

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 677 017**

51 Int. Cl.:

B01F 17/00 (2006.01)

B82Y 30/00 (2011.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **18.07.2011 PCT/FR2011/051717**

87 Fecha y número de publicación internacional: **09.02.2012 WO12017160**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.07.2011 E 11754890 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.04.2018 EP 2595738**

54 Título: **Composición en forma de emulsión, que comprende una fase hidrófoba dispersada en una fase acuosa**

30 Prioridad:

19.07.2010 FR 1055836

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

27.07.2018

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**CATHALA, BERNARD;
CAPRON, ISABELLE;
BIZOT, HERVÉ;
BULEON, ALAIN y
KALASHNIKOVA, IRINA**

74 Agente/Representante:

LINAGE GONZÁLEZ, Rafael

ES 2 677 017 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 en forma de emulsión, que comprende una fase hidrófoba dispersada en una fase acuosa

- 5 La presente invención se refiere a una composición en forma de emulsión, que comprende una fase hidrófoba dispersada en una fase acuosa.

Estado de la técnica

- 10 Una emulsión es del tipo "aceite en agua", cuando (i) la fase dispersante es una fase acuosa y (ii) la fase dispersa es una fase orgánica (hidrófoba u oleosa). Dicha emulsión todavía se designa comúnmente por la sigla "H/E".

Sin embargo, este estado físico de la emulsión no es estable: la fase orgánica tiende a reagruparse para no formar más que un único conjunto continuo, en particular debido a su diferencia de densidad con respecto a la fase acuosa.

- 15 Para obtener esta estabilidad, un primer abordaje consiste en utilizar compuestos denominados "estabilizantes", que confieren a las emulsiones propiedades reológicas capaces de ralentizar el fenómeno de coalescencia.

Para estabilizar las emulsiones, otro abordaje es usar compuestos llamados "emulsionantes" o "emulsificadores".

- 20 Estos compuestos emulsionantes son a menudo agentes tensioactivos emulsionantes (también conocidos como "surfactantes") que, gracias a su estructura anfifílica, se colocan en las interfaces aceite/agua y estabilizan las gotitas orgánicas dispersas.

- 25 Sin embargo, los compuestos emulsionantes de este tipo no siempre ofrecen la estabilidad deseada a lo largo del tiempo. Además, los agentes tensioactivos de síntesis a menudo presentan desventajas en el ámbito ecológico.

Estos compuestos emulsionantes/emulsificadores también pueden consistir en partículas sólidas, que permiten obtener emulsiones conocidas como "emulsiones de Pickering".

- 30 Las emulsiones de Pickering son emulsiones desprovistas de agentes tensioactivos, y que se estabilizan mediante partículas en suspensión coloidales que se han anclado a la interfaz aceite/agua.

- 35 A diferencia de los agentes tensioactivos que se adsorben y desorben continuamente, las partículas en suspensión coloidal se adsorben fuertemente a las interfaces (e incluso de manera irreversible).

Estas emulsiones de Pickering presentan en la práctica propiedades muy originales e interesantes, especialmente en comparación con las emulsiones convencionales estabilizadas por agentes tensioactivos.

- 40 En particular, es posible fabricar muy fácilmente emulsiones, que varían del micrómetro al centímetro, explotando en particular el fenómeno denominado de "coalescencia limitada". Además, las composiciones obtenidas son mucho más estables que sus homólogos estabilizadas por agentes tensioactivos.

- 45 Para ilustrar dicha emulsión de Pickering, el documento ASHBY et al. ("Pickering emulsions stabilised by Laponite clay particles", Phys. Chem. Chem. Phys, vol. 2, 2000-11-24) estudia la estabilización de la emulsión mediante un compuesto llamado "Laponite RD", que consiste en una arcilla esmética de tipo hectorita.

- 50 El documento MADIVALA et al. ("Exploiting particle shape in solid stabilized emulsions", SOFT MATTER, vol. 5, 2009-03-02) describe la estabilización de la emulsión, en particular mediante partículas de hematita (α -Fe₂O₃) en forma de agujas.

- 55 El documento OUGIYA et al. ("Emulsion-stabilizing effect of bacterial cellulose", Bioscience biotechnology biochemistry, vol. 61, n.º 9, 1997-01-01) describe que la celulosa microcristalina ("microcrystalline cellulose MCC"), en combinación con carboximetilcelulosa (CMC), es capaz de estabilizar una emulsión. También se estudia un producto denominado "Avice1", es decir, una celulosa microcristalina en forma de bastoncillo con un espesor de 0,3 μ m que contiene carboximetilcelulosa a un 11 % en peso.

Sin embargo, este documento todavía presenta resultados que muestran una eficacia limitada, e incluso una ineficacia, de la celulosa microcristalina para estabilizar las emulsiones.

- 60 Además, el documento FR-2794466 o el documento EP-1057477 describe el uso de fibrillas de celulosa en composiciones cosméticas del tipo emulsiones H/E, para garantizar la estabilización de esta última en ausencia de cualquier agente tensioactivo.

- 65 Las fibrillas de celulosa empleadas tienen una longitud superior a 1 μ m y preferentemente de 5 a 40 μ m, para un diámetro de entre 2 y 100 nm. Tienen una relación longitud/diámetro igual o superior a 30.

Además, las fibrillas de celulosa utilizadas están en una forma parcialmente amorfa: preferentemente presentan un grado de cristalinidad inferior o igual a un 50 %, y preferentemente comprendido entre un 15 % y un 50 %.

- 5 Sin embargo, resulta que dichas fibrillas de celulosa con una longitud superior a 1 μm no permiten obtener emulsiones calibradas de tamaño controlado y homogéneo, y, por lo tanto, no permiten la viabilidad de emulsiones monodispersas con tamaños reducidos de gotitas orgánicas. De hecho, con estas fibrillas de celulosa con una longitud superior a 1 μm , el efecto de estabilización de una emulsión se lleva a cabo mediante la formación de una red de fibrillas entrelazadas en la interfaz agua/aceite, lo que genera emulsiones que comprenden gotas de tamaño grande que se encuentran en forma de una pluralidad de agregados de gotas en suspensión. Las emulsiones resultantes no son homogéneas.

Exposición de la invención

- 15 El objeto de la invención es proponer nuevas composiciones del tipo emulsión de aceite en agua (de forma ventajosa de la familia de emulsiones de Pickering), que contienen partículas emulsionantes capaces de estabilizar la emulsión, de forma ventajosa sin agente tensioactivo y esto de manera particularmente estable en el tiempo.

20 La presente invención se refiere así a una composición en forma de una emulsión que comprende una fase hidrófoba dispersada en una fase acuosa, conteniendo dicha composición partículas emulsionantes que consisten en nanocristales de celulosa en forma alargada, de forma más ventajosa de forma acicular, que tienen una longitud comprendida entre 25 nm y 1 μm , y una anchura comprendida entre 5 y 30 nm.

25 Los nanocristales de celulosa han sido objeto de numerosos estudios, en particular para caracterizar su morfología y su estructura cristalina.

Sin embargo, según los conocimientos de los inventores, dichos nanocristales de celulosa nunca se han usado como compuestos emulsionantes/emulsificadores para la estabilización de emulsiones.

- 30 No obstante, como se demuestra en los siguientes ejemplos, dicha composición resulta particularmente estable a lo largo del tiempo, aunque está libre de tensioactivos. Esta emulsión resiste además tratamientos térmicos, tanto de tipo de congelación como de tipo calentamiento.

35 Otras características ventajosas, que pueden considerarse en combinación o de forma independiente entre sí, se detallan a continuación:

- los nanocristales de celulosa satisfacen las siguientes características: una longitud comprendida entre 100 nm y 1 μm , y una anchura comprendida entre 5 y 20 nm;
- 40 - los nanocristales de celulosa tienen una relación longitud/anchura superior a 1 e inferior a 100, y preferentemente comprendida entre 10 y 55;
- los nanocristales de celulosa tienen una densidad de cargas de superficie máxima de 0,5 $\text{e}\cdot\text{nm}^{-2}$, y preferentemente una densidad de cargas de superficie máxima de 0,31 $\text{e}\cdot\text{nm}^{-2}$, correspondiendo e a una carga elemental; de acuerdo con un primer modo de realización, los nanocristales de celulosa comprenden una superficie cargada, de forma ventajosa cargas de superficie negativas, con una densidad de cargas de superficie comprendida entre 0,01 $\text{e}\cdot\text{nm}^{-2}$ y 0,31 $\text{e}\cdot\text{nm}^{-2}$; de acuerdo con un segundo modo de realización, los nanocristales de celulosa tienen una superficie neutra, siendo la densidad de las cargas de superficie menor o igual que 0,01 $\text{e}\cdot\text{nm}^{-2}$;
- 50 - los nanocristales de celulosa comprenden, en la superficie, grupos hidrófobos.

La presente invención también se refiere al uso de nanocristales de celulosa tales como los definidos anteriormente, para estabilizar una emulsión que comprende una fase hidrófoba dispersada en una fase acuosa.

- 55 La invención también se refiere al procedimiento para la fabricación de una composición en forma de emulsión definida anteriormente, que comprende las siguientes etapas:

(a) el suministro de nanocristales de celulosa tales como los definidos anteriormente, luego

- 60 (b) la incorporación dichos nanocristales de celulosa en la fase acuosa de dicha composición, para estabilizar dicha emulsión.

Los nanocristales de celulosa suministrados en la etapa (a) se obtienen de forma ventajosa mediante un procedimiento de fabricación a partir de una celulosa, seleccionándose dicho procedimiento de fabricación entre uno de los procedimientos siguientes: fraccionamiento mecánico, hidrólisis química moderada y disolución/recristalización.

En este caso, el procedimiento de fabricación de los nanocristales de celulosa va seguido de forma ventajosa por un procedimiento de modificación posterior de dichos nanocristales de celulosa al final del cual se modifican su densidad de cargas de superficie y/o su hidrofobicidad.

5 Para una modificación de la densidad de carga, el procedimiento de modificación posterior consiste de forma ventajosa en un procedimiento para introducir o hidrolizar los grupos que llevan las cargas de superficie, los cuales se seleccionan preferentemente entre grupos sulfonato, carboxilato y fosfato, fosfonato y sulfato.

10 De acuerdo con un primer modo de realización preferente, el procedimiento de fabricación consiste en un procedimiento de hidrólisis ácida moderada de la celulosa por ácido sulfúrico, para obtener nanocristales de celulosa provistos de grupos sulfato en la superficie; y el procedimiento de modificación posterior opcional consiste en un procedimiento de hidrólisis controlada de dichos grupos sulfato.

15 De acuerdo con un segundo modo de realización preferente, el procedimiento de fabricación consiste en un procedimiento de hidrólisis ácida moderada de la celulosa por ácido clorhídrico; y el procedimiento de modificación posterior opcional consiste en un procedimiento de sulfatación posterior de dichos nanocristales de celulosa.

Descripción detallada de la invención

20 Composición de acuerdo con la invención

Como se mencionó anteriormente, la composición de acuerdo con 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 en otras palabras, "partículas emulsificadoras") que consisten en nanocristales de celulosa.

25 Por "emulsión" se entiende una mezcla, macroscópicamente homogénea pero microscópicamente heterogénea, de dos fases líquidas inmiscibles.

30 En este caso, la emulsión de acuerdo con la invención es del tipo "aceite en agua", es decir, que (i) la fase dispersante es una fase acuosa y (ii) la fase dispersada es una fase orgánica (hidrófoba u oleosa). Dicha emulsión todavía se designa comúnmente por la sigla "H/E".

Para garantizar su estabilidad, la emulsión de acuerdo con la invención contiene así nanocristales de celulosa.

35 Los nanocristales de celulosa se conocen en la técnica anterior, a menudo con el nombre de fibrillas ("*whiskers*") de celulosa o de nanofibrillas ("*nanowiskers*") de celulosa.

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

Más concretamente, los nanocristales de celulosa son partículas sólidas altamente cristalinas.

45 Estos nanocristales de celulosa están desprovistos, o al menos prácticamente desprovistos, de la parte amorfa. Preferentemente presentan un grado de cristalinidad de al menos un 60 %, y preferentemente comprendido entre un 60 % y un 95 % (véase, por ejemplo, Elazzouzi-Hafraoui et al., 2008 citado anteriormente).

50 Para la composición de acuerdo con la invención, los nanocristales de celulosa tienen una forma alargada, es decir, de forma ventajosa una relación longitud/anchura superior a 1.

Más preferentemente, estos nanocristales de celulosa tienen una forma acicular, es decir, una forma lineal y puntiaguda que recuerda a una aguja.

55 Esta morfología se puede observar, por ejemplo, mediante microscopía electrónica, en particular mediante microscopía electrónica de transmisión (o "MET").

60 Todavía en la composición de acuerdo con la invención, estos nanocristales de celulosa comprenden las siguientes características dimensionales: (i) una longitud comprendida entre 25 nm y 1 µm, y (ii) una anchura comprendida entre 5 y 30 nm.

Por "longitud" se entiende la dimensión mayor de los nanocristales, separando dos puntos ubicados en los extremos de sus respectivos ejes longitudinales.

65 Por "anchura" se entiende la dimensión medida a lo largo de los nanocristales, perpendicularmente a su eje

longitudinal respectivo y correspondiente a su sección máxima.

5 En modos de realización preferentes, las nanopartículas de celulosa forman una población relativamente homogénea de nanocristales cuyos valores de longitud experimentales siguen una distribución gaussiana centrada en el valor de longitud asignado para dicha población de nanocristales. En estos modos de realización preferentes, se pueden usar, por ejemplo, nanocristales de celulosa de un "tamaño determinado único", como el ilustrado en los ejemplos.

10 En la práctica, la morfología y las dimensiones de los nanocristales se pueden determinar utilizando diversas técnicas de imágenes, como la microscopía electrónica de transmisión (TEM) o la microscopía de fuerza atómica (AFM), la dispersión de rayos X o de neutrones en ángulos pequeños (respectivamente SAXS para "Small-Angle X-ray Scattering" y SANS para "Small-Angle Neutron Scattering") o incluso la dispersión dinámica de la luz (DDL).

15 De acuerdo con un modo de realización preferente, los nanocristales de celulosa presentan las dimensiones siguientes: (i) una longitud comprendida entre 100 nm y 1 μm , y (ii) una anchura comprendida entre 5 y 20 nm.

De forma ventajosa, los nanocristales de celulosa tienen una relación longitud/anchura superior a 1 e inferior a 100, preferentemente comprendida entre 10 y 55.

20 Una relación longitud/anchura superior a 1 e inferior a 100 incluye 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.

25 Una relación longitud/anchura comprendida entre 10 y 55 incluye las relaciones longitud/anchura seleccionadas entre 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 y 54.

30 Por ejemplo, los nanocristales obtenidos a partir de celulosa de algodón tienen de forma ventajosa una longitud comprendida entre 100 nm y 200 nm, para una anchura comprendida entre 12 y 15 nm. La relación longitud/anchura está comprendida de forma ventajosa entre 7 y 17, y preferentemente entre 10 y 13.

35 De acuerdo con otro ejemplo, los nanocristales se pueden obtener a partir de una celulosa bacteriana. Dichos nanocristales (conocidos con el nombre de "nanocristales de celulosa bacteriana" o "BCN") comprenden de forma ventajosa una longitud comprendida entre 600 nm y 1 μm , para una anchura comprendida entre 12 y 17 nm. La relación longitud/anchura está comprendida de forma ventajosa entre 35 y 83, preferentemente entre 45 y 55.

40 Para optimizar la estabilidad de las emulsiones de Pickering, los nanocristales de celulosa se seleccionan de forma ventajosa en función de sus características de superficie, teniendo en cuenta en particular (i) el aspecto electrostático y/o (ii) la hidrofobicidad o la hidrofiliidad.

45 Con respecto al aspecto electrostático de superficie, los nanocristales de celulosa que estabilizan la emulsión tienen de forma ventajosa una densidad de cargas de superficie máxima de 0,5 $\text{e}\cdot\text{nm}^{-2}$, y preferentemente una densidad de cargas de superficie máxima de 0,31 $\text{e}\cdot\text{nm}^{-2}$. Se señala que "e" corresponde a una carga elemental.

La densidad de carga en superficie y la fuerza iónica de la fase acuosa se adaptan de forma ventajosa la una con respecto a la otra.

50 De forma ventajosa, esta densidad de carga de superficie se determina mediante análisis conductimétrico; un modo de realización particular se describe a continuación en la parte de ejemplos.

Más concretamente y de acuerdo con una realización, los nanocristales de celulosa comprenden una superficie cargada, con una densidad de cargas de superficie de entre 0,01 $\text{e}\cdot\text{nm}^{-2}$ y 0,31 $\text{e}\cdot\text{nm}^{-2}$.

55 Como se describe en los ejemplos, la densidad deseada de cargas de superficie se puede obtener controlando el grado de sulfatación de los nanocristales. El grado de sulfatación de los nanocristales puede controlarse sometiendo los nanocristales de celulosa a un tratamiento de sulfatación y, si es necesario, a un tratamiento posterior de desulfatación.

60 El solicitante ha demostrado que se obtiene una emulsión de Pickering estable cuando se usan nanocristales de celulosa prácticamente sin cargar.

65 El solicitante también ha demostrado que, por encima de 0,31 $\text{e}\cdot\text{nm}^{-2}$, la estabilidad de la emulsión de Pickering se ve afectada de una forma muy significativa. El solicitante ha demostrado que los nanocristales de celulosa que tienen un valor de densidad de carga excesivamente alto presentan una superficie excesivamente hidrófila y se

encuentran en gran cantidad en suspensión en la fase acuosa en lugar de situarse en la interfaz aceite/agua para estabilizar la emulsión.

5 En este caso, los nanocristales de celulosa comprenden de forma ventajosa cargas de superficie negativas, que son llevadas de forma ventajosa por grupos aniónicos en la superficie.

Los grupos aniónicos de los nanocristales de celulosa se seleccionan, por ejemplo, entre grupos sulfonato, grupos carboxilato, grupos fosfato, grupos fosfonato y grupos sulfato.

10 La transposición de un valor de grado de sustitución (DS) al valor correspondiente de la densidad de cargas de superficie ($e.nm^{-2}$) es directa, ya que se conoce el número de cargas del grupo químico en cuestión. A título ilustrativo, para los grupos sulfato, que llevan una sola carga, el valor de DS (número de grupos sulfato por unidad de superficie) es idéntico al valor de densidad de cargas de superficie (número de cargas por unidad de superficie idéntica).

15 En otras palabras, estos nanocristales de celulosa tienen un grado de sustitución (DS) comprendido entre 10^{-3} y $10^{-2} e/nm^2$, o un grado de sustitución en superficie (DSs) comprendido entre DS/0,19 y DS/0,4, dependiendo de la morfología de los nanocristales utilizados.

20 De acuerdo con otro modo de realización, los nanocristales de celulosa tienen una superficie neutra. En este caso, la densidad de cargas de superficie es de forma ventajosa inferior o igual a $0,01 e.nm^{-2}$.

En la práctica, la densidad de carga de los nanocristales de celulosa se selecciona de forma ventajosa en función de la fuerza iónica de la fase acuosa de la composición.

25 Los nanocristales de celulosa utilizados de acuerdo con la invención consisten de forma ventajosa en nanocristales de celulosa que no se han sometido a un tratamiento de hidrofobización. Esto incluye nanocristales de celulosa cuyos grupos hidroxilo no han sido funcionalizados por átomos o grupos hidrófobos. Típicamente, esto incluye nanocristales que no se han sometido a un tratamiento de hidrofobización por esterificación de grupos hidroxilo por ácidos orgánicos.

30 En modos de realización ventajosos, los nanocristales de celulosa que se usan para obtener la emulsión de Pickering no se someten a ningún tratamiento químico posterior a su obtención, aparte de un tratamiento de desulfatación o de sulfatación. En particular, se usan preferentemente nanocristales de celulosa que no han sido funcionalizados con grupos que permiten su posterior reticulación, por ejemplo, por grupos del tipo metacrilato o dimetacrilato, o en los que no se han injertado dichos grupos. Además, se usan preferentemente nanocristales de celulosa que no han sido funcionalizados con moléculas poliméricas, tales como polietilenglicol, poli(hidroxiéster) e incluso poliestireno, o en los que no se han injertado dichas moléculas.

40 El solicitante también ha demostrado que la estabilidad de la emulsión de Pickering puede aumentarse usando una fase acuosa que tiene una fuerza iónica mínima determinada.

En este caso, se obtiene una estabilidad máxima de la emulsión Pickering para un valor de fuerza iónica correspondiente a una concentración final de NaCl de 0,02 M en dicha emulsión.

45 Sin querer limitarse a ninguna teoría, el solicitante cree que el valor umbral de la fuerza iónica de la fase acuosa a partir del cual se obtiene una estabilidad óptima de la emulsión es aquel para el cual las cargas (contraiones) presentes en la fase acuosa neutraliza las cargas (iones) presentes en los nanocristales.

50 Como se muestra en los ejemplos, la presencia de contraiones en exceso no influye significativamente en las propiedades de estabilidad de la emulsión. Para un exceso masivo de contraiones, que no se ha alcanzado en las condiciones de funcionamiento de los ejemplos, se puede prever una alteración de la estabilidad de la emulsión, debido a una precipitación de los nanocristales.

55 A título indicativo, de acuerdo con un modo de realización particular, para una composición que tiene una fuerza iónica inferior a la fuerza iónica equivalente a 10 mM de NaCl, los nanocristales de celulosa tiene de forma ventajosa una densidad de cargas de superficies máxima de $0,03 e.nm^{-2}$.

60 Para una composición que tiene una fuerza iónica superior a la fuerza iónica equivalente a 10 mM de NaCl, la densidad de cargas de superficie soportada por los nanocristales de celulosa ya no parece ser un parámetro pertinente 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 iónica equivalente a 3 M de NaCl.

5 Los resultados de los ejemplos muestran que, en ciertos modos de realización de una emulsión de acuerdo con la invención, la estabilidad de dichas emulsiones ya es máxima para una fuerza iónica de la composición de 20 mM de NaCl, y manteniéndose el nivel de estabilidad de la emulsión prácticamente sin cambios para todos los valores de fuerza iónica sometidos a prueba, es decir, al menos hasta un valor de fuerza iónica equivalente a la fuerza iónica de 0,5 M de NaCl.

10 De forma alternativa o complementaria, siempre para optimizar la estabilización de las emulsiones, los nanocristales de celulosa comprenden grupos hidrófobos en superficie.

15 La densidad de los grupos hidrófobos en superficie puede ser un parámetro interesante para tener en cuenta la tensión interfacial (naturaleza de la fase acuosa y la fase oleosa).

Dichos grupos hidrófobos se seleccionan de forma ventajosa entre los grupos acetilo, alquilo, arilo, fenilo, bencilo, hidroxibutilo, hidroxipropilo y policaprolactona (o PCL).

20 Los nanocristales de celulosa se incorporan, en general, en la fase acuosa de la composición.

De acuerdo con un modo de realización preferente, la composición de la emulsión de Pickering se estabiliza únicamente por los nanocristales de celulosa, sin la adición de otros compuestos emulsionantes o estabilizantes.

25 En un modo de realización preferente, la composición de la emulsión de Pickering no incluye ninguna partícula sólida, no funcionalizada o funcionalizada, distinta de los nanocristales de celulosa.

30 De forma alternativa, la composición se estabiliza mediante los nanocristales de celulosa, de los que se informa en combinación con al menos otro compuesto que tiene propiedades emulsionantes y/o propiedades estabilizantes, por ejemplo con o sin agente(s) tensioactivo(s).

Por ejemplo, la composición de Pickering de acuerdo con la invención puede contener CTAB (bromuro de hexadeciltrimetilamonio).

35 La composición comprende de forma ventajosa de un 0,035 % a un 2 % en peso, más preferentemente de un 0,05 % a un 1 % en peso, de nanocristales de celulosa con respecto al peso total de dicha composición.

Esta proporción másica de nanocristales de celulosa se puede evaluar, por ejemplo, mediante extracto seco de la fase acuosa o mediante análisis de los azúcares después de la hidrólisis.

40 Se muestra de acuerdo con la invención que se prefiere una cantidad de nanocristales de celulosa suficiente para obtener una tasa de recubrimiento de al menos un 60 % para la preparación de una composición de emulsión de Pickering.

45 En particular, cuando se utiliza una masa de nanopartículas demasiado pequeña con respecto al volumen de aceite, es posible que produzca una coalescencia de las gotitas de la fase hidrófoba de manera que se alcance un recubrimiento mínimo de un 60 %.

50 Para los fines de la presente descripción, la "tasa de recubrimiento" por nanocristales de celulosa representa la proporción de la superficie de las gotitas de fase hidrófoba dispersadas en la fase acuosa, en la interfaz aceite/agua, que está recubierta por los nanocristales de celulosa.

55 La tasa de recubrimiento "C", que es la relación entre (i) la superficie de nanocristales de celulosa presentes en la composición de la emulsión susceptibles de estabilizarse en la interfaz fase interna hidrófoba/fase continua hidrófila y (ii) la superficie total de las gotitas de la fase hidrófoba en dicha composición de la emulsión, se calcula de acuerdo con la siguiente fórmula (I):

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

60 en la que:

- S_p representa la superficie de nanocristales de celulosa susceptibles de estabilizarse interfacialmente presentes en la composición de la emulsión, y

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

La superficie de los nanocristales se asemeja a una superficie de un solo plano, partiendo de la hipótesis de que los

nanocristales están alineados en dicha superficie en una cinta plana.

Por lo tanto, el valor de la superficie de los nanocristales se puede calcular de acuerdo con la siguiente fórmula (II):

5
$$S_p = N_p L l = \frac{m_p}{h \rho_p} \quad (II),$$

con:

10
$$N_p = \frac{m_p}{V_p \times \rho_p} = \frac{m_p}{L \times l \times h \times \rho_p}$$

en la que:

- 15 - S_p representa la superficie de nanocristales de celulosa susceptibles de estabilizarse interfacialmente presentes en la composición de la emulsión,
- N_p es el número de nanocristales de celulosa presentes en la fase acuosa,
- L es la longitud de los nanocristales de celulosa,
- 20 - l es la anchura de los nanocristales de celulosa
- h es la altura de los nanocristales de celulosa
- m_p es la masa de los nanocristales de celulosa, y
- 25 - ρ_p es la densidad de los nanocristales de celulosa

30 La superficie de las gotitas es la superficie en la interfaz aceite/agua, que se ha calculado para cada diámetro medio de gotitas de acuerdo con D(3,2).

Por lo tanto, el valor de la superficie de las gotitas se puede calcular de acuerdo con la siguiente fórmula (III):

35
$$S_d = 4\pi R^2 \times N_g = 4\pi R^2 \times \frac{3V_{oil}}{4\pi R^3} = \frac{3V_{oil}}{R} \quad (III),$$

con:

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

en la que:

- 40 - N_g es el número de gotitas presentes en la emulsión
- S_d es el valor de la superficie de las gotitas de fase hidrófoba,
- 45 - R es el radio medio de las gotitas, y
- V_{aceite} es el volumen total de la fase interna hidrófoba.

El valor final de la tasa de recubrimiento "C" se calcula de acuerdo con la fórmula (I) ya mencionada anteriormente:

50
$$C = S_p / S_d \quad (I),$$

en la que:

- 55 - S_p representa la superficie de nanocristales de celulosa susceptibles de estabilizarse interfacialmente y presentes en la composición de la emulsión,
- S_d representa la superficie total de las gotitas de fase hidrófoba en la composición de la emulsión.
- 60 En la composición de la emulsión de Pickering, la fase dispersada hidrófoba representa de forma ventajosa menos de un 50 % en volumen con respecto al volumen total de la composición.

La fase hidrófoba representa de forma ventajosa de un 5 % a un 45 % en volumen con respecto al peso total de la composición.

- 5 Como se describe a continuación, la fase hidrófoba se selecciona entre aceites vegetales, aceites animales, aceites minerales, aceites sintéticos, disolventes orgánicos hidrófobos y polímeros líquidos hidrófobos.

La composición de la emulsión de Pickering de acuerdo con la invención también puede contener cualquier otro compuesto adecuado para su uso o destino final.

- 10 De este modo, esta composición de la emulsión de Pickering se puede adaptar a la aplicación seleccionada de forma ventajosa entre composiciones alimentarias, composiciones cosméticas, composiciones farmacéuticas y composiciones fitosanitarias.

- 15 De manera conocida y dependiendo de su aplicación, la composición puede contener, por ejemplo, sin ser en modo alguno limitativo, principios activos y adyuvantes tales como conservantes, gelificantes, disolventes, colorantes, etc.

La fase hidrófoba

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

La fase hidrófoba se puede seleccionar entre un alcano o cicloalcano, sustituido o no sustituido.

- 25 Para la fase hidrófoba un alcano que tenga más de 5 átomos de carbono incluye alcanos que tengan más de 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 o más de 17 átomos de carbono, es decir, en particular, de acuerdo con la nomenclatura convencional, alcanos en C₆-C₁₈ y que son de fórmula C_n H_{2n+2}. Dichos alcanos pueden ser lineales o ramificados.

- 30 Dichos alcanos incluyen alcanos lineales, cíclicos o ramificados de los tipos hexano, heptano, octano, nonano, decano, undecano, dodecano, tridecano, tetradecano, pentadecano, hexadecano, heptadecano y octadecano.

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

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

- 40 La fase hidrófoba puede comprender además una mezcla de dichos alcanos, por ejemplo en forma de un aceite de parafina.

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

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

La fase hidrófila

- 50 Por "fase hidrófila" o "fase acuosa" se entiende un líquido inmiscible con la fase hidrófoba. Se usa preferentemente una fase hidrófila que es miscible con agua. La fase hidrófila puede ser agua, como se ilustra en los ejemplos.

- 55 La fase hidrófila puede ser un disolvente hidrófilo, preferentemente un disolvente que lleva grupos hidroxilo, tales como glicoles. Para la fase hidrófila, los glicoles incluyen glicerol y polietilenglicoles.

La fase hidrófila también puede contener agentes hidrosolubles texturizantes, en particular agentes espesantes o viscosificantes, tales como polisacáridos (por ejemplo, dextrano o xantano, siendo el último muy utilizado en aplicaciones alimentarias).

- 60 La fase hidrófila puede consistir, en parte o totalmente, en un líquido orgánico seleccionado entre un alcohol tal como etanol, o también acetona.

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

- 65 Procedimiento para obtener la composición de acuerdo con la invención

El procedimiento para la fabricación de la composición de acuerdo con la invención comprende de forma ventajosa las etapas siguientes:

- 5 (a) el suministro de nanocristales de celulosa tales como los definidos anteriormente, luego
(b) la incorporación dichos nanocristales de celulosa en la fase acuosa de dicha composición, para estabilizar dicha emulsión.

10 Las etapas generales para la fabricación de la emulsión se pueden llevar a cabo de acuerdo con procedimientos convencionales, en particular usados para la fabricación de la emulsión de Pickering.

De este modo, por ejemplo, se puede usar una técnica para obtener una emulsión por ultrasonidos.

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

Los nanocristales de celulosa proporcionados en la etapa (a) se obtienen de forma ventajosa mediante un procedimiento de fabricación a partir de una celulosa.

20 La celulosa se selecciona de forma ventajosa entre al menos una de las celulosas de origen siguiente: vegetal, animal, bacteriano, algal o regenerado a partir de una celulosa transformada de fuentes comerciales.

25 La principal fuente de celulosa es la fibra vegetal. La celulosa está presente en ella como un componente de la pared celular, en forma de haces de microfibrillas.

Una parte de estas microfibrillas está compuesta por celulosa llamada "amorfa", mientras que una segunda parte consiste en la celulosa llamada "cristalina".

30 Los nanocristales de celulosa se derivan de forma ventajosa de la celulosa cristalina aislada a partir de fibras vegetales, por eliminación de la parte amorfa de la celulosa.

Entre las fuentes vegetales, puede citarse, por ejemplo, el algodón, el abedul, el cáñamo, el ramio, el lino y el abeto.

35 Entre las fuentes algales de celulosa, se puede citar, por ejemplo, *Valonia* o *Chladophora*.

Entre las fuentes bacterianas de celulosa, se puede citar *Gluconoacetobacter xylinus* que produce Nata de coco por incubación directamente en leche de nuez de coco.

40 Entre las fuentes animales de celulosa, se puede citar, por ejemplo, el tunicado.

La celulosa también se puede regenerar a partir de una celulosa transformada de fuentes comercialmente, en particular en forma de papel.

45 Se puede citar, por ejemplo, el papel de filtración Whatman (marca registrada) para obtener celulosa de algodón.

La celulosa también puede consistir en una celulosa llamada «mercerizada» (la mercerización consiste en un tratamiento de la celulosa generalmente a base de hidróxido de sodio).

50 Partiendo de esta materia prima celulósica, el procedimiento para la fabricación de nanocristales se selecciona de forma ventajosa entre uno de los siguientes procedimientos: fraccionamiento mecánico, hidrólisis química moderada y disolución/recristalización.

Por "fraccionamiento mecánico" se entiende una operación convencional de homogeneización a alta presión.

55 Por "hidrólisis química moderada" se entiende un tratamiento con un compuesto químico ácido de la celulosa, en condiciones que garanticen la eliminación de su parte amorfa.

El compuesto químico ácido se selecciona de forma ventajosa entre ácido sulfúrico o ácido clorhídrico.

60 Como se describe en los ejemplos a continuación, dependiendo del tipo de ácido, la temperatura y el tiempo de hidrólisis, la carga de superficie puede modularse.

65 De este modo, una hidrólisis por ácido clorhídrico conducirá a un estado de superficie prácticamente neutro, mientras que una hidrólisis por ácido sulfúrico introducirá cargas de sulfatos (grupo SO_3) en la superficie de los nanocristales de celulosa.

Dichos tratamientos de tipo "hidrólisis química moderada" se describen, por ejemplo, en el documento de Elazzouzi-Hafraoui et al. (2008) citado anteriormente en el documento de Eichhorn S.J. et al ("Review: current international research into cellulose nanofibres and nanocomposites". J Mater Sci 2010, 45, 1-33).

Por "disolución/recristalización" se entiende el tratamiento con un disolvente, por ejemplo, ácido fosfórico, urea/NaOH, líquidos iónicos, etc., seguido de recristalización. Dicho procedimiento se describe, por ejemplo, en el documento de Helbert et al (Cellulose. 1998, 5, 113-122).

Antes de su integración en la composición, los nanocristales de celulosa obtenidos se someten de forma ventajosa a un procedimiento de modificación posterior, al final del cual se modifican su densidad de cargas de superficie y/o su hidrofobicidad/hidrofilicidad.

Esta modificación posterior tiene como objetivo optimizar las características de superficie de los nanocristales de celulosa, en particular en función de la emulsión en la que se introducen, a fin de optimizar su estabilización.

Para modificar la densidad de cargas de superficie, el procedimiento de modificación posterior consiste de forma ventajosa en un procedimiento para introducir o hidrolizar grupos en superficie que llevan dichas cargas de superficie.

En este caso, la operación de modificación posterior comprende una etapa de introducción o hidrólisis de grupos de superficie seleccionados entre grupos sulfonato, carboxilato, fosfato, fosfonato y sulfato.

A título indicativo, para la introducción de los grupos de superficie respectivos, es posible llevar a cabo un procedimiento como se describe en el documento de Habibi Y et al. "TEMPO-mediated surface oxidation of cellulose whiskers", Cellulose, 2006, 13(6), 679-687.

De nuevo a título indicativo y a la inversa, para la hidrólisis de dichos grupos de superficie, es posible llevar a cabo un tratamiento ácido como se describe a continuación en la parte de ejemplos o un tratamiento mecánico de tipo sonicación.

En este contexto y de acuerdo con un primer modo de realización, el procedimiento de fabricación consiste en un procedimiento de hidrólisis ácida moderada de la celulosa por ácido sulfúrico, para obtener nanocristales de celulosa provistos de grupos sulfato en la superficie.

Además, el procedimiento de modificación posterior consiste en un procedimiento de hidrólisis controlada de dichos grupos sulfato, concretamente, por ejemplo, mediante tratamiento ácido (seleccionado, por ejemplo, entre ácido clorhídrico o ácido trifluoroacético) durante un tiempo adaptado al grado de hidrólisis deseada.

De acuerdo con un segundo modo de realización, el procedimiento de fabricación consiste en un procedimiento de hidrólisis ácida moderada de la celulosa por ácido clorhídrico.

Además, el procedimiento opcional de modificación posterior consiste en un procedimiento de sulfatación posterior de dichos nanocristales de celulosa. Dicha sulfatación posterior se lleva a cabo de forma ventajosa por tratamiento ácido de los nanocristales con ácido sulfúrico.

Para modificar la hidrofobicidad, el procedimiento de modificación posterior consiste de forma ventajosa en un procedimiento de introducción o hidrólisis de grupos que tienen un carácter hidrófobo.

Entre los grupos hidrófobos que se pueden introducir o eliminar, se pueden citar en concreto grupos alquilo, arilo, fenilo, bencilo, acetilo, hidroxibutilo, hidroxipropilo, policaprolactona (o PCL).

A título indicativo, para la introducción y/o hidrólisis de los grupos de superficie respectivos, se puede hacer referencia a los siguientes documentos de H Lonnerberg et al., "Surface grafting of microfibrillated cellulose with poly(epsilon-caprolactone) - Synthesis and characterization", 2008 European polymer journal 44, 2991-2997, o R. Debashish et al., "Cellulose modification by polymer grafting: a review" Chemical Society Reviews 2009 38 (7) 1825-2148.

La presente invención se ilustra adicionalmente, sin limitación alguna, mediante los ejemplos presentados a continuación.

Figura

La figura 1 ilustra la influencia de la fuerza iónica de la composición de la emulsión sobre la estabilidad de dicha emulsión. En el eje de abscisas, los valores de la fuerza iónica, expresados como concentración molar final de NaCl de la fase acuosa. En el eje de ordenadas, la fracción volumétrica de la emulsión, expresada como porcentaje

volumétrico.

Ejemplo

5 PREPARACIÓN DE UNA EMULSIÓN DE ACEITE EN AGUA DE PICKERING ESTABILIZADA POR NANOCRISTALES DE CELULOSA

A. PROTOCOLOS

10 Protocolo 1: Preparación de nanocristales de celulosa bacteriana

El procedimiento de obtención de los nanocristales de celulosa bacteriana se describe, por ejemplo, en el documento N R Gilkes et al., J of Biological chemistry 1992, 267 (10), 6743-6749.

15 Los fragmentos de BCN se convierten en nanofibrillas en una mezcladora Waring, a máxima velocidad, en una suspensión acuosa que contiene cubitos de hielo para combinar la tensión de cizallamiento y el impacto.

La pasta obtenida de este modo se escurre a través de filtros de poliamida y, a continuación, se suspende en una solución de hidróxido de sodio 0,5 N con agitación en un matraz cerrado durante dos horas a 70 °C.

20 Después de la eliminación de los elementos alcalinos mediante múltiples enjuagues con agua ajustada a pH 8, se realiza una etapa de blanqueo con clorita para obtener un compuesto de tipo holocelulosa, como se describe en Gilkes et al. (Gilkes, N. R.; Jervis, E.; Henrissat, B.; Tekant, B.; Miller, R. C.; Warren, R. A. J.; Kilburn, D. G., The adsorption of a bacterial cellulase and its 2 isolated domains to crystalline cellulose. J. Biol. Chem. 1992, 267 (10), 6743-6749).

Típicamente, una solución de NaClO₂, 17 g/l, se mezcla con un volumen igual de tampón de acetato pH 4,5 (27 g de NaOH + 75 g de ácido acético por litro).

30 A continuación, se suspende la celulosa bacteriana blanqueada y se calienta con agitación a 70 °C durante dos horas con reflujo.

Estas etapas de tratamiento alcalino y blanqueo se repiten al menos una vez, para obtener una pasta blanqueada.

35 Esta celulosa bacteriana se hidroliza a continuación por medio de una solución de ácido clorhídrico (2,5 N, dos horas a reflujo).

Los compuestos ácidos se eliminan mediante las operaciones sucesivas hasta neutralidad: centrifugación (10 000 g durante 5 minutos) y dispersión en una solución purificada de 18 Mohm.

40 Los nanocristales de celulosa obtenidos de este modo se conservan a 4 °C en forma de una suspensión al 1 % con la adición de una gota de CHCl₃ por 250 ml de suspensión.

45 Protocolo 2: Preparación de nanocristales de celulosa bacteriana sulfatados posteriormente

Una suspensión acuosa de nanocristales de celulosa bacteriana al 1,34 %, obtenida de acuerdo con el protocolo 1, se mezcla con una solución de H₂SO₄ 2,2 M (es decir, una proporción 3/2 v/v) con agitación vigorosa a temperatura ambiente.

50 Los nanocristales se depositan luego por centrifugación (10 000 g/5 min).

El producto obtenido se mezcla con perlas de vidrio (diámetro 3 mm) y, a continuación, se centrifuga de nuevo (10 000 g/10 min).

55 Las perlas de vidrio recubiertas con nanocristales sulfatados se conservan secas durante dos horas a 40 °C.

Las perlas se secan a continuación en un desecador en presencia de P₂O₅ a 50 °C durante 14 horas.

60 Los nanocristales de celulosa sulfatados se recuperan lavando las perlas con agua destilada y centrifugando sucesivamente desde 10 000 rpm hasta 76 000 rpm durante 10 a 30 minutos para obtener una suspensión coloidal.

Finalmente, el producto recogido se dializa hasta neutralidad, y los electrólitos residuales se eliminan sobre resina de intercambio iónico (resina de lecho mixto TMD-8, forma de hidrógeno e hidróxido).

65 Protocolo 3: Desulfatación de nanocristales de celulosa bacteriana sulfatados posteriormente

La suspensión de nanocristales de celulosa bacteriana al 2,2 %, sulfatados posteriormente de acuerdo con el protocolo 2, se calienta durante tres horas a 100 °C en HCl 2,5 N y, a continuación, se lava por centrifugación a 6000 rpm durante 5 minutos seis veces

- 5 El producto recogido se dializa a continuación hasta neutralidad, y los electrolitos residuales se eliminan sobre una resina de intercambio iónico (resina de lecho mixto TMD-8).

Protocolo 4: Preparación de nanocristales de celulosa sulfatados derivados de algodón

- 10 El procedimiento de obtención de los nanocristales de celulosa de algodón se describe, por ejemplo, en el documento de Elazzouzi-Hafraoui et al. (2008).

Se humedecen 25 g de papel en 700 ml de agua desionizada; a continuación, la solución se mezcla hasta que se obtiene una mezcla homogénea. El exceso de agua se elimina a continuación por filtración.

- 15 El producto obtenido se suspende en 500 ml de una solución de ácido sulfúrico al 61 %, mantenida a 72 °C con agitación durante 30 minutos.

- 20 La suspensión se enfría a continuación, se lava con agua ultrapura mediante sucesivas centrifugaciones a 8000 rpm durante 15 minutos, y se dializa hasta neutralidad durante tres días con una fase de recepción consistente en agua destilada.

Los electrolitos residuales se extraen a continuación por medio de una resina de lecho mixto (TMD-8, forma hidrógeno e hidroxilo) durante 4 días.

- 25 La dispersión final, que consiste en algodón sulfatado, se conserva a 4 °C.

Protocolo 5: Desulfatación de nanocristales de algodón sulfatado

- 30 La desulfatación de los nanocristales de algodón sulfatados de acuerdo con el protocolo 4 se lleva a cabo mediante tratamiento ácido, por medio de 5 ml de una solución de HCl 5 N o una solución de ácido trifluoroacético 10 N (TFA), añadida a 5 ml de una suspensión de nanocristales de algodón sulfatados a una concentración de 13 g/l.

- 35 Este tratamiento ácido se lleva a cabo en un recipiente cerrado y calentado a 98 °C-100 °C con agitación, durante 1, 2, 5 o 10 horas.

De forma alternativa, se añaden 5 ml de una solución de TFA 10 M a 5 ml de nanocristales de algodón, con incubación durante 10 horas a 80 °C con agitación.

- 40 Los dos productos obtenidos se enjuagaron con agua mediante centrifugación (seis veces, 6000 rpm durante 5-7 minutos).

Protocolo 6: Medición del grado de sulfatación por titulación conductimétrica

- 45 La titulación conductimétrica permite determinar el grado de sulfatación de los nanocristales de celulosa.

Dicho procedimiento se describe, por ejemplo, en el documento de Goussé et al., 2002, Polymer 43, 2645-2651.

- 50 Se mantienen en agitación y desgasificación 50 ml de una suspensión acuosa de nanocristales de celulosa (0,1 % p/v) durante 10 minutos, antes de la titulación con una solución de NaOH 0,01 M.

La cantidad de sulfato injertado se calcula teniendo en cuenta que un solo grupo hidroxilo OH puede sustituirse por unidad de glucosa, lo que da lugar a un grado de sustitución en sulfato (DS) dado por las siguientes ecuaciones:

55
$$DS = (V_{eq} \times C_{NaOH} \times M_w)/m$$

$$M_w = 162/(1 - 80 \times V_{eq} \times C_{NaOH})/m$$

en las cuales:

- 60 V_{eq} es la cantidad de NaOH en ml para alcanzar el punto de equivalencia,

C_{NaOH} es la concentración de NaOH expresada en mol/l,

- 65 M_w es el peso molecular promedio de una unidad de glucosa,

m es la masa de celulosa titulada,

5 80 es la diferencia entre el peso molecular de una unidad de glucosa sulfatada y el peso molecular de una unidad de glucosa no sulfatada.

El valor obtenido con estas ecuaciones debe corregirse por la fracción de unidad glucosídica en superficie (GSF), para obtener el grado de sustitución en superficie designado como "DSs".

10 De acuerdo con la estructura de las cadenas celulósicas, solo los grupos OH primarios (en C6) pueden esterificarse, y solo el 50 % de estos grupos OH son accesibles a la superficie debido a la conformación alterna. El DSs máximo es, por lo tanto, 0,5.

15 Dado que las muestras varían en morfología y para una aplicación general a todas las diferentes partículas celulósicas, se ha definido una ecuación general a fin de determinar el valor de la fracción de glucosa en superficie (GSF) teniendo en cuenta la proporción de la sección transversal (k) independientemente de la longitud de las partículas.

20 De este modo, para una anchura determinada ($W \times l$) y una relación de aspecto (k), se tiene:

$$GSF(k) = \frac{(2 \cdot ((k \cdot 0,596) + 0,532))}{W \cdot l} - 4 \cdot \frac{(k \cdot 0,532 \cdot 0,596)}{W \cdot l^2}$$

Protocolo 7: Microscopía electrónica de transmisión (TEM)

25 Se depositan 20 μ l de una suspensión acuosa de nanocristales de celulosa (0,1 % p/v) en una rejilla de carbono para microscopía electrónica; se absorbe el exceso de disolvente, se marca la muestra añadiendo acetato de uranilo (2 % en agua).

30 Esta rejilla para microscopía electrónica se seca a continuación en un horno a 40 °C.

Las rejillas se observaron a continuación con un microscopio electrónico de transmisión de marca JEOL (80 kV).

Protocolo 8: Preparación de una emulsión H/E estabilizada por nanocristales

35 Se prepara una primera emulsión de Pickering de aceite en agua usando una fase acuosa que contiene una concentración conocida de nanocristales de celulosa.

40 Las otras emulsiones se prepararon usando una proporción de aceite/agua 30/70 a partir de una fase acuosa que contenía nanopartículas a una concentración del 0,5 % en peso, con respecto al peso de la emulsión (sin dilución adicional).

En un tubo Eppendorf, se añaden 0,3 ml de hexadecano a 0,7 ml de la suspensión acuosa; durante 30 segundos, la mezcla se somete a un tratamiento que alterna 2 segundos de tratamiento con ultrasonidos y 5 segundos de reposo.

Protocolo 9: Prueba de estabilidad, microscopía óptica

45 Las emulsiones obtenidas de acuerdo con el protocolo 8 se centrifugan durante 30 segundos a 10 000 g. Dada la diferencia de densidad entre el hexadecano y el agua, se observa formación de espuma. El volumen de la emulsión se evalúa antes y después de la centrifugación.

50 Se incorporan aproximadamente 15 μ l de la solución de Pickering en 1 ml de agua destilada. El producto se mezcla en vórtex, a continuación se deposita una gota en un portaobjetos para su observación bajo el microscopio.

55 El diámetro de las gotitas se mide a partir de las imágenes obtenidas por análisis de imágenes usando un programa "imageJ".

60 Estos resultados se compararon además con la distribución de los tamaños de gota determinada por un dispositivo Malvern MasterSizer que emplea un dispositivo de difracción de la luz con análisis por la ecuación de Fraunhofer. El riesgo de agregación está en este caso limitado por la adición de SDS (dodecilsulfato de sodio) justo antes de la medición.

Protocolo 10: Microscopía electrónica de barrido MEB

65 Para preparar la muestra de emulsión para su observación mediante microscopía electrónica de barrido (MEB), se mezclan 280-380 mg de una mezcla de estireno/iniciador (proporción st: V-65 120:1 peso/peso) con 1,0 a 1,5 ml de solución al 0,5 % de una solución problema de agua, se sonicen durante 1-2 min y se desgasifican con nitrógeno

durante 10 minutos.

La emulsión se obtuvo por ultrasonidos durante 30 segundos (pulso de 3 segundos, separados por 5 segundos).

5 Luego se añaden 500 µl de agua al sistema, tratado a continuación mediante agitación vorticial.

Este sistema se desgasifica con nitrógeno durante 10 minutos, y la polimerización tuvo lugar a 63 °C sin agitación durante 24 horas.

10 La preparación resultante se somete a una etapa de metalización de acuerdo con las técnicas convencionales de microscopía electrónica de barrido, antes de la observación.

Para su observación mediante microscopía electrónica de barrido, la muestra de emulsión puede prepararse además con otro iniciador, concretamente AIBN (azobisisobutironitrilo), de acuerdo con el siguiente protocolo:

15 - desgasificación y agitación de 17,5 ml de suspensión de nanocristales a 3 g/l 50 mM, durante 10 minutos bajo nitrógeno,

20 - adición de 7,5 ml de estireno y de 69,8 mg de AIBN,

- emulsificación por ultrasonidos durante 1 minuto,

- desgasificación durante 10 minutos, y

25 - polimerización con agitación a 70 °C, entre 1 h y 24 h.

La preparación resultante se somete a una etapa de metalización de acuerdo con las técnicas convencionales de microscopía electrónica de barrido, antes de la observación.

30 Protocolo 11: Acetilación de nanocristales de celulosa bacteriana

Se mezclan 5 ml de una suspensión de nanocristales de celulosa bacteriana al 1,34 % con 40 ml de una solución de ácido acético al 100 %.

35 El agua se reemplaza gradualmente por ácido acético por destilación en un evaporador rotatorio (la temperatura del baño de agua es inferior a 40 °C), a continuación se centrifuga cinco veces (5 minutos a 10 000 g).

Se dividen 40 ml de la muestra de ácido acético en dos partes.

40 Las dos partes se mezclan y se calientan a 40 °C durante 5 minutos y durante 1 minuto con 6 µl de un catalizador al 5 %.

A continuación, se añaden 2,5 ml de una mezcla que consiste en anhídrido acético al 98 % y ácido acético al 100 % (en una proporción 1:1 volumen/volumen).

45 La solución problema se observa bajo luz polarizada para detectar la presencia de cristales líquidos.

La reacción se detiene mediante la adición de agua (proporción 1:1 v/v), bien después de un minuto para una parte (B1) o después de tres minutos para la otra parte (B2).

50 Una ultracentrifugación final (10 000 g durante 10-30 minutos) de todas las soluciones obtenidas permite recoger y enjuagar el producto.

El producto obtenido se mezcla con una resina de lecho mixto durante tres horas y, a continuación, se filtra.

55 Protocolo 12: Acetilación de nanocristales de celulosa de algodón

Se mezclaron 10 ml de una suspensión al 2,4 % en masa de nanopartículas de algodón desulfatadas (véase el protocolo 5 - las nanopartículas se desulfataron con HCl 2,5 N durante 3 h) con 90 ml de ácido acético al 100 %.

60 El agua se reemplaza gradualmente por ácido acético por destilación en un evaporador rotatorio (la temperatura del baño de agua era inferior a 40 °C), luego centrifugación 5 veces 7 minutos a 10 000 g.

Se dividen en 2 fracciones 80 ml de volumen de la muestra en ácido acético.

65 Primer procedimiento

Las dos fracciones se calentaron a 60 °C con 190 µl de catalizador, concretamente una solución de ácido sulfúrico al 5 % en peso en ácido acético, y se agitaron.

5 Después de 5 minutos, se añaden 5 ml de una mezcla que consiste en anhídrido acético al 98 % y de ácido acético al 100 %, en una proporción de 1:1 v/v; y la solución de la muestra se observó bajo luz polarizada para observar el comportamiento de los cristales líquidos de la muestra.

10 Cuando se observa la transformación en cristales líquidos, se detiene la reacción por enfriamiento en un baño de agua helada; se vierten además 10 ml de ácido acético al 80 % en el matraz y luego agua, es decir, la mitad del volumen de solución en la muestra.

La reacción se detiene después de 1,5 minutos para la primera fracción y después de 0,5 minutos para la segunda.

15 Finalmente, se lleva a cabo una ultracentrifugación (65 000 rpm durante 15-30 min) de la solución de la segunda muestra obtenida a fin de recoger y enjuagar los productos; los electrólitos residuales se extraen mediante resina de intercambio iónico durante 3 horas antes de la filtración.

Segundo procedimiento

20 Una parte de la muestra (c-wh 3) se calienta a 40 °C con agitación, durante 5 minutos, luego después de 1 minuto con 190 µl de catalizador al 5 % (véase anteriormente).

25 A continuación, se añaden 5 ml de una mezcla que consiste en anhídrido acético al 98 % y ácido acético al 100 % (proporción 1:1 v/v), y la solución problema se observa bajo luz polarizada para verificar el comportamiento de los cristales líquidos de la muestra.

Se detiene la reacción después de 1 minuto mediante la adición de agua en la proporción 1:1 v/v.

30 La otra parte (c-wh 4) se calienta a 40 °C con agitación durante 5 minutos, y a continuación se añaden 5 ml de una mezcla que consiste en anhídrido acético al 98 % y ácido acético al 100 % en una proporción de 1:1 v/v.

A continuación, se añaden a la mezcla 6 µl de un catalizador al 5 % (véase anteriormente); se detiene la reacción en 1 minuto al llevar el agua a una relación 1:1 v/v.

35 Finalmente, todas las soluciones se someten a ultracentrifugación (65 000 rpm durante 15-30 min) para recoger y enjuagar los productos; los electrólitos residuales se extraen mediante resina de intercambio iónico durante 3 horas antes de la filtración.

40 Acetilación con anhídrido acético al 98 %

Se mezclan 10 ml de una solución al 2,4 % en peso de fibrillas ("whiskers") de algodón desulfatadas (c-wh se desulfata con HCl 2,5 N durante 3 h) con 90 ml de ácido acético al 100 %; el agua se elimina por medio de un evaporador rotatorio (la temperatura del baño de agua obtenida es inferior a 40 °C).

45 a) Se añaden 4 ml de anhídrido acético al 98 % a 40 ml de la solución obtenida después de agitar durante 1 minuto, a continuación se añaden aproximadamente 90 ml de agua (1AA-d-c-WH).

50 b) Se añaden 12 ml de anhídrido acético al 98 % en 40 ml de solución obtenida después de agitar durante 15 minutos, a continuación se añaden aproximadamente 80 ml de agua (3AA-d-c-WH).

Las dos muestras se lavan con agua mediante centrifugación y se conservan con un lecho de resina durante 3 horas, luego se filtran.

55 Acetilación por etapas por medio de anhídrido acético al 98 %

Se mezclan 5 ml de una solución al 2,4 % en peso de fibrillas ("whiskers") de algodón desulfatadas (c-wh se desulfata con HCl 2,5 N durante 3 h) con 0,5 ml de ácido anhídrido al 98 %, manteniéndose la reacción durante 10 minutos con agitación; el mismo procedimiento se repite 9 veces.

60 La mezcla se divide a continuación en dos fracciones:

a) una fracción se lava con agua por centrifugación y se conserva con un lecho de resina durante 3 h, a continuación se filtra (fracción STW1)

65 b) la otra fracción se conserva en presencia del ácido anhídrido a 4 °C durante la noche, se enjuaga con agua por

centrifugación y se conserva con un lecho de resina durante 3 h, a continuación se filtra (fracción STW2)

Protocolo 13: Injerto en superficie de poli-e-caprolactona

5 El injerto en superficie de poli-e-caprolactona se lleva a cabo en BCN y fibrillas (“whiskers”) de algodón.

Se mezclaron 50 mg de fibrillas (“whiskers”) secas con 860 mg de e-caprolactona durante 48 h.

10 A continuación, se añaden 800 mg de poli-e-caprolactona y la dispersión se somete a un tratamiento de 5×10 segundos.

Se añaden 1,5 μ l de alcohol bencílico como coiniador y, a continuación, se desgasifica con nitrógeno durante 30 minutos.

15 La solución se calienta a 95 °C; se añaden 27 μ l de Sn(Oct)₂ en una atmósfera de nitrógeno.

La polimerización se continúa durante 18 h, antes de la redispersión del producto en 2 ml de THF, se filtra y se enjuaga con metanol.

20 B. RESULTADO

Resultado 1: Estabilización de una emulsión por medio de nanopartículas de celulosa bacteriana

25 Los nanocristales de celulosa bacteriana se obtienen de acuerdo con el protocolo 1 y consisten en partículas neutras.

Como se muestra a continuación, estos nanocristales presentan excelentes propiedades para formar emulsiones de Pickering particularmente estables.

30 Dichas emulsiones se prepararon de acuerdo con el protocolo 8, para diferentes proporciones de hexadecano/fase acuosa, concretamente desde una proporción de 10:90 hasta una proporción de 50:50.

De este modo, la concentración de partículas en las emulsiones varía con la fracción volumétrica del agua en dichas emulsiones.

35 El análisis por microscopía óptica de acuerdo con el protocolo 9 proporciona los resultados especificados en la tabla 1 a continuación.

Tabla 1

Muestra (proporción hexadecano:agua)	número de gotas	Área media μm^2	Dn medio μm	Dw medio μm	polidispersidad	% de agregados
10-90	250	6,4	3,0	3,4	1,15	95,0
20-80	250	7,9	3,3	3,7	1,12	92,2
30-70	855	13,9	4,3	4,8	1,12	71,3
40-60	252	18,1	4,9	5,5	1,12	65,4
50-50	259	24,0	5,6	6,4	1,14	35,8

40 Las medidas del número de gotas, área media, diámetro medio en número (Dn medio), diámetro medio en peso (Dw medio), polidispersidad (Dw medio/Dn medio) y porcentaje de agregados, se realizaron según lo descrito por Putaux et al. (1999, International journal of Biological Macromolecules, Vol. 26 (2-3): 145-150) y por Barakat et al. (2007, Biomacromolecules, Vol. 8 (4): 1236-1245).

45 Para estas diferentes proporciones, se mide aproximadamente el mismo diámetro medio por análisis de imágenes, concretamente $4 \pm 2 \mu\text{m}$ con una polidispersidad de $1,13 \pm 0,2$.

50 La principal diferencia se refiere a la velocidad de agregación que disminuye al disminuir la cantidad de partículas por ml de fase hidrófoba.

De acuerdo con estos resultados y a fin de limitar los fenómenos de agregaciones, se selecciona una proporción de 30:70 para los experimentos siguientes.

55 La estabilidad de las muestras, conservadas en diferentes condiciones (tiempo, temperatura), se evalúa de acuerdo

con el protocolo 9.

No se observó ninguna variación en el tamaño de las gotitas, ni siquiera después de mantener las muestras durante un mes a 4 °C o 40 °C, o hasta 3 horas a 80 °C.

Resultado 2: Caracterización de los nanocristales de celulosa

Los nanocristales de celulosa bacteriana obtenidos de acuerdo con los protocolos 1 a 5 se caracterizan por microscopía electrónica de transmisión conforme al protocolo 7. Las características de las superficies de los nanocristales y las características de la emulsión se determinan de acuerdo con los protocolos 6 y 9.

Los resultados obtenidos se resumen en la siguiente tabla 2.

Tabla 2

Muestra	Longitud/espesor en nm	DS (sulfato/azúcar)	Densidad de carga (sulfato/nm ²)	N.º de carga por nanocristal	Tamaño de las gotitas (µm) Dnou imagen J
BCN	919/17	1,96*10 ⁻⁴	9,68*10 ⁻⁴	42.9	4.3
s-BCN	644/17	2,41*10 ⁻³	1,19*10 ⁻²	370.7	6.8
d-s-BCN	624/12	5,92*10 ⁻⁴	2,92*10 ⁻³	69.8	3.4
Algodón t0	189/13	7,92.10 ⁻³	0,123	952	11.0
Algodón t1h HCl	157/13	2,23.10 ⁻³	0,035	224	6.7
Algodón t2h	147/13	1,21.10 ³	0,019	114	3.2
Algodón t5h	141/13	1,24.10 ⁻³	0,019	123	3,7
Algodón t10h	117/13	1,32.10 ⁻³	0,020	100	5.9
Algodón t10h TFA	128/13	1,08.10 ⁻³	0,017	89	5.3

Se especifica que para la tabla 2, la densidad de carga se puede expresar indistintamente en e.nm⁻² o en sulfato.nm⁻², porque el ion sulfato lleva una sola carga.

Los análisis mediante microscopía electrónica muestran que todas las partículas tienen una forma alargada.

Para todos los nanocristales de celulosa, la hidrólisis por ácido sulfúrico tiende a disminuir la longitud. Por ejemplo, el BCN se reduce de 919 nm a 644 nm sin una variación significativa de la anchura después de la etapa de sulfatación.

En cambio, la hidrólisis por ácido clorhídrico tiende a pelar la superficie de los nanocristales de celulosa y, de este modo, a reducir o incluso eliminar los grupos sulfato, y, por lo tanto, reducir o eliminar las cargas correspondientes.

La emulsión correspondiente es muy estable (al menos un año) y resiste a la congelación y al calentamiento (2 horas a 80 °C).

Resultado 3: Influencia de la fuerza iónica en la estabilidad de las emulsiones

Se prepararon emulsiones a partir de nanocristales de celulosa de algodón como se describe en el protocolo 8

Para la preparación de emulsiones, se ha usado un medio acuoso que tiene valores crecientes de fuerza iónica.

Más específicamente, se usaron medios líquidos acuosos que tenían valores crecientes de concentración final de NaCl, como se indica en la tabla 3 a continuación.

Tabla 3

NaCl (M)	Espesor (mm)	% volumétrico	Zeta pot (mV)
0	0	0	-55
0,02	9,2	42.6	-35
0,05	9,6	44.4	-25
0,08	9,5	44.0	-10

ES 2 677 017 T3

0,1	9	41.9	~0
0,2	9,08	42.0	ND*
0,5	7,97	36.9	ND

*ND: No determinado

Los resultados se muestran simultáneamente en la tabla 3 y la figura 1.

- 5 Los resultados presentados en la tabla 3 muestran la evolución del espesor de la emulsión obtenida después de la formación de espuma (centrifugación); se trata de un valor relativo en mm, un porcentaje volumétrico emulsionado y valores de potencial zeta que ilustra el nivel de apantallamiento de las cargas de superficie por el NaCl añadido.
- 10 Los resultados presentados en la figura 1 ilustran aún más claramente la obtención de una estabilidad de las emulsiones de la invención, tan pronto como se alcanza el valor de fuerza iónica proporcionado por una concentración final de NaCl de 20 mM.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Composición en forma de una emulsión que comprende una fase hidrófoba dispersada en una fase acuosa, conteniendo dicha composición partículas emulsionantes capaces de estabilizar dicha emulsión, caracterizada porque al menos algunas de dichas partículas consisten en nanocristales de celulosa de forma alargada que cumplen las características siguientes: una longitud comprendida entre 25 nm y 1 μm , y una anchura comprendida entre 5 y 30 nm.
- 10 2. Composición de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizada porque los nanocristales de celulosa cumplen las características siguientes: una longitud comprendida entre 100 nm y 1 μm , y una anchura comprendida entre 5 y 20 nm.
- 15 3. Composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 y 2, caracterizada porque los nanocristales de celulosa tienen una proporción longitud/anchura superior a 1 e inferior a 100, y preferentemente comprendida entre 10 y 55.
- 20 4. Composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizada porque los nanocristales de celulosa tienen una densidad de carga de superficie máxima de $0,5 \text{ e.nm}^{-2}$, que corresponde a una carga eléctrica elemental.
- 25 5. Composición de acuerdo con la reivindicación 4, caracterizada porque los nanocristales de celulosa comprenden una superficie cargada, con una densidad de cargas de superficie comprendida entre $0,01 \text{ e.nm}^{-2}$ y $0,31 \text{ e.nm}^{-2}$.
- 30 6. Composición de acuerdo con la reivindicación 5, caracterizada porque los nanocristales de celulosa comprenden cargas de superficie negativas, comprendiendo dichos nanocristales de celulosa preferentemente, en la superficie, grupos aniónicos que llevan las cargas de superficie, seleccionándose dichos grupos aniónicos de los nanocristales de celulosa preferentemente entre grupos sulfonato, carboxilato, fosfato, fosfonato y sulfato.
- 35 7. Composición de acuerdo con la reivindicación 4, caracterizada porque los nanocristales de celulosa tienen una superficie neutra, siendo la densidad de cargas de superficie inferior o igual a $0,01 \text{ e.nm}^{-2}$.
- 40 8. Composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, caracterizada porque dicha composición comprende una fuerza iónica inferior a una fuerza iónica equivalente a 10 mM de NaCl, y porque los nanocristales de celulosa comprenden una densidad de carga de superficie máxima de $0,03 \text{ e.nm}^{-2}$.
- 45 9. Composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, caracterizada porque los nanocristales de celulosa comprenden, en la superficie, grupos hidrófobos, consistiendo preferentemente dichos grupos hidrófobos de los nanocristales de celulosa en grupos acetilo.
- 50 10. Composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, caracterizada porque:
- comprende de un 0,035 % a un 2 % en peso, preferentemente de un 0,05 % a un 1 % en peso, de nanocristales de celulosa con respecto al peso total de dicha composición, y/o
- la fase hidrófoba representa de un 5 % a un 45 % en peso con respecto al peso total de dicha composición, y/o
- la fase hidrófoba se selecciona entre aceites vegetales, aceites animales, aceites minerales, aceites sintéticos, disolventes orgánicos hidrófobos y polímeros líquidos hidrófobos, y/o
- 55 - la composición se selecciona entre composiciones alimentarias, composiciones cosméticas, composiciones farmacéuticas y composiciones fitosanitarias.
- 60 11. Uso de nanocristales de celulosa como se definen en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, para estabilizar una emulsión que comprende una fase hidrófoba dispersada en una fase acuosa.
- 65 12. Procedimiento para la fabricación de una composición en forma de emulsión de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, caracterizado porque comprende las siguientes etapas:
(a) el suministro de nanocristales de celulosa como se definen en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, después

(b) la incorporación dichos nanocristales de celulosa en la fase acuosa de dicha composición, para estabilizar dicha emulsión.

5 13. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 12, caracterizado porque los nanocristales de celulosa proporcionados en la etapa (a) se obtienen mediante un procedimiento de fabricación a partir de una celulosa, seleccionándose dicho procedimiento de fabricación entre uno de los siguientes procedimientos: fraccionamiento mecánico, hidrólisis química moderada y disolución/recristalización,

10 estando seguido preferentemente dicho procedimiento de fabricación de nanocristales de celulosa por un procedimiento de modificación posterior de dichos nanocristales de celulosa al final del cual se modifican su densidad de carga de superficie y/o su hidrofobicidad,

15 consistiendo preferentemente dicho procedimiento de modificación posterior un procedimiento de introducción o de hidrólisis de los grupos que llevan las cargas de superficie.

comprendiendo preferentemente dicha operación de modificación posterior una etapa de introducción o de hidrólisis de grupos de superficie seleccionados entre grupos sulfonato, carboxilato, fosfato, fosfonato y sulfato.

20 14. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 13, caracterizado porque:

- el procedimiento de fabricación consiste en un procedimiento de hidrólisis ácida moderada de la celulosa por ácido sulfúrico, para obtener nanocristales de celulosa provistos de grupos sulfato en la superficie, y porque el procedimiento opcional de modificación posterior consiste en un procedimiento de hidrólisis controlada de dichos grupos sulfato, o

25 - el procedimiento de fabricación consiste en un procedimiento de hidrólisis ácida moderada de la celulosa por ácido clorhídrico, y porque el procedimiento opcional de modificación posterior consiste en un procedimiento de sulfatación posterior de dichos nanocristales de celulosa.

30 15. Procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 13 o 14, caracterizado porque la celulosa se selecciona entre al menos una de las celulosas de origen siguiente: vegetal, animal, bacteriana, algal o regenerada a partir de una celulosa transformada de fuentes comerciales.

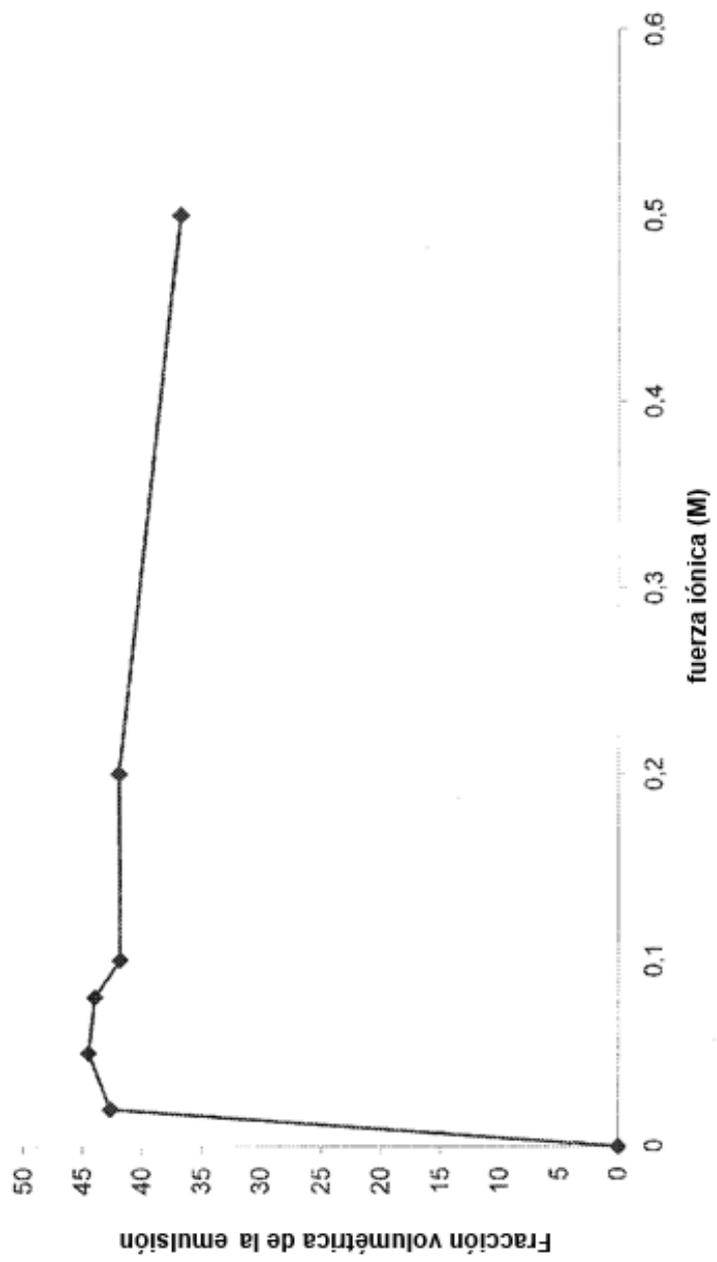


Figura 1