

BIOCELULOSA MODIFICADA Y PROCESOS PARA SU ELABORACIÓN

CAMPO DE LA INVENCION

- 5 La presente invención está dirigida a biocelulosa modificada con triglicéridos de origen animal o vegetal y proceso para su elaboración. La biocelulosa de la presente solicitud puede ser utilizada como aditivo cosmético y alimenticio para mejorar la estabilidad de mezclas de componentes acuosos y oleosos.

10 ANTECEDENTES

La biocelulosa es una fibra natural que se obtiene a partir de procesos de fermentación de azúcares utilizando microorganismos. Es ampliamente utilizada como material de revestimiento, y en la elaboración de productos farmacéuticos y alimenticios. Sin embargo,
15 su aplicabilidad en la industria presenta una gran limitación debido a su carácter hidrofílico. Por lo tanto, para expandir los usos de la biocelulosa es necesario realizar modificaciones químicas en la superficie del material que lleven al aumento de la hidrofobicidad.

Comúnmente la modificación de la superficie de la biocelulosa para introducir grupos de carácter hidrofóbico se conoce como “*hidrofobización*”. Este procedimiento se lleva a cabo mediante la formación de enlace covalente con diferentes grupos funcionales, entre
20 los que destacan procesos de acetilación, reacciones de esterificación, sililación, amidación e inserción con moléculas poliméricas.

La patente US20150157038 se refiere a un proceso para obtener un oleogel comestible a partir de etilcelulosa. En el proceso descrito se solubiliza etilcelulosa en un aceite o grasa de triacilglicerol bajo agitación y calentamiento constante en una atmosfera inerte para evitar la oxidación durante la solubilización y en algunas modalidades se incluye un estabilizante para aumentar la firmeza del oleogel. Sin embargo, el proceso para obtener el
30 oleogel comestible de este documento presenta algunos inconvenientes ya que a temperaturas demasiado bajas y tiempos de agitación insuficientes dan como resultado una textura arenosa inaceptable del oleogel. De igual forma los aceites con un alto contenido de ácidos grasos insaturados, al mantenerse en las condiciones del proceso (tiempos de agitación y altas temperaturas), rápidamente se vuelven rancios, desarrollando un olor
35 desagradable, lo que limita las posibilidades de aceites que pueden ser empleados.

Adicionalmente, la patente WO2017151455 divulga un proceso en condiciones acuosas para aumentar la hidrofobicidad de nanocrisales de celulosa con ácidos carboxílicos o ésteres de cadena de carbono larga, mediante el uso de una suspensión de celulosa en ácido
40 láctico. En este proceso las nanopartículas de celulosa comprenden una unidad de glucosa y el proceso de esterificación consiste en someter a calentamiento una mezcla que contiene las nanopartículas de celulosa con agua, un catalizador adecuado para la esterificación y un

ácido carboxílico, biodiesel o aceites vegetales. El objetivo del proceso de este documento es obtener nanocristales de celulosa hidrofóbicos, compatibles con polímeros hidrofóbicos en aplicaciones de nanomateriales compuestos.

- 5 Varios de los procedimientos disponibles para modificar la superficie de la biocelulosa y aumentar su hidrofobicidad requieren el uso de disolventes y reactivos peligrosos que son tóxicos para la salud humana y el medio ambiente, son vías sintéticas complejas y de varios pasos, y logran poca modificación en la superficie de la biocelulosa.
- 10 La presente invención proporciona un proceso *one-pot (todo en un solo recipiente)* de hidrofobización de biocelulosa basado en reacciones de transesterificación por tratamiento físico-químicos de una mezcla de biocelulosa y triglicéridos de origen vegetal o animal, para reducir los subproductos tóxicos de la reacción. Con el proceso de la presente invención se logra una modificación entre el 10 a 30% con cadenas de ácidos grasos entre
- 15 C₁₄-C₂₂ covalentemente unidas a la superficie de la biocelulosa.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

- La presente invención está dirigida a un proceso para obtener biocelulosa modificada con triglicéridos de origen animal o vegetal que comprende mezclar biocelulosa de un tamaño
- 20 de partícula entre 0,5 a 20 micras con triglicéridos hasta obtener una mezcla homogénea y someter a transesterificación por tratamiento fisicoquímico la mezcla homogénea hasta obtener biocelulosa modificada. Particularmente, la biocelulosa modificada se caracteriza por ser hidrofóbica y puede ser utilizada como aditivo cosmético y alimenticio, para
- 25 mejorar la estabilidad de mezclas de componentes acuosos y oleosos y para incrementar el porcentaje de fibra en alimentos oleosos.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

- 30 **FIG. 1** Micrografías SEM de películas de biocelulosa obtenidas utilizando mucílago de cacao como fuente de carbono. (Izq.) superficie de la membrana en contacto con aire, (Der.) superficie de la membrana en contacto con el medio de cultivo.

FIG.2 Micrografía SEM mostrando tamaños de fragmentos de biocelulosa de 1 a 5 µm.

- 35 **FIG. 3** Espectro IR de biocelulosa sin modificar y biocelulosa sólida modificada por reacción de transesterificación mediante reacciones termoquímicas y sonoquímicas.

FIG. 4 Espectro IR de la biocelulosa sin modificar y biocelulosa sólida modificada por reacción de transesterificación mediante reacciones termoquímicas y sonoquímicas después de limpieza exhaustiva con hexano en Soxhlet por 48 horas.

FIG. 5 TGA/DSC de biocelulosa sólida modificada por reacción de transesterificación mediante reacciones termoquímicas y sonoquímicas después de limpieza exhaustiva con hexano en Soxhlet por 48 horas.

FIG.6 Micrografía SEM de la biocelulosa sólida modificada con manteca de cacao (después de reacción y eliminación de grasa no reactiva).

FIG.7 Espectro IR de biocelulosa sin modificar y biocelulosa cremosa modificada por reacción de transesterificación mediante reacciones termoquímicas y sonoquímicas.

FIG.8 TGA/DSC de biocelulosa cremosa modificada por reacción de transesterificación mediante reacciones termoquímicas y sonoquímicas después de limpieza exhaustiva con hexano en Soxhlet por 48 horas.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

La presente invención corresponde a un proceso para obtener biocelulosa modificada con triglicéridos de origen animal o vegetal que se caracteriza porque es apolar y contiene cadenas de ácidos grasos C₁₄ a C₂₂ unidas covalentemente a su estructura. El proceso para obtener biocelulosa modificada de acuerdo con la presente invención comprende las etapas de: mezclar biocelulosa de un tamaño de partícula entre 0,5 a 20 micras con triglicéridos hasta obtener una mezcla homogénea y someter a transesterificación por tratamiento fisicoquímico la mezcla homogénea hasta obtener biocelulosa modificada.

Para efectos de la presente invención, el término “*biocelulosa*” se refiere a nanocelulosa, celulosa bacteriana y/o hidrogel de celulosa producido mediante procedimientos de fermentación de azúcares (glucosa, fructosa, sacarosa, etc.) utilizando microorganismos de la especie *Gluconacetobacter spp.* Los azúcares que se pueden emplear en el proceso de la presente invención provienen de una fuente orgánica, que se selecciona pero no se limita a mucílago de cacao, mucílago de café, azúcares simples como glucosa fructosa, manosa, residuos de jugo de fruta y mezclas de los mismos.

Asimismo, el término “*triglicérido*” se refiere a lípidos o grasas formadas por glicerol y ácidos grasos de origen animal o vegetal. Entre los triglicéridos de origen animal o vegetal que se pueden emplear en el proceso de la presente invención se encuentran, pero no se limitan a manteca de cacao, aceite de oliva, aceite de aguacate, aceite de palma, aceite de coco, aceite de argán, mantequilla, sebo animal, manteca de cerdo y mezclas de los mismos.

De acuerdo, con el proceso de la invención para obtener biocelulosa modificada se mezcla biocelulosa obtenida por cualquier proceso de fermentación microbiológico de azúcares provenientes de una fuente orgánica conocido en la técnica y se reduce el tamaño de partícula de la biocelulosa entre 0,5 a 20 micras, 0,5 a 1 micras, 1 a 10 micras y 10 a 20 micras, para mejorar la superficie de contacto durante el proceso. Posteriormente, con un

equipo de dispersión operado entre 3000 a 5500 rpm; 5500 a 7500 rpm y 7500 a 10000 rpm y temperatura entre 50 a 60°C, 60 a 70°C; 70 a 80°C; 80 a 90°C y entre 90 a 100 °C, se realiza una mezcla entre la biocelulosa con un tamaño de partícula entre 0,5 a 20 micras y los triglicéridos de origen animal o vegetal en una proporción entre 1:2 a 1:4 respectivamente, hasta obtener una mezcla homogénea.

Opcionalmente, a la mezcla de biocelulosa y triglicéridos se le adiciona un dispersante grado alimenticio. Para efectos de la presente invención, el término “*dispersante*” se refiere a un aditivo que se utiliza para lograr que un soluto tenga distribución y dispersión en un disolvente. Sinónimos de este son “*emulsificante*”, “*emulsionante*” y “*emulgente*”. Entre los dispersantes grado alimenticio aceptables para el proceso de la presente invención se encuentran, pero no se limitan a: lecitina, polisorbato, ésteres de poliglicerol (PGE), ésteres de propilenglicol (PGMS), lactatos de estearoilo, ésteres de sacarosa, ésteres de sorbitán, polisorbatos y mezclas de los mismos.

La mezcla homogénea de biocelulosa y triglicéridos se somete a transesterificación por tratamiento fisicoquímico hasta obtener biocelulosa modificada. Para efectos de la presente invención, el término “*transesterificación*” se refiere a la reacción entre un alcohol de la biocelulosa con un éster del triglicérido para producir un éster en la biocelulosa. Particularmente, con el proceso de la invención se logra una transesterificación por tratamiento fisicoquímico de la mezcla homogénea de biocelulosa y triglicéridos entre el 10 y el 30 %.

Entre los tratamientos fisicoquímicos aplicables para la transesterificación en el proceso de la invención se encuentran pero no se limitan a: cavitación por ultrasonido (sonoquímica); calentamiento tradicional vacío o con microondas (termoquímica); sometimiento a fuerzas de corte, extrusión reactiva, ondas de choque (mecanoquímica) y/o mezclas de los mismos.

Para efectos de la presente invención el tratamiento fisicoquímico por sonoquímica consiste en someter a tratamiento la mezcla homogénea de biocelulosa y triglicéridos con una sonda operada entre 550 y 850 vatios, frecuencia entre 20 y 40 Hertz, con pulsos 1:1; por un periodo entre 20 y 30 minutos.

Para efectos de la presente invención el tratamiento fisicoquímico por termoquímica consiste en someter la mezcla homogénea de biocelulosa y triglicéridos a calentamiento tradicional en un horno operado a una temperatura entre 60 y 80 °C, por un tiempo entre 10 y 20 minutos y una presión alrededor de 1 atmósfera; o vía microondas con frecuencia de 2450 MHz y por un tiempo de entre 5 y 10 minutos.

Para efectos de la presente invención el tratamiento fisicoquímico por mecanoquímica consiste en someter las mezclas a una presión entre 600 a 1250 psi utilizando una prensa hidráulica.

Adicionalmente la invención describe una biocelulosa modificada con triglicéridos de origen animal o vegetal que se caracteriza porque es apolar y contiene cadenas de ácidos grasos C₁₄ a C₂₂ unidas covalentemente a su estructura. La biocelulosa modificada presenta propiedades que la hacen útil como aditivo cosmético y alimenticio para mejorar la estabilidad de mezclas de componentes acuosos y oleosos y para incrementar el porcentaje de fibra en alimentos oleosos. La biocelulosa modificada puede estar en forma sólida y cremosa.

La presente invención será presentada en detalle a través de los siguientes ejemplos, los cuales son suministrados solamente con propósitos ilustrativos y no con el objetivo de limitar su alcance.

EJEMPLOS

Ejemplo 1. Caracterización del mucílago de cacao, utilizado como fuente de carbono para la producción de biocelulosa:

El mucílago (exudado) del grano de cacao se utiliza como fuente de carbono para la producción por vía biotecnológica de la biocelulosa. La composición promedio del mucílago de cacao se observa en la Tabla 1.

Tabla 1. Composición del mucílago de cacao (var. CCN-51) en el Departamento de Santander.

Parámetros	Método	Resultado
Humedad	NTC 529	83,01 %
Nitrógeno Total	Standard Methods 4500-Norg-4500 NH ₃ B,C	489 mg N/L
Fenoles Totales	Standard Methods 5530 D	<0,04 mg Fenol/L
pH 24,2° C	pH-metro	3,63
Densidad	Picnómetro	1,0472 g/mL
Cenizas base húmeda	AOAC 7,009/84-94205/90	4,25 %
Azúcares totales	HPLC-RID	148,06 g/L
Glucosa	HPLC-RID	68,14 g/L
Fructosa		65,45 g/L
Sacarosa		14,47 g/L

Ejemplo 2. Producción de biocelulosa a partir de mucilago de cacao como fuente de carbono:

Colonias de *Gluconacetobacter xylinus* fueron inoculadas en 150 mL de medio de cultivo HS (Hestrin & Schramm: 20 g/L de sacarosa, 5 g/L de peptona, 5 g/L de extracto de levadura, 1,159 g/L de ácido cítrico y 2,7 g/L Na₂HPO₄) en un Erlenmeyer de 250 mL e incubadas usando un agitador orbital a 200 rpm por 7 días a 30 °C. Posteriormente, se

transfirió 5% del volumen de preinóculo a biorreactores con 250 mL del medio de cultivo que consiste en mucílago de cacao diluido caracterizado por la composición descrita en la Tabla 1 en agua desionizada y tamponado a pH 5.0.

- 5 La producción de biocelulosa se realiza por fermentación durante 7 días de incubación. El rango óptimo de pH para la producción de celulosa y crecimiento de *G. xylinus* es de 4.5 a 5.5, debido a que la síntesis de celulosa y el crecimiento de la bacteria se obstaculizan en medios que estén por encima de 6.0 y por debajo de 4.0.
- 10 Las películas de biocelulosa formada presentan una coloración oscura, debido a los procesos de caramelización del medio de cultivo durante la esterilización de la fuente de carbono que conllevan a la formación de polímeros del tipo caramelano. Por lo anterior, la biocelulosa obtenida se somete a una etapa de limpieza y esterilización para eliminar el color oscuro utilizando vapor de agua o soluciones de hipoclorito de sodio, peróxido de
- 15 hidrógeno, o ácido peracético. Las películas de biocelulosa presentan una apariencia traslúcida después de la limpieza. La morfología de la superficie de las películas de biocelulosa obtenidas muestra las nanofibras del polímero formando una red tridimensional (FIG. 1).

20 **Ejemplo 3. Modificación de biocelulosa por transesterificación a partir de tratamientos fisicoquímicos (Derivado sólido):**

- Para modificar la biocelulosa por transesterificación a partir de tratamientos fisicoquímicos, es necesario reducir el tamaño de partícula del material. Esto se realiza por dispersión mecánica, sometiendo el material húmedo a fuerzas de corte utilizando un homogeneizador
- 25 (Ultra Turrax, 50/60 Hz; 700 W) por 30 minutos hasta obtener un material cremoso correspondiente a la biocelulosa homogenizada con tamaño de partícula por debajo de 30 μm , tal y como se evidencia en la micrografía SEM de los fragmentos de biocelulosa obtenidos (FIG. 2).

- 30 La reacción de transesterificación se realiza mediante reacciones termoquímicas y sonoquímicas, para lo cual, se utilizan mezclas de biocelulosa homogeneizada, manteca de cacao (en solución de etanol al 8%) y un surfactante alimenticio (Tween 80, lecitina de soya, lecitina de cacao). La mezcla se homogeneiza (Ultra Turrax, 700 W, entre 3000 y 10000 rpm) a una temperatura entre 50 y 100 °C hasta obtener un material cremoso
- 35 homogéneo que posteriormente se hace reaccionar con una sonda de ultrasonido (SONICS Vibra cell; 750 WATTS; FREQ: 20 Hz) por 30 min con pulsos 1:1. La mezcla se deja en reposo por 12 horas en una estufa a 40°C a 80°C para eliminar el exceso de solvente (etanol: agua) hasta obtener la biocelulosa modificada en forma sólida.

40 **Ejemplo 4. Caracterización de la biocelulosa modificada (Derivado sólido):**

La biocelulosa obtenida de acuerdo al Ejemplo 3 se analiza por espectrometría infrarroja ATR. Particularmente, en el espectro obtenido se observa la presencia de las bandas de los grupos CH₂ y CH₃ de los ácidos grasos entre 2818 y 2919 cm⁻¹ y la presencia del grupo C=O entre 1732 y 1740 cm⁻¹ (FIG. 3).

5

Por otro lado, con el fin de descartar la presencia de residuos de manteca de cacao en el material sólido obtenido al final de la reacción, se realizó una limpieza exhaustiva de la biocelulosa modificada sólida con hexano durante 48 horas en un aparato Soxhlet (FIG. 4). Después de la limpieza se tomó de nuevo el espectro IR del material modificado (FIG. 5).

10 La biocelulosa modificada sólida no presenta ninguna diferencia con respecto al espectro de la FIG. 3. Particularmente, en la FIG. 4 se observa de nuevo claramente la presencia de las bandas de los grupos CH₂ y CH₃ de los ácidos grasos entre 2818 y 2919 cm⁻¹ y la presencia del grupo C=O entre 1732 y 1740 cm⁻¹.

15 Adicionalmente, la diferencia de peso entre la biocelulosa sólida modificada limpia (después de la eliminación de las grasas no reactivas) y la biocelulosa original corresponde a 59%. Por lo que concluimos que la modificación de la biocelulosa ocurrió satisfactoriamente y fue bastante extensiva por el aumento de peso de la biocelulosa de partida. La biocelulosa sólida modificada obtenida en el Ejemplo 3 se caracteriza por una
20 composición promedio como se indica en la Tabla 2.

Tabla 2. Composición porcentual biocelulosa modificada obtenida en el Ejemplo 1.

Compuesto	Valor
Celulosa	8,6%
Grasa	17,2%
Surfactante	8,5%
Agua	49,6%
Etanol	16,1%

Por otro lado, se estudió el comportamiento térmico de la biocelulosa sólida modificada por análisis TGA. Como se observa en la FIG. 6 la biocelulosa sólida inicia su
25 descomposición térmica en 200°C y entre 300°C y 370°C ocurre la depolimerización de la biocelulosa y la casi completa degradación de los residuos carbonáceos a CO₂, CO y H₂O registrando una pérdida del 60% en masa del derivado de celulosa y manteca de cacao.

30 **Ejemplo 5. Modificación de biocelulosa por transesterificación a partir de tratamientos fisicoquímicos (Derivado en crema):**

Para la reacción de transesterificación mediante reacciones termoquímicas y sonoquímicas se utilizan mezclas de biocelulosa homogeneizada, manteca de cacao y un surfactante alimenticio (Tween 80, lecitina de soya, lecitina de cacao). La mezcla se homogeneiza

(Ultra Turrax, 700 W, entre 3000 y 10000 rpm) a una temperatura entre 50 y 100 °C hasta obtener un material cremoso homogéneo que posteriormente se coloca en un baño de ultrasonido por 1 hora (BRANSONIC, Output: 110 W 40 kHz +/- 6%) que posteriormente se hace reaccionar con una sonda de ultrasonido (SONICS Vibra cell; 750 WATTS; FREQ: 20 Hz) por 30 min con pulsos 1:1. La mezcla se deja en reposo por 12 horas en una estufa a 40 °C para eliminar el exceso de solvente hasta obtener la biocelulosa modificada en forma de crema.

Ejemplo 6. Caracterización de la biocelulosa modificada (Derivado en crema):

La biocelulosa obtenida de acuerdo al Ejemplo 5 se analiza por espectrometría infrarroja ATR. Particularmente, en el espectro obtenido se observa la presencia de las bandas de los grupos CH₂ y CH₃ de los ácidos grasos entre 2818 y 2919 cm⁻¹ y la presencia del grupo C=O entre 1732 y 1740 cm⁻¹ (FIG. 7).

Por otro lado, con el fin de descartar la presencia de residuos de manteca de cacao en el material cremoso obtenido al final de la reacción, se realizó una limpieza exhaustiva de la biocelulosa modificada sólida con hexano durante 48 horas en un aparato Soxhlet.

Adicionalmente, la diferencia de peso entre la biocelulosa cremosa modificada limpia (después de la eliminación de las grasas no reactivas) y la biocelulosa original corresponde a 34%. Por lo que concluimos que la modificación de la biocelulosa ocurrió satisfactoriamente y fue bastante extensiva por el aumento de peso de la biocelulosa de partida. La biocelulosa sólida modificada obtenida en el Ejemplo 5 se caracteriza por una composición promedio como se indica en la Tabla 3.

Tabla 2. Composición porcentual biocelulosa modificada obtenida en el Ejemplo 1.

Compuesto	Valor
Celulosa	3,6%
Grasa	7,3%
Surfactante	4,2%
Agua	84,9%

Por otro lado, se estudió el comportamiento térmico de la biocelulosa cremosa modificada por análisis TGA. Como se observa en la FIG. 8 la biocelulosa cremosa inicia su descomposición térmica en 200°C y entre 300°C y 390°C ocurre la depolimerización de la biocelulosa y la casi completa degradación de los residuos carbonáceos a CO₂, CO y H₂O registrando una pérdida del 70% en masa del derivado de celulosa y manteca de cacao.