

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 700 662**

51 Int. Cl.:

**C09J 103/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.11.2010** **E 10191147 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.09.2018** **EP 2455436**

54 Título: **Composición de adhesivo a base de almidón**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**18.02.2019**

73 Titular/es:

**AGRANA STÄRKE GMBH (100.0%)  
Friedrich-Wilhelm-Raiffeisen-Platz 1  
1020 Wien, AT**

72 Inventor/es:

**MANN, KARL-JÜRGEN;  
KOZICH, MARTIN;  
GRÜLL, DIETMAR y  
WASTYN, MARNIK MICHEL**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

**ES 2 700 662 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 de adhesivo a base de almidón

5 La presente invención se refiere a una composición de adhesivo basada en almidón modificado enzimáticamente (EMS), que se ha tratado con una enzima de ramificación, que presenta una distribución de masa molecular altamente homogénea y propiedades de adhesión excelentes.

10 El almidón es un polímero de unidades de glucosa que están enlazadas mediante enlaces alfa-1,4-glicosídicos y alfa-1,6-glicosídicos. Los almidones con mayor ramificación presentan enlaces alfa-1,6-glicosídicos adicionales. Básicamente se diferencian dos fracciones del almidón, en concreto amilosa y amilopectina. La amilosa está compuesta por cadenas prácticamente no ramificadas de unidades de glucosa anhidro (AGU), que están enlazadas preferentemente mediante enlaces alfa-1,4-glicosídicos. En la amilopectina están enlazadas del mismo modo numerosas unidades de glucosa anhidro entre sí, solo que la masa molecular y el número de las ramificaciones son claramente mayores. El grado de ramificación de la amilopectina natural por norma general asciende a aproximadamente el 3-4 %, por consiguiente, de 100 enlaces entre las unidades de glucosa anhidro, 96-97 recaen en enlaces alfa-1,4 y 4-3 en enlaces alfa-1,6. La cantidad de la amilopectina prevalece con mucho en los tipos de almidón usados técnicamente y la mayoría de las veces se extiende aproximadamente al 80 %. Así, como por ejemplo, la proporción de amilosa en maíz es el 23 %, el trigo el 19 %, el arroz el 14 %, en patatas el 18 % y en almidón de maíz ceroso aproximadamente el 3 % (valores promedio).

20 Aparte del diferente grado de ramificación, también es diferente el grado de polimerización de amilopectina y amilosa. Por ejemplo, en el almidón de maíz los grados de polimerización (número de las unidades de glucosa anhidro enlazadas por molécula de almidón) en la amilosa se encuentran entre 260 y 800 y en la amilopectina entre 280 a 35000. En los almidones de patata existen mayores grados de polimerización. En amilosa de 240 a 3800 y para amilopectina entre 1100 y 220000.

25 El almidón nativo se presenta en la naturaleza en granulado o grano de almidón y dado el caso se disgrega para distintas aplicaciones industriales. Ya que el almidón nativo no es soluble en agua, se pasa a una forma soluble a temperatura elevada o por acción de álcali. A pesar de esto, la fracción de amilosa la mayoría de las veces es poco soluble en agua y después del enfriamiento se pueden formar agregados cristalinos por formación de puentes de hidrógeno. Este procedimiento se denomina retrogradación. En general, la amilopectina es más soluble y tiende menos a la retrogradación. A pesar de esto, tampoco en los almidones de amilopectina se puede conseguir una estabilidad a largo plazo de una solución.

30 En la técnica del envasado aumenta constantemente la exigencia de elevadas velocidades de trabajo en el procesamiento de papel a máquina. Son elementos esenciales las cualidades de deslizamiento de la cola, el grado de espesor y la capacidad de adhesión de los papeles de envasado, así como la velocidad de secado de los adhesivos usados. Para poder producir una gran cantidad de envases por unidad de tiempo, se exige al adhesivo aplicado que el mismo en la medida de lo posible fragüe rápidamente. En este caso, los cordones de adhesión en el intervalo de pocos segundos al menos se deben haber solidificado para que sea posible un transporte del envase en la línea de envasado.

35 El almidón es un material de partida muy extendido para adhesivos. Por adhesivos se entiende según la norma DIN 16.920 sustancias no metálicas que unen partes para unir mediante adherencia de superficies y resistencia interna. "Adhesivo" es un término general e incluye otros términos habituales que se han seleccionado según puntos de vista físicos, químicos o de técnica de procesamiento, tales como cola, engrudo, adhesivo de dispersión, adhesivo de contacto o sensible a la presión y muchos otros. De los adhesivos verdaderos se diferencian los adhesivos puros que se pueden aplicar solo como agente de tratamiento superficial, tales como por ejemplo agentes de revestimiento o encolantes.

45 Por norma general, los agentes de adhesión de almidón o revestimiento se obtienen mediante calentamiento del almidón. Esto conduce a la rotura de los granos de almidón y a una formación de un gel fluido de almidón. En esta forma, el almidón no está presente como sustancia disuelta, sino como suspensión coloidal. Una pasta de este tipo ya tiene una alta viscosidad y se puede emplear como agente de adhesión o agente de revestimiento. Los adhesivos de almidón modernos o los engrudos pueden estar modificados para, por un lado, reducir la viscosidad y, por otro lado, para obtener agentes lo más estables posibles de adhesión o revestimiento. Estos tratamientos pueden comprender etapas de tratamiento enzimáticas, físicas y/o químicas tales como tratamiento con álcali, tratamiento con ácido y oxidación. Mediante tales procedimientos se puede reducir también la temperatura de formación de gel, de tal manera que el almidón está presente en forma de gel ya a temperatura ambiente.

55 En las últimas décadas se han establecido colas sintéticas a base de poli(alcohol vinílico) o poli(acetato de vinilo), que se pueden obtener con contenidos de sólidos de hasta 65 %. A pesar de esto, los adhesivos basados en almidón presentan algunas ventajas sustanciales con respecto a las colas sintéticas:

1. Materia prima renovable (*Green Label*)
2. Ningún constituyente volátil que contamine el medio ambiente en el aire de secado
3. Máxima reducción de la cantidad de cola en la hendidura de cola

4. Fácil desecho de los residuos de cola
5. Manejo no complicado
6. Fluidez muy buena

5 Las dextrinas son productos de almidón (muy) degradados o escindidos hidrolíticamente. Con la formación de dextrinas, mediante calor y tratamiento con ácido se escinde el almidón en fragmentos poliméricos pequeños que pueden repolimerizar dado el caso hasta dar un polímero altamente ramificado de tamaño medio. En función del diferente tratamiento con ácido y térmico se diferencia entre dextrinas blancas y dextrinas amarillas. Las maltodextrinas se producen por la degradación enzimática de almidón con amilasas. En función del tipo de amilasa se obtienen diferentes productos. Por la escisión hidrolítica del almidón en fragmentos de un menor tamaño aumenta la proporción de los extremos reductores y, por tanto, el valor de DE. A diferencia del almidón, las dextrinas habitualmente son solubles en agua. A pesar de esto, incluso en las dextrinas puede presentarse una retrogradación en el caso de un almacenamiento líquido prolongado, este es el caso en particular con concentraciones elevadas.

15 El campo de aplicación de los adhesivos que contienen almidón se extiende del uso industrial amplio hasta adhesivos cotidianos en los que destaca ventajosamente en particular la degradabilidad biológica y la fabricación respetuosa con el medio ambiente. Así se emplean los adhesivos de almidón con frecuencia para revestimientos de pared y papeles pintados, para la producción y envases de cigarrillos, para el etiquetado de botellas, para sobres, para la producción de cartón corrugado, como adhesivos de envasado, en la fabricación de cubiertas de libros o en la adhesión de papel. En la industria del papel se emplea el almidón también como agente de revestimiento para garantizar por ejemplo la resistencia de la tinta. En función de la aplicación se emplean derivados de almidón solubles, almidones modificados con una determinada proporción de sólidos hasta engrudos viscosos, elásticos y formadores de hilos. En particular en la adhesión de materiales de papel impresos se demanda una viscosidad más bien reducida y una capacidad de aplicación uniforme del almidón que no conduzca a ningún hinchamiento, o uno reducido, del papel y una deformación asociada a ello. Adicionalmente, el almidón debe presentar una elevada resistencia de adhesión. Estas propiedades con frecuencia son contradictorias en el caso de los almidones convencionales.

25 El documento EP 0 990 687 A2 describe un adhesivo a base de almidón de patata-amilopectina. El almidón de patata-amilopectina es un almidón de amilopectina especial que se prepara mediante una patata modificada mediante ingeniería genética que se inhibió en su formación de amilosa. Este almidón de patata de amilopectina presenta propiedades especiales, tiene un alto peso molecular y por normal general para aplicaciones especiales se modifica o se degrada en parte.

35 El documento EP 1 369 432 A2 se refiere a un almidón muy ramificado para la aplicación en la industria de los productos alimenticios y farmacéutica. Este almidón se produce mediante aplicación de una enzima de ramificación y se caracteriza por una osmolaridad biológicamente compatible. La osmolaridad está ajustada de forma óptima en particular al campo intestinal. La enzima de ramificación empleada procede por ejemplo del microorganismo *B. Stearothermophilus* o *Chlamydomonas reinhardtii* tal como se describe en el documento WO 00/18893 A1. Estos almidones obtenidos finalmente también adecuados para la industria de los productos alimenticios y farmacéutica son adecuados no solo como adhesivo sino que deben favorecer una digestión controlada.

40 El documento US 2003/0109010 se refiere a procedimientos para la modificación de almidón mediante enzimas de ramificación, por ejemplo, de *E. Coli*, patata, *Bacillus megaterium* o *Bacillus stearothermophilus*. Mediante el empleo de las enzimas de ramificación se aumenta el grado de ramificación y la proporción de los azúcares reductores y se reduce la masa molecular promedio así como la viscosidad. Los almidones modificados se emplean particularmente para la modificación de la naturaleza de productos alimenticios y de la sensación en boca.

45 El documento WO 03/106502 A1 se refiere a dextrinas modificadas enzimáticamente con un grado de polimerización (Degree of Polymerisation, DP) de más de 4 000, que en esencia están exentas de estructuras cíclicas. En este caso se emplea una enzima de ramificación de la especie *Rhodothermus-Spezies*, tal como por ejemplo *Rhodothermus obamensis* o *Rhodothermus marinus*. Estas enzimas de ramificación se discutieron por primera vez en el documento WO 00/58445 A1. Los almidones muy ramificados se deben usar como aditivo para productos alimenticios o en bebidas o como agente de revestimiento o encolante en la industria papelera.

50 El documento EP 0 690 170 B1 se refiere a un procedimiento para el encolado de la superficie de papel, como un tratamiento superficial puro, con un agente encolante a base de almidón. Este almidón puede estar modificado por una enzima de ramificación (E.C. 2.4.1.18) o un ciclodextrinoglucosiltransferasa (E.C. 2.4.1.19).

55 La presente invención se basa en el objetivo de poner a disposición nuevos adhesivos que presenten una viscosidad reducida entre otras cosas con un contenido alto en sólidos, un poder de adhesión extremadamente elevado así como una estabilidad marcada a largo plazo en forma líquida, de tal modo que se posibilite un almacenamiento en forma de una composición líquida. Este objetivo se ha resuelto mediante una composición de adhesivo de acuerdo con la invención que contiene almidón modificado enzimáticamente que se cambió de forma artificial mediante modificación de un almidón de partida por una enzima de ramificación. En especial, este objetivo se ha resuelto mediante los objetos de las reivindicaciones. De acuerdo con la presente invención se ha constatado que estos derivados de almidón modificados de forma especial, basados en la modificación enzimática mediante una enzima

de ramificación presentan un poder de adhesión extremadamente elevado. Adicionalmente, estos derivados de almidón tienen la ventaja de una estabilidad extremadamente alta a largo plazo en forma acuosa o líquida. Los anteriores adhesivos o engrudos de almidón a causa de la deficiente estabilidad a largo plazo se pusieron a disposición solo como sólidos a introducir mediante agitación justo antes de la aplicación. Ahora, la presente invención permite la aplicación de composiciones de adhesivo que contienen almidón líquidas, en particular acuosas, que se pueden almacenar a lo largo de meses sin espesarse y sin solidificarse.

En una forma de realización especial, la presente invención se refiere por tanto a una composición de adhesivo que comprende almidón ramificado enzimáticamente con un índice de estabilidad de viscosidad SI de menor o igual 1,3, determinado por el cociente de la viscosidad después de 14 días y la viscosidad después de 2 horas tras la preparación de la composición, teniendo el almidón un peso molecular  $M_w$  medio (medio en peso), medido por dispersión de luz, de 60 kDa a 300 kDa.

Estos almidones modificados enzimáticamente se pueden emplear con éxito para la adhesión. Por tanto, la presente invención se refiere en primer plano a una composición de adhesivo o a un engrudo. En el presente documento se denomina "almidón" no solo la sustancia de partida (almidón nativo o modificado para el tratamiento con enzima), sino también los productos modificados enzimáticamente de acuerdo con la invención que se pueden obtener sintéticamente mediante el tratamiento *in vitro* con una enzima de ramificación.

En formas de realización especiales, estos almidones tienen un valor de DE (equivalente a DE dextrosa) de menor o igual 1. El equivalente a DE dextrosa (DE) de una mezcla de polisacáridos indica la parte porcentual de azúcar reductor en la sustancia seca. Se corresponde con la cantidad de glucosa (=dextrosa) que por 100 g de sustancia seca tiene la misma capacidad de reducción. El valor de DE es una medida de hasta qué punto se ha producido la degradación de polímero hidrolítica, por tanto, los productos con un bajo valor de DE tienen una alta proporción de polisacáridos y un bajo contenido en azúcares de bajo peso molecular, mientras que los productos con un alto valor de DE están compuestos sobre todo ya solo por azúcares de bajo peso molecular. El equivalente a dextrosa del almidón asciende a 0, el de glucosa a 100. El de maltodextrina se encuentra en función del grado de hidrólisis entre 3 y 20. Los productos con valores de DE por encima de 20 se corresponden a los jarabes de glucosa.

El valor de DE extremadamente bajo de los derivados de almidón de acuerdo con la invención muestra que las moléculas de almidón se diferencian de las moléculas de almidón que se pueden obtener mediante escisión hidrolítica, tal como en el caso de las alfa-amilasas (por ejemplo maltodextrinas). En formas de realización especiales, el valor de DE es menor o igual a 1, menor igual 0,9, menor igual 0,8, menor igual 0,7, menor igual 0,6, menor igual 0,5, menor igual 0,4, menor igual 0,35, menor igual 0,3, menor igual 0,25, menor igual 0,2 o menor igual 0,1. El valor de DE se puede determinar por ejemplo mediante procedimientos habituales en el estado de la técnica, tal como por ejemplo según Fehling. Como alternativa, para la determinación de proporciones reducidas en extremos reductores se puede usar también el procedimiento modificado de Park-Johnson de Hizukuri y col. (Carbohydrate Research, 94: 205-213 (1981)). Es particularmente notable que los derivados de almidón de acuerdo con la invención muestran una distribución extremadamente homogénea de la masa molecular, que se puede ajustar por la cantidad de enzima empleada y el tiempo de reacción. Sin quedar limitado a una teoría en particular, parece ser que las moléculas grandes de almidón por tanto, se descomponen en dirección de este intervalo menor y que las moléculas de almidón de menor tamaño se agrupan, ramificándose adicionalmente todas las moléculas de almidón y presentando por tanto un mayor grado de ramificación que las moléculas de partida.

Otra ventaja preferente de los almidones modificados enzimáticamente de acuerdo con la invención es que son de color neutro o blancos. A diferencia de, por ejemplo, dextrinas tostadas coloreadas se obtienen por tanto productos de almidón ramificados que son adecuados para la adhesión de objetos (al menos en parte transparentes). Por tanto se pueden adherir sin problemas objetos o productos en los que el adhesivo podría ser visible o hacerse visible. En particular, esto es un requisito en numerosas aplicaciones en la industria papelera o del cartón. La impresión de color (blanco) se corresponde con una sensación subjetiva de un ser humano de que todos los tres conos en la retina del ojo son estimulados del mismo modo y con una intensidad suficientemente elevada. Por tanto, para la representación del color se ha desarrollado el sistema RGB que refleja el comportamiento en la retina. De acuerdo con el sistema RGB "blanco puro" es 1,0, 1,0, 1,0 (o 100 %, 100 %, 100 %), para la parte de luz roja, verde y azul. De acuerdo con la presente invención, por "blanco" o "de color neutro" se ha de entender cuándo estas partes de luz son aproximadamente iguales, en particular se encuentran en el intervalo del 5 %, preferentemente, el 3 %, en especial en el 1 % de una máxima desviación entre sí.

En formas de realización especiales, la masa molecular  $M_n$  media (media en número) del almidón es 40 kDa (kilodalton) a 600 kDa, establecido mediante dispersión de luz. El almidón modificado de acuerdo con la invención tiene propiedades particularmente ventajosas con una masa molecular  $M_n$  media (media en número) a partir de 40 kDa, establecida mediante dispersión de luz. En formas de realización especialmente preferentes, la masa molecular  $M_m$  media es al menos 45 kDa, al menos 50 kDa, al menos 53 kDa, al menos 55 kDa, al menos 60 kDa, establecida mediante dispersión de luz. Como límite superior, en formas de realización preferentes la masa molecular  $M_n$  media es menor igual a 600 kDa, menor igual a 550 kDa, menor igual a 500 kDa, menor igual a 450 kDa, menor igual a 400 kDa, menor igual a 350 kDa, menor igual a 300 kDa, menor igual a 250 kDa, menor igual a 200 kDa, menor igual a 150 kDa, menor igual a 100 kDa, menor igual a 90 kDa, menor igual a 85 kDa, menor igual a 80 kDa, menor igual a 70 kDa, establecida mediante dispersión de luz.

En la determinación de la masa molecular del almidón se debe diferenciar entre dos procedimientos esenciales, en concreto la determinación de la masa molecular mediante dispersión de luz y la determinación de la masa molecular con respecto a sustancias patrón conocidas (CET convencional). En ambos casos, las moléculas se separan en un sistema de columna con relleno poroso según su volumen hidrodinámico (tamaño molecular en solución) y a continuación se analizan mediante un detector de concentración, en especial un detector de IR (índice de refracción). El eluograma obtenido de este modo (intensidad de señal frente a volumen de elución) se puede calibrar con ayuda de patrones de distribución de masa molecular conocida y estrecha (en especial con patrones de pululano). Si adicionalmente al detector de concentración se usa también un detector sensible a masa molecular (tal como por ejemplo un detector de dispersión de luz láser multiángulo o MALLS), se puede determinar directamente la masa molecular a partir de las señales de los dos detectores. Ya que los derivados de almidón ramificados enzimáticamente de acuerdo con la invención en el comportamiento de elución se diferencian mucho de las moléculas lineales que se usan como patrones, se prefiere la evaluación de la determinación de la masa molecular por el comportamiento de dispersión de luz.

Siempre que se deba recurrir como referencia a la CET convencional con patrones de pululano, en formas de realización preferentes la masa molecular  $M_n$  media de los almidones de acuerdo con la invención es mayor o igual 10 kDa, mayor o igual 11 kDa, mayor o igual 12 kDa, mayor o igual 13 kDa, mayor o igual 14 kDa. De acuerdo con estas formas de realización, la masa molecular media preferentemente es menor o igual 50 kDa, menor o igual 40 kDa, menor o igual 30 kDa, menor o igual 20 kDa, establecido mediante CET convencional con calibración con pululano.

Aparte de la media en número de la masa molecular ( $M_n$ ) también es característica de una composición de almidón la media en peso ( $M_w$ ). La media en peso es mayor que la media en número a causa de la mayor ponderación de las moléculas de almidón de mayor peso molecular. En formas de realización preferentes, la masa molecular  $M_w$  media (media en peso) del almidón, medida mediante dispersión de luz, es de 60 kDa a 3000 kDa, en particular se prefiere que la masa molecular  $M_w$  media ascienda al menos a 70 kDa, en particular preferentemente al menos 80 kDa, al menos 90 kDa, al menos 100 kDa, al menos 105 kDa, al menos 110 kDa, al menos 115 kDa, al menos 120 kDa, al menos 125 kDa, al menos 130 kDa. Además se prefiere que el peso molecular  $M_w$  medio del almidón, medido mediante dispersión de luz, sea menor o igual 3000 kDa, menor o igual 2900 kDa, menor o igual 2800 kDa, menor o igual 2700 kDa, menor o igual 2600 kDa, menor o igual 2500 kDa, menor o igual 2400 kDa, menor o igual 2300 kDa, menor o igual 2200 kDa, menor o igual 2100 kDa, menor o igual 2000 kDa, menor o igual 1900 kDa, menor o igual 1800 kDa, menor o igual 1700 kDa, menor o igual 1600 kDa, menor o igual 1500 kDa, menor o igual 1400 kDa, menor o igual 1300 kDa, menor o igual 1200 kDa, menor o igual 1100 kDa, menor o igual 1000 kDa, menor o igual 900 kDa, menor o igual 800 kDa, menor o igual 700 kDa, menor o igual 600 kDa, menor o igual 500 kDa, menor o igual 400 kDa, menor o igual 300 kDa, menor o igual 200 kDa, menor o igual 170 kDa, menor o igual 150 kDa, menor o igual 140 kDa, menor o igual 135 kDa, menor o igual kDa (POR FAVOR ANA HAZ NOTA DE TRADUCTOR), menor o igual 125 kDa, menor o igual 120 kDa, menor o igual 115 kDa, menor o igual 110 kDa.

Otro parámetro del almidón modificado enzimáticamente de acuerdo con la invención es el índice de polidispersidad, PDI, que se determina por la relación  $M_w/M_n$ . La polidispersidad se corresponde con la anchura de la distribución del perfil de masa molecular del almidón heterogéneo, es decir, no unitario. Sin embargo, se puede señalar que con respecto a otros almidones, en particular almidones de partida, el almidón modificado de acuerdo con la invención es muy homogéneo. El índice de polidispersidad PDI de los productos de acuerdo con la invención habitualmente está entre 1 y 5. En formas de realización preferentes de forma especial, el índice de polidispersidad es menor de 4, menor de 3,5, menor de 3, menor de 2,5, menor de 2,25, menor de 2, menor de 1,9, menor de 1,8, menor de 1,7, menor de 1,6, menor de 1,5, menor de 1,4, recurriéndose en este caso a las masas moleculares  $M_w$  y  $M_n$  establecidas mediante dispersión de luz. Se pueden obtener índices de polidispersidad similares pero ligeramente mayores en la determinación de la masa molecular mediante CET convencional. En este caso preferentemente los índices de polidispersidad preferentemente son menores de 5, menores de 4,5, menores de 4, menores de 3,75, menores de 3,5, menores de 3,25, menores de 3, menores de 2,75, menores de 2,5, menores de 2,25, menores de 2. Preferentemente el perfil de masa molecular, por ejemplo según cromatografía de exclusión por tamaño, presenta solo un único pico con una distribución monomodal de la masa molecular, en particular preferentemente como se representa en las figuras. En formas de realización preferentes al menos un 50 % ( % en peso) del almidón, preferentemente al menos el 60 %, al menos el 70 %, al menos el 80 % o al menos el 90 % se deben asignar a este pico.

Los almidones modificados de acuerdo con la invención que son adecuados para las composiciones de adhesivo de acuerdo con la invención presentan preferentemente ninguna proporción o proporciones reducidas de estructuras cíclicas o en esencia están exentos de estructuras cíclicas. En formas de realización especiales, el almidón presenta en particular menos del 8 % de estructuras cíclicas. Por una estructura de almidón cíclica se entiende todas las unidades de glucosa de la molécula de almidón que están implicadas en una estructura de anillo. Las cadenas laterales, ramificadas o lineales, no se consideran estructura de anillo siempre que no se produzca un cierre de anillo dentro de estas cadenas laterales. Por consiguiente en particular la proporción de las unidades de glucosa anhidro en las estructuras residuales cíclicas del almidón después de tratamiento con glucoamilasa es menor del 8 % de la masa del almidón.

Preferentemente, el almidón modificado de acuerdo con la invención en este intervalo no se diferencia de los

productos de almidón convencionales por ejemplo maltodextrinas. Después de la retirada de las ramificaciones por ejemplo por glucoamilasa, los almidones de acuerdo con la invención y las maltodextrinas convencionales forman residuos similares.

5 Se considera esencialmente exento de estructuras cíclicas un almidón modificado enzimáticamente de acuerdo con la invención cuando la proporción de unidades de glucosa de estructuras cíclicas es menor del 8 % de la masa de almidón, preferentemente menor del 7,5 %, menor del 6 %, menor del 5,5 %, menor del 5 %, menor del 4,75 %, menor del 4,5 %, menor del 4,25 %, menor del 4 %, menor del 3,75 %, menor del 3,5 %, menor del 3,25 %, menor del 3 %, menor del 2,75 %, menor del 2,5 %, menor del 2,25 %, menor del 2 %, menor del 1,75 %, menor del 1,5 %, menor del 1,25 %, menor del 1 %, menor del 0,75 %, menor del 0,5 %, menor del 0,25 %, menor del 0,1 % o incluso el 0 %. En el establecimiento de la proporción de unidades de glucosa de estructuras de almidón cíclicas se entiende que solo se puede valorar la proporción que se encuentra por encima del valor ciego del procedimiento de medición. El valor ciego se puede establecer mediante estructuras de almidón no cíclicas conocidas. Por tanto, son almidones de referencia adecuados normalmente los almidones de partida que sirven como sustancia de partida para la modificación enzimática de acuerdo con la invención del almidón con una enzima de ramificación para la producción del almidón de acuerdo con la invención.

15 En las otras formas de realización pueden estar contenidas estructuras cíclicas en el almidón. Se pueden introducir estructuras cíclicas mediante enzimas adecuadas, tales como por ejemplo ciclodextrinoglucanotransferasas o similares. Por tanto, en determinadas formas de realización el almidón puede contener del 0,1 % al 15 %, preferentemente del 0,5 % al 11 %, de forma particularmente preferente del 1 % al 8 %, de forma especialmente preferente del 2 % al 5 % de estructuras de anillo cíclicas.

20 En el caso de los almidones de mayor ramificación con menores masas moleculares por norma general se toleran mayores proporciones de productos secundarios cíclicos, de tal manera que preferentemente en almidones con una masa moléculas de menos de 60 kDa (masa molecular media Mn), determinada mediante dispersión de luz, independientemente de las proporciones totales que se han mencionado anteriormente de unidades de glucosa en estructuras de almidón cíclicas, la proporción de las unidades de glucosa en estructuras de almidón cíclicas es preferentemente menor del 10 %, menor del 9,5 %, menor del 9 %, menor del 8,5 %, menor del 8 %, menor del 7 %, menor del 6 %, menor del 5 %, o menor que las proporciones que se han mencionado anteriormente.

25 En formas de realización preferentes, la viscosidad del almidón de la composición en una solución acuosa (pura) al 40 % (porcentaje en peso en sustancia seca) es menor de 1 500 mPas, preferentemente menor de 1 200 mPas, menor de 1 000 mPas, menor de 800 mPas, menor de 600 mPas, menor de 500 mPas y/o al menos 100 mPas, al menos 150 mPas, al menos 200 mPas, al menos 250 mPas, al menos 300 mPas. En forma de una solución al 50 % (% en peso) del almidón de forma particularmente preferente la viscosidad es al menos 100 mPas, al menos 150 mPas, al menos 200 mPas, al menos 250 mPas, al menos 300 mPas y/o hasta 8 000 mPas, hasta 7 900 mPas, hasta 7 800 mPas, hasta 7 700 mPas, hasta 7 600 mPas, hasta 7 500 mPas, hasta 7 400 mPas, hasta 7 300 mPas, hasta 7 200 mPas, hasta 7 100 mPas, hasta 7 000 mPas, hasta 6 900 mPas, hasta 6 800 mPas, hasta 6 700 mPas, hasta 6 600 mPas, hasta 6 500 mPas, hasta 6 400 mPas, hasta 6 300 mPas, hasta 6 200 mPas, hasta 6 100 mPas, hasta 6 000 mPas, hasta 5 900 mPas, hasta 5 800 mPas, hasta 5 700 mPas, hasta 5 600 mPas, hasta 5 500 mPas, hasta 5 400 mPas, hasta 5 300 mPas, hasta 5 200 mPas, hasta 5 100 mPas, hasta 5 000 mPas, hasta 4 900 mPas, hasta 4 800 mPas, hasta 4 700 mPas, hasta 4 600 mPas, hasta 4 500 mPas, hasta 4 400 mPas, hasta 4 300 mPas, hasta 4 200 mPas, hasta 4 100 mPas, hasta 4 000 mPas, hasta 3 900 mPas, hasta 3 800 mPas, hasta 3 700 mPas, hasta 3 600 mPas, hasta 3 500 mPas, hasta 3 400 mPas, hasta 3 300 mPas, hasta 3 200 mPas, hasta 3 100 mPas, hasta 3 000 mPas. Esta viscosidad se ajusta en determinadas formas de realización directamente después de la disolución del almidón, después de 2 h o 24 h de almacenamiento y a una temperatura en el interior de 20-25 °C de la solución de producto, en particular a 22,5 °C. Evidentemente, en la composición puede variar la viscosidad a causa de diversos aditivos. Por tanto se recurre como propiedad de material del almidón por tanto a una solución acuosa pura para la determinación de la viscosidad del almidón. En formas de realización particularmente preferentes, también la composición de adhesivo muestra estos valores de la viscosidad.

30 Por el empleo de acuerdo con la invención de una enzima de ramificación se aumenta el grado de ramificación del almidón. El grado de ramificación se establece mediante análisis de RMN. Se ofrece una descripción general para el establecimiento de grados de ramificación de productos de almidón por Gunilla S. Nilsson y col. (Starch/Stärke (1996) 48, n.º 10. Pág. 352-357).

35 En formas de realización preferentes, el grado de ramificación de ramificaciones alfa-1,6 se encuentra entre el 4 y el 12 %. Es particularmente preferente un grado de ramificación de al menos el 4 %, al menos el 4,5 %, al menos el 5 %, al menos el 5,5 %, al menos el 6 %, al menos el 6,5 %, al menos el 7 %, al menos el 7,5 %. En particular se aumenta el grado de ramificación de un almidón de partida por la modificación de acuerdo con la invención, en concreto preferentemente al menos el 1 %, de forma particularmente preferente al menos el 2 %, al menos el 3 %, al menos el 4 %, al menos el 5 %, al menos el 6 %. En formas de realización particularmente preferentes, todas las ramificaciones son en exclusiva enlaces alfa-1,6-glicosídicos.

40 El almidón de partida, la base para la modificación enzimática de acuerdo con la invención, puede ser cualquier almidón convencional de tubérculo, cereal o leguminosa, por ejemplo, almidón de guisante, almidón de maíz,

inclusive almidón de maíz céreo, almidón de patata, almidón de amarando, almidón de arroz, inclusive almidón de arroz céreo, almidón de trigo, inclusive almidón de trigo céreo, almidón de cebada, inclusive almidón de cebada cérea, almidón de tapioca, almidón de sago. Los almidones de origen natural por norma general tienen un contenido de amilosa del 20 % al 30 %, dependiendo de la especie vegetal de la que se obtienen. Pero existen también almidones ricos en amilopectina que presentan un contenido claramente elevado de amilopectina, o productos que contienen un contenido elevado de amilosa. Aparte de los tipos de almidón ricos en amilopectina naturales u obtenidos mediante medidas de cultivo y tipos de alto contenido en amilosa existen también almidones ricos en amilopectina obtenidos mediante fraccionamiento químico y/o físico o producidos mediante plantas modificadas por ingeniería genética, que se obtienen entre otras cosas por la represión de la producción de amilosa. Se conocen almidones de cereales ricos en amilopectina a base de almidón de maíz (almidón de maíz céreo), almidón de arroz, almidón de trigo y almidón de cebada. El almidón de patata rico en amilopectina y el almidón de tapioca rico en amilopectina representan novedades en el campo de los almidones ricos en amilopectina. Se prefieren en especial los almidones con un alto contenido en amilopectina, en particular almidones con al menos el 80 %, en particular al menos el 85 %, al menos el 88 %, al menos el 90 %, al menos el 92 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 %, al menos el 99,5 % de amilopectina. La amilopectina ya es un almidón ramificado y la modificación enzimática de acuerdo con la invención con una enzima de ramificación puede seguir aumentando esta ramificación ya alta nativa. Se prefiere en particular el almidón de maíz céreo.

Ya que el almidón de forma natural es heterogéneo, también en los almidones ramificados enzimáticamente producidos de acuerdo con la invención para la composición de adhesivo aparte de las moléculas de almidón en el intervalo preferente de acuerdo con la invención con las propiedades que se han mencionado anteriormente pueden presentarse también otras moléculas de almidón. En formas de realización preferentes, la proporción de almidón modificado enzimáticamente, tal como se ha definido anteriormente, es al menos el 50 % (% en peso) del almidón de la composición. Preferentemente, esta proporción de este almidón modificado enzimáticamente es al menos el 55 %, al menos el 60 %, al menos el 65 %, al menos el 70 %, al menos el 75 %, al menos el 80 %, al menos el 85 % de la composición de almidón.

El almidón se modifica por una enzima de ramificación, por lo que se aumenta el grado de ramificación en comparación con el almidón modificado y/o se reduce la polidispersidad en comparación con el almidón no modificado. En particular, la enzima de ramificación es un 1,4- $\alpha$ -D-glucano: 1,4- $\alpha$ -D-glucano 6- $\alpha$ -D-(1,4- $\alpha$ -D-glucano)-transferasa (E.C. 2.4.1.18). En el estado de la técnica se conocen diversas enzimas de ramificación que están en disposición de aumentar adicionalmente el almidón por la transformación de enlaces  $\alpha$ -1,4-glucosídicos a enlaces  $\alpha$ -1,6. Las enzimas de ramificación se conocen por diversas fuentes, por ejemplo de patata, *Bacillus* sp., *Streptomyces* sp., *E. coli*, *Pseudomonas* sp., levaduras tales como por ejemplo *Candida*, *Kluyveromyces*, *Pichia*, *Saccharomyces*, *Schizosaccharomyces* o *Yarrowia*, hongos tales como por ejemplo *Acremonium*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Cryptococcus*, *Filibasidium*, *Fusarium*, *Humicola*, *Magnaporthe*, *Mucor*, *Myceliophthora*, *Neocallimastix*, *Neurospora*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Piromyces*, *Schizophyllum*, *Talaromyces*, *Thermoascus*, *Thielavia*, *Tolypocladium* o *Trichoderma*. En particular se prefiere una enzima de ramificación de *Rhodothermus* sp., por ejemplo *Rhodothermus obamensis* o *Rhodothermus marinus*. Mediante la selección de cantidades adecuadas de la enzima de ramificación o de la fuente se pueden producir los almidones ramificados de acuerdo con la invención. Dado el caso, el almidón de acuerdo con la invención se podría aislar como fracción de un producto de ramificación después de tratamiento de un almidón de partida con la enzima de ramificación. Se prefiere en particular el uso de una enzima de ramificación de *Rhodothermus* sp. Estas enzimas tienen una propiedad catalítica especial y un óptimo de temperatura especial por encima de 60 °C que posibilita una producción realista económicamente. Sin desear quedar limitado a una teoría especial en particular se parte de que con una reacción por encima de 60 °C se desarrollan también otras reacciones de ramificación y que los almidones que mediante una enzima de ramificación de *Rhodothermus* sp. u otro organismo termófilo con una enzima de ramificación que presenta un óptimo de temperatura de al menos 60 °C obtienen también diferentes productos de almidón. Estos son particularmente preferentes para la presente invención. En particular se prefiere la reacción de ramificación a una temperatura de al menos 20 °C, al menos 30 °C, al menos 40 °C al menos 50 °C, al menos 55 °C, al menos 60 °C, al menos 65 °C, al menos 70 °C, al menos 75 °C, al menos 80 °C. La reacción de ramificación se efectúa preferentemente en almidón en estado de gel o almidón gelatinizado, en particular en solución acuosa. Los almidones que se pueden obtener en una reacción de este tipo se pueden emplear en una composición de adhesivo de acuerdo con la invención.

La actividad enzimática de enzimas se indica habitualmente en unidades enzimáticas, E.U o solo U. Para una reacción de ramificación de forma acertada, en particular cuando la enzima puede catalizar también otras reacciones, se indica la actividad en "Branching Enzyme Units, unidades de enzima de ramificación" - BEU. Un procedimiento para la medición de esta actividad enzimática especial se describe por Takata y col. (*Applied and Environmental microbiology* (1994), Vol. 60, n.º 9, pág. 3097). En la sección de materiales y métodos bajo el título "Branching Enzyme activity" se explica adecuadamente el correspondiente "Assay A". El ensayo se basa en la acción de la enzima de ramificación sobre un tipo definido de amilosa y la reducción de la intensidad de absorción del complejo de yodo-amilosa. Preferentemente se emplean enzimas de ramificación en una cantidad suficiente para una actividad de 50 a 20 000 BEU por gramo de almidón empleado. Se prefieren en particular actividades de al menos 80 BEU, al menos 100 BEU, al menos 120 BEU, al menos 200 BEU, al menos 250 BEU, al menos 300 BEU, al menos 400 BEU, al menos 500 BEU, al menos 600 BEU, al menos 700 BEU, al menos 800 BEU por gramo de

almidón. En otras formas de realización, la actividad es hasta 1500 BEU, hasta 1800 BEU, hasta 2000 BEU, hasta 2500 BEU, hasta 3000 BEU, hasta 4000 BEU, hasta 5000 BEU, hasta 6000 BEU hasta 7000 BEU, hasta 8000 BEU, hasta 9000 BEU, hasta 10000 BEU, hasta 12000 BEU, hasta 14000 BEU, hasta 16000 BEU, hasta 18000 BEU o hasta 20000 BEU por gramo de almidón.

- 5 El almidón de acuerdo con la invención de la composición de adhesivo habitualmente está en esencia exento de oligosacáridos de bajo peso molecular con un grado de polimerización de menos de 3. Preferentemente, la proporción de los oligosacáridos de bajo peso molecular es menos del 5 % en peso de la masa de almidón. En formas de realización particularmente preferentes, esta proporción en oligosacáridos de bajo peso molecular puede ascender también a menos del 4 %, a menos del 3 %, menos del 2 %, menos del 1 %, menos del 0,5 %, menos del 0,1 %, menos del 0,05 %. Preferentemente se emplea una enzima de ramificación que produce estas proporciones reducidas de oligosacáridos de bajo peso molecular. Como alternativa, siempre que estén presentes oligosacáridos de bajo peso molecular, los mismos dado el caso se pueden separar.

- 10 En especial se comprobó de acuerdo con la invención que el almidón ramificado enzimáticamente presenta una alta solubilidad en agua, en particular al menos el 75 % (% en peso), en formas de realización particulares al menos el 85 %, de forma especialmente preferente al menos 95 % del almidón son solubles en agua a 25 °C.

- 15 En formas de realización especiales, el almidón, sin tener en cuenta modificaciones naturales, tales como esterificación de fosfato, y la modificación de acuerdo con la invención por ramificación artificial, no está modificado adicionalmente. Preferentemente, el almidón presenta grupos ácido, tanto en forma protonada, desprotonada o en forma de una sal. Tales grupos pueden estar seleccionados por ejemplo de fosfato, fosfonato, sulfato, sulfonato o grupos ácido carboxílico, de forma particularmente preferente fosfato o grupos ácido carboxílico. Preferentemente, la proporción de grupos ácido por molécula de almidón está entre 0,01 a 4, preferentemente de 0,05 a 3 o 0,1 a 2,5, de 0,5 a 2, de 0,75 a 1,5 o 0,8 a 1,25.

- 20 En otras formas de realización, el producto de almidón (ramificado) modificado enzimáticamente de acuerdo con la invención puede estar modificado física o químicamente, en particular por sustitución de grupos hidroxilo de las unidades de glucosa anhidro. Asimismo son posibles otras modificaciones enzimáticas, también por enzimas diferentes de las enzimas de ramificación de acuerdo con la invención, tal como por ejemplo, la modificación por amilasas. La modificación enzimática, física o química adicional puede producirse antes, durante o después de la modificación enzimática de ramificación de acuerdo con la invención. Por modificación química se entiende por ejemplo reticulación, eterificación y esterificación. Tampoco se deben descartar otras formas de modificación química. Son asimismo parte de la invención combinaciones de las modificaciones mencionadas.

- 25 Una reticulación se produce preferentemente mediante reacción con epi-clorhidrina, éteres o ésteres de glicidilo di- o polifuncionales (éter de diglicidilo de butanodiol, éter de triglicidilo de poliglicerol, éter de diglicidilo de ciclohexano dimetanol, éter de triglicidilo de glicerina, éter de diglicidilo de neopentilglicol, éter de tetraglicidilo de pentaeritritol, éter de triglicidilo de trimetilol propano, éter de diglicidilo de perhidrobisfenol), oxocloruro de fósforo o sales de trimetafosfato (trimetafosfato de sodio). Además se puede producir la articulación por ejemplo con ácido adípico, polifosfatos, 1,3-dicloro-2-propanol, dado el caso mezclado con (poli)-aminas, además con di- o poliepóxidos, isocianatos di o polivalentes, anhídridos de ácido dicarboxílico lineales, ácido adípico, ácido dicloroacético, divinilsulfonas, acroleína de ácido cítrico, polifosfato de acroleína, por ejemplo hexametafosfato, bifenileno, N,N-dimetilol-imidazolidon-2 (DMEU), a través de una reticulación de acetal por ejemplo con formaldehído, aldehídos de dimetiloletileno-urea o reactivos que liberan aldehído, tales como por ejemplo N,N'-dimetilol-N,N'-etilenurea y anhídridos mixtos de ácidos carboxílicos con ácidos di- o tribásicos, tales como por ejemplo un anhídrido mixto de anhídrido de acetano con ácido adípico. Esto último o numerosas variantes de ello se pueden resumir en el término reticulación con ácido adípico. Como reactivos de reticulación se consideran también otros reticulantes conocidos por el experto en la materia, los reactivos indicados representan solo una selección de posibles productos químicos.

- 30 35 40 45 Los productos de almidón modificados enzimáticamente pueden estar pretratados o tratados posteriormente mediante reticulación con una relación molar de reactivo de reticulación (V) a unidad de glucosa anhidro (AGU) de al menos 0,000001 a 1,0. 1 kilogramo de almidón contiene aproximadamente 6,2 moles de unidades de glucosa anhidro.

- 50 Otras modificaciones químicas son por ejemplo eterificaciones o esterificaciones. Siempre que no se indique otra cosa más adelante, los sustituyentes comprenden restos orgánicos con hasta 20, preferentemente hasta 15, en particular hasta 10, en especial hasta 6 átomos de carbono. En lo sucesivo se describen algunas derivatizaciones que pueden estar previstas en solitario o en combinación entre sí hasta dar una derivatización adicional de los derivados de almidón. El tipo de la derivatización y la base de materia prima del almidón usado (por ejemplo almidón de patata rico en amilopectina o de maíz rico en amilopectina) están relacionados muy estrechamente con el ámbito de uso especial del respectivo producto. Los procedimientos en cuanto a esto en sí son conocidos. En especial en el presente documento se debe mencionar la modificación en suspensión y el engrudo, son posibles derivatizaciones en seco y la modificación a través de procedimientos de extrusión.

Por la bibliografía se conocen múltiples derivados, cuya preparación está bien resumida entre otras cosas en la obra "Starch: Chemistry and Technology", R.L. Whistler, Capítulo X y XVII, 1984, y en "Modified Starches: Properties and

Uses", editado por O.B. Wurzburg, Capítulo 2-6, y 9-11, CRC Press, 1986. En general se diferencia en los derivados de almidón entre éter de almidón y éster de almidón. Además se pueden diferenciar entre derivados de almidón no iónicos, aniónicos, catiónicos y anfóteros al igual que hidrófobos que se pueden preparar a través de una derivatización en suspensión, engrudo, en semiseco o en seco al igual que a través de una derivatización en disolventes orgánicos.

Por modificación aniónica y no iónica del almidón se resume aquellos derivados en los que los grupos hidroxilo libres del almidón se sustituyen por grupos aniónicos o no iónicos.

La derivatización aniónica y no iónica se puede llevar a cabo en principio de dos formas:

a) la modificación se realiza de tal modo que se produce una esterificación del almidón. Como agentes de modificación sirven ácidos inorgánicos u orgánicos de distinta valencia, la mayoría de las veces divalentes o sales de los mismos o ésteres de los mismos o anhídridos de los mismos. Así entre otros son adecuados los siguientes ácidos (su enumeración es meramente ilustrativa): ácido o-fosfórico, ácido m-fosfórico, poli(ácido fosfórico), los más diversos ácidos sulfúricos, los más diversos ácidos silícicos, los más diversos ácidos bóricos, ácido acético, ácido oxálico, ácido succínico y sus derivados, ácido glutárico, ácido adipico, ácido ftálico, ácido cítrico, etc. También se pueden usar ésteres mixtos o anhídridos. En la esterificación del almidón, la misma también se puede realizar varias veces, de tal manera que se pueden preparar por ejemplo ésteres de ácido fosfórico de di-almidón. Preferentemente, a este respecto, el almidón empleado de acuerdo con la invención es el producto de una esterificación con ácidos mono-, di- o tricarbóxicos con una cadena de alquilo con 1 a 30 átomos de carbono o un carbamato, preferentemente acilado, tal como succinilado, octenilsuccinilado, dodecilsuccinilado, o acetilado.

b) la modificación se realiza de tal modo que se produce una esterificación del almidón. A este respecto se prefiere en particular que el almidón empleado de acuerdo con la invención sea un almidón de éter de metilo, etilo, hidroxietilo, hidroxipropilo, hidroxibutilo, carboximetilo, cianoetilo, carbamoiletulo o una mezcla de los mismos.

El almidón está sustituido por ello, por ejemplo de forma primaria o adicionalmente con fosfato, fosfonato, sulfato, sulfonato o grupos carboxilo. Esto se consigue por ejemplo mediante reacción del almidón con ácidos halocarboxílicos, sulfonatos de clorohidroxialquilo o fosfonatos de clorohidroxialquilo.

En la modificación catiónica del almidón se agrupan los derivados donde se introduce mediante sustitución una carga positiva en el almidón. Los procedimientos de cationización se realizan con grupos amino, imino, amonio, sulfonio o fosfonio. Están descritos procedimientos para la preparación de almidones cationizados por ejemplo en D.B. Solareck: Cationic Starches, en el libro de O.B. Wurzburg (Hrsg.): Modified Starches: Properties and Uses, CRC Press Inc., Boca Raton, Florida (1986), páginas 113 – 130. Tales derivados catiónicos contienen preferentemente grupos que contienen nitrógeno, en particular aminas primarias, secundarias, terciarias y cuaternarias o grupos sulfonio y fosfonio que están enlazados a través de enlaces éter o éster. Se prefiere el empleo de almidones cationizados que contienen grupos amonio terciarios y cuaternarios de carga electropositiva.

Los almidones anfóteros representan otro grupo. Estos contienen grupos tanto aniónicos como catiónicos, por lo que sus posibilidades de aplicación son muy específicas. La mayoría de las veces se trata de almidones catiónicos que se modifican adicionalmente mediante grupos fosfato o por xantatos. Una representación de la preparación de tales productos se describe también en D.B. Solareck: Cationic Starches, en el libro de O.B. Wurzburg (Hrsg.): Modified Starches: Properties and Uses, CRC Press Inc., Boca Raton, Florida (1986), páginas 113-130.

En los ésteres se diferencia entre los ésteres de almidón sencillos y los ésteres de almidón mixtos, pudiendo ser el o los sustituyentes del éster de distinto tipo: en el resto éster RCOO- el resto R puede ser un resto alquilo, arilo, alquenilo, alcarilo o aralquilo con 1 a 20 átomos de carbono, preferentemente 1 a 17 átomos de carbono, preferentemente con 1 a 6 átomos de carbono. Estos productos incluyen los derivados acetato (preparados a partir de acetato de vinilo o acetanhídrido), propionato, butirato, estearato, ftalato, succinato, oleato, maleinato, fumarato y benzoato.

Las esterificaciones se realizan en gran parte por reacción con óxidos de alquilenos (hidroxialquilación), que contienen de 1 a 20 átomos de carbono, preferentemente de 2 a 6 átomos de carbono, en particular de 2 a 4 átomos de carbono, en particular mediante el uso de óxido de etileno y propileno. Pero también se pueden preparar y usar éteres de metilo, carboximetilo, cianetilo y carbamoilo. Como ejemplo de una carboxialquilación se indica la reacción de almidón con ácido monocloroacético o sus sales. Además se mencionan en especial también reactivos de esterificación de hidrofobización, tales como éter de glicidilo o epóxidos. La longitud de cadena de alquilo de los reactivos mencionados se encuentra entre 1-20 átomos de carbono, además son posibles también éteres de glicidilo aromáticos.

Como ejemplo de una derivatización con éteres de glicidilo se menciona éter de glicidilo de o-cresol, éter de glicidilo de polipropilendiglicol, éter de diglicidilo de terc-butilfenilo, éter de glicidilo de etilhexilo, éter de glicidilo de hexanodiol y éster de glicidilo de ácido neodecanoico.

Otra posibilidad de la alquilación consiste en la alquilación a través de halogenuros de alquilo, por ejemplo a través

de cloruro de etilo, carbonatos de dialquilo, por ejemplo carbonato de dimetilo (DMC) o sulfato de dialquilo por ejemplo sulfato de dimetilo.

5 El grado de sustitución MS (sustitución molar: mol de sustituyente/mol de unidad de glucosa) es preferentemente al menos 0,0001, 0,001, 0,01, 0,02, 0,03, 0,04, o al menos 0,05, 0,06, 0,07, 0,08, o 0,09, con la máxima preferencia al menos 0,1 y hasta 3,0, 2,0, 1,0, 0,8, 0,75, 0,7 o hasta 0,6. El grado de sustitución DS (degree of substitution: mol de sustituyente (unido directamente a la unidad de glucosa/mol de unidad de glucosa) se encuentra preferentemente entre 0,001 y 3,0, preferentemente entre 0,05 y 0,5.

Además los éteres y/o ésteres o adicionalmente a esta derivatización, el almidón reticulado usado de acuerdo con la invención también puede estar oxidado, degradado termoquímicamente, dextrinado o extruido en diferente medida.

10 Los almidones usados para las esterificaciones, eterificaciones y reticulaciones y también los no modificaciones químicas además pueden estar atemperados a través de modificaciones térmicas-físicas (en la suspensión) o inhibidos (reacciones en seco o semiseco).

15 Los almidones también se pueden modificar a través de reactivos de hidrofobización. A este respecto se obtienen almidones hidrófobos eterificados cuando los reactivos hidrófobos como grupo funcional contienen un halogenuro, un epóxido, un glicidilo, una halohidrina, un ácido carboxílico o un grupo amonio cuaternario. Para almidones hidrófobos esterificados, el reactivo hidrófobo contiene la mayoría de las veces un anhídrido. A este respecto, las reacciones indicadas se pueden desarrollar también en presencia de un tensioactivo. Una hidrofobización del almidón se puede realizar también a través de una mezcla de un almidón o de un derivado de almidón con éster de ácido graso. De acuerdo con la invención, el derivado de almidón está hidrofobizado, en particular con un grado de derivatización de la hidrofobización como se ha indicado anteriormente con respecto a la sustitución, preferentemente entre MS de 0,01 a 0,1. Todas las modificaciones mencionadas de almidón se pueden conseguir no solo mediante la reacción de almidones nativos, también se pueden emplear formas degradadas. Los procedimientos de degradación se pueden realizar de forma mecánica, térmica, termoquímica o enzimática. Por ello no solo se puede modificar estructuralmente al almidón, los productos de almidón también se pueden convertir en solubles en agua fría o hinchables en agua fría (por ejemplo dextrinación y extrusión).

Finalmente, el almidón puede estar presente también como polímero de injerto o como copolímero de injerto, tal como por ejemplo con productos del grupo de los poli(alcoholes vinílicos), acrilamidas o monómeros o polímeros partiendo de hidrocarburos. A este respecto, el (co)-polímero de injerto de almidón puede presentarse preferentemente como polímero de emulsión.

30 Una ventaja particular de la composición de adhesivo de acuerdo con la invención es que la composición puede estar presente de forma estable en forma líquida o acuosa. En particular, la composición de adhesivo presenta una estabilidad a largo plazo después de la disolución en agua de al menos 5 días, al menos 10, al menos 15, al menos 20 días o al menos 1 mes, al menos 2 meses, al menos 3 meses, al menos 4 meses, al menos 5 meses, al menos 6 meses, al menos 7 meses, al menos 8 meses sin retrogradación. La retrogradación se puede comprobar por ejemplo por el aumento de la viscosidad hasta la formación de un gel sólido. Se puede parametrizar la estabilidad a largo plazo, por ejemplo a través del índice de estabilidad de viscosidad SI, que expresa el comportamiento de espesamiento a lo largo de un determinado periodo de tiempo en forma de cociente de la viscosidad después de por ejemplo 14 días, o los periodos de tiempo que se han indicado anteriormente y la viscosidad después de la preparación de la composición (la mayoría de las veces 2 h después del atemperado a 22,5 °C).

40 Según formas de realización particularmente preferentes, la presente invención se refiere a una composición de adhesivo, en la que el almidón presenta un índice de estabilidad de viscosidad SI menor o igual 1,3, preferentemente de menor o igual 1,2, de forma especialmente preferente de menor 1,2, en particular determinado por el cociente de la viscosidad después de 14 días por la viscosidad después de 2 horas después de la preparación de la composición.

45 Un parámetro para valorar la estabilidad es el índice de estabilidad de viscosidad o de forma abreviada índice de estabilidad (valor de SI), al cual se puede recurrir como medida para el comportamiento de espesamiento. Este valor debería ser lo más bajo posible en una composición estable. El valor de SI usado en este documento es el cociente de la viscosidad (por ejemplo, una solución del 40 % o 50 % del almidón de acuerdo con la invención en agua) después de 14 días y 2 h. Los valores alrededor de 1 muestran una buena estabilidad de la viscosidad, cuanto mayor es el valor, más intenso es el espesamiento. Preferentemente, un almidón de acuerdo con la invención presenta en una solución al 50 % (% en peso) en agua un valor de espesamiento ND menor de 3, preferentemente menor de 2, menor de 1,8, menor de 1,7, menor de 1,6, menor de 1,5, menor de 1,4, menor de 1,3, menor de 1,2, o menor de 1,1. En otras formas de realización preferentes del almidón de acuerdo con la invención, estos valores bajos de SI se dan como alternativa o adicionalmente en solución al 40 % (% en peso), en particular en el caso de almidones con un mayor peso molecular, tal como por ejemplo a partir de 150 kDa o incluso a partir de 200 kDa de media en peso Mw, medido mediante dispersión de luz. En especial se determina la viscosidad directamente después de la disolución del almidón, después de 2 h o 24 h de almacenamiento y a una temperatura de 20-25 °C de la solución de producto, en particular de 22,5 °C. Evidentemente, en la composición la estabilidad de la viscosidad puede variar a causa de diversos aditivos. Como propiedad de material del almidón se recurre por tanto a

una solución acuosa pura para la determinación de la viscosidad del almidón. En formas de realización particularmente preferentes, también la composición de adhesivo o toda su fracción de almidón presenta estos valores de estabilidad de viscosidad.

5 En otro aspecto, la presente invención se refiere a una composición de adhesivo a base de almidón que comprende un almidón ramificado enzimáticamente que se puede obtener mediante la puesta en contacto de un almidón de  
partida con una enzima de ramificación, preferentemente de *Rhodothermus sp.*, en particular *Rhodothermus*  
10 *Obamensis* o *Rhodothermus Marinus*, con una actividad de 50 BEU a 20000 BEU, preferentemente de 80 BEU a 10000 BEU, de forma especialmente preferente de 100 a 5000 BEU, con la máxima preferencia de 250 a 2500 BEU, o de 275 BEU a 1800 BEU por gramo del almidón de partida. Se pueden obtener enzimas de ramificación  
alternativas a partir de las fuentes que se han mencionado anteriormente. Como se ha expuesto ya anteriormente,  
una ramificación con una enzima de ramificación de *Rhodothermus sp.*, con las actividades que se han mencionado  
15 anteriormente condujo a almidones especialmente preferentes que presentan un poder de adhesión particularmente intenso, tienen baja viscosidad y presentan una estabilidad extraordinariamente elevada a largo plazo en forma líquida o acuosa. Los almidones de esta forma de realización de la presente invención preferentemente están  
definidos además, tal como ya se ha descrito en general anteriormente, en particular con respecto a las masas  
moleculares (medias) Mn y Mw, índices de polidispersidad, almidón de partida, valores de DE así como la solubilidad  
y la proporción reducida de los oligosacáridos de bajo peso molecular.

En otra forma de realización, la presente invención se refiere también al uso de la composición de adhesivo de  
20 acuerdo con la invención para la laminación o como adhesivo, en particular como adhesivo para productos de papel o cartón, de forma particularmente preferente para la laminación de una caja de presentación. Por laminación se entiende la unión de materiales iguales o diferentes con agentes de laminación adecuados a presión y, cuando es necesario, temperatura. Si se emplean adhesivos líquidos (dispersiones,...) como agentes de laminación, entonces se diferencia entre laminación en húmedo y activa. En la laminación en húmedo, la película de adhesiva en la junta  
25 de adhesión contiene aún sustanciales proporciones de agua o disolvente. La laminación de activación significa que la capa de adhesión seca se hace adhesiva la mayoría de las veces por calor.

“Uso como adhesivo” y “procedimiento de adhesión” mediante el uso del almidón de acuerdo con la invención se  
tratan en el presente documento como del mismo significado. Ha resultado que las composiciones de adhesivo de  
acuerdo con la invención basadas en los almidones modificados enzimáticamente presentan una excelente  
30 capacidad de extensión, viscosidad a largo plazo, estabilidad y poder adhesivo, habiéndose constatado adicionalmente de forma sorprendente que los productos de papel apenas se hinchan o no se hinchan. Esto permite la aplicación para superficies de papel lisas sin desechar las mismas como una condición para el uso para una caja de presentación en la que una superficie impresa o que o se puede imprimir libre de desechos se debe proteger durante la adhesión o el secado.

En otras formas de realización, el adhesivo está previsto como adhesivo de cigarrillos, adhesivo activable con agua,  
35 en particular para etiquetas o sellos, adhesivo para una adhesión perimetral o adhesión de solapamiento, como papel pintado, adhesivo de carteles, adhesivo de encuadernación, adhesivo de cartón corrugado, adhesivo de etiquetas, adhesivo de sacos, adhesivo de carcasas, adhesivo termofusible (adhesivos fusibles) por ejemplo para cierres de cajas, para la adhesión de bolsas de papel y sacos de papel, para la producción de cajas plegables, como adhesivo para la laminación de papel y cartón, como adhesivo para artículos higiénicos, como por ejemplo para  
40 papel y rollos de papel de baño o pañuelos o como adhesivo para productos médicos, por ejemplo productos médicos de papel, celulosa o textiles tales como vendajes para heridas, como adhesivos para materiales textiles de fibras tejidas y no tejidas, plásticos y láminas, vidrio, madera y materiales compuestos de madera, cerámica, metal, etc. En formas de realización especiales está prevista la composición de adhesivo de acuerdo con la invención como adhesivo para cerámica o partículas de cerámica, en particular para la producción de lija.

45 En otro aspecto, la invención se refiere a un producto adherido que comprende una composición de adhesivo como promotor de la adhesión. Un producto de este tipo puede ser por ejemplo un producto de papel o cartón, con al menos una capa, preferentemente dos capas, o de papel o cartón, pero puede estar compuesto también de una combinación discrecional de los siguientes sustratos: materiales textiles de fibras tejidas y no tejidas, plásticos y láminas, vidrio, madera y materiales compuestos de madera, cerámica, metal, etc. Habitualmente, el producto  
50 adherido comprende dos lados que se han adherido entre sí, así como una o dos capas de papel o cartón, unidas por el adhesivo de acuerdo con la invención, en particular presentando una capa una superficie lisa impresa o que se puede imprimir, en particular en un lado de la capa opuesto al lado que se va a adherir. De forma razonable, la propia superficie de presentación no se adhiere.

En otro aspecto, la invención se refiere a un procedimiento para la adhesión (procedimiento de adhesión) de un  
55 producto que comprende la aplicación de la composición de adhesivo de acuerdo con la presente invención sobre un lado del producto que se va a adherir. Esto se puede realizar mediante una aplicación con rodillos, aplicación por toberas, aplicación por pulverización, aplicación en espuma a través de cilindros de retícula de aplicación, a través de un procedimiento de inmersión, mediante rasqueta, etc. Entonces se aplica otro lado que se va a adherir sobre el adhesivo aplicado para la unión (después del endurecimiento del adhesivo o el secado).

60 En otro aspecto, la presente invención se refiere a un procedimiento para la producción del almidón de una

composición de adhesivo tal como se ha descrito anteriormente mediante modificación enzimática que comprende la puesta en contacto de un almidón de partida con una enzima de ramificación, preferentemente de *Rhodothermus sp.*, en una cantidad con una actividad de 50 BEU a 20000 BEU, preferentemente tal como se ha descrito anteriormente tal como por ejemplo al menos de 80 BEU a 10000 BEU o de 90 BEU a 5000 BEU por gramo de almidón de partida. La producción es posible con procedimientos tanto continuos como discontinuos.

En un aspecto adicional, la invención se refiere también a un procedimiento para la modificación enzimática de almidón, caracterizado por que el almidón se pone en contacto con una enzima de ramificación, preferentemente de *Rhodothermus sp.*, y por que la masa molecular media del producto de almidón modificado deseado se controla por la cantidad inicial de enzima por almidón de partida (cantidad en peso). Ha resultado de acuerdo con la invención completamente sorprendente que mediante la cantidad de uso de la enzima de ramificación se pueden obtener los más diversos productos de almidón. Así por ejemplo mediante una elevada cantidad inicial de enzima de ramificación se obtiene un producto de almidón muy ramificado con una masa molecular relativamente menor. En el caso del empleo de menores cantidades de enzima de ramificación se obtienen productos de almidón de mayor peso molecular. Los almidones obtenidos, en función del control por la cantidad inicial de enzima por almidón de partida, tienen algunas características. Los intervalos en los que se emplea de acuerdo con la invención una enzima de ramificación preferentemente están entre 50 BEU (baja actividad) y 20000 BEU (alta actividad). Evidentemente son posibles también actividades incluso menores o mayores, sin embargo, se ha encontrado que se pueden conseguir las propiedades particularmente ventajosas, en concreto la elevada estabilidad a largo plazo, la baja viscosidad así como el poder de adhesión extraordinariamente elevado en el intervalo de 50 BEU y 20000 BEU. En función de la masa molecular deseada del producto de almidón producido se puede seleccionar la cantidad inicial de enzima por almidón de partida (cantidad en peso).

Las composiciones de adhesivo de acuerdo con la invención pueden presentar además sustancias añadidas o cargas, aditivos, sales, componentes de tampón o biocidas habituales. Tales aditivos o cargas se pueden emplear en particular para el ajuste fino de la viscosidad, del contenido de sólidos, de la estabilidad, de la resistencia de la adhesión, la reología, de la velocidad de secado, de la flexibilidad, de la resistencia a agua y a hongos.

- a) Cargas: caolín, silicatos, carbonato de calcio, creta, talco, carbonato de magnesio, microsílíce, fibras,...
- b) Aditivos de modificación de la reología: influyen en la dilución por cizalla o el espesamiento de cizalla: coloides inorgánicos, peptizadores, silicatos, urea, xantanto, caseína, alginato, éter de celulosa, carragenano, guar, hidrocoloides, vidrio de agua,
- c) Dispersantes: poliacrilatos, poliacrilatos hidrofobizados...
- d) Conservantes (fungicidas, biocidas, bacterocidas): BIT, MIT, CIT, sorbatos,...
- e) Aditivos formadores de espuma: en particular para la adhesión mediante procedimientos de aplicación de espuma: productos con actividad superficial ("tensioactivos"): aniónicos, catiónicos, no iónicos, anfóteros, tales como por ejemplo sulfonatos de alquilo, sales de amonio cuaternario modificadas, etoxilatos,...
- f) Productos que regulan la humedad o plastificantes: nitrato de sodio, urea, azúcar, alcoholes de azúcar, glucosa, sorbitol, alcoholes polihidroxílicos (glicoles,...), cloruro de calcio, cloruro de cinc
- g) Colorantes, pigmentos: dióxido de titanio,...
- h) Aditivos antiestáticos
- i) Pegamentos: acrilato, dextrina, resinas,
- j) Reticulantes: ácido bórico (bórax), sales de circonio...
- k) Agentes de resistencia en húmedo, tensioactivos
- l) Poli(acetato de vinilo), poli(alcohol vinílico), polvos de dispersión,...
- m) Otros: vidrio de agua, ceras, sales, antioxidantes, aromas, antiespumantes y otros aditivos, que se emplean aquí típicamente.

Asimismo, el almidón de acuerdo con la invención puede servir como adición o aditivo en adhesivos convencionales, en particular en adhesivos a base de agua o en adhesivos que comprenden un disolvente acuoso. Un ejemplo especial de ello son adhesivos a base de vidrio de agua. En este caso, el almidón de acuerdo con la invención puede actuar como componente de adhesivo adicional para aumentar adicionalmente el poder de adhesión de adhesivos convencionales. También tales adhesivos pueden contener los aditivos que se han mencionado anteriormente o cargas o se emplean para los fines de acuerdo con la invención.

En otro aspecto de la presente invención, la presente solicitud comprende un procedimiento para la producción de la composición de adhesivo que comprende la modificación enzimática de un almidón, así, dado el caso la mezcla con un disolvente acuoso y opcionalmente las cargas, aditivos, sales y componentes de tampón que se han mencionado anteriormente, tal como, en particular ácidos o bases para el ajuste de un valor deseado de pH. La composición puede ponerse a disposición de forma líquida, en particular acuosa, o como sólido, por ejemplo polvo, también como producto previo de adhesivo. Preferentemente, el almidón está previsto en del 1 al 80 % (% en peso) en solución líquida, de forma particularmente preferente del 10-70 % o del 20-65 %, con la máxima preferencia del 25-60 %. Los productos previos de adhesivo se pueden procesar mediante mezcla con agua hasta dar los adhesivos terminados. En una forma de realización especial se debe aplicar la formulación de adhesivo como sustituto de adhesivos sintéticos a base de poli(alcohol vinílico) y/o poli(acetato de vinilo).

Una composición de acuerdo con la invención para la aplicación puede comprender dado el caso también menores

cantidades de almidón a partir del 1 % (% en peso) en forma líquida de solución. Preferentemente, la proporción de almidón en la composición es al menos el 5 %, al menos el 10 %, al menos el 15 %, al menos el 20 %, al menos el 25 %, al menos el 30 %, al menos el 35 %, al menos el 40 %, al menos el 45 %. En otro aspecto, la presente invención se refiere a una composición concentrada estable a largo plazo (por ejemplo como solución madre concentrada) de al menos el 50 %, al menos el 55 %, al menos el 60 %, al menos el 65 % o incluso al menos el 70 %. Estas soluciones concentradas se pueden usar asimismo directamente para la adhesión o la laminación o diluirse para la aplicación. Asimismo se puede prever el almidón de acuerdo con la invención o composición de adhesivo de forma sólida o semisólida, en particular como barra adhesiva. También estas formas pueden preverse para la aplicación inmediata. En las barras de adhesivo aparte del almidón pueden estar presentes cantidades reducidas de disolvente, en particular disolventes acuosos, para que se consiga una composición viscosa untada. Las barras adhesivas y también las composiciones de la invención en general a base del almidón de acuerdo con la invención, aparte del alto poder de adhesión también tienen la ventaja de que toxicológicamente son inocuas y también son adecuadas para la aplicación por niños.

La presente invención se explica con más detalle a continuación mediante las siguientes figuras y ejemplos sin quedar limitado a ello.

#### Figuras:

La Fig. 1 muestra los elugramas de los distintos almidones: almidón preferentemente de acuerdo con la invención después de las ramificaciones y como productos de referencia comerciales (almidones mostrados de acuerdo con la Tabla 1: MD1, MD2, RD1, EMS1-5);

la Fig. 2 muestra la distribución de la masa molecular de algunos almidones de acuerdo con la determinación por dispersión de luz (almidones mostrados: MD1, MD2, RD1, EMS2, EMS3);

la Fig. 3 muestra la medición del poder de adhesión de una solución de almidón al 50 % después de 24 horas con diferentes espesores de capas (almidones mostrados: MD1, MD2, RD1, EMS3; EMS3\_1; EMS3\_1 es un segundo lote preparado según el modelo de EMS3);

la Fig. 4 muestra los espectros de masa de los almidones después de la degradación de glucoamilasa (almidones mostrados: MD1, EMS3, EMS4; el EMS4(d) se corresponde con el almidón EMS4 cuyo producto se purificó adicionalmente por diálisis);

#### Ejemplos:

##### Procedimientos:

#### Ejemplo 1: preparación de un almidón muy ramificado (EMS3)

Materiales:

- almidón de maíz cereo Maisita 21.007
- encima de ramificación NS28067, (actividad de 50.000 BEU/g de solución)
- solución de hidróxido de sodio
- ácido clorhídrico
- coadyuvante de filtración

Se mezclaron 100 g de almidón de maíz céreo (sustancia seca) con agua destilada hasta dar una suspensión al 10 %. Esta suspensión se gelatinizó con agitación constante (agitador de paletas) (95 °C). A partir de una temperatura de aproximadamente 70-75 °C, el almidón comenzó a gelatinizarse. La temperatura de 95 °C se mantuvo durante 1 hora para garantizar una disgregación completa del almidón. Después del enfriamiento a 75 °C se ajustó el valor de pH del engrudo a pH 6 (ácido clorhídrico al 0,1 N o solución de hidróxido de sodio 0,1 N). Después se produjo la adición de enzima (1000 BEU/g de almidón). Para obtener otros productos se usaron como alternativa 20 BEU/g a 1.000.000 BEU/g. El momento de la adición de enzimas se define como el comienzo de la reacción. El engrudo inicialmente relativamente espeso gradualmente se diluyó después de la adición de la enzima. La mezcla de reacción se mantuvo de forma constante una temperatura de 75 °C y se interrumpió la reacción después de 20 horas. Para esto se ajustó con ácido clorhídrico a pH aproximadamente 3 y se coció durante 30 min. Ese producto en bruto a continuación se purificó mediante filtración y se secó. El producto secado se molió. De una parte del producto en bruto purificado se produjo un almidón líquido. Eso se realiza mediante evaporación de agua hasta alcanzar la concentración deseada del producto.

#### Ejemplo 2: producción de los engrudos

Se dispuso agua destilada (250 g) en un vaso de precipitados de 400 ml (forma alta) y para el 40 %: se pesaron 100 g de sustancia seca (en TS) y para el 50 %: 125 g de almidón en sustancia seca. La agitación se realizó con un mecanismo de agitación de Heidolph y un agitador de disco dentado (diámetro 4 cm). La muestra se distribuyó rápidamente, en la medida de lo posible sin formación de grumos, con 1000 rpm y se agitó durante 10 min. Para garantizar la estabilidad biológica de las colas producidas se añadieron a cada cola el 1 % de solución biocida con respecto al almidón.

Las primeras mediciones de la viscosidad se realizaron directamente después de la agitación. A continuación, las colas se cargaron para el almacenamiento en vasos de tapa roscada y se almacenaron a temperatura constante.

### Ejemplo 3: determinación de la viscosidad

5 A los engrudos de almidón producidos según el procedimiento que se ha citado anteriormente o un almidón líquido se puede recurrir directamente para la determinación de la viscosidad. Esta se determinó con ayuda de un viscosímetro Brookfield-RV (viscosímetro DVII+) a 22,5 °C y una velocidad de giro de 1000 rpm con el husillo 4.

10 La primera medición tiene lugar directamente después de la producción de los engrudos, otras mediciones se realizaron después de 2 h, 24 h, 7 y 14 días para valorar la estabilidad de la viscosidad. Para esto se usó el valor de índice de estabilidad (SI), el cociente de la viscosidad después de 14 días y 2 h. Valores alrededor de 1 muestran una buena estabilidad de viscosidad, cuanto mayor es el valor, más intenso es el espesamiento. Las muestras solidificadas se indicaron con el valor de SI mayor de 10.

### Ejemplo 4: determinación del poder de adhesión

15 Una rasqueta de mano se puso con el espesor de carga deseado (30, 60 o 120 µm) sobre el lado exterior de un papel de saco (SE BL 90 g/m<sup>2</sup>), se cargó con engrudo (preparación véase anteriormente) y se estiró sobre el papel. Después se puso sobre esto una segunda tira de papel con el lado interior del papel. El papel agrupado se rascó con la mano plana y se rascó del mismo modo de nuevo en el lado posterior. La tira de papel adherida se separó ahora lentamente tramo a tramo a mano (de forma ligeramente brusca) hasta que se constató una rotura de fibra completa (a lo largo de toda la anchura de la adhesión). Este momento representa la velocidad de adhesión y se indica en segundos, formándose un valor medio de al menos 3 mediciones. Cuando después de 150 s aún no se había podido comprobar la adhesión, se interrumpió la medición.

### Ejemplo 5: determinación de la distribución de la masa molecular

25 La determinación de la distribución de la masa molecular se realizó mediante cromatografía de exclusión por tamaño (CET, UltiMate 3000, empresa Dionex), en la que se separaron las moléculas según su volumen hidrodinámico a través del correspondiente sistema de columnas (Suprema 30.000 Å + 1000 Å + 100 Å; 20 µm de tamaño de partícula; empresa PSS Mainz).

30 La intensidad de luz de dispersión es proporcional aparte de la concentración y del incremento de la refracción dn/dc también a la masa molecular. Por tanto mediante la combinación de un MALLS (dispersión de luz láser multi ángulo, mide la intensidad de la luz de dispersión con varios ángulos; SLD7000, empresa PSS Mainz) y un detector RI (índice refractivo, determina la concentración, RI-101, empresa Shodex) se pueden determinar las masas moleculares (media en número Mn y media en peso Mw) como en el dn/dc conocido. A partir de estos valores se calculó la polidispersidad (anchura de la distribución, PDI = Mw/Mn) y el grado de polimerización promedio (DPn = Mn/162).

Para la CET convencional se calibró el sistema mediante un conjunto de patrón de pululano (180- 788000 g/mol, Polymer Laboratories).

35 Para la disgregación se agitó almidón al 2,5 % en deionato y se ajustó con ácido clorhídrico (1 N) o con solución de NaOH (1 N) a un valor de pH del pH 7. Esta solución acuosa se diluyó en una relación 1:1,5 con DMSO y se disgregó con agitación durante 30 min a 100 °C. La solución obtenida tiene que ser homogénea clara. Después del enfriamiento, las muestras se filtraron a través de un filtro de fibra de vidrio y están listas para la medición.

Se usaron los siguientes parámetros de HPLC para la medición:

40

Eluyente:	solución de NaNO <sub>3</sub> 0,2 M (con 0,2 mg NaN <sub>3</sub> )
Caudal:	0,7 ml/min
Volumen de dilución:	80 ml
Temperatura de columna:	70 °C
Tiempo de elución:	70 min

### 45 Ejemplo 6: determinación del grado de ramificación

Para la determinación del grado de ramificación mediante espectroscopia de RMN de 1H se disolvieron las muestras en D<sub>2</sub>O con el 1 % de NaOH y se midieron a 70 °C. Para la determinación del grado de ramificación se necesitaron las señales de 5,6 ppm (1) y 5,3 ppm (2) (disolvente de D<sub>2</sub>O). La integración se realizó a través de una corrección anterior de nivel de base. Se determinó la relación porcentual del siguiente modo:

$$[ \text{Integral (2)} * 100 ] \quad / \quad [ \text{integral (1)} + (2) ]$$

50

Los registros se realizaron en un Bruker ARX 250 (Bruker ARX 250, 250 MHz RNM-1H, disolvente de D2O, 70 °C).

**Ejemplo 7: preparación de un adhesivo para la adhesión de caja de presentación**

Formulación: producción de una cola para un sistema de aplicación con cilindro:

- 5                    20 kg    de almidón líquido al 50 % o engrudo de almidón mezclado de EMS 3
- 10 kg    de una suspensión de caolín (FSG = 68 %)
- 150 g    de biocida (por ejemplo: petrozid)
- 400 g    de solución al 2 % del hidróxido de sodio

10 El almidón líquido se dispuso en un recipiente, a continuación con agitación se añadió una suspensión de caolín y se agitó la mezcla durante 30 min. El valor de pH se ajustó a 9 con solución de hidróxido de sodio y con el fin de la conservación se mezcló un biocida.

La cola obtenida presentaba los siguientes datos: contenido de sólidos: 56 %  
 Viscosidad Brookfield a 25 °C después de 24 h: 3650 mPas valor de pH: 9,0  
 Poder de adhesión sobre papel de cartón (60 µm de rasqueta de mano): 24 s

La cola de laminación producida de este modo presentaba las siguientes propiedades técnicas:

- 15            1. Adhesión excelente
- 2. Alta resistencia de adhesión
- 3. Reducida tendencia de salpicaduras
- 4. Elevada pegajosidad inicial
- 20            5. Adhesivos “listos para usar” con una excelente estabilidad de viscosidad
- 6. Adhesión óptima en los cantos
- 7. Ninguna desventaja en el posterior troquelado
- 8. Muy buena resistencia a cizalla.

En la siguiente tabla está representada la representación comparativa de las distintas colas a base de distintas materias primas:

	Cola de dispersion	Cola de maltodextrina	Cola de EMS
contenido de sólidos [%]	55	55	56
viscosidad [mPas]*	2300	demasiado espesa, gelifica	3650
poder de adhesión [s]**	26	-	24
*... viscosidad Brookfield a temperatura ambiente después de 24 h			
**... poder de adhesión sobre papel de cartón (60 µm de rasqueta de mano)			

25 **Ejemplo 8: establecimiento de la proporción resistente a glucoamilasa por degradación enzimática con glucoamilasa**

La proporción resistente a glicoamilasa se preparó del siguiente modo: se pesó glucoamilasa (concentración final 10 unidades/ml = 1,3 mg/5 ml) y se recogieron 5 ml de agua (desionizada). Se añadieron 100 mg de almidón y se efectuó la reacción enzimática durante 16 h a 40 °C (con agitación en el bloque de disgregación). La reacción se terminó mediante tratamiento térmico durante 10 min a 100 °C (en el baño de agua). Se retiraron mediante centrifugación las partes insolubles (10 min, 1500 rpm), en donde se siguió procesando el líquido y se desechó el precipitado. Se añadió una cantidad de factor 10 de etanol absoluto al líquido. Después de la centrifugación (30 min, 4000 rpm) se desechó el líquido. El precipitado se dejó secar y a continuación se recogió en 1 ml de agua (desionizada). Se añadió de nuevo glucoamilasa (concentración final 50 unidades/ml). La segunda reacción se realizó durante 1 h a 40 °C. A continuación se efectuó un tratamiento térmico durante 10 min a 100 °C (en el baño de agua). Se retiraron mediante centrifugación las partes no solubles (10 min, 1500 rpm). El precipitado se desechó y se siguió procesando el líquido. Se añadió una cantidad de factor 10 de etanol absoluto al líquido y después de la centrifugación (30 min, 4000 rpm) se desechó el líquido. El precipitado se liofilizó. Este producto final se denominó proporción resistente a glucoamilasa. Un producto degradado de acuerdo con la invención (“EMS3 (d)”) se purificó antes del tratamiento de glucoamilasa adicionalmente mediante diálisis. Para la comparación con almidón convencional (maltodextrina con DE6; asimismo degradado con glucoamilasa) se llevó a cabo un análisis mediante MALDI-TOF (matrix: trihidroxiacetofenona). La medición de espectrometría de masas se efectuó en un Axima TOF2, Shimadzu Biotech Kratos Analytical, Manchester, RU, con calibración con insulina bovina protonada sencilla y doble (+/- 1 Da). Los resultados de la determinación en el modo de ion positivo están representados en la Fig. 4 y en la Tabla 9.

**Ejemplo 9: resultados**

Se comprobaron las siguientes propiedades de almidón y parámetros mediante los procedimientos que se han descrito anteriormente:

Tabla 1: productos comparativos de almidón

<b>Abreviatura</b>	<b>Descripción</b>	<b>Producto en bruto</b>
MD1	Maltodextrina DE6	Almidón de maíz cereo
MD2	Maltodextrina DE15	Almidón de maíz
RD1	Dextrina tostada	Almidón de patata

5

(continuación)

Abreviatura	Descripción	Producto en bruto
EMS1	Modificación con 20 BEU/g de almidón	Almidón de maíz cereo
EMS2	Modificación con 100 BEU/g de almidón	Almidón de maíz cereo
EMS3	Modificación con 1.000 BEU/g de almidón	Almidón de maíz cereo
EMS4	Modificación con 10.000 BEU/g de almidón	Almidón de maíz cereo
EMS5	Modificación con 100.000 BEU/g de almidón	Almidón de maíz cereo
WMS	Almidón nativo de maíz cereo	Almidón de maíz cereo

5 MD1, MD2, RD1 y WMS sirvieron de ejemplos comparativos no modificados en el marco de invención. En ese caso, los almidones modificados enzimáticamente de acuerdo con la invención (EMS1-5) se modificaron con la enzima de ramificación de *Rhodothermus obamensis*. En función de la cantidad de enzima empleada se obtuvieron, tal como se muestra a continuación, diferentes productos. Una prolongación del tiempo de reacción no condujo a un cambio adicional de la masa molecular. Evidentemente se pueden obtener también almidones con menor modificación al detenerse antes la reacción. Se mostró un poder de adhesión particularmente alto y/o una estabilidad extraordinaria a largo plazo, en particular en las muestras EMS2, EMS3 y EMS4.

Tabla 2: determinación de las masas moleculares medias, polidispersidad y grados promedios de polimerización de los almidones a través CET convencional:

	Mw	Mn	PDI	DPn	DPw
MD 1	27.000	2900	9,3	18	167
MD 2	4700	1500	3,1	9	29
RD 1	7660	2400	3,2	15	47
EMS 1	1200000	64000	18,8	395	7407
EMS 2	87000	19000	4,6	117	537
EMS 3	43000	13400	3,2	83	265
EMS 4	31000	14700	2,1	91	191
EMS 5	18500	8100	2,3	50	114

10 Mw: masa molecular media (media en peso); Mn: masa molecular media (medio en número); PDI: índice de polidispersión (Mw:Mn); DPn grado de polimerización de acuerdo con la media en número; DPw grado de polimerización de acuerdo con la media en peso;

Tabla 3: determinación de las masas moleculares medias, polidispersidad y grados promedios de polimerización de los almidones a través de dispersión de luz:

	Mw	Mn	PDI	DPn	DPw
MD 1	61.200	1800	34,0	11	378
MD 2	6200	2700	2,3	17	38
RD 1	8700	4500	1,9	28	54
EMS 1	5506000	719000	7,7	4438	33988

15

(continuación)

	Mw	Mn	PDI	DPn	DPw
EMS 2	234000	66500	3,5	410	1444
EMS 3	104000	67000	1,6	414	642
EMS 4	90700	54000	1,7	333	560
EMS 5	35000	19700	1,8	122	216
WMS	>50000000	> 5000000	aprox. 10	> 38.000	> 300000

Las tablas 2 y 3 muestran el desplazamiento de la masa molecular media de las moléculas de almidón así como las diferencias en función del procedimiento de medición. Además están representados en las Figs. 1 y 2 los elugramas de CET y la distribución de masa molecular según medición de dispersión de luz. A partir de estos datos se puede reconocer claramente la composición homogénea del EMS de acuerdo con la invención, que muestra un estrecho pico dominante.

5

Tabla 4: proporción de oligosacárido del almidón:

	Glucosa [%]	Maltosa [%]	Maltotriosa [%]	Maltotetraosa [%]	Maltopentaosa (%)	Maltohexaosa (%)
MD1	0,05	1,4	2,2	1,7	1,3	1,3
MD2	2,9	3,3	3,8	3,8	2,8	1,8
RD1	0	0,1	1,4	1,3	0	0
EMS1	0	0,1	<0,1	<0,1	0	0
EMS2	0	0,1	<0,1	<0,1	0	0
EMS3	0,1	0,5	<0,1	<0,1	0	0
EMS4	0,0	1,1	0,8	0,5	0,4	0,4
EMS5	0	0	2,0	0,9	0,9	0,3
WMS	0	0	0	0	0	0

La tabla 4 muestra que en la modificación enzimática de acuerdo con la invención del almidón de partida apenas se producen oligosacáridos de bajo peso molecular.

Tabla 5: Parámetro de producto valor de DE y grado de ramificación:

	Valor de DE	Grado de ramificación RNM [%]
MD1	6,4	5,1
MD2	13,7	6,1
RD1	6,6	~ 7
EMS1	<0,1	4,4
EMS2	<0,1	5,2
EMS3	<0,1	7-8
EMS4	<0,1	10,9
EMS5	<0,1	12
WMS	<0,1	4,3

De acuerdo con la Tabla 5 se muestran la creciente ramificación por la modificación enzimática mientras que el valor de DE permanece reducido. Estos parámetros muestran una clara diferencia estructural con respecto a los almidones industriales convencionales.

Tabla 8a: determinación de viscosidad y poder de adherencia:

	Viscosidad BF 40 % 100 rpm			Poder de adhesión 40 %		
	2h	14d	SI	30 µm	60 µm	120 µm
MD1	148	356	2,4	58	57	101
MD2	66	66	1,0	ninguna adhesión		
RD1	641	655	1,0	100	105	> 150
EMS1	8300	n.m.	> 10	14	16	41
EMS2	1048	812	0,8	24	33	67
EMS3	338	369	1,1	45	44	94
EMS4	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
EMS5	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
n.d. – no determinado debido a una cantidad demasiado reducida de material						
n.m. – no medible debido a viscosidad demasiado alta						

5

Tabla 8b: determinación de viscosidad y poder de adherencia:

	Viscosidad BF 50 % 100 rpm			Poder de adhesión 50 %		
	2 h	14 d	SI	30 µm	60 µm	120 µm
MD1	550	n.m.	> 10	22	38	98
MD2	138	197	1,4	76	115	149
RD1	3570	3576	1,0	49	60	> 150
EMS1	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.
EMS2	7080	n.m.	> 10	17	26	61
EMS3	1770	1480	0,8	34	26	66
EMS4	358	354	1,0	104	129	> 150
EMS5	52	56	1,1	ninguna adhesión		

Las tablas 8a y b muestran las propiedades ventajosas de estabilidad y adhesión de los almidones de EMS, en particular de EMS2, EMS3 y EMS4. Estos almidones mostraron en todas las concentraciones y espesores de capa medidos buenas propiedades de adhesión. Mientras que EMS3 y EMS4 mostró una estabilidad óptima así como propiedades de adhesión en soluciones del 50 %, se consiguió el óptimo para EMS2 con una composición al 40 %. En la Fig. 3 se muestran otras determinaciones del poder de adhesión de soluciones de almidón al 50 % después de 24 horas. El índice de estabilidad SI resulta del cociente de la determinación de viscosidad después de 14 días por la determinación de viscosidad después de 2 horas, tras la producción de los engrudos de almidón acuosos. La primera medición de la viscosidad se efectuó después de 2 horas para garantizar condiciones constantes, en particular, una temperatura de medición constante.

10

15

Tabla 9: números m/z de los picos de los espectros de masa de MALDI-TOF (Fig. 4) de los productos de degradación de glucoamilasa de acuerdo con el Ejemplo 8:

MD1	EMS4	EMS3	EMS4 (d)
3433	3434	3434	3435
3595	3596	3595	3597
3757	3759	3757	3759
3919	3921	3920	3921
4082	4083	4083	4084
4244	4245	4244	4246
4407	4407	4407	4408
4568	4570	4569	4570
4730	4732	4731	4732
4893	4895	4894	4895

De acuerdo con estos resultados no se mostró ninguna clara diferencia en la estructura del producto derivada de la distribución de m/z en la proporción de almidón resistente a glucoamilasa entre la maltodextrina convencional (MD1) y los almidones modificados enzimáticamente. Eso significa que después del tratamiento con glucoamilasa queda un residuo similar.

5

## REIVINDICACIONES

- 5 1. Composición de adhesivo adecuada para la adhesión de productos de papel o de cartón que comprende un almidón ramificado enzimáticamente mediante una enzima de ramificación con un índice de estabilidad de viscosidad SI menor o igual a 1,3, determinado por el cociente de la viscosidad después de 14 días y la viscosidad después de 2 horas tras la preparación de la composición, teniendo el almidón un peso molecular medio  $M_w$  (media en peso), medido por dispersión de luz, de 60 kDa a 3000 kDa, presentando una composición de adhesivo adecuada para la adhesión un efecto de adhesión en el ensayo de desgarro de papel, en donde la composición de adhesivo con un espesor de capa de 60  $\mu\text{m}$  adhiere dos tiras de papel con 90  $\text{g/m}^2$ , de tal manera que después de 150 s se constata una rotura de fibra de una tira de papel adherida durante la separación.
- 10 2. Composición de adhesivo adecuada para la adhesión de productos de papel o de cartón que comprende almidón ramificado enzimáticamente por una enzima de ramificación con un índice de estabilidad de viscosidad SI menor o igual a 1,3, determinado por el cociente de la viscosidad después de 14 días y la viscosidad después de 2 horas tras la preparación de la composición, teniendo el almidón un peso molecular medio  $M_w$  (media en peso), medido por dispersión de luz, de 60 kDa a 3000 kDa, presentando la composición de adhesivo una viscosidad de al menos 250 mPas y siendo la proporción de almidón de la composición el 25-80 % (% en peso).
- 15 3. Composición de adhesivo de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, estando previsto el almidón en el 25-60 % (% en peso) en solución líquida.
- 20 4. Composición de adhesivo de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 3, presentando el almidón un grado de ramificación medio de ramificaciones alfa-1,6 del 4 al 12 % y/o presentando el almidón en esencia solo ramificaciones alfa-1,6-glicosídicas.
- 5 5. Composición de adhesivo de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 4, presentando el almidón un valor de DE de como máximo 1.
- 25 6. Composición de adhesivo de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 5, teniendo el almidón un peso molecular medio  $M_w$  (media en peso), medido por dispersión de luz de al menos 70 kDa, preferentemente de al menos 80 kDa, de forma especialmente preferente de al menos 90 kDa y/o de hasta 2500 kDa, preferentemente de hasta 2000 kDa, hasta 1500 kDa, hasta 1000 kDa, hasta 800 kDa, hasta 600 kDa, hasta 400 kDa, hasta 200 kDa, hasta 150 kDa, hasta 140 kDa, hasta 135 kDa, hasta 130 kDa, hasta 125 kDa.
- 30 7. Composición de adhesivo de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 6, siendo el almidón muy homogéneo, con un índice de polidispersión PDI de entre 1 y 5.
- 8 8. Composición de adhesivo de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 7, a base de almidón de maíz cereo, almidón de maíz, almidón de patata, almidón de patata de amilopectina, almidón de arroz, almidón de trigo, almidón de tapioca, almidón de sagó, preferentemente almidón de maíz cereo.
- 35 9. Composición de adhesivo de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 8, representando la proporción del almidón definido en una de las reivindicaciones 1 a 8, al menos al 50 % de toda la proporción de almidón de la composición.
- 40 10. Composición de adhesivo de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 9, estando modificado el almidón por una enzima de ramificación, preferentemente una enzima de ramificación de *Rhodothermus sp.*, que aumenta el grado de ramificación en comparación con el almidón no modificado y/o reduce la polidispersidad en comparación con el almidón no modificado, siendo en particular la enzima de ramificación una 1,4- $\alpha$ -(-D-glucano: 1,4- $\alpha$ -(-D-glucano 6- $\alpha$ -D-(1,4- $\alpha$ -D-glucano)-transferasa (E.C. 2.4.1.18).
- 45 11. Composición de adhesivo de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 10 en esencia exenta de oligosacáridos de bajo peso molecular con un grado de polimerización menor de 3, siendo preferentemente la proporción de los oligosacáridos de bajo peso molecular menor del 5 % de la masa de almidón.
- 50 12. Uso de la composición de adhesivo adecuada para la adhesión de productos de papel o de cartón que comprende almidón ramificado enzimáticamente por una enzima de ramificación con un índice de estabilidad de viscosidad SI menor o igual a 1,3, determinado por el cociente de la viscosidad después de 14 días y la viscosidad después de 2 horas tras la preparación de la composición, teniendo el almidón un peso molecular medio  $M_w$  (media en peso), medido por dispersión de luz, de 60 kDa a 3000 kDa, preferentemente de la composición según una de las reivindicaciones 1 a 11, como adhesivo o como agente de laminación, en particular como adhesivo o como agente de laminación para productos de papel o de cartón, de forma particularmente preferente para un cartón de presentación.
- 55 13. Producto adherido que comprende una composición de adhesivo adecuada para la adhesión de productos de papel o de cartón que comprende almidón ramificado enzimáticamente por una enzima de ramificación con un índice de estabilidad de viscosidad SI menor o igual a 1,3, determinado por el cociente de la viscosidad después de 14 días y la viscosidad después de 2 horas tras la preparación de la composición, teniendo el almidón un peso molecular

- 5 medio  $M_w$  (media en peso), medido por dispersión de luz, de 60 kDa a 3000 kDa, preferentemente según una de las reivindicaciones 1 a 11, como promotor de la adhesión; preferentemente en donde el producto es un producto de papel o de cartón que comprende al menos dos capas, comprendiendo al menos una capa papel o cartón, unida por un adhesivo de las reivindicaciones 1 a 9, presentando preferentemente una capa una superficie lisa impresa o que se puede imprimir, en particular en un lado de la capa opuesto al lado adherido.
- 10 14. Procedimiento para la adhesión de un producto, preferentemente para obtener uno de acuerdo con la reivindicación 13, que comprende la aplicación de una composición de adhesivo adecuada para la adhesión de productos de papel o de cartón que comprende almidón ramificado enzimáticamente por una enzima de ramificación con un índice de estabilidad de viscosidad SI menor o igual a 1,3, determinado por el cociente de la viscosidad después de 14 días y la viscosidad después de 2 horas tras la preparación de la composición, teniendo el almidón un peso molecular medio  $M_w$  (media en peso), medido por dispersión de luz, de 60 kDa a 3000 kDa, preferentemente según la dispersión de luz de 60 kDa a 3000 kDa, preferentemente según una de las reivindicaciones 1 a 11 en un lado que se va a adherir del producto y aplicación de otro lado que se va a adherir sobre el adhesivo aplicado.
- 15 15. Procedimiento para la fabricación del almidón de una composición de adhesivo de las reivindicaciones 1 a 11 mediante modificación enzimática que comprende la puesta en contacto de un almidón de partida con una enzima de ramificación, preferentemente de *Rhodothermus sp.*, con una actividad de 50 BEU a 20000 BEU, preferentemente de 80 BEU a 10000 BEU por gramo del almidón de partida; o procedimiento para la modificación enzimática de almidón, **caracterizado porque** el almidón se pone en contacto con una enzima de ramificación, 20 preferentemente de *Rhodothermus sp.* y porque se controla la masa molecular media del producto de almidón modificado deseado mediante la cantidad inicial de enzima por almidón de partida (cantidad en peso).
- 25 16. Procedimiento para la fabricación de una composición de adhesivo de las reivindicaciones 1 a 11, que comprende una modificación enzimática de un almidón de acuerdo con la reivindicación 15 y mezcla con un disolvente acuoso y opcionalmente una carga, preferentemente un silicato, una sal, componentes de tampón, preferentemente ácidos o bases y/o un biocida.
- 30 17. Composición de adhesivo a base de almidón adecuada para adherir productos de papel o de cartón que comprende un almidón ramificado enzimáticamente que se puede obtener mediante la puesta de contacto de un almidón de partida con una enzima de ramificación, preferentemente de *Rhodothermus sp.* con una actividad de 50 BEU a 20000 BEU, preferentemente de 80 BEU a 10000 BEU por gramo del almidón de partida, teniendo el almidón un peso molecular medio  $M_w$  (media en peso), medido por dispersión de luz, de 60 kDa a 3000 kDa, presentando una composición de adhesivo adecuada para la adhesión un efecto de adhesión en ensayo de desgarro de papel, en donde la composición de adhesivo adhiere con un espesor de capa de 60  $\mu\text{m}$  dos tiras de papel con 90  $\text{g}/\text{m}^2$ , de tal manera que después de 150 s se comprueba un desgarro de fibra de una tira de papel adherida durante la separación, en particular preferentemente como se define en una de las reivindicaciones 1 a 11.

35

Fig. 1

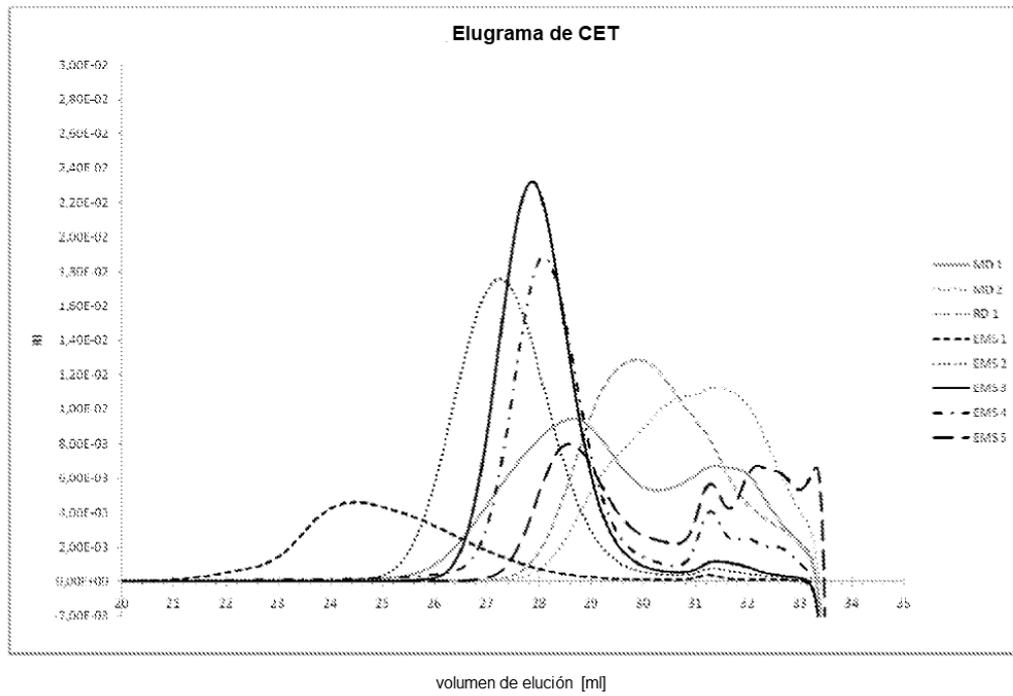


Fig. 2

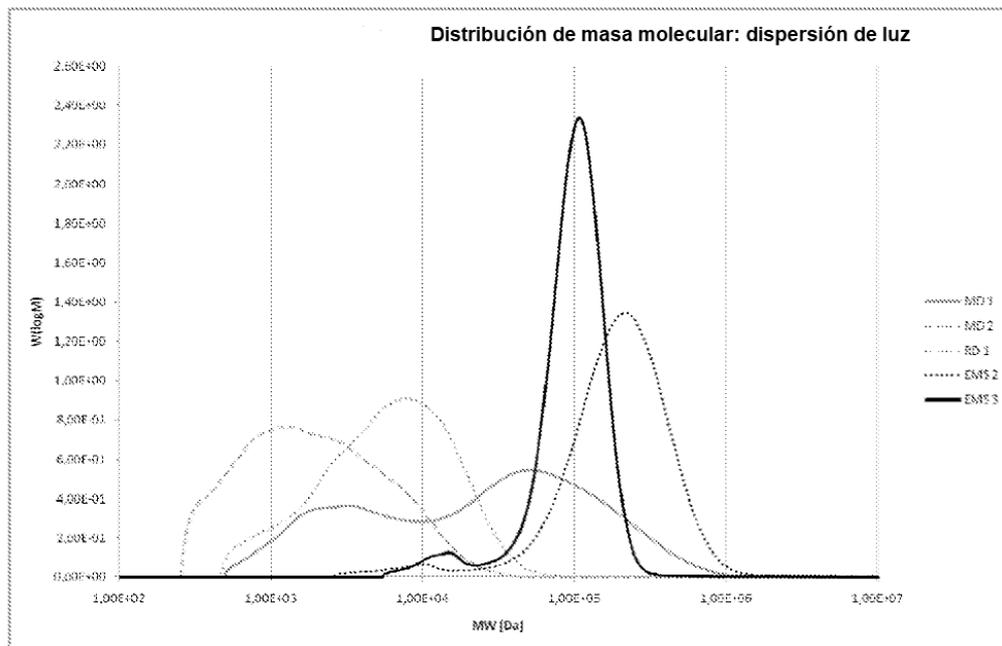


Fig. 3 Mediciones del poder de adhesión de las colas del 50 % después de 24 h

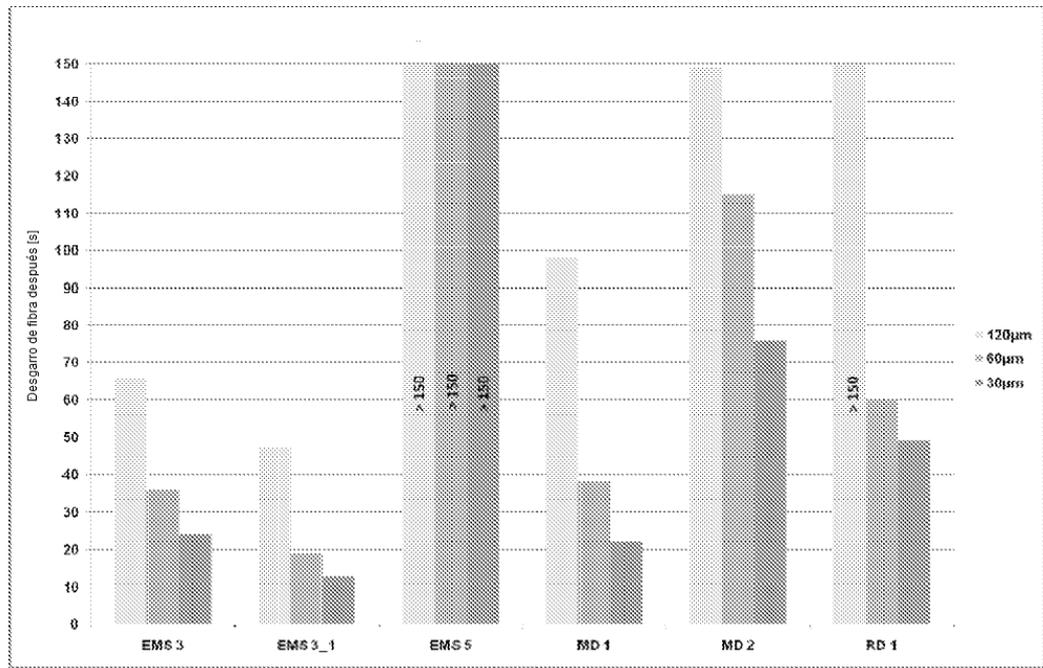


Fig. 4

