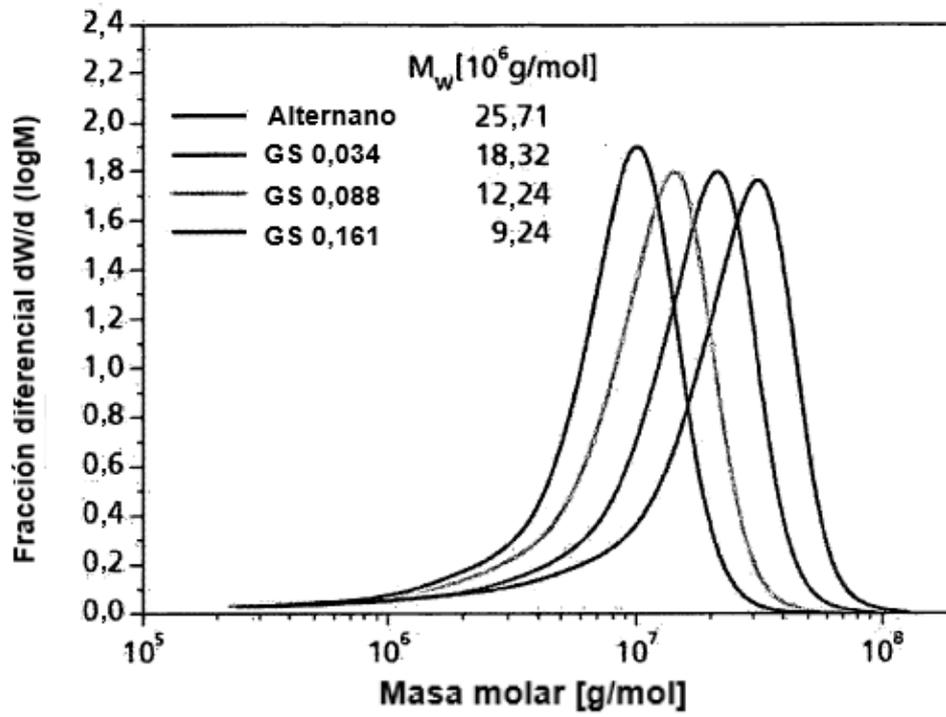


Fig. 1

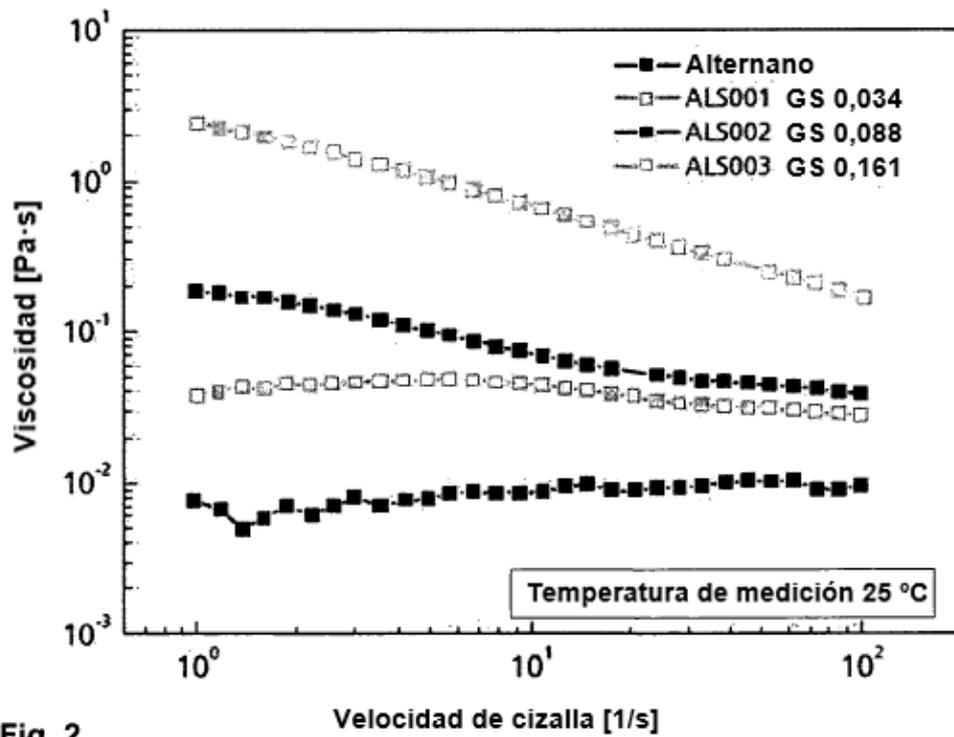


Fig. 2

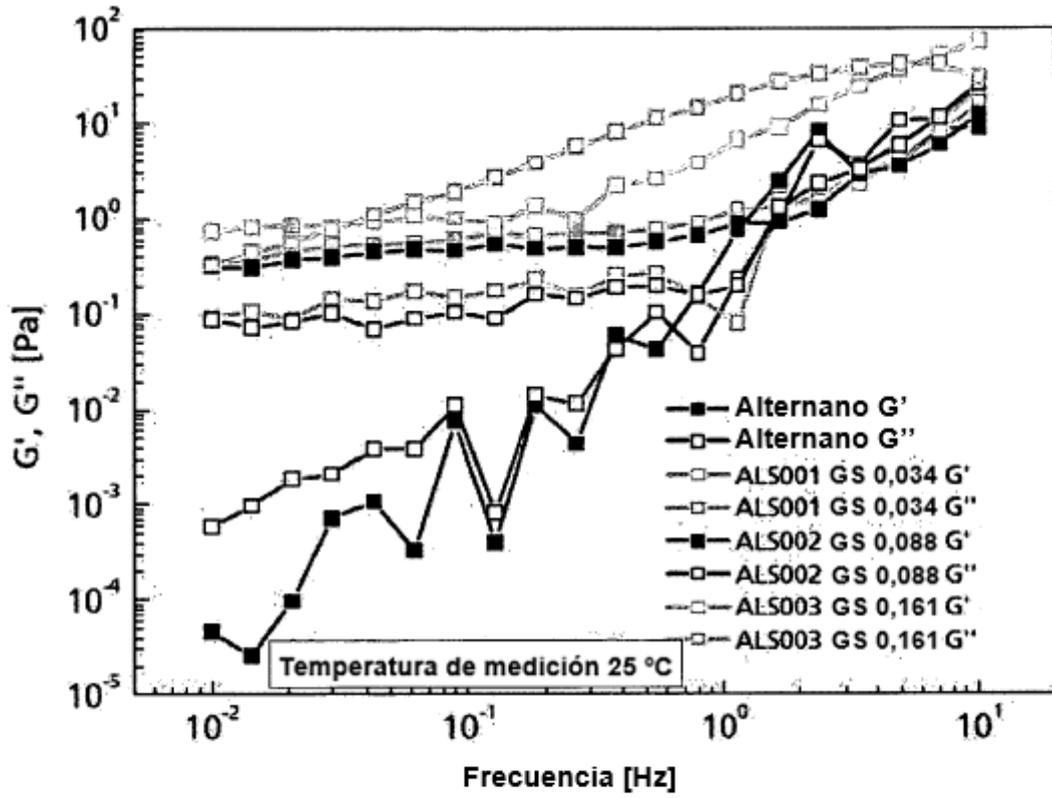


Fig. 3

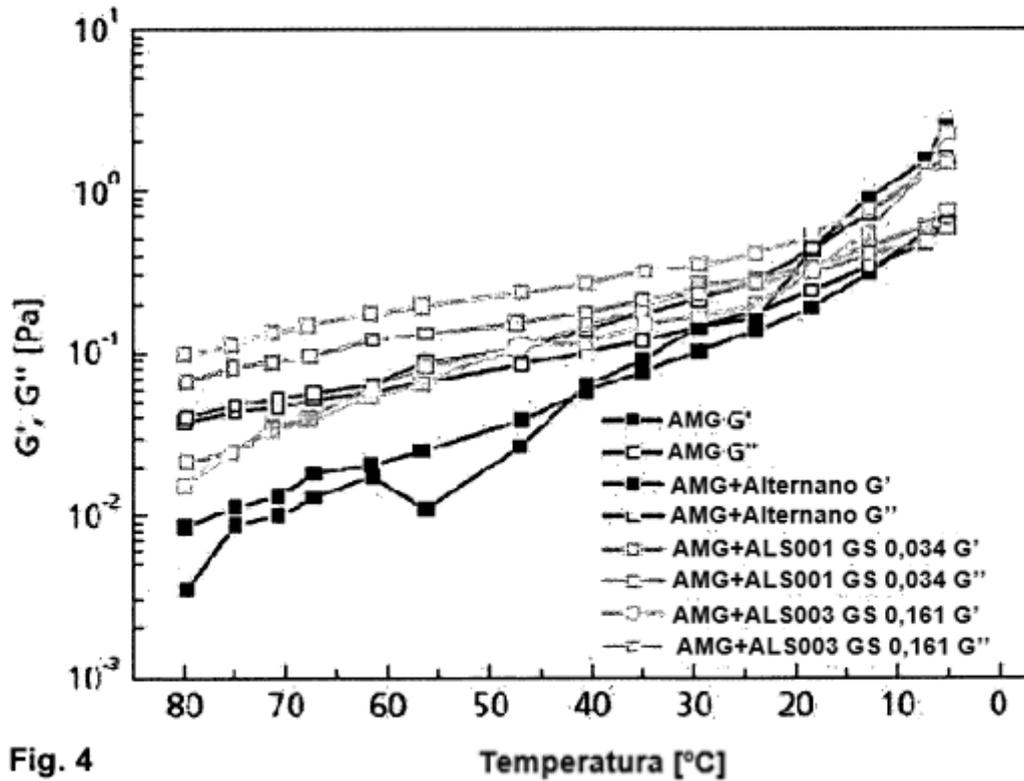


Fig. 4

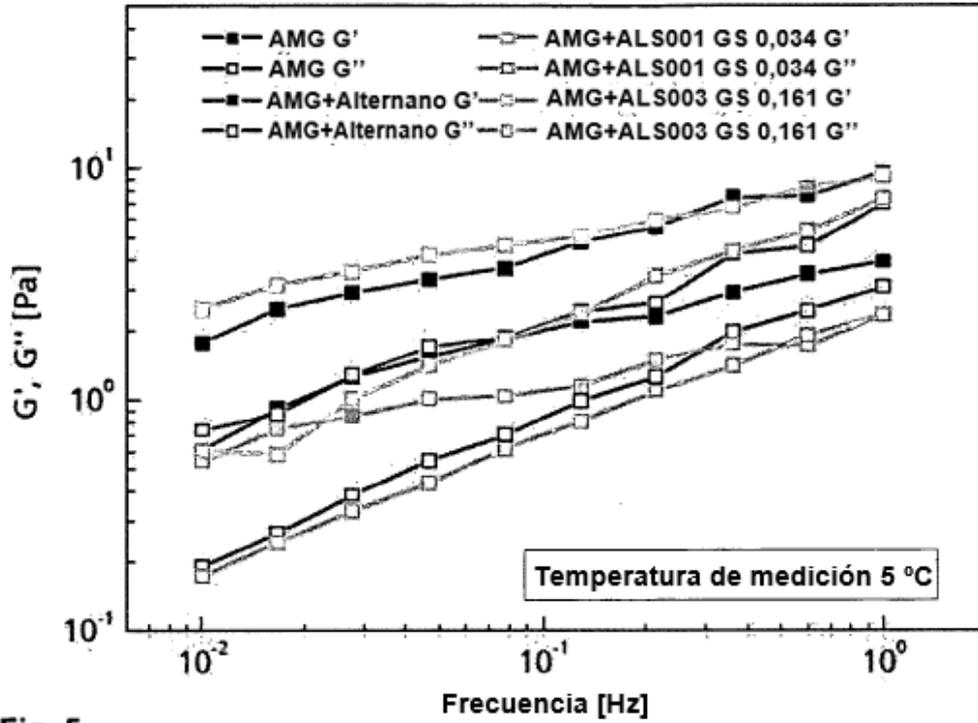


Fig. 5

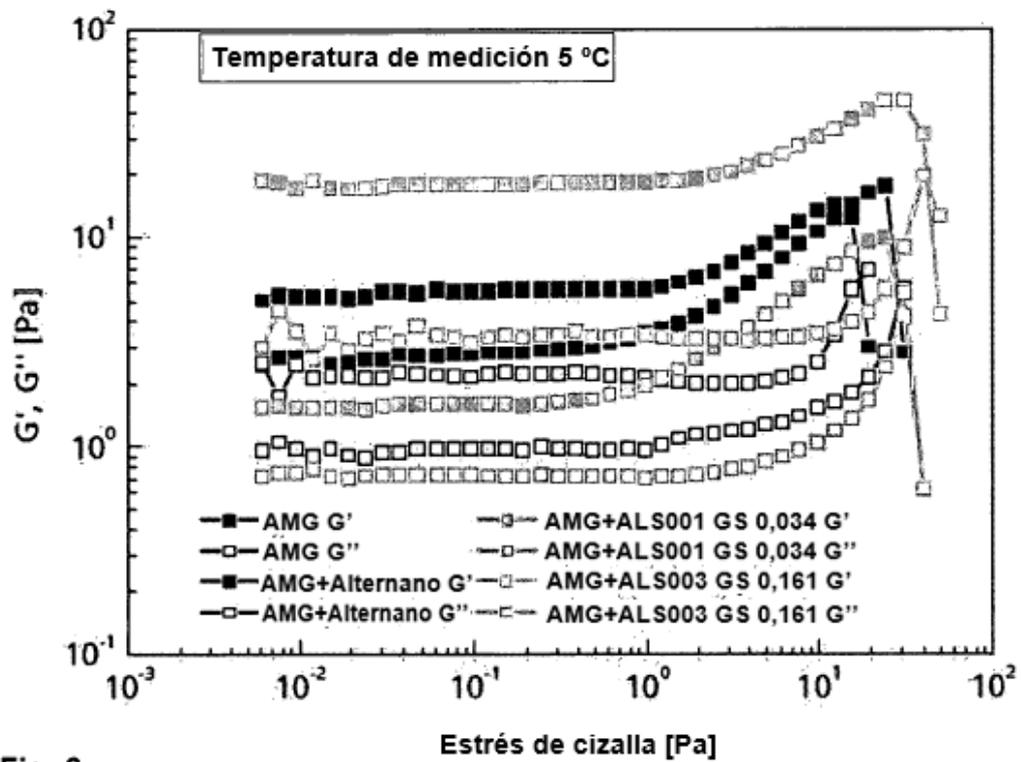


Fig. 6

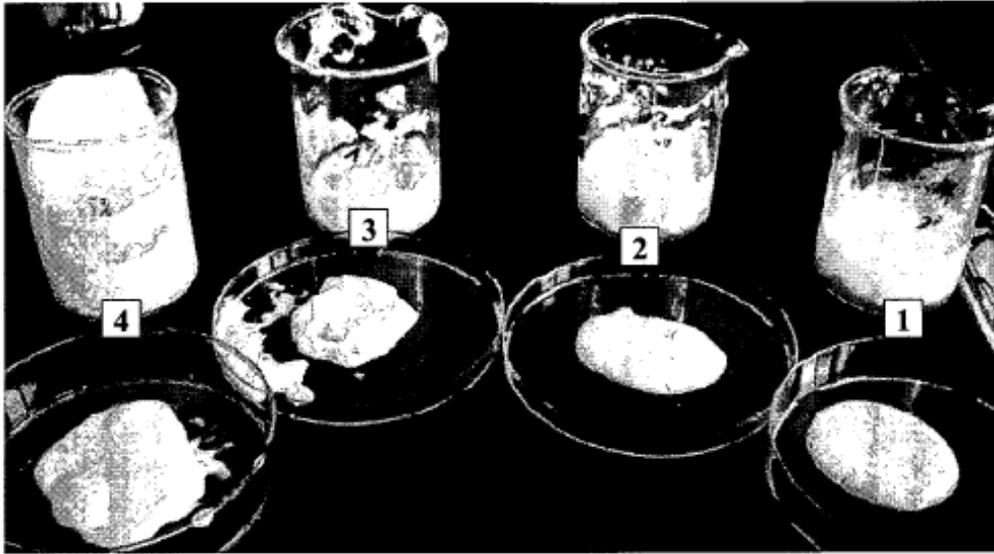


Fig. 7

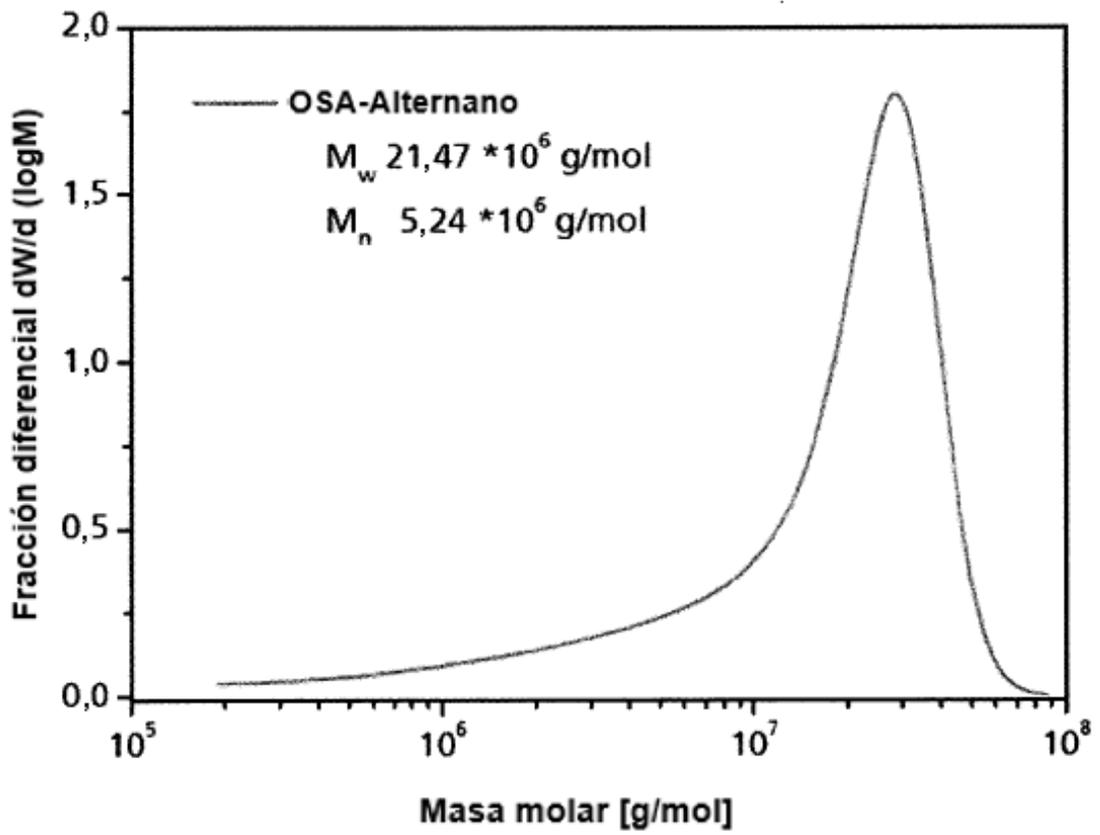


Fig. 8