



Obtenció de tensioactius biopolimèrics basats en la inulina en medi aquós

Jordi Morros Camps

ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX (www.tdx.cat) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (www.tdx.cat) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (www.tdx.cat) service has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized neither its spreading and availability from a site foreign to the TDX service. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service is not authorized (framing). This rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.



***Obtenció de tensioactius biopolimèrics basats en la
inulina en medi aquós***

Tesi doctoral dirigida per:

Dra. M^a Rosa Infante Martínez-Pardo (Prof. d'Investigació del IQAC)

Dr. Ramon Pons Pons (Investigador Científic del IQAC)

Jordi Morros Camps

Barcelona, Maig 2011

Programa de doctorat : *Enginyeria del Medi Ambient i del Producte*

Bienni: 2006-2008 Tutora : *Dra. Carmen González Azón*

A la Glòria, a la meva família i als bons amics

Continguts

1 Pròleg	9
2 Introducció	13
2.1 Característiques generals dels tensioactius.....	13
2.1.1 Activitat superficial.....	14
2.1.2 Autoagregació.....	17
2.1.3 Tensioactius polimèrics	19
2.1.4 Polisacàrids com a part hidròfila d'un tensioactiu polimèric	21
2.2 Caracterització de sistemes dispersos.....	24
2.2.1 Diferències entre sòlids i líquids sota la influència del flux.....	24
2.2.2 Caracterització reològica d'una dispersió.	26
2.2.3 Aplicacions de la dispersió de raigs X a angles petits (SAXS) a l'elucidació estructural de sistemes dispersos	31
2.2.3.1 Modelització.....	32
2.3 Característiques generals dels polisacàrids	34
2.3.1 Enllaç glicosídic.....	34
2.3.2 Grau de polimerització.....	36
2.3.3 Grau de ramificació	38
2.3.4 Comportament en solució	38
2.4 La inulina, un polisacàrid natural	41
2.4.1 Estructura química	42
2.4.2 Propietats fisicoquímiques.....	46
2.4.3 Obtenció industrial i aplicacions.....	46

2.5	La inulina com a recurs renovable per la indústria química.....	48
2.5.1	Degradació de la inulina	48
2.5.2	Modificació química de la inulina i aplicacions	49
2.5.2.1	Modificació aniònica.....	51
2.5.2.2	Modificació catiònica.....	52
2.5.2.3	Modificació hidrofòbica.....	53
3	Objectius.....	55
4	Materials i mètodes.....	59
4.1	Materials i aparells	59
4.2	Síntesi química de β -hidroxialquil èters d'inulina.....	66
4.2.1	Obtenció de β -hidroxidodecil èters d'inulina en NMP anhidre	66
4.2.2	Obtenció de β -hidroxidodecil èters d'inulina en mescles NMP:aigua (1:1)	67
4.2.3	Obtenció de β -hidroxialquil èters d'inulina en aigua	68
4.2.4	Obtenció de β -hidroxialquil èters d'inulina en mescles aigua:cosolvent	69
4.2.5	Obtenció de β -hidroxialquil èters d'inulina en mescles aigua:tensioactiu	70
4.3	Síntesi química de 2-alquen-1-il succinats d'inulina.....	72
4.3.1	Obtenció de 2-alquen-1-il succinats d'inulina en aigua.....	72
4.3.2	Obtenció de 2-alquen-1-il succinats d'inulina en mescles aigua:tensioactiu	73
4.4	Anàlisi química i estructural de la inulina i derivats (HMI).....	75
4.4.1	Volumetries.....	75
4.4.1.1	Mètode Karl-Fischer per a la determinació d'aigua	75
4.4.1.2	Valoració àcid-base per la determinació del grau de substitució (GS).....	76
4.4.2	Mètodes cromatogràfics.....	77
4.4.2.1	CCF per al seguiment de reaccions.	78
4.4.2.2	HPLC-UV per a la determinació d'epòxids aromàtics o anhídrids del 2-alquenil succínic.....	79
4.4.2.3	GC-FID per a la determinació d'epòxids alifàtics.....	80

4.4.3	Mètodes òptics	80
4.4.3.1	RMN per a l'anàlisi química i estructural d'inulina i derivats (HMI)	82
4.4.3.2	FT-IR per a la identificació de 2-alquen-1-il succinats d'inulina	88
4.5	Caracterització fisicoquímica dels derivats hidròfobs de la inulina (HMI)	91
4.5.1	Tensiometria per a la determinació de l'activitat superficial	91
4.5.2	Reologia per a la caracterització dels HMI en solució	92
4.5.2.1	Preparació de mostres	95
4.5.2.2	Càlcul de la fracció en volum, ϕ	95
4.5.3	Preparació d'emulsions oli en aigua	96
4.5.4	Microscòpia òptica	97
4.5.4.1	Microscòpia de llum polaritzada	97
4.5.4.2	Microscòpia de fluorescència	97
4.5.5	Mesures de SAXS per a la resolució estructural de sistemes DDAB-HMI.	100
5	Resultats i discussió	101
5.1	Caracterització de la modificació hidrofòbica per l'eficiència de reacció (ER)	101
5.1.1	El grau de substitució	103
5.1.2	Eficiència de reacció (ER)	104
5.1.3	Temps de reacció	105
5.2	Eterificació de la inulina amb 1,2-alquilepòxids	106
5.2.1	Reactivitat dels 1,2-alquilepòxids vers la inulina	110
5.2.1.1	Influència de la cadena	110
5.2.1.2	Influència de la quantitat de base	112
5.2.1.3	Influència de la temperatura	114
5.2.1.4	Conclusions parcials	115
5.2.2	Eterificació en medi bàsic aquós	117
5.2.2.1	Influència de la temperatura	117
5.2.2.2	Relació entre solubilitat i reactivitat del 1,2-alquilepòxid	119

5.2.2.3	Efecte de l'addició d'alcohol isopropílic (IPA).....	120
5.2.2.4	Conclusions parcials.....	121
5.2.3	Esterificació en medi bàsic aquós en presència de tensioactiu	123
5.2.3.1	Influència de l'estructura i quantitat de tensioactiu	123
5.2.3.2	Proposta de mecanisme de reacció en presència de tensioactius catiónics.....	126
5.2.3.3	Efecte de la temperatura	128
5.2.3.4	Influència de la concentració d'epòxid.....	129
5.2.3.5	Efecte de la longitud de cadena en presència de tensioactiu catiónic.....	130
5.2.3.6	Conclusions parcials.....	131
5.3	Esterificació de la inulina amb anhídrids de l'àcid alquenil succínic (ASA).....	133
5.3.1	Esterificació en medi bàsic aquós	137
5.3.1.1	Influència de la concentració d'inulina	138
5.3.1.2	Influència del pH de reacció.....	138
5.3.1.3	Conclusions parcials.....	139
5.3.2	Esterificació en medi bàsic aquós en presència de DTAB.....	141
5.3.2.1	Influència del pH de reacció.....	141
5.3.2.2	Influència de la relació molar DTAB/UFA	142
5.3.2.3	Influència de la temperatura	145
5.3.2.4	Conclusions parcials.....	146
5.4	Caracterització fisicoquímica de la inulina i derivats (HMI) en solució aquosa.....	148
5.4.1	Comportament de la inulina i els seus derivats en solució aquosa.....	148
5.4.2	Tensió superficial de la inulina modificada hidrofòbica (HMI).....	152
5.4.2.1	Efecte de la cadena hidròfoba sobre l'agregació (CAC) de l'HMI	155
5.4.2.2	Efecte de la cadena hidròfoba sobre l'activitat superficial (π_{CAC}) de l'HMI	155
5.4.3	Viscositat de les solucions aquoses d'inulina i InSP1.....	158
5.4.4	Dispersió de raigs X de la inulina modificada hidrofòbica (HMI) en solució	160
5.4.5	Propietats emulsionants dels derivats hidròfobs de la inulina.....	161

5.4.6	Conclusions parcials	163
5.5	Caracterització fisicoquímica de mescles HMI-DDAB en medi aquós ...	165
5.5.1	Reologia del sistema HMI-DDAB.....	166
5.5.2	Microscòpia del sistema HMI-DDAB	171
5.5.3	Difracció de raigs X a angle petit (SAXS) del sistema HMI-DDAB.....	174
5.5.4	Birefringència dels sistemes HMI-DDAB	182
5.5.5	Conclusions parcials	184
6	Conclusions generals	185
7	Bibliografia.....	187
Annex 1	Publicacions.....	195
Annex 2	Estructures i espectres.....	217
Annex 3	Símbols i abreviatures.....	239

1 Pròleg

La incessant activitat biològica dels organismes vius genera multitud de recursos naturals en forma de polímers. Des de l'origen de les seves activitats, l'ésser humà ha utilitzat aquests recursos com a matèria primera i font d'energia del seu desenvolupament tecnològic. Durant anys, la roba, les eines, les armes, els utensilis i fins tot els sostres de les cases s'elaboraren a partir de polímers presents a la natura al principi amb el mínim de modificació i després, progressivament, mitjançant processos més avançats amb la finalitat d'optimitzar la seva utilització i durabilitat. A finals del segle XIX, processos com la fabricació del paper, el condicionament i tinció de fibres naturals, la vulcanització del cautxú natural, l'ús del midó i resines naturals com a adhesius i la modificació química de la cel·lulosa entre altres, van adquirir un elevat grau de sofisticació tecnològica¹.

No obstant això, la relativa importància dels materials macromoleculars d'origen natural va patir posteriorment una gradual davallada, primer pel ràpid desenvolupament de la química del carbó a principis de segle i després per la revolució petroquímica del segle XX. Malgrat que certs sectors com la fabricació del paper i l'ús d'olis naturals, romangueren inalterats; d'altres, com la producció de pneumàtics i èsters de cel·lulosa, perderen importància dins el mercat, i encara d'altres, com l'explotació de resines naturals, van ser relegats a papers secundaris dins la indústria. Un clar reconeixement de l'interès científic i econòmic d'aquells anys per a l'avenç en la síntesi de macromolècules derivades del petroli fou la concessió del Premi Nobel de Química a

l'italià Giulio Natta i l'alemany Karl Ziegler al 1963 pels seus descobriments en el camp de la química i tecnologia dels plàstics².

En poques dècades, el reialme dels polímers basats en els recursos fòssils va, literalment, conquerir el món, no només amb ingents quantitats de plàstics, elastòmers, fibres, adhesius, pintures i material d'embalatge sinó també amb una increïble varietat de sofisticades estructures macromoleculares, de les quals el seu paper funcional en molts aspectes de les noves tecnologies era indispensable³. A principis d'aquest segle XXI, aquest formidable progrés basat en l'abundància del petroli i l'energia a preus relativament baixos ha arribat als nostres dies en un moment en que el petroli ha començat a escassejar sense que estigui clar quin serà el recurs natural que el succeirà⁴.

Dins aquest context, la biomassa com a recurs renovable està tornant a guanyar importància com alternativa als recursos i energies fòssils. Actualment, s'estima que cada any es produeixen aproximadament 170 milers de milions de tones de biomassa per fotosíntesi⁵, de les quals el 75% poden ser assignades als carbohidrats i als seus derivats (el 25% restant a proteïnes, olis i greixos vegetals), però tan sols entre un 3 i un 4 % del total es dedica a productes per a l'alimentació i en menor quantitat, però amb una implantació cada cop més gran, en productes per a usos específics no alimentaris⁶.

En el camp de l'energia, la biomassa i els recursos renovables⁷ ja comencen a ser una part de la solució al costat d'altres alternatives com l'energia solar, l'energia eòlica, la força hidràulica i la tecnologia de hidrogen. En el camp dels materials, s'espera que l'impacte dels recursos renovables sigui encara més gran a mesura que l'aprofitament integral de les collites, l'ús d'aigües de rebuig de certes indústries i el desenvolupament de nous processos que maximitzin l'eficiència i redueixin la dependència del petroli vagin contribuint a l'explotació sostenible de la biomassa com a recurs per a la indústria⁸.

Des del principi que l'exploració de recursos i la vetlla pel desenvolupament de processos d'obtenció de productes innovadors són accions necessàries per la futura prosperitat, el reconeixement tant a nivell acadèmic com industrial, de la química verda (o sostenible) com una àrea d'innovació que pot aportar solucions igual o més competitives que les ja conegudes pels derivats fòssils, és igualment important⁹. Per aquesta raó, nombroses indústries i molt especialment la indústria dels tensioactius, han començat darrerament a interessar-se per la perspectiva de la química verda en la racionalització dels processos químics d'obtenció de productes a partir de la biomassa amb usos específics.

2 Introducció

2.1 *CARACTERÍSTIQUES GENERALS DELS TENSIOACTIUS*

Un tensioactiu es una substància amb un estructura molecular amfífila (del grec, “amphi-“: doble i “philia”: amistat) que, quan es presenta a baixes concentracions, té la propietat d’adsorbir-se a la superfície del solvent i alterar l’energia lliure superficial. Entenent el terme *superfície* com la regió limítrof que separa la fase del solvent de les fases adjacents (gasos, líquids o sòlids insolubles) i el terme *energia lliure superficial* com el treball necessari per formar tal superfície. L’energia lliure superficial d’un sistema es pot conèixer mesurant la tensió superficial γ (N/m o en termes d’energia J/m^2), una força que opera a la superfície i actua perpendicularment cap a l’interior des de la superfície i que tendeix a disminuir l’àrea de contacte entre el solvent i les fases adjacents. Aquesta força apareix com a resultat de posar en contacte dues fases immiscibles i la seva extensió depèn del grau d’immiscibilitat de les fases¹⁰.

La propietat intrínseca de reduir la tensió superficial dels tensioactius té implicacions importants sobre la fisicoquímica de les superfícies sobre la qual s’adsorbeixen i fa que estiguin involucrats en tot tipus de sistemes dispersos com ara emulsions, espumes o dispersions, i també en multitud de processos superficials com per exemple la catàlisi heterogènia, la corrosió, la detergència o la flotació¹¹.

2.1.1 Activitat superficial

L'activitat superficial d'aquestes substàncies en solució es basa en la seva estructura amfífila. Aquesta estructura dual consisteix en la unió covalent entre dos fragments estructurals amb afinitats antagòniques respecte al solvent. La Figura 2.1 mostra el comportament en solució de les molècules de tensioactiu degut a la seva estructura amfífila.

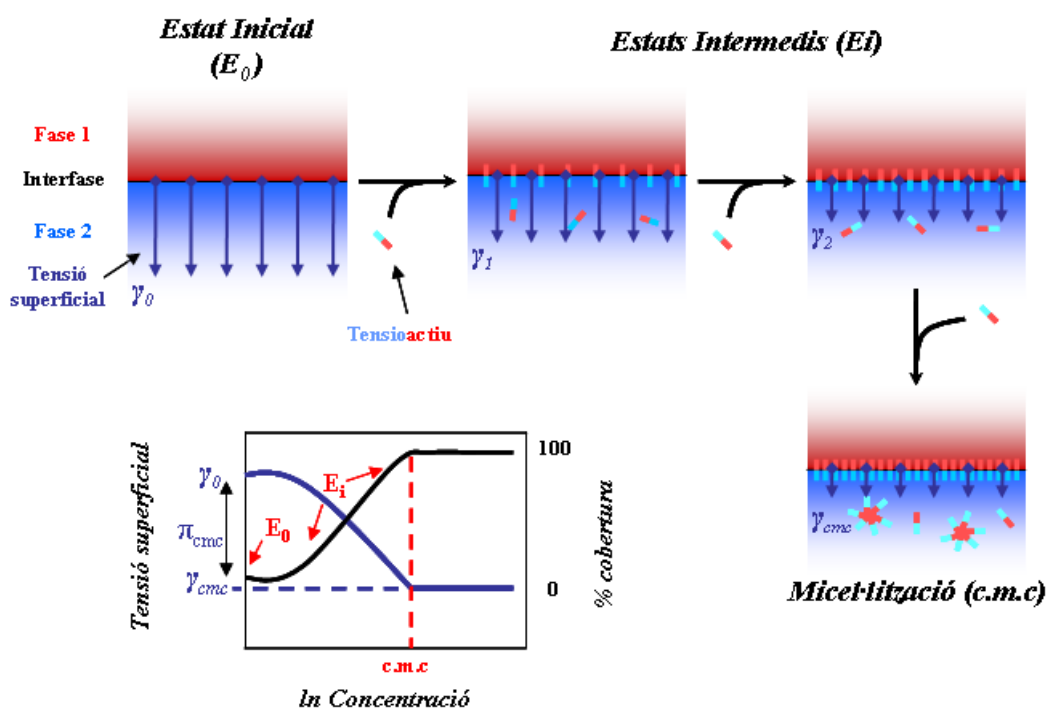


Figura 2.1 Comportament en solució de les molècules de tensioactiu en funció de la seva concentració en el medi. En el gràfic la corba típica γ - \ln Concentració a temperatura constant d'una substància amb estructura amfífila.

Quan les molècules amfífils es dissolen en aigua, la presència del fragment hidròfob (amb menys afinitat per l'aigua) causa una distorsió de l'estructura interna del solvent, incrementant l'energia lliure del sistema. Quan això passa, el sistema es reorganitza per

tal d'expulsar les molècules de tensioactiu del sistema, però degut a la presència del fragment hidròfil (amb gran afinitat per les molècules de solvent), no poden ser expulsades completament. Degut això, els tensioactius es veuen obligats a ocupar la superfície de solvent disponible, amb el fragment hidròfob orientat cap a l'exterior i el fragment hidròfil cap a l'interior. Aquesta nova disposició de les molècules del sistema augmenta el caràcter hidròfob de la superfície, produint una reducció significativa de la tensió superficial del solvent, γ ¹².

Donat que la disminució de la tensió superficial depèn de la substitució de les molècules de solvent a la superfície per molècules de tensioactiu, l'eficiència d'un tensioactiu en la reducció de la tensió s'hauria de veure reflectida en la relació entre les concentracions de tensioactiu a la superfície i al si de la solució¹³. Per tensioactius en solucions aquoses l'eficiència augmenta amb el caràcter hidrofòbic del fragment hidròfob del tensioactiu. Així tensioactius que difereixin per una cadena alquímica de 6 carbonis seran més eficients que si aquests 6 carbonis corresponen a un grup fenil com a part hidròfoba.

El gràfic de la Figura 2.1 mostra la corba γ amb el logaritme natural de la concentració d'una substància amb propietats tensioactives a temperatura constant. Típicament, quan s'augmenta la concentració de tensioactiu en solució, la γ disminueix fins a una concentració per sobre la qual hi ha un canvi de pendent associat a la saturació de la superfície i a la subseqüent agregació. Per això, aquesta concentració s'anomena concentració crítica d'agregació (CAC). Quan aquests agregats es poden descriure com un cor hidròfob recobert pels caps polars, o a la inversa, es parla de micel·les. Aleshores, aquest procés d'agregació s'anomena micel·lització i té lloc a la concentració micel·lar crítica (CMC).

Segons l'equació d'absorció de Gibbs¹⁴ (eq.2-1), el pendent de la corba γ -log C just abans de la CMC és proporcional a Γ que és inversament proporcional a l'àrea mínima associada a cada molècula, A_m (nm²) com mostren les següents equacions:

$$\left(\frac{d\gamma}{d \ln C} \right) = -n\Gamma RT \quad \text{Eq. 2-1}$$

$$A_m \text{ (nm}^2 \text{ / molècula)} = \frac{10^{18}}{\Gamma N_A} \quad \text{Eq. 2-2}$$

On la tensió superficial γ (N/m) i la concentració (C), en qualsevol unitat (implícitament s'assumeix que el coeficient d'activitat és unitari o que no canvia amb la concentració de tensioactiu), es relacionen amb l'excés superficial Γ (mol/m²), la constant R (8.314 J·K⁻¹·mol⁻¹), la temperatura de mesura T (K) i n que correspon al nombre d'espècies adsorbides ($n=1$ per no iònics i $n=2$ per iònics 1:1). N_A és el número d'Avogadro.

L'activitat superficial d'una substància es pot discutir en termes d'*efectivitat* en la reducció de la tensió superficial de l'aigua. Donat que la tensió superficial a la CAC és pràcticament la mínima que el sistema pot assolir, una mesura de l'efectivitat d'un tensioactiu en la reducció de la tensió superficial és $\pi_{CAC} = \gamma_0 - \gamma_{CAC}$. Com a referència, un producte es considera significativament tensioactiu quan la seva π_{CAC} supera els 20 mN/m. Per tensioactius amb cadenes hidròfobes de tipus alquil de 6 o més carbonis, els reductors de la tensió superficial més efectius (π_{CAC} més grans) són aquells que aconseguen tenir una concentració més elevada a la superfície. Això es pot aconseguir reduint les forces de repulsió entre els grups hidròfils dels tensioactius, com per exemple, en el cas dels compostos no iònics amb caps polars petits o els compostos zwitteriònics. En tensioactius amb més d'un cap polar, la porció entre caps polars tendirà

a situar-se plana sobre la superfície, augmentant l'àrea per molècula i conseqüentment, disminuint l'efectivitat en la reducció de la tensió superficial.

2.1.2 Autoagregació

Els compostos tensioactius en solució tenen la capacitat de formar agregats supramoleculars tals com micel·les i cristalls líquids, responsables de la solubilització promoguda per tensioactius. La morfologia dels agregats formats depèn de l'estructura del tensioactiu, de la seva concentració i de la temperatura¹⁵.

Micel·la: De tota la varietat d'agregats supramoleculars existents, les micel·les són les estructures més senzilles i, en medi aquós, es caracteritzen per la formació d'una microfase on les cadenes hidrocarbonades del tensioactiu es situen cap a l'interior micel·lar, mentre que els caps polars s'orienten cap a la fase aquosa. Aquestes estructures micel·lars poden presentar una gran diversitat morfològica: esferes, cilindres, el·lipsoides... , així com les corresponents estructures inverses en medi no aquós. La forma de les micel·les depèn de la longitud de la cadena hidrocarbonada, del volum de la part hidròfoba i de l'àrea ocupada pel grup hidròfil a la superfície de la micel·la.

La concentració a partir de la qual comença a produir-se el fenomen d'agregació rep el nom de concentració micel·lar crítica i és a partir d'aquest valor que algunes propietats, tals com la tensió superficial, conductivitat elèctrica, propietats òptiques (dispersió de llum dinàmica, l'índex de refracció o índex d'adsorció), experimenten un canvi bruscat de tendència en el seu comportament en augmentar la concentració de tensioactiu.

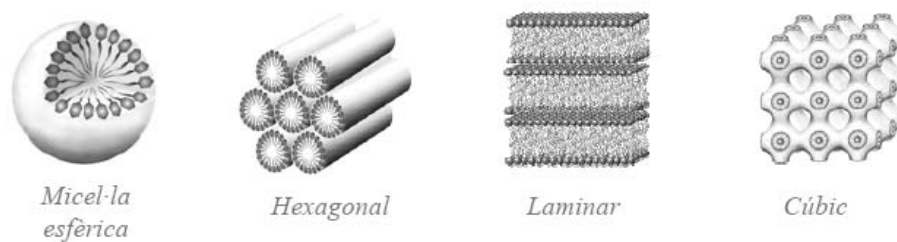


Figura 2.2 Esquema dels principals agregats supramoleculars que poden formar els tensioactius en solució¹⁶.

Els cristalls líquids es poden definir com un estat d'agregació intermedi entre l'estat sòlid cristal·lí i l'estat amorf líquid. Els cristalls líquids en general es classifiquen en dos grans grups: termotròpics i liotròpics. Els termotròpics els formen aquelles molècules que adquireixen l'estructura de cristall líquid per acció del calor i el seu interès recau en el camp electroòptic, com a sensors de temperatura i pressió, etc.

Els tensioactius tendeixen a formar cristalls líquids liotròpics que requereixen, per la seva formació, la presència de dos components com a mínim: un tensioactiu i un solvent. La temperatura també juga un paper en la formació dels cristalls líquids liotròpics i aleshores parlem de termoliotropisme. Els principals cristalls líquids liotròpics, es classifiquen en:

- *Cristall líquid hexagonal*: La fase de cristall líquid hexagonal està formada per agregats cilíndrics de molècules amfífils disposades en hexàgons, que es troben separats pel solvent, generalment l'aigua. Les principals propietats d'aquestes fases són la viscositat alta, la transparència i l'anisotropia al ser il·luminats amb llum polaritzada.

- *Cristall líquid laminar*: La fase de cristall líquid laminar s'estructura en capes bimoleculares de tensioactiu, separades per capes d'aigua, on les cadenes apolars queden cap a l'interior de la bicapa i la fracció polar es situa cap a l'aigua. Aquest estat és sovint associat a concentracions elevades de tensioactiu. Aquestes estructures es

caracteritzen per posseir una viscositat relativament alta, són lleugerament translúcides i òpticament anisòtrops a la llum polaritzada (birefringència). Els cristalls líquids laminars presenten un ordre tant de repetició com de direcció, motiu pel qual formen part dels cristalls líquids esmèctics, a diferència dels nemàtics que només presenten ordre en una direcció.

- *Cristall líquid cúbic*: L'estructura de cristall líquid cúbic és una de les més complexes. Existeix una gran quantitat de microestructures que estarien incloses dins d'aquesta categoria, bé com a empaquetament d'esferes o bé com a sistemes bicontinus. Es caracteritzen per tenir una viscositat molt elevada, per la seva transparència i perquè són isòtrops a la llum polaritzada. Tots aquests cristalls líquids liotròpics poden presentar també les seves corresponents estructures inverses, en funció de la proporció de solvent present en solució.

Altrament, com veurem a continuació, les propietats tensioactives no són exclusives dels compostos de baix pes molecular que fins a cert punt estan limitats pel que fa a diversitat estructural comparat amb els tensioactius d'elevat pes molecular.

2.1.3 Tensioactius polimèrics

A finals del segle XX, l'emergència de noves tècniques de *polimerització radical controlada* possibilitaren la producció de compostos d'elevat pes molecular. De la gran diversitat de nous productes, destacaren alguns per la seva activitat superficial. Per paral·lelisme amb els tensioactius clàssics de baix pes molecular, aquestes noves estructures s'anomenaren tensioactius polimèrics¹⁷.

Els tensioactius polimèrics es classifiquen en funció de la seva estructura molecular en dos grans grups: Per una banda, els anomenats “poli(tensioactius)” o “polisoaps” es

caracteritzen per tenir estructures formades a partir de la repetició d'un nombre elevat d'estructures amfífiles unides covalentment. I per l'altra, els "macro(tensioactius)" o polímers en blocs o modificats, on tota la macromolècula constitueix l'amfífil amb una o diverses parts estructurals que actuen com a hidròfil i amb una o diverses parts que actuen com a hidròfobs.

Els polímers en blocs o modificats tenen un comportament en solució anàleg al dels tensioactius clàssics, però degut a l'elevat pes molecular, la naturalesa, la combinació i la distribució dels seus fragments, el seu procés d'agregació i les seves propietats tensioactives poden variar substancialment. Entre les principals diferències trobem que els tensioactius polimèrics exhibeixen, en general, coeficients de difusió i CAC considerablement més petits que els seus homòlegs de baix pes molecular¹⁸.

Sovint l'activitat superficial dels tensioactius polimèrics resta limitada i en alguns casos fins i tot anul·lada com per exemple el cas del copolímer dibloc fortament ionitzat de poli(estirè) i poli(estirèsulfonat) que no té CAC en aigua¹⁹. La seva solubilitat depèn de la seva conformació que en funció de la flexibilitat de determinats fragments de la macromolècula pot ser modificada per reduir la superfície de contacte amb el solvent abans d'arribar a la superfície. Per contra aquestes particularitats dels macrotensioactius propicien que en molts casos mostrin una extraordinària habilitat per estabilitzar sistemes dispersos per estabilització estèrica, o per estabilització electrostèrica. S'ha vist que la seva reduïda mobilitat minimitza el problema de la desorció, entesa com la migració del tensioactiu des de la superfície al si de la solució, en comparació als tensioactius clàssics.

Si l'estructura macromolecular del tensioactiu està dissenyada per interaccionar específicament amb determinades substàncies insolubles com tensioactius o colorants hidròfobs, la solubilitat d'aquestes substàncies es pot augmentar considerablement²⁰.

Per altra banda, mitjançant la modificació de l'estructura del macrotensoactiu és possible variar les seves propietats com agent escumant, especialment quan l'espuma resulta un problema en aparells de bombeig o transport.

El principal problema que presenten comparat amb els tensioactius de baix pes molecular és la seva solubilitat limitada. De fet, alguns tensioactius polimèrics amb grans fragments hidrofòbics i/o fragments amb poca hidrofília directament no es poden dissoldre en aigua, necessitant ser dispersats via diàlisi o altres mètodes. D'altra banda, la dinàmica dels sistemes micel·lars formats està extraordinàriament influenciada per la temperatura de transició vítria (T_g) dels fragments. Per exemple, copolímers dibloc que contenen fragments insolubles amb T_g elevades com el poli(estirè) ($T_g \sim 90^\circ\text{C}$) o el poli(metilmetacrilat) ($T_g \sim 100\text{-}120^\circ\text{C}$) tendeixen a formar micel·les amb cors glaçats. En aquest cas, el sistema micel·lar està "congelat", per tant l'intercanvi micel·lar no té lloc, veure ap. 2.1.2. En canvi, quan a l'interior de les micel·les hi ha fragments hidròfobs amb T_g 's baixes l'intercanvi està assegurat gràcies a la seva mobilitat.

2.1.4 Polisacàrids com a part hidròfila d'un tensioactiu polimèric

Anualment es produeixen milions de tones de tensioactius²¹ la qual cosa ha fet augmentar la preocupació respecte al seu impacte sobre l'entorn. Avui dia, controls sobre la biodegradabilitat en el medi ambient, la toxicitat en organismes marins i la sostenibilitat del procés d'obtenció s'apliquen no només als tensioactius, sinó a tots els productes químics en general²².

Dins el camp dels tensioactius, la majoria d'experts considera que per tal d'abordar aquest problema, l'explotació de recursos naturals renovables és una de les millors opcions per tal de satisfer les noves demandes plantejades. Per bé que la derivatització

de greixos, olis i carbohidrats per produir una varietat de tensioactius diferents per un ampli rang d'aplicacions té una llarga tradició i està ben establerta, la producció de tensioactius polimèrics basats en recursos renovables a gran escala industrial és relativament nova²³.

Un tipus de tensioactius polimèrics que han despertat un gran interès són els polisacàrids modificats hidrofòbicaament mitjançant cadenes alquílques. Pertanyents al grup dels polímers modificats tenen una estructura AB_n, on A es la cadena de polisacàrid i B són les cadenes alquílques unides a A. En particular, la forta adsorció de B sobre les superfícies i l'elevada solvatació de les llargues cadenes A, fan que aquest tipus de tensioactius actuï com a estabilitzant molt potent contra la coagulació de sistemes dispersos²⁴. Per altra banda, la interacció dels polisacàrids modificats hidrofòbicaament en sistemes dispersos formats per tensioactius de baix pes molecular s'han investigat intensivament les dues darreres dècades amb especial èmfasi sobre els sistemes formats per micel·les²⁵. Per això els principals tipus de comportament fàsic, les forces subjacents i els efectes estructurals/reològics implicats han estat àmpliament elucidats. Sorprenentment, l'estudi de la interacció de polímers modificats hidrofòbicaament com ara el poli(etilenglicol), la poli(acrilamida), l'hidroxiethylcel·lulosa o la carboximetilcel·lulosa amb sistemes vesiculars o liposomes ha rebut comparativament molta menys atenció, tot i el seu potencial d'aplicació en diferents àrees comercialment importants com la recuperació de cru, l'alliberament de fàrmacs o la formulació cosmètica²⁶.

Darrerament, els polisacàrids modificats hidrofòbicaament han experimentat un interès creixent gràcies a les seves propietats sostenibles addicionals com la baixa toxicitat i l'elevada biodegradabilitat respecte d'altres tensioactius²⁷. Polisacàrids com l'hidroxiethylcel·lulosa²⁸, el midó²⁹, el dextrà³⁰, el quitosà³¹ o la inulina³² ja es

modifiquen industrialment, tot i que l'ús de grans quantitats de dissolvents orgànics anhidres com el dimetilsulfòxid (DMSO), la piridina (Py) o la N-metil-2-pirrolidona (NMP) que permeten dissoldre tant el polisacàrid com el reactiu hidròfob, representa un problema important.

Tenint en compte que els processos industrials de modificació química de polisacàrids mouen tones de producte, les quantitats de dissolvent orgànic utilitzat supera en molts casos les 3 o 4 tones per lot. Aquest fet, obliga a prendre unes mesures de seguretat per la salut humana i el medi ambient que en molts casos acaba incrementant el preu del producte final. La solució ideal a aquest problema passa per dissenyar de nou el procés d'obtenció en medi aquós, per bé que reemplaçar l'ús de dissolvents orgànics per medis aquosos aconsegueix reduir el cost, augmentar la simplicitat operacional i establir mecanismes de seguretat ambiental passiva de cop, no és la solució més fàcil. La solució que habitualment es proposa, es l'adequació de les instal·lacions amb la finalitat de minimitzar els riscos del procés, la qual cosa suposa un cost addicional, no sempre assumible per a productes amb valors afegits mitjans-baixos com aquests.

Donat que aquesta tesi doctoral es basa en l'obtenció en medi aquós de tensioactius polimèrics basats en la inulina, els següents apartats de la introducció es dedicaran a proporcionar tota aquella informació necessària per a la caracterització de sistemes dispersos i relativa a la naturalesa dels polisacàrids en general, i de la inulina en particular. Finalment, es dedicarà un capítol a les tècniques sintètiques actuals que utilitzen aquest polímer com a recurs renovable per la indústria química.

2.2 CARACTERITZACIÓ DE SISTEMES DISPERSOS

La reologia és la ciència de la deformació, incloent el flux, de la matèria. S'aplica tècnicament en un ampli ventall d'aplicacions industrials que van des de tot tipus de formulacions farmacèutiques, cosmètiques i agroquímiques, a multitud de pintures, tints i recobriments, motllos de ceràmiques, el control de la textura d'alguns aliments i l'adequació de les característiques d'infinat de detergents entre d'altres.

2.2.1 Diferències entre sòlids i líquids sota la influència del flux

L'any 1684, Newton formulà una llei general pel comportament reològic de fluids. La llei Newton-Stokes estableix que per un líquid newtonià, l'esforç per unitat d'àrea σ (N/m^2) és proporcional a la velocitat de la deformació o gradient de cisalla $\dot{\gamma}$ ($1/\text{s}$), essent la viscositat, η ($\text{N}\cdot\text{s}/\text{m}^2$) la constant de proporcionalitat entre les dues variables:

$$\sigma = \eta \times \dot{\gamma} \quad \text{Eq. 2-3}$$

Paral·lelament, Hooke proposà un llei que definia el comportament elàstic d'alguns sòlids, de manera que la deformació aplicada sobre el sòlid era proporcional al esforç aplicat (per deformacions petites), essent el mòdul elàstic G la constant de proporcionalitat:

$$F = -Kx \Rightarrow \sigma = G \times \gamma \quad \text{Eq. 2-4}$$

En general, tant la viscositat newtoniana com el mòdul elàstic són una mesura de la resistència de la matèria a un canvi de posició forçat dels seus elements de volum (àtoms, molècules, polímers, gotes, etc.). Per tant, les diferències entre la resposta mecànica d'un sòlid o d'un fluid no es deuen tant per la "microestructura" dibuixada per

les forces d'interacció com pel coeficient de difusió de les partícules del sistema que pels sòlids tendeix a 0.

Els fluids (no-newtonians) es caracteritzen per tenir una resposta mecànica semblant als sòlids a deformacions petites i semblant als líquids a deformacions grans. Aquesta propietat s'anomena *viscoelasticitat* i es pot caracteritzar de diferents maneres: (1) tractant el fluid com si fos un sòlid: aplicant un esforç i observant la velocitat de la deformació, (2) tractant el fluid com si fos un líquid: aplicant una deformació i observant la reacció (esforç) en funció del temps, o (3) aplicant un esforç o deformació sinusoidal sobre el fluid i observant la resposta igualment sinusoidal del sistema. Típicament, el primer mètode ens dona informació de la resposta mecànica del sistema en condicions de quiescència (repòs) on la estructura col·loïdal està poc afectada pel moviment de les partícules, en canvi, el segon mètode ens dona informació de la deformació de la microestructura en condicions de no-quiescència (moviment) a través de paràmetres com el temps i la constant cinètica de relaxació. Com que aquestes condicions no sempre són fàcils d'assolir per coeficients de difusió molt elevats (fluids molt viscosos), s'utilitza el tercer mètode per distingir la component elàstica de la component viscosa del fluid.

Si representem la viscositat aparent η' , calculada com $\sigma/\dot{\gamma}$, vs $\dot{\gamma}$ d'un fluid viscoelàstic, s'obté un gràfic com el de la Figura 2.3.

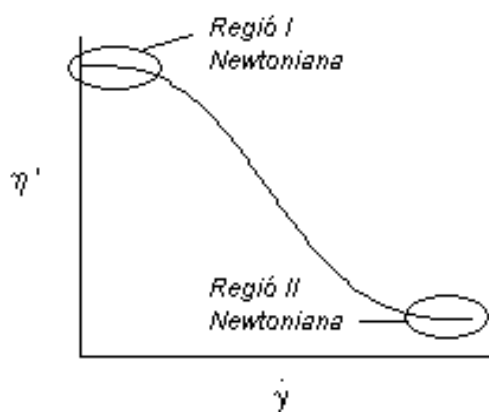


Figura 2.3. Representació de la viscositat aparent η' en funció de la velocitat de deformació, $\dot{\gamma}$ d'un fluid viscoelàstic.

Com es pot observar, η' descriu un perfil amb dues regions on la viscositat és independent de $\dot{\gamma}$, i per tant es compleix la llei de Newton-Stokes. Ambdues regions les separa una etapa de transició on, per efecte de la cisalla, la microestructura inicial (regió I) es va desgranant fins assolir un límit (regió II) definit per la relació entre la velocitat de cisalla i la difusivitat degut al moviment brownià de les partícules del sistema³³. Per tant, quan $\dot{\gamma} \rightarrow 0$ les interaccions partícula-partícula són màximes la viscositat aparent s'anomena viscositat a baixa cisalla $\eta(0)$. En canvi quan la $\dot{\gamma} \rightarrow \infty$, les interaccions partícula-partícula són mínimes i la viscositat és comparable a la del medi.

2.2.2 Caracterització reològica d'una dispersió.

El primer pas per entendre el comportament d'un sistema de partícules dispersades en un medi, és conèixer la seva distribució dins el medi³⁴. Per això, el paràmetre clau per caracteritzar la microestructura és la fracció en volum, $\phi = n \times V_p$, on n és el nombre de densitat de les partícules. Considerant les partícules dispersades com a esferes rígides de radi a el potencial d'interacció en funció de la distància partícula-partícula $V(r)$ serà el representat a la Figura 2.4:

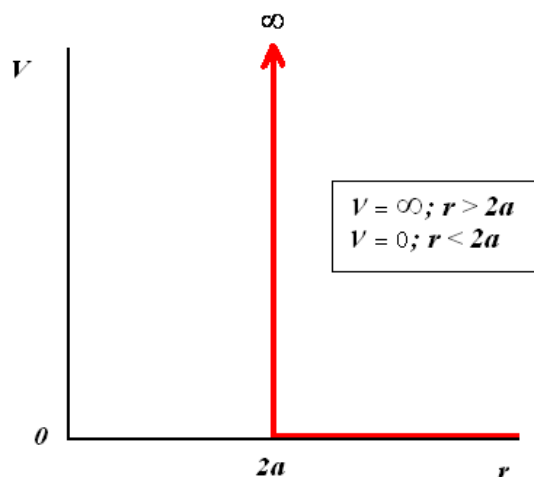


Figura 2.4 Model d'interacció d'esferes rígides. Quan la distància r entre dos centres de dues partícules és inferior a dues vegades el radi de la partícula, el potencial de repulsió entre les dues partícules tendeix a infinit.

Utilitzant el model d'interacció d'esferes rígides es pot descriure el comportament de les partícules dispersades d'un sistema en funció de la fracció en volum ($\propto C$) com es mostra a continuació,

1) *De règim diluït a règim concentrat*

El 1911, Einstein assumí que per fraccions en volum suficientment petites ($\phi \leq 0.01$), les partícules es comporten com a esferes rígides ja que el moviment brownià d'una partícula no influeix en el d'una altra. Així trobà que eliminant la influència de les molècules del medi ($\eta_r = \eta'/\eta_0$) la viscositat es relacionava amb la fracció en volum de la següent manera:

$$\eta_r = 1 + 2.5\phi \quad \text{Eq. 2-5}$$

on 2.5 és la viscositat intrínseca $[\eta]$ corresponent a una esfera rígida.

Quan $\phi \geq 0.01$, la interaccions hidrodinàmiques entre les partícules esfèriques comencen a ser importants i a l'equació d'Einstein, Batchelor li afegir un tercer terme que tenia en compte la interacció entre dues partícules i un quart relacionat amb la interacció entre més de dues partícules. De manera que per $0.01 \leq \phi \leq 0.2$, la viscositat relativa d'un sistema d'esferes rígides amb interacció hidrodinàmica partícula-partícula es la següent equació:

$$\eta_r = 1 + 2.5\phi + 6.2\phi^2 + \theta\phi^3 \quad \text{Eq. 2-6}$$

on $6.2\phi^2$ i $\theta\phi^3$ són els termes hidrodinàmics de segon i tercer ordre de l'equació del virial, respectivament.

2) Transició de líquid a sòlid

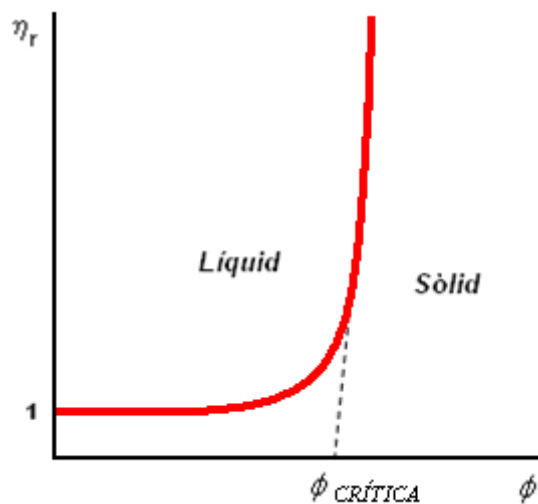


Figura 2.5 Divergència de la viscositat en un sistema d'esferes rígides.

A $\phi > 0.2$, la η_r és torna una funció complexa de ϕ i la dispersió passa de comportar-se com un fluid viscos a un fluid viscoelàstic. La corba $\eta_r - \phi$ es pot determinar experimentalment representant viscositat newtoniana (a la regió I o a la regió II, veure Figura 2.3) en funció de la fracció en volum.

La Figura 2.5 mostra com a mesura que ϕ s'aproxima a una fracció en volum crítica ϕ_c la η_r dibuixa un comportament asimptòtic que és la principal característica de la transició líquid-sòlid en sistemes col·loïdals. Si considerem un model d'esferes rígides monodisperses, és raonable pensar que la divergència de la viscositat relativa hauria d'aparèixer a ϕ entorn a 0.6, que correspon a la fracció en volum en què les partícules s'estan tocant, aproximadament quan $\phi \rightarrow \phi_{\text{gel}}$. En aquestes condicions, la distància entre les partícules es tan petita que les forces repulsives entre les partícules limiten el moviment entre elles. Aquest fenomen va ser descrit per Brady argumentant que, per petites desviacions de l'equilibri, la difusivitat de curt abast de les partícules del sistema era suficient com per relaxar la microestructura formada per les partícules. Així, l'autor va trobar que:

$$\eta_r(0) = \frac{\eta'(0)}{n_0} \approx (1 - \phi / \phi_c)^{-2} \quad \text{Eq. 2-7}$$

on la viscositat relativa a baixa cisalla ($\eta_r(0)$) divergeix quan la ϕ s'aproxima a ϕ_c , moment en el qual per efecte de la proximitat amb les altres partícules $\eta_0 \ll \eta'(0)$ per la dissipació del coeficient de difusió.

3) Efecte de les interaccions partícula-partícula en la transició líquid-sòlid

La magnitud de les forces interactives entre les partícules juga un paper molt important en la transició d'un estat desordenat (líquid) a un estat semi-ordenat (gel). En particular, la presència de forces repulsives de llarg abast com les repulsions

electrostàtiques, manté les partícules separades unes de les altres. Pel fet d'interaccionar a llarga distància el seu comportament reològic és equiparable al d'una esfera rígida de radi superior, donant transicions líquid-gel a fraccions en volum més baixes. Per tant, la fracció el volum efectiu de les partícules es veurà incrementat de la següent manera:

$$\frac{\phi_c}{\phi_{gel}} \approx \frac{Volum\ real}{Volum\ aparent} \quad \text{Eq. 2-8}$$

on ϕ_c és la fracció en volum aparent màxima observada i ϕ_{gel} la fracció en volum en la transició líquid-gel per esferes rígides és a 0.6.

Aleshores,

$$\Rightarrow \text{Per esferes rígides carregades: } \frac{\phi_c}{0.6} \approx \left(\frac{a}{a^*}\right)^3 \quad \text{Eq. 2-9}$$

On, a és el radi real de la partícula i a^* el radi aparent o efectiu.

Un altre tipus de interacció repulsiva que pot aparèixer entre partícules dispersades són les interaccions estèriques. Aquest tipus de forces apareixen quan les partícules estan recobertes per una capa de tensioactiu. Per exemple, quan tensioactius polimèrics no iònics del tipus A-B, A-B-A o BAn són absorbits a la superfície de la partícula, la part hidròfoba fa la funció d'àncora gràcies a la seva gran afinitat a la superfície i la part hidròfila exerceix d'estabilitzant. El gruix de la capa adsorbida δ es pot definir com l'increment del radi real de la partícula: donant com a radi aparent $a^* = a + \delta$. Aleshores, la repulsió succeeix quan la distància entre superfícies es menor a 2δ . En aquests casos la relació entre el gruix de la capa adsorbida (δ) i el radi real (a) es pot trobar de la següent manera:

$$\Rightarrow \text{Per esferes rígides recobertes de tensioactiu no -iònic: } \frac{\phi_c}{0.6} \approx \left(1 + \frac{\delta}{a}\right)^{-3} \quad \text{Eq. 2-10}$$

2.2.3 Aplicacions de la dispersió de raigs X a angles petits (SAXS) a l'elucidació estructural de sistemes dispersos

Els mètodes de difracció de raigs X es basen en la capacitat dels electrons d'actuar com a ressonadors secundaris i dispersar els raigs X. La difracció és deguda a les interferències entre els raigs X dispersats per diferents electrons de la xarxa cristal·lina. En aquest cas la longitud d'ona dels raigs X dispersats no varia i únicament es produeix si es compleixen determinades condicions geomètriques que s'expressen en la llei de Bragg³⁵ segons la qual: *“Existeix un reforçament pels raigs reflectits que emergeixen de dos plans paral·lels diferents, sempre que la diferència en el recorregut pels dos raigs sigui igual a un número enter de longituds d'ona”*. Així la condició de reforçament ve donada per :

$$d = 2\pi n/q \quad \text{Eq. 2-11}$$

on d és la distància entre plans, el número n és l'ordre de reflexió i la q és el mòdul del vector de difracció o dispersió que es calcula de la següent manera:

$$q = \frac{4\pi}{\lambda} \sin \theta/2 \quad \text{Eq. 2-12}$$

on θ és l'angle de difracció, i λ la longitud d'ona de la radiació.

Els raigs X es poden utilitzar en estudis de difracció de cristalls, ja que la magnitud de les seves longituds d'ona són comparables a les distàncies entre els plans formats per les estructures dels cristalls. Un cas particular d'estudi són els cristalls líquids, on les seves majors distàncies entre plans es resolen gràcies a la detecció de la difracció de raigs X a angle petit. En aquesta tècnica, anomenada SAXS (Small Angle X-ray Scattering), s'assumeix que la mostra conté petits cristalls en posicions aleatòries. Per això, quan un feix de raigs X monocromàtic es col·lima sobre una mostra, l'espectre obtingut

correspon a la transformada de Fourier de la posició dels electrons de la mostra i presenta màxims coherents sigui quina sigui la longitud del vector q i els seus vectors recíprocs de xarxa cristal·lina. Quan la mostra irradiada no presenta plans paral·lels els raigs X poden interaccionar amb les partícules constituents de la mostra, sempre que la mida d'aquestes sigui comparable a la longitud d'ona de la radiació. Aleshores, s'indueixen oscil·lacions dels electrons de la mostra que emeten ones secundàries en totes direccions, fenomen que es coneix com a dispersió.

2.2.3.1 Modelització

Per tal de resoldre les estructures periòdiques dels sistemes formats per bromur de didodecildimetilammoni (DDAB) i els derivats hidròfobs de la inulina (HMI), els patrons de difracció de les diferents mostres es van ajustar per mínims quadrats³⁶ a models emborronats numèricament pels efectes de longitud i amplada del detector. La intensitat de la dispersió es va calcular segons dos models diferents: (1) Un model de làmines apilades amb un perfil gaussià i correlació de Caillé sense restricció per aigua³⁷ i (2) un model de cilindres en dues capes, tenint en compte la polidispersió introduïda via l'aproximació de monodispersió local³⁸.

(1) En el primer cas, l'espectre correspon a una transformada de Fourier unidimensional de les variacions de la densitat electrònica perpendicular en un sistema de les làmines apilades desordenades. En aquest cas la intensitat dispersada en funció del vector q es descriu per:

$$I(q) \propto \frac{\langle |f(q)|^2 s(q) \rangle}{q^2} \quad \text{Eq. 2-13}$$

On, $f(q)$ és el factor de forma que caracteritza la distribució de la densitat electrònica, i $s(q)$ el factor d'estructura que prové de la naturalesa de la xarxa cristal·lina

del cristall líquid. Segons els mètodes M.C.G³⁹ (Modified Caillé Gaussian) la densitat electrònica es pot descriure per la suma de dues Gaussians, representant el cap polar i la posició al centre de la bicapa (z), respectivament:

$$\rho(z) = \rho_{CH_2} + \bar{\rho}_H \left[\exp\left(-\frac{(z-z_H)^2}{2\sigma_H^2}\right) + \exp\left(-\frac{(z+z_H)^2}{2\sigma_H^2}\right) \right] + \bar{\rho}_C \exp\left(-\frac{z^2}{2\sigma_C^2}\right) \quad \text{Eq. 2-14}$$

On, les densitats electròniques del cap polar $\bar{\rho}_H$ i la cua hidròfoba $\bar{\rho}_C$ es defineixen en relació a la densitat electrònica dels metilens ρ_{CH_2} i la desviació estàndard σ . Si s'assumeix que les fluctuacions en la bicapa són independents dels reticle, el factor d'estructura i el factor de forma poden ser tractats independentment. De manera que:

$$I(q) \propto \frac{1}{q^2} \left(|F(q)|^2 S(q) + N |F(q)|^2 \right) \quad \text{Eq. 2-15}$$

On, N correspon al número de bicapes o làmines apilades que indueixen la difracció.

(2) En el segon cas de la simetria de cilindres finits en dues capes, la polidispersió de les dimensions s'introdueix via l'aproximació de monodispersió local⁴⁰. Aleshores l'espectre correspon a una transformada de Fourier tridimensional de les variacions de la densitat electrònica entre un cilindre interior que representa la part hidròfoba i un cilindre exterior que representa coberta hidròfila. On el factor de forma dels cilindres es defineix per les equacions que es poden trobar a la referència.

2.3 CARACTERÍSTIQUES GENERALS DELS POLISACÀRIDS

Els polisacàrids són molècules d'elevat pes molecular constituïdes per la repetició d'unitats químiques estructurals més simples connectades covalentment entre si per enllaços glicosídics. Es divideixen en dos grans grups: els *homopolisacàrids* que es componen d'un sol tipus d'unitat de repetició que pot ser un monosacàrid, un disacàrid o, rarament, un trisacàrid, i els *heteropolisacàrids* amb diferents tipus i nombre de sacàrids.

2.3.1 Enllaç glicosídic

En química, l'enllaç glicosídic és la unió covalent entre una molècula de carbohidrat i una altra molècula que pot ser un carbohidrat o no. Com mostra la Figura 2.6, la unió O-glicosídica té lloc gràcies la substitució del hidroxil (OH) de la funció hemiacetal del carboni anomèric del carbohidrat (a la figura, de la β -D-fructofuranosa) per un altre grup OR (a la figura, α -D-glucopiranosa)⁴¹. Com es pot observar, la desaparició de l'hidrogen de la funció hemiacetal (carbonis C-1 i C-2) comporta un bloqueig de la isomerització entre les configuracions diastereoisomèriques α i β , coneguda com a mutarotació o epimerització. Configuració α és quan la posició del grup -OH del carboni anomèric (C-1) i del grup metilè (C-6) estan al mateix costat del pla de l'anell, i β quan estan a diferent costat. La configuració del enllaç glicosídic adopta la configuració α o β , del carboni anomèric del sacàrid de l'extrem reductor que participa del enllaç (veure, Figura 2.6)

Durant el procés biològic de construcció de la majoria de biomacromolècules com els polisacàrids, les proteïnes o els àcids nucleics, la unió entre monòmers implica l'eliminació d'una molècula d'aigua la qual cosa està desafavorida termodinàmicament. La formació d'aquest tipus d'enllaços només pot tenir lloc a la natura, gràcies la prèvia activació amb grups fosfat de les unitats monomèriques i a l'extraordinària capacitat catalítica dels centres actius d'alguns enzims. En particular, la formació de l'enllaç glicosídic es du a terme en un enzim específic per cada classe d'unitat monomèrica (fructosa, glucosa,...), la qual cosa limita el tipus, però no la quantitat, dels diferents monòmers de l'estructura del polisacàrid. Per aquesta raó, resulta difícil trobar polisacàrids amb més de dues o tres unitats monomèriques diferents.

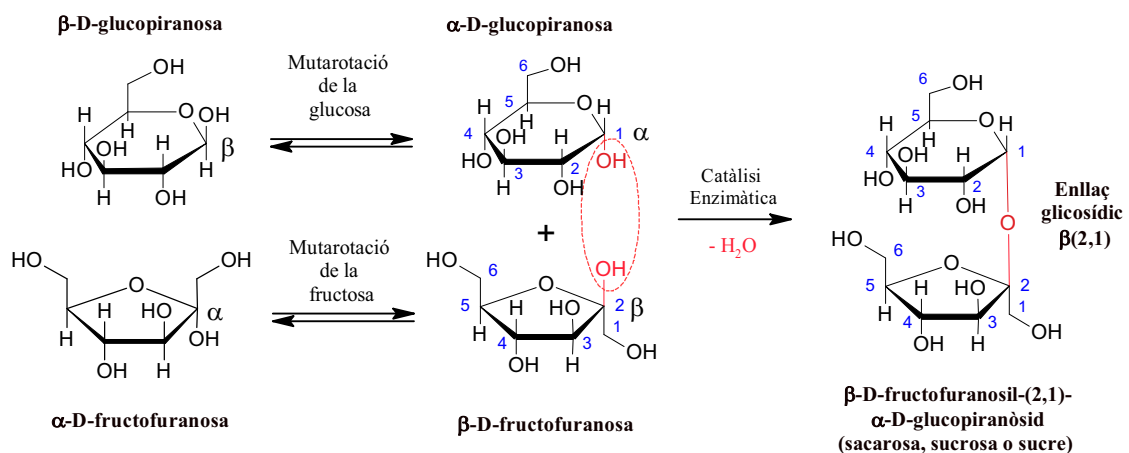


Figura 2.6. Formació de l'enllaç O-glicosídic $\beta(2 \rightarrow 1)$ de la sucrosa entre una molècula de $\beta\text{-D}$ -fructofuranosa i una altra de $\alpha\text{-D}$ -glucopiranososa catalitzada per enzims.

En condicions fisiològiques, l'enllaç glicosídic és un enllaç amb tendència a hidrolitzar-se però és suficientment metastable com per persistir durant llargs períodes de temps, a no ser que la seva hidròlisi sigui catalitzada per enzims o per àcids⁴². Per

altra banda, l'enllaç glicosídic pot suportar relativament bé la temperatura i, en general, mostra una major resistència a processos oxidatius com la combustió si es comparen amb la majoria de compostos sintetitzats a partir del petroli.

En resum, totes aquestes característiques de l'enllaç glicosídic fan dels polisacàrids unes macromolècules extraordinàriament funcionals que no en va constitueixen el principal reservori d'energia dels essers vius.

2.3.2 Grau de polimerització

Per un homopolisacàrid, el grau de polimerització (GP) és el nombre mig de monòmers que conté una cadena polimèrica i s'obté de la relació entre el pes molecular mig de la cadena i el pes molecular del monòmer. En general, els polisacàrids, a diferència de les proteïnes, no tenen un pes molecular únic, sinó que posseeixen una distribució de pesos moleculars. Aquesta depèn, per una banda, dels múltiples factors que influeixen en el procés de construcció del polisacàrid com el tipus d'organisme que l'ha generat, les condicions meteorològiques i l'època de la collita i per l'altra del procediment d'extracció i fraccionament⁴³. La distribució de pesos moleculars es pot determinar convenientment per tècniques cromatogràfiques d'exclusió molecular o d'intercanvi aniònic entre d'altres.

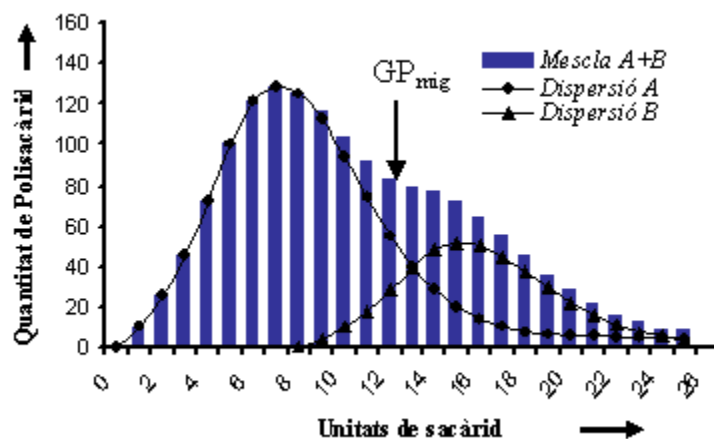


Figura 2.7. Distribució esquemàtica de GP típica d'un extracte de polisacàrid (mescla A+B en blau), resultat de la suma de dos polisacàrids amb dispersions diferents (línies contínues).

La Figura 2.7 ens mostra un exemple de distribució esquemàtica d'un extracte de polisacàrid. Sovint, el perfil de distribució (barres blaves) és el resultat d'una barreja asimètrica de diferents grups de polisacàrids amb dispersions diferents (línies contínues) que són difícils de separar degut a la semblança de les seves propietats fisicoquímiques.

A la pràctica el GP mig s'anomena GP i la millor manera de calcular-lo és mitjançant la mitjana ponderada:

$$GP = \frac{\sum w_i M_i}{\sum w_i} = \frac{\sum N_i M_i^2}{\sum N_i M_i} \quad \text{Eq. 2-16}$$

On N_i és el número macromolècules amb un número de monòmers M_i i w_i el coeficient de ponderació relatiu al número de monòmers totals.

El GP d'un polisacàrid pot variar extraordinàriament en funció del tipus i l'origen, anant des de valors al voltant d'unes 12 o 13 unitats d'alguns polisacàrids vegetals, fins a més de 2 000 000 en determinats polisacàrid d'origen bacterià.

2.3.3 Grau de ramificació

El grau de ramificació és el nombre de ramificacions per unitat monomèrica. A la natura, els polisacàrids tendeixen a créixer formant llargues cadenes lineals amb un cert nombre de ramificacions. En general, es consideren ramificats quan el seu grau de ramificació és superior al 5% i les ramificacions no acostumen a tenir més d'unes 25 o 30 unitats.

2.3.4 Comportament en solució

Per caracteritzar el comportament en solució de qualsevol polímer, és basic entendre estructuralment el polímer. Com veurem a continuació, paràmetres com el grau de polimerització (o pes molecular), el grau de ramificació i la naturalesa de l'enllaç químic entre monòmers són determinants a l'hora de condicionar les propietats en solució d'un polímer.

És ben sabut que els polisacàrids són el principal reservori energètic de la natura, però degut al seu comportament en solució i la seva estabilitat també es poden trobar realitzant funcions estructurals sols o bé units a altres biomolècules com per exemple alguns pèptids, proteïnes o lípids, involucrats en processos d'organització, reconeixement o protecció cel·lular. La Taula 1 mostra el grau de polimerització i el tipus d'enllaç glicosídic juntament amb les característiques principals de les estructures secundàries i terciàries i l'activitat biològica associada d'alguns homopolisacàrids més abundants a la natura.

Taula 1. Relació estructura-activitat d'alguns dels polisacàrids més abundants^{44.45}.

Homopolisacàrid (sacàrid)	GP ^a	Enllaç ^b	Estructura secundària	Estructura terciària	Activitat biològica
Cel·lulosa (glucosa)	Elevat	$\beta(1\rightarrow4)$	Lineal poc flexible	Laminar (microfibres cristal·lines)	Estructural (paret cel·lular)
Quitina (N-acetilglucosamina)	Elevat	$\beta(1\rightarrow4)$	Lineal poc flexible	Laminar (microfibres cristal·lines)	Estructural (exosquelet)
Inulina (fructosa)	Poc elevat	$\beta(2\rightarrow1)$	Lineal flexible	Hèlix (Agregats globulars)	Reserva energètica vegetal (fructosa)
Amilosa (glucosa)	Molt elevat	$\alpha(1\rightarrow4)$	Lineal flexible	Hèlix (Agregats globulars)	Reserva energètica vegetal (glucosa a llarg termini)
Amilopectina (glucosa)	Molt elevat	$\alpha(1\rightarrow4)$ $\alpha(6\leftarrow1)$	molt ramificada	Cabdell Aleatori (Hidrocol·loide)	Reserva energètica vegetal (glucosa a curt termini)
Glicogen (glucosa)	Molt elevat	$\alpha(1\rightarrow4)$ $\alpha(6\leftarrow1)$	molt ramificada	Cabdell Aleatori (Hidrocol·loide)	Reserva energètica animal (glucosa a curt termini)

^a GP: Classificació en funció del grau de polimerització mig (GP) indicat en Unitats de Monosacàrid Anhidre (UMA): Molt elevat: més de 20 000 ; Elevat: fins a 20 000 ; Poc elevat: fins a 200. ^b α o β , indiquen la configuració del enllaç; els números, la situació dels carbonis que participen en l'enllaç on el primer és l'extrem reductor.

Com es pot comprovar, la influència d'aquests paràmetres estructurals en les propietats finals es molt important. Per exemple, la insolubilitat de la cel·lulosa es pot explicar pel fet que és un polímer lineal format per un elevat nombre de D-glucoses (β -D-glucopiranos) unides per enllaços glicosídics $\beta(1\rightarrow4)$ que estableixen la conformació simètrica (cadira) de l'anell piranos (glucosa). Aquesta conformació de la glucosa redueix la flexibilitat de l'anell, i per extensió la de tota la cadena. Aquesta rigidesa fa que la cadena tendeixi a agregar-se amb d'altres molècules de cel·lulosa com ho faria una molècula amfífila. Com a resultat es formen el que es coneix com a microfibres cristal·lines de la cel·lulosa, que no són res més que làmines formades per cadenes de cel·lulosa col·locades unes a sobre de les altres. Per altra banda, la configuració $\beta(1\rightarrow4)$ és irreconeixible pels enzims de cèl·lules animals, fet que

explicaria per què aquest tipus de polisacàrids com la cel·lulosa o la quinina, acostumen a formar part de l'estructura de molts organismes conferint la protecció necessària front a possibles depredadors.

El midó, format per cadenes d'amilosa (lineal) i amilopectina (ramificat), són cadenes de glucosa unides per enllaços $\alpha(1\rightarrow4)$ més flexibles que els enllaços $\beta(1\rightarrow4)$ de la cel·lulosa. Aquest fet permet que per exemple l'amilosa modifiqui la seva conformació en solució aquosa formant llargues hèlix, on fins i tot és possible dissoldre-hi substàncies hidròfobes⁴⁶. Si bé encara no està clar el mecanisme, aquests polisacàrids més flexibles (com el midó o la inulina) acostumen a augmentar espectacularment la seva solubilitat a partir d'una temperatura determinada.

Quan un polisacàrid conté un elevat nombre de ramificacions, aquestes impedeixen la seva agregació ordenada amb altres cadenes i per tant la modificació de la seva conformació en solució. Típicament, aquest tipus de polisacàrids formen cabdells aleatoris que resten en un estat semi-soluble fortament hidratat. Des d'un punt de vista funcional, l'elevat grau de ramificació és aprofitat per les cèl·lules per disposar de glucosa ràpida a curt termini, ja que aquests polímers disposen de nombroses glucoses terminals a punt de ser utilitzades. Els casos més representatius són l'amilopectina (món vegetal) i el glicogen (món animal).

Darrerament, la utilització de polisacàrids amb enllaços $\beta(1\rightarrow4)$ (cel·lulosa, quinina) en substitució dels polisacàrids amb configuració α (principalment, el midó), ha esdevingut un important repte per poder explotar la biomassa com a recurs renovable sense interferir amb els usos alimentaris habituals dels primers⁸.

2.4 LA INULINA, UN POLISACÀRID NATURAL

Tot i que el midó és la principal reserva energètica vegetal, els fructans, entre ells la inulina, es formen en moltes plantes com a reservori de carbohidrat alternatiu o complementari al midó^{47,48} en condicions d'estrès, d'aclimatació al fred o en èpoques de sequera⁴⁹.

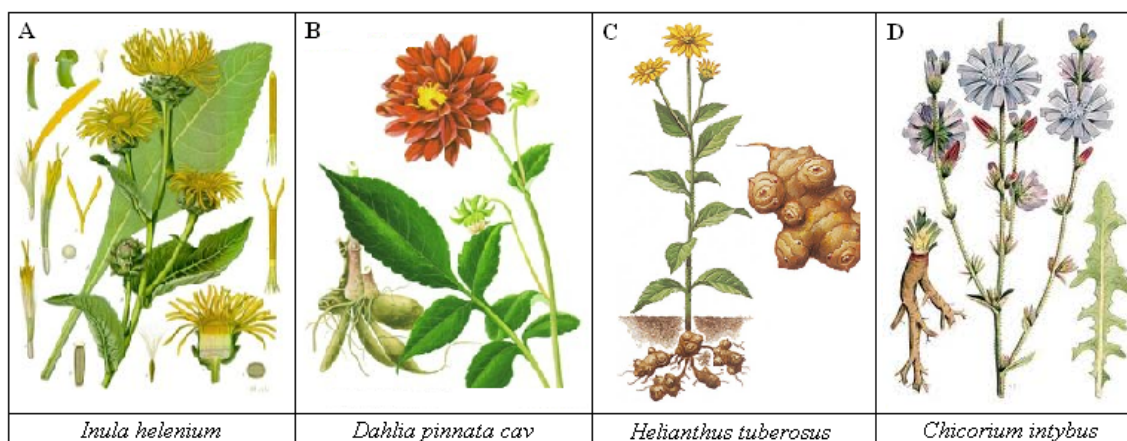


Figura 2.8 D'esquerra a dreta, les principals fonts naturals d'inulina: A) *Inula helenium*, la primera font d'inulina descoberta; B) *Dahlia pinnata cav*; C) *Helianthus tuberosus*; D) *Chicorium intybus*, la primera font d'inulina industrial.

L'any 1804 la inulina va ser aïllada de la *Inula helenium* (Figura 2.8a) per Rose⁵⁰, un científic alemany. Però va ser mes tard quan, Thomson⁵¹ va usar el nom d'inulina per primer cop l'any 1818. Sachs⁵², un fisiòleg alemany pioner en la recerca de fructans, va detectar inulina en tubercles de la *Dahlia pinnata cav* (Figura 2.8b), d'aquí el seu altre nom, dalina. També va trobar inulina a la patata (*Helianthus tuberosus*, Figura 2.8c) i a la xicoira (*Chicorium intybus*, Figura 2.8d) després de la precipitació en etanol. Més endavant, es confirmà la presència d'inulina en moltes altres plantes comercials

importants com per exemple els alls i les cebes de la família de les *Liliacees*, el blat i la civada de les *Poacees* així com, la xicoira i la carxofa de Jerusalem ambdós de les *Asteracees*.

2.4.1 Estructura química

A finals dels segle XIX, els primers intents de caracterització de la inulina revelaren que els hidrolitzats d'inulina extreta de plantes, consistien majoritàriament en quantitats de fructosa amb petites quantitats de glucosa^{53,54,55}. Entre 1928 i 1932, el guanyador del premi Nobel, W. N. Haworth va portar a terme extensos estudis de l'estructura de la inulina i els seus derivats. El seu grup va concloure que la inulina consistia aproximadament en 30 unitats de fructosa, unides a través dels carbonis 1 i 2, amb petites quantitats de glucosa^{56,57,58,59}. Però no va ser fins l'any 1950 que es va confirmar que la unitat de glucosa no era un contaminant, sinó que formava part de la molècula d'inulina⁶⁰.

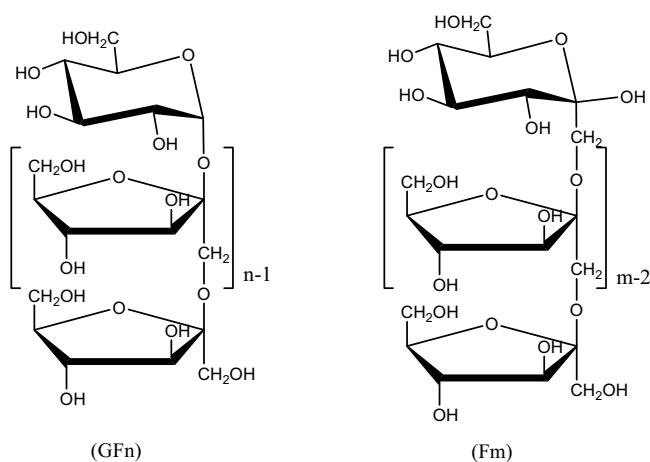


Figura 2.9. Estructura química de la inulina composta per les formes GF_n i F_m. Les lletres G i F representen les unitats monomèriques de α -D-glucopiranososa (terminal) i de β -D-fructofuranosa, respectivament, el número de les qual s'indica amb les lletres n i m.

Finalment, es va confirmar que la inulina té una estructura majoritàriament no ramificada i consisteix principalment en m unitats de $\beta(2\rightarrow1)$ fructòsil (F_m), i sovint, però no sempre, amb una glucopiranososa al terminal reductor (GF_n). Les molècules de fructosa en la forma GF_n es troben en la forma furanosa (anells de 5) i només en les formes F_m , l'extrem reductor es troba en la forma piranososa (anells de 6)^{61,62}. La Figura 2.9 mostra l'estructura química de la inulina. La proporció de ramificacions unides per enllaços $\beta(2\rightarrow6)$ a la cadena d'inulina provinent de la xicoira i la dàlia està entre un 1-2% i un 4-5%, respectivament⁶³. A partir d'un 5% de ramificacions, el fructà canvia de nom i s'anomena levà.

Com s'ha indicat a la introducció, els polisacàrids són polímers amfífils i com a tals, tendeixen a ajustar la seva configuració per tal de reduir l'àrea de contacte amb el solvent. La mobilitat de l'enllaç $\beta(2\rightarrow1)$ entre les fructoses afavoreix un cert replegament de l'estructura de la inulina. L'estudi en profunditat de l'estructura cristal·lina de la inulina mitjançant diferents models s'ha realitzat recentment. La difracció raigs X de mostres sòlides en pols mostrà que la cèl·lula unitària de la forma hidratada (una molècula d'aigua per unitats de fructòsil) cristal·lina polimòrfica és ortoròmbica i la forma semi-hidratada (mitja molècula d'aigua per unitat de fructòsil) és pseudo-hexagonal polimòrfica⁶⁴ o ortoròmbica⁶⁵ consistent en dues hèlix antiparal·leles de 6 unitats cada volta. Tot i això, altres autors suggereixen una estructura d'hèlix de 5 unitats per volta. L'anàlisi en solució d'oligòmers amb $GP = 5$, mostrà que la conformació predominant és una hèlix simple, però en oligòmers més llargs aquesta ja no és possible degut a interaccions estèriques⁶⁶.

Els fructans provinents de plantes són polisacàrids petits i rarament superen les 200 unitats de fructosa. El grau de polimerització de la inulina vegetal varia entre 2 i 70 unitats de fructosa i depèn de múltiples factors com el tipus de planta, la meteorologia

de la zona durant el creixement de la planta, l'època de la collita i l'edat de la planta^{67,68}.

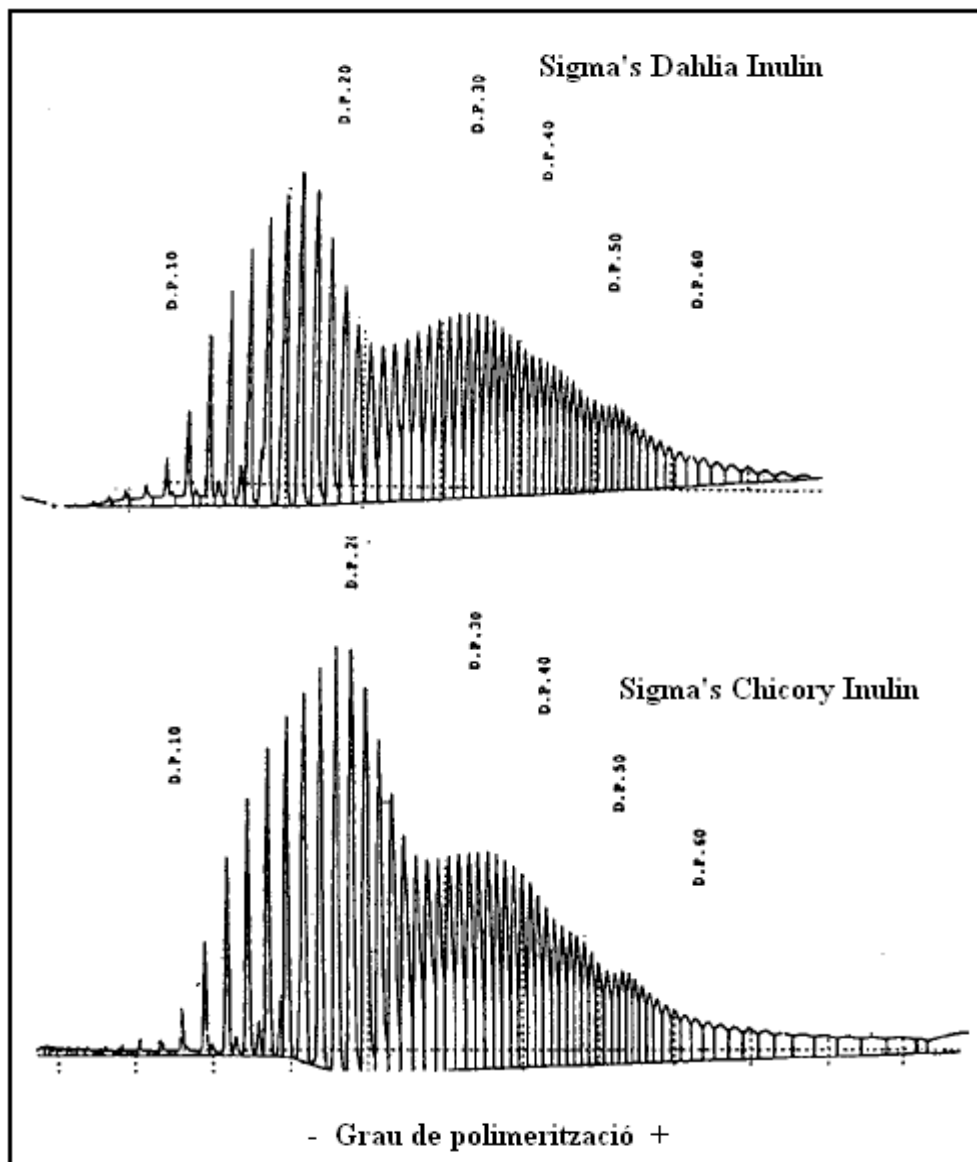


Figura 2.10. Comparativa dels cromatogrames corresponents a inulines provinents de la dalina (a dalt) i la xicoira (a baix) de Sigma obtinguts mitjançant un sistema cromatogràfic Dionex (High Pressure Aniónic Exchange Chromatography (HPAEC) acoblat a un Pulsed Amperometric Detector (PAD)⁶⁹.

La principal font d'inulina per a la producció industrial són les arrels de la xicoira, de la dalina i les carxofes de Jerusalem les quals proporcionen fructans amb un grau de polimerització mig de 10-14, 20 i 6, respectivament⁷⁰. L'anàlisi de la distribució de la

inulina es duu a terme normalment amb un cromatògraf d'alta pressió d'intercanvi aniónic (HPAEC) acoblat a un detector de pulsació amperomètrica (PAD).

La Figura 2.10 mostra els cromatogrames Dionex de la inulina provinent de la dalina i de la xicoira. En general, es pot apreciar que la dispersió de graus de polimerització (DP al gràfic) d'ambdues inulines presenta un perfil molt semblant, encara que l'espectre de la xicoira a GP baixos es una mica més intens que el de la dalina.

Si es necessari, l'extracte d'inulina es pot fraccionar per obtenir inulina de GP superior mitjançant mètodes físics d'ultrafiltració, cristallitzacions específiques de solucions aquoses o per precipitació en mesclures aquoses de metanol, etanol o acetona⁷¹. La pols final d'inulina conté típicament una quantitat de monosacàrids (glucosa, sucrosa i fructosa) inferior al 5% (p/p)⁷².

A la natura, els fructans no són exclusius de les plantes, doncs també se'n poden trobar en microorganismes. Els bacteris sintetitzen un fructà del tipus levà que té un GP entre 10 000 i 100 000 i un 15% dels enllaços són del tipus $\beta(2\rightarrow6)$. Una de les espècies bacterianes que produeixen fructans del tipus inulina són els *Streptococcus mutans*, un patògen implicat en la caries dental⁷³. Recentment, s'han desenvolupat tècniques d'enginyeria genètica que fan possible la síntesi enzimàtica *in vitro*⁷⁴ de polisacàrids mitjançant metodologia enzimàtica. En particular, després de fusionar la fructòsil transferasa de l'*Streptococcus mutans* amb la proteïna d'unió a la maltosa de l'*Escherichia coli*, es poden obtenir fructans del tipus inulina d'elevat pes molecular i monodispersos^{75,76}.

2.4.2 Propietats fisicoquímiques

Segons la *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*⁷⁷, la inulina provinent de la xicoira s'anomena inulina estàndard i s'obté com una pols blanca, inodora, de puresa elevada i composició química coneguda. És moderadament soluble en aigua (al voltant d'un 10 % a temperatura ambient) la qual cosa permet la seva incorporació en sistemes aquosos sense precipitació. La viscositat de la inulina en solució és 1.65 mPa·s (1.3 mPa·s per l'aigua) a 10 °C, en concentracions del 5% (p/p) de matèria seca (m.s.) i 100 mPa·s per concentracions del 30% (m.s.). La inulina estàndard dissolta en aigua exerceix un petit efecte sobre el punt de congelació i d'ebullició (per exemple, un 15% (p/p) d'inulina disminueix el punt de congelació 0.5 °C).

La inulina presenta propietats gelificants i forma partícules de gel després d'un esforç de cisalla a elevades concentracions (per exemple, un 25% (p/p) per la inulina estàndard, i superiors al 15% (p/p) per inulines de cadena més llarga).

En condicions àcides, els enllaços $\beta(2\rightarrow1)$ entre unitats de fructosa poden ser parcialment hidrolitzats originant fructosa lliure. La inulina és estable en medis amb pH > 4, encara que, a valors de pH més baixos, la hidròlisi es limita a menys del 10% si els productes tenen un contingut en matèria seca (m.s) superior al 70% o estan emmagatzemats a temperatures baixes (< 10°C).

2.4.3 Obtenció industrial i aplicacions

Industrialment, la inulina s'extrau de les arrels de la xicoira (Figura 2.8d) i el principal productor europeu és Bèlgica amb aproximadament 8 000 ha, dedicades al cultiu de la xicoira. El segon productor és Holanda amb 4 700 ha, i al darrere països com Espanya, Bulgària o la ex-Iugoslàvia dediquen menys de 50 ha al cultiu de la

xicoira⁷⁸. La producció d'arrels de xicoira està al voltant de les 40 ton/ha, les quals rendeixen aproximadament entre un 15-16% d'inulina. Tot i això s'ha demostrat que el contingut d'inulina pot variar en funció de la climatologia i l'època de collita⁷⁹.

La producció industrial de la inulina va començar als anys 80, quan els processos industrials d'extracció i hidròlisi van fer possible l'obtenció del xarop d'inulina, el qual té un elevat poder edulcorant gràcies a l'elevat contingut en fructosa (80%). Tanmateix, la indústria de l'alimentació també utilitzà la inulina nativa i els seus derivats d'oligofructosa per les seves qualitats nutricionals i dietètiques, per això està present en un ampli ventall de productes alimentaris com a fibra dietètica⁸⁰, en l'alimentació de pacients diabètics i com a substitut de greixos en salses, gelats, patés, formatges i/o pastisseria gràcies al seu baix contingut calòric^{81,82}.

També s'han descrit importants efectes beneficiosos de la inulina en el camp de la medicina⁸³. S'ha demostrat que una dieta basal (mínima per mantenir un funcionament normal) de ratolins consistent en un 15% d'inulina, inhibeix significativament el creixement de tumors en el rosegador^{84,85}, especialment els tumors mamaris⁸⁶ i en els de colon⁸⁷.

2.5 LA INULINA COM A RECURS RENOVABLE PER LA INDÚSTRIA QUÍMICA

L'ús de la inulina com a recurs renovable va començar cap als anys 90, quan a partir de mètodes de degradació i de modificació química ja coneguts per altres polisacàrids importants com el midó o la cel·lulosa es començaren a aplicar a la inulina. Des d'aleshores, l'obtenció de productes derivats de la inulina per la indústria de química fina i de polímers ha evolucionat considerablement, oferint una gran varietat de possibilitats com a substitut del petroli en la indústria química⁸⁸.

2.5.1 Degradació de la inulina

Com mostra la Figura 2.11, a partir de la inulina es poden obtenir derivats de baix pes molecular de gran utilització.

Entre els més importants, cal destacar-ne l'etanol, l'acetona, el butanol i el 2,3-butandiol que s'obtenen a través de processos de fermentació (Figura 2.11a)⁸⁹. També, de la hidrogenòlisi catalítica en condicions alcalines es poden obtenir una varietat de poliols com l'etilenglicol, el 1,2-propandiol i el glicerol (Figura 2.11b) de gran interès⁹⁰. A partir de la hidròlisi àcida de la inulina s'obté la D-fructosa (Figura 2.11c), que pot ser convertida per deshidratació a hidroximetilfurfural (HMF) (Figura 2.11c')⁹¹, mètode molt utilitzat en indústries de fragàncies, tints, cristalls líquids, fàrmacs, adobs, polímers, tensioactius i solvents entre altres. A partir de la D-fructosa es poden obtenir β -alquil-D-fructòsids per alquilació seguida d'una hidrogenòlisi catalítica (Figura 2.11c'')⁹². Per bé que els mètodes de degradació de la inulina són part important en la

utilització de la inulina com a recurs renovable, aquests estan fora de l'àmbit d'aquest treball i no seran descrits en més detall.

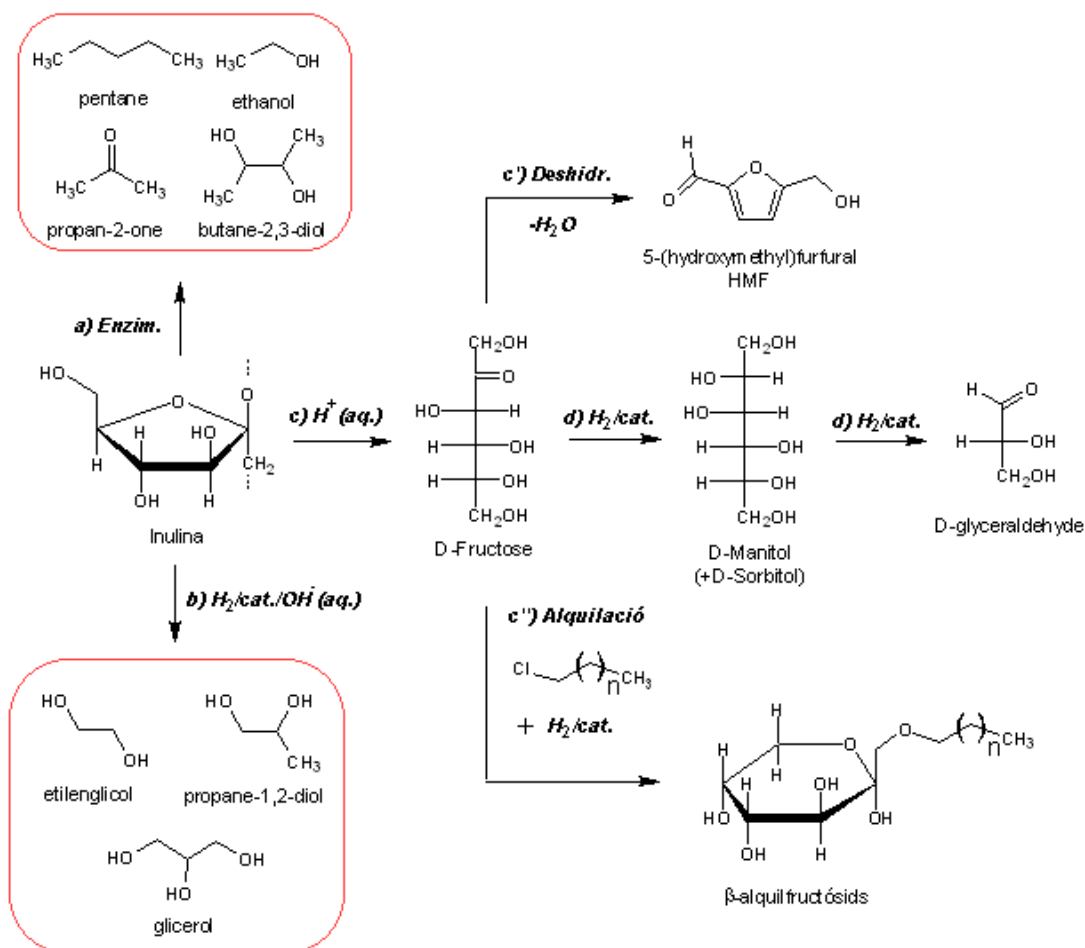


Figura 2.11 Derivats de baix pes molecular més importants obtinguts a partir de la degradació de la inulina.

2.5.2 Modificació química de la inulina i aplicacions

En els últims anys la utilització de la inulina com a material de partida per a la obtenció de polímers amb usos específics no alimentaris ha despertat un gran interès per la bona biodegradabilitat de la inulina i per la seva condició de material renovable⁹³. Malgrat que la inulina estàndard es pot usar directament en formulacions cosmètiques o

farmacèutiques com a espessant i/o estabilitzant, la modificació química d'aquest fructà ha incrementat espectacularment les possibilitats d'aquest polímer donant lloc a uns polímers industrials de gran funcionalitat respecte els productes tradicionals derivats del petroli.

La modificació química de la inulina es basa en el fet que les propietats d'un polímer es poden alterar, variant les característiques químiques dels seus monòmers. Mitjançant reaccions químiques sobre alguns monosacàrids, es poden introduir segments estructurals amb una determinada càrrega elèctrica o residu hidròfob que permet dotar el polisacàrid d'unes propietats amb un rang molt ampli d'aplicacions. L'any 2001, les aplicacions potencials de la inulina modificada i els seus processos d'obtenció van ser revisats per Stevens et al.³². La Figura 2.12 mostra les principals rutes de modificació química de la inulina.

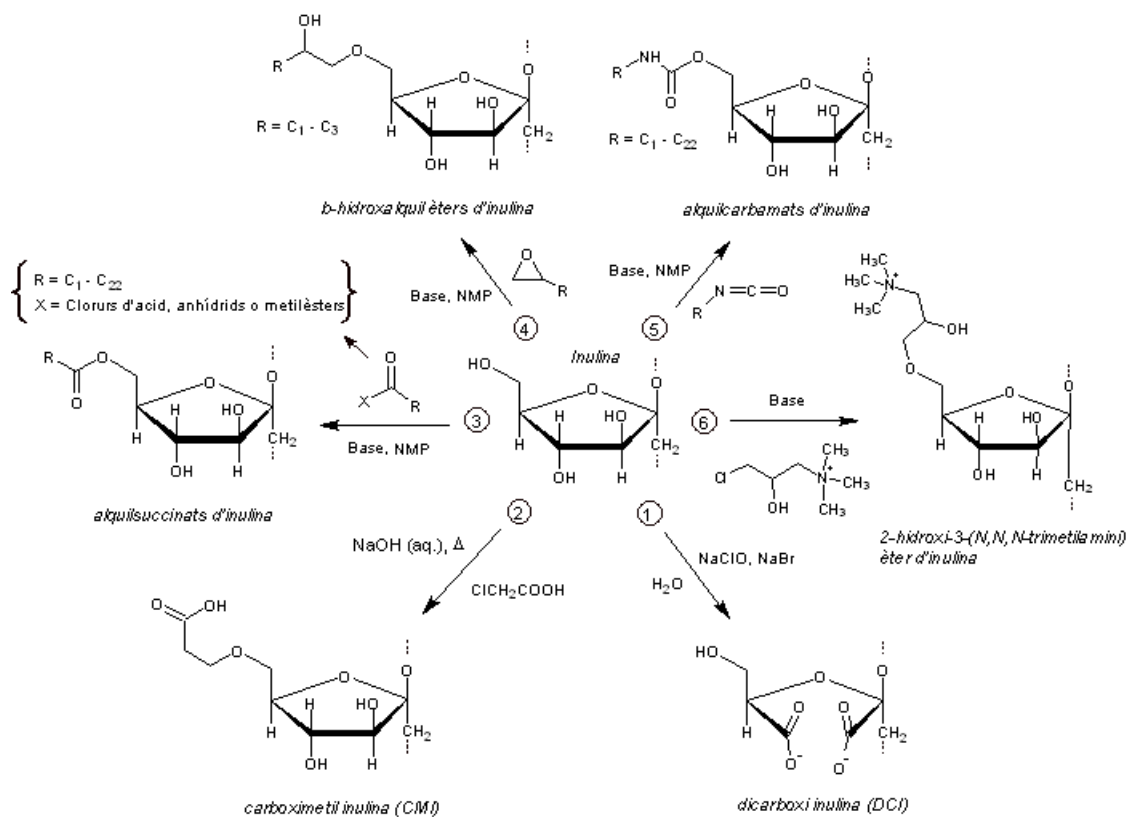


Figura 2.12. Principals rutes de modificació química de la inulina

2.5.2.1 Modificació aniònica

Industrialment, la introducció de càrregues negatives a l'esquelet de la inulina per oxidació selectiva del diol (C-3,C-4) dels anells fructòsid permet obtenir la inulina d'anell obert o dicarboxiinulina (DCI) en un pas (Figura 2.12-1)^{94,95,96}. L'oxidació en medi aquós utilitza hipoclorit sòdic en presència de bromur sòdic per augmentar la velocitat de reacció. Els millors resultats s'han obtingut realitzant l'oxidació a pH superior a 10, ja que d'aquesta manera s'evita la desproporció (o dismutació) dels reactius que tenen lloc a pH 7 per l'hipoclorit i a pH 9 per l'hipobromit. Degut a la hidròlisi de la inulina, la reacció no es pot dur a terme per sota de pH 7.

Quan s'introdueixen càrregues negatives, la inulina modificada és capaç de complexar metalls, la qual cosa permet la seva utilització com a modificador de la cristallització dels seus òxids, com per exemple la calç. La inulina oxidada adquireix unes propietats excel·lents com a agent segrestant d'ions calci (2.0-2.5 mmol de Ca⁺²/g) comparables amb les dels productes comercials (poli(acrilat)) i superiors als productes preparats a partir del midó o la cel·lulosa⁹⁷. L'activitat complexant de la inulina oxidada mostra una relació lineal amb el grau d'oxidació de la inulina que s'atribueix a la capacitat única de la fructosa oxidada per formar enllaços de coordinació⁹⁸.

Tanmateix, la introducció de grups carboxilat també es pot dur a terme per reacció de carboximetilació amb l'àcid monocloroacètic per obtenir la carboximetilinulina (CMI) (Figura 2.12-2)⁹⁹. La inulina es carboximetila per escalfament d'una solució aquosa amb àcid monocloroacètic en presència d'un excés d'hidròxid sòdic. Altre cop en medi aquós, la competició entre la carboximetilació i la hidròlisi del àcid monocloroacètic a l'àcid glicòlic, provoca una disminució del grau de carboximetilació. Per aquesta raó, les millors condicions de reacció només transformen el 42 % del monocloroacètic en

CMI¹⁰⁰. A diferència de la carboximetilació del midó que succeeix majoritàriament al carboni C-2 de la glucosa, respecte les posicions C-3 i C-4, la carboximetilació de la inulina no és una reacció selectiva i, ni la temperatura ni la concentració de la mescla de reacció influeixen en la substitució¹⁰¹.

Pel que fa a propietats en solució, la CMI és un bon inhibidor del procés de cristallització del carbonat calci, inclús a molt baixes concentracions (5-200 ppm)¹⁰² gràcies a l'habilitat del polímer de situar-se a la superfície del cristall. El seu menor pes molecular respecte els derivats del midó i la cel·lulosa, fa que la seva viscositat en solució sigui menor, la qual cosa amplia el seu rang d'aplicacions.

2.5.2.2 Modificació catiònica

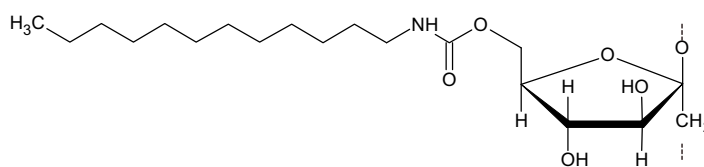
Quan s'introdueixen càrregues positives, la inulina adquireix propietats desinfectants i també pot ser utilitzada en formulacions de suavitzants pel cabell. L'estructura policatiònica dels polisacàrids els fa especialment interessants per la major solubilitat, una baixa viscositat i una major biodegradabilitat que els polisacàrids catiònics coneguts com per exemple el quitosà. A part de les aplicacions comentades anteriorment, s'utilitzen industrialment com a superabsorbents d'aigua i de solucions salines¹⁰³, i com a floculant i inhibidors de corrosió (en substitució de triclorur d'alumini, $AlCl_3$) en el procés de fabricació de paper¹⁰⁴ entre altres i, a nivell de recerca, s'ha començat a estudiar la seva vàlua en el desenvolupament de biomaterials basats en la utilització de polisacàrids catiònics com agents d'alliberació d'ADN¹⁰⁵.

Es pot obtenir inulina catiònica per introducció de grups nitrogenats en forma de grups amoni quaternari o les amines primàries, secundàries o terciàries (clorhidratades en medi àcid) (Figura 2.12-6)¹⁰⁶. S'han patentat diferents modificacions catiòniques utilitzant reactors d'extrusió en condicions bàsiques i molt baix contingut de dissolvent,

utilitzant diferents reactius com N,N,N-tris(2-cloretil)amina, N,N,N-tris(3-cloro-2-hidroxipropil)amina, trialquilamonietil-2-cloro-etil èter, aziridines substituïdes, 2-dialquilamino-3-halopropionamida, àcid 2-dialquilamino-3-halopropionic, i 4-cloro-1-metilpiperidina, solucionant en part, l'impacte ambiental associat a l'ús de dissolvents orgànics. Aquestes reaccions es duen a terme a temperatures entre 30 i 150°C. Després de la reacció, la mescla es neutralitza amb l'addició d'una solució àcida. Finalment, el producte final es purifica de sals mitjançant tècniques com l'electrodiallisi, la nanofiltració, o la precipitació en alcohol.

2.5.2.3 Modificació hidrofòbica

A principis de la dècada passada, la modificació hidrofòbica de la inulina donà com a resultat uns productes amb propietats interfacials interessants. Estudis amb més profunditat de les aplicacions revelaren unes bones propietats com a potents estabilitzadors de sistemes dispersos¹⁰⁷ com ara emulsions oli en aigua¹⁰⁸, films líquids¹⁰⁹, làtexs¹¹⁰ o fàrmacs poc solubles en aigua¹¹¹, entre d'altres. Degut al seu origen natural oferien la possibilitat de competir directament amb els tensioactius polimèrics derivats del petroli per a un mercat cada cop més sensibilitzat amb el medi ambient.



lauril carbamat d'inulina

Figura 2.13. Estructura del lauril carbamat d'inulina, comercialitzat amb el nom Inutec[®] SP1.

La Figura 2.13 mostra un exemple de derivat amfífil de la inulina comercialitzat amb el nom Inutec[®] SP1 i protegit per l'empresa Orafiti Non-Food de Bèlgica, actualment

Beneo Bio Based Chemicals. L'Inutec[®] SP1 (InSP1) és un tensioactiu polimèric no iònic derivat de la carbamoilació de la inulina de la xicoira amb cadenes hidròfobes de dodecilisocianat.

Els derivats amfífils de la inulina es poden obtenir per substitució nucleòfila directa dels hidroxils de la inulina. La majoria de reaccions industrials es duen a terme en presència de dissolvents orgànics anhidres (DMSO, Py, NMP, etc.) que poden dissoldre perfectament tant la inulina com el reactiu hidrofòbic. La Figura 2.12-3,4 i 5 mostra tres rutes sintètiques diferents per a la introducció de residus hidròfobs; la ruta 3, per reaccions d'esterificació utilitzant clorurs d'àcid, anhídrids o alquilmetilesters^{112,113}; la ruta 4, per eterificació amb 1,2-alquilepòxids¹¹⁴; i la ruta 5, per carbamoliació amb alquilisocianats⁷¹. L'absència d'aigua en el medi de reacció de la majoria d'aquestes reaccions, permet l'obtenció dels productes desitjats de forma quantitativa.

Les propietats dels derivats hidròfobs d'inulina depenen, bàsicament, del grau de polimerització (GP), del grau de substitució (GS) dels hidroxils de la inulina i de la longitud de les cadenes hidròfobes. En principi, una inulina estàndard amb un GP igual a 25 ha de tenir un GS entre 0.05 i 0.50 per tenir propietats tensioactives. Si la cadena és prou hidròfoba, a GS superiors a 0.5 el producte comença a no ser soluble, la qual cosa en dificulta la seva aplicació. Per sota de 0.05, la hidrofobicitat no és suficient per donar caràcter amfífil al polímer.

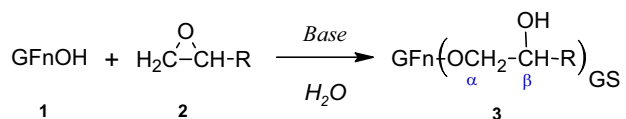
A continuació s'exposen els objectius de la present tesi doctoral amb títol: "*Obtenció de tensioactius biopolimèrics basats en la inulina en medi aquós*".

3 Objectius

L'objectiu principal d'aquesta tesi doctoral va ser l'obtenció en aigua de tensioactius polimèrics basats en la inulina i la seva caracterització. Aquests tensioactius que anomenarem HMI (Hydrophobically Modified Inulin) van ser sintetitzats per modificació hidrofòbica del biopolímer inulina. Aquest objectiu s'emmarca dins dels principis de la química verda en aspectes com l'eliminació de dissolvents orgànics, l'ús de matèries primeres renovables, la reducció dels passos de reacció i l'obtenció de productes més eficients i segurs pel medi ambient.

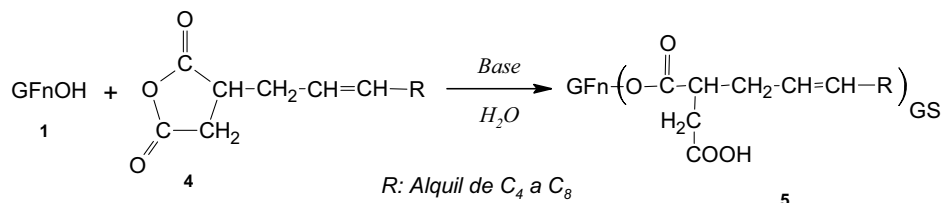
La modificació hidrofòbica de la inulina [1] s'havia de dur a terme mitjançant reaccions químiques d'eterificació amb 1,2-alquilepòxids [2] i d'esterificació amb anhídrids de l'àcid alquenil succínic [4] sobre els hidroxils de la inulina en medi bàsic aquós. Tal i com s'indica a continuació:

1) Eterificació amb 1,2-alquilepòxids,



R: Ph i alquil de C₆ a C₂₆

2) Esterificació amb anhídrids de l'àcid 2-alquen-1-ilsuccínic,



Els diferents β -hidroxialquil èters d'inulina [3] proposats van ser el β -hidroxi-3-fenoxipropil (InPGE), el β -hidroxi-3-[C₈-C₁₀]alcoxipropil (InC_{8/10}GE), el β -hidroxiocetil (InEC₈), el β -hidroxidodecil (InEC₁₂), el β -hidroxitetradecil (InEC₁₄) i el β -hidroxioctadecil (InEC₁₈) i el el β -hidroxi-[C₂₄-C₂₈]alquil (InEC_{24/28}) èters d'inulina. I respecte als 2-alquen-1-il succinats d'inulina [5] van ser el 2-octen-1-il (InOSA) i el 2-dodecen-1-il (InDDSA) succinats d'inulina.

El GS dels respectius β -hidroxialquil èters d'inulina i 2-alquen-1-il succinats d'inulina havien de ser entre 0.05-0.5 i les cadenes alquíliques havien de ser preferiblement lineals i tenir un nombre de carbonis igual o superior a 6, per tal de que els productes finals tinguessin propietats tensioactives.

Per assolir aquest objectiu principal, fou necessària la consecució dels següents objectius parcials que conformen el pla de treball:

1.- Sintetitzar β -hidroxidodecil èters d'inulina [3] en NMP anhidre en presència de catalitzadors bàsics com a estat de l'art previ per obtenir un producte de referència ben caracteritzat.

2.- Dissenyar els processos químics d'obtenció en medi aquós de β -hidroxialquil èters d'inulina [3] i de 2-alquen-1-il succinats d'inulina [5]. Aquest disseny es va basar en l'estudi de la influència dels paràmetres de reacció sobre l'eficiència de reacció, estimada a partir de la caracterització estructural per ressonància magnètica nuclear de protó (RMN-¹H) del producte final purificat. Els paràmetres van ser: a) El tipus i

quantitat de catalitzador; b) La temperatura de reacció; c) La concentració d'inulina i reactius; d) La polaritat del medi de reacció; e) la hidrofobicitat de la cadena del reactiu

3.- Dissenyar els processos químics d'obtenció en medi aquós en presència de tensioactiu de β -hidroxialquil èters d'inulina [3] i de 2-alquen-1-il succinats d'inulina [5] de cadena llarga. Aquest disseny es va basar en l'estudi de la influència dels paràmetres de reacció sobre l'eficiència de reacció, estimada a partir de la caracterització estructural per RMN-¹H del producte final purificat. Els paràmetres van ser: a) El tipus i quantitat de catalitzador; b) La temperatura de reacció; c) La concentració d'inulina i reactius; d) La polaritat del medi de reacció; e) la hidrofobicitat de la cadena del reactiu; f) i el tipus i quantitat de tensioactiu present en el medi de reacció.

4.- Realitzar la caracterització fisicoquímica del comportament en solució dels diferents productes sintetitzats en base a la solubilitat, l'activitat superficial, la viscositat i el poder estabilitzant d'emulsions oli en aigua per tal de poder determinar la seva idoneïtat com a tensioactius polimèrics i comparar-los amb l'InSP1, un tensioactiu comercial derivat de la inulina.

5.- Realitzar la caracterització fisicoquímica de sistemes aquosos formats per la inulina modificada hidrofòbica (HMI) i el tensioactiu catiónic bromur de didodecildimetilammoni (DDAB) a partir de l'anàlisi dels canvis en la microestructura del sistema, per tal de determinar el seu interès biològic com a estabilitzant de sistemes vesiculars. Aquest tipus de sistemes pot trobar aplicació com a vehicles d'alliberament controlat i com a models de membrana.

4 Materials i mètodes

4.1 MATERIALS I APARELLS

A continuació s'enumeren els diferents productes químics utilitzats per desenvolupar els diferents processos d'obtenció de tensioactius polimèrics basats en la inulina, així com els aparells emprats per a la síntesi. Les estructures dels productes s'han anomenat de manera que el nom entre claudàtors correspon al número d'estructura representada.

La inulina. La modificació hidrofòbica es va dur a terme sobre una inulina (polifruïtosa) amb un GP de 25 unitats fructòsil extreta de les arrels de la xicoira (*Chicorium intybus*). El nom del producte comercial és Inutec[®] N25 (Figura 4.1) i el proporcionarà l'empresa Orafit Bio Based Chemicals (Tienen, Bèlgica), actualment Beneo-BBC.

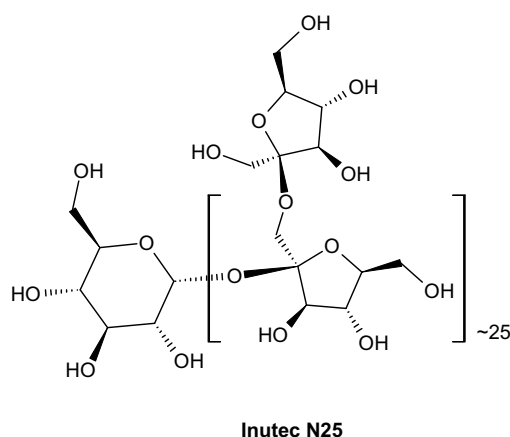


Figura 4.1. Representació esquemàtica de l'Inutec[®] N25 (InN25), la inulina emprada per l'obtenció de tensioactius polimèrics.

Aquest producte comercial s'obté del fraccionament de l'extracte de la planta que consisteix principalment en una distribució de cadenes lineals de polifruccoses d'entre 2 i 62 unitats de fructosa amb un grau de polimerització mig (GP) de 13-14 (Figura 2.10). Comparat amb la majoria de polisacàrids d'interès, l'InN25 és un polisacàrid relativament petit ($PM_{\text{mig}} \sim 5\text{KDa}$). El contingut màxim de glucosa, fructosa i sucrosa és de 0.5%, i el d'oligofruccoses de GP entre 3 i 9 unitats és del 5% sobre la quantitat total de carbohidrat sec¹¹⁵. Normalment, té un elevat contingut d'aigua que depèn de les condicions d'emmagatzematge que pot induir errors en la pesada. Per aquesta raó, el producte es va assecar a 70°C durant 24 hores en una estufa abans de ser utilitzat per a la síntesi.

Epòxids hidròfobs. La Figura 4.2 representa tots els 1,2-alkilepòxids utilitzats per a l'obtenció de β -hidroxialquil èters d'inulina:

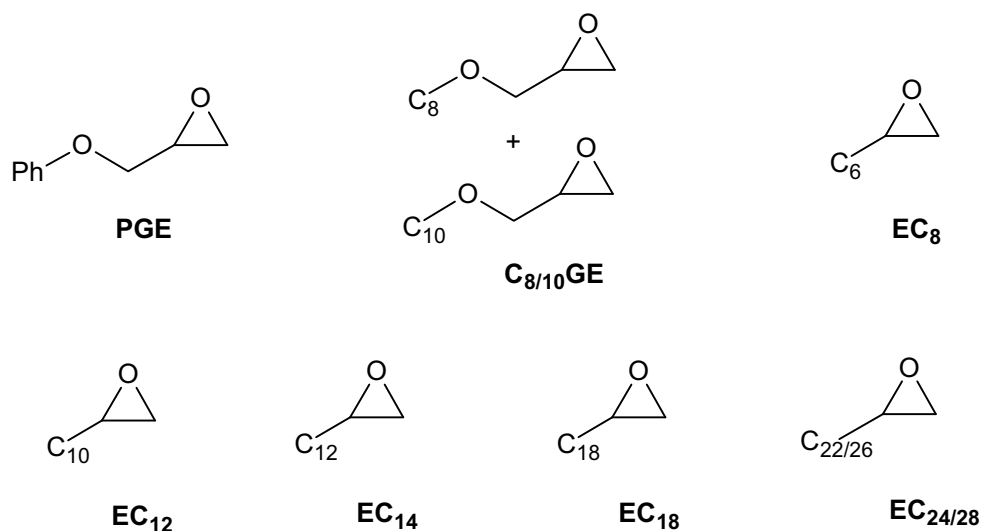


Figura 4.2. Representació esquemàtica dels diferents 1,2-alkilepòxids utilitzats per a l'obtenció de β -hidroxialquil èters d'inulina.

El 1,2-epoxi-3-fenoxi propà (fenil glicidil èter o 2-(fenoximetil)oxirà), 80% grau tècnic.[PGE]; el 1,2-epoxi-3-oct/decoxi propà (octil/decil glicidil èter o 2-(oct/decoximetil)oxirà). 80%, grau tècnic. [C_{8/10}GE]; el 1,2-epoxioctà, 96%. [EC₈]; El

1,2-epòxidodecà, 95%. [EC₁₂]; El 1,2-epoxitetradecà, 97%. [EC₁₄] de la casa Aldrich (St. Quentin Fallavier, France). El 1,2-epoxioctadecà, 97%. [EC₁₈]; i el 1,2-epoxialcà de C₂₄/C₂₈ carbonis, 85%. [EC_{24/28}] de la casa Nitrochemie Aschau GmbH (Germany).

Anhídrids de l'àcid alquenil succínic (ASA). La Figura 4.3 mostra els anhídrids de l'àcid alquenil succínic (ASA) utilitzats per a l'obtenció d'alquenil succinats d'inulina:

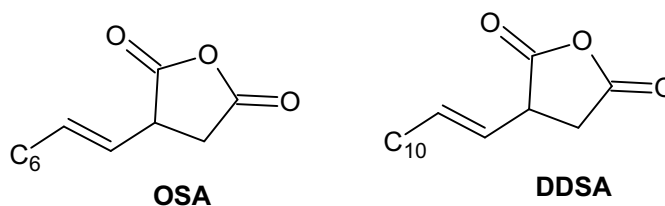


Figura 4.3. Representació esquemàtica dels anhídrids de l'àcid alquenil succínic (ASA) utilitzats per la síntesi de alquenil succinats d'inulina (InASA).

L'anhídrid de l'àcid 2-octen-1-ilsuccínic de 97% mescla isòmers Z/E [OSA]; i l'anhídrid de l'àcid 2-dodecen-1-ilsuccínic de 97% mescla isòmers Z/E [DDSA] de la casa Aldrich (St. Quentin Fallavier, France):

Catalitzadors bàsics. Les reaccions es van dur terme en medi bàsic en presència de les següents bases de qualitat per síntesi: Hidròxid sòdic (NaOH), hidròxid potàssic (KOH), hidròxid de liti (LiOH), carbonat sòdic (Na₂CO₃), carbonat de liti (Li₂CO₃), bicarbonat sòdic (NaHCO₃), bicarbonat de liti (LiHCO₃) hidrur sòdic (NaH), trietilamina (Et₃N). I representats a la Figura 4.4 la dimetilaminopiridina [DMAP], el diazabicyclooctà [DABCO] i l'hidròxid de tetrabutilamoni [TBAOH] en solució aquosa 1M. Totes han estat subministrades per Aldrich, Fluka, Scharlau o Panreac.

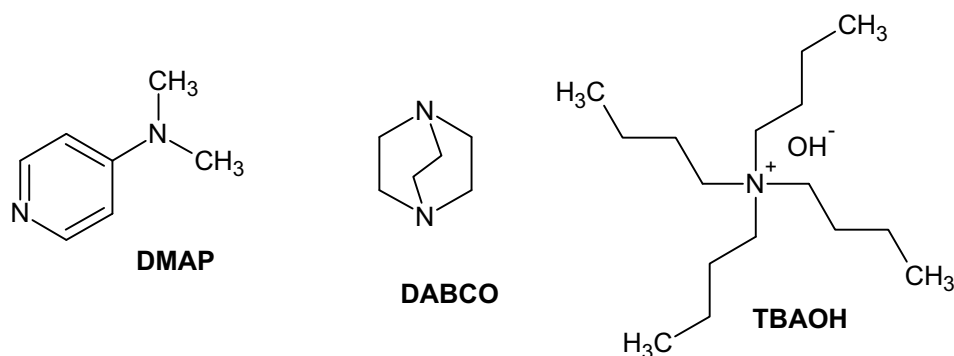


Figura 4.4. Representació esquemàtica d'algunes amines utilitzades com a catalitzadors en la modificació hidrofòbica de la inulina.

Solvents. Les reaccions en medi anhidre es va realitzar en NMP, un dissolvent orgànic polar (Punt d'ebullició: 204.3° C; +99%) proporcionat per BASF. La resta de reaccions es van dur a terme en medi aquós utilitzant aigua desionitzada. En alguns casos, la correcta solubilització dels reactius hidròfobs en aigua va requerir la presència de cosolvents com la NMP o l'alcohol isopropílic (IPA, 99%) de Carlo Erba. Per altra banda, per evitar la formació de subproductes d'oxidació en medi bàsic que donaven coloració al producte final es va introduir borohidruir sòdic (NaBH₄, 99%) de Fluka com agent reductor.

Tensioactius. Quan va ser necessari es van introduir en el medi de reacció els següents tensioactius catiónics en qualitat de cocatalitzadors micel·lars proporcionats per Aldrich (St. Quentin Fallavier, France) i representats a la Figura 4.5.: El bromur de dodeciltrimetilamoni, 99% [DTAB]; el bromur cetiltrimetilamoni o d'hexadeciltrimetilamoni, 99% [CTAB]. Finalment, en l'estudi de la interacció de tensioactius catiónics amb els HMI es va utilitzar el bromur didodecildimetilamoni 99% [DDAB] de la casa Aldrich i l'Inutec[®]SP1 comercial va ser proporcionat per Orafiti com a HMI de referència .

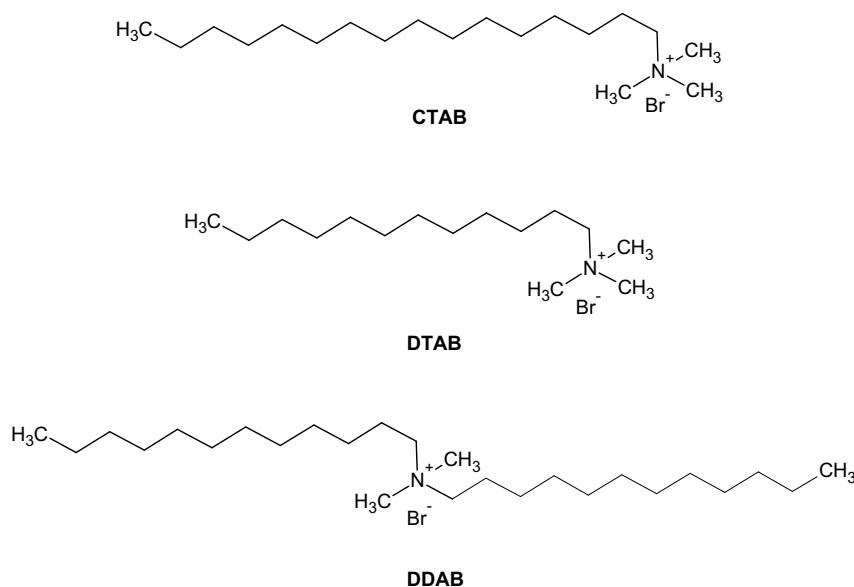


Figura 4.5. Representació esquemàtica dels tensioactius catiónics utilitzats per catalitzar la reacció de modificació hidrofòbica de la inulina (9 i 10) i per estudiar la interacció d'aquests amb els derivats hidròfobs de la inulina (11).

Aparells de laboratori. A continuació s'enumera l'instrumental de laboratori necessari per desenvolupar els diferents mètodes d'obtenció: Una estufa Heraeus model D-6450 Hanau.; Balança SARTORIUS-L420S, amb error ± 0.005 gr.; Matrassos de tres boques de fons rodó de 25, 50, 250 mL. de la casa VIDRAFOC; Agitador magnètic IKA[®] RCT-Classic amb sistema de calefacció (rang de velocitats d'agitació: 50-1100 rpm.; temperatura màxima a la superfície: 300°C.); Barres magnètiques 1.5 x 0.4 mm. i 2.3 x 0.4 mm. recobertes de tefló de la casa AFORA ; Sonda de temperatura IKATRON[®] ETS-D5 amb sistema de control de la temperatura (rang de mesura: -50...450; Desviació del control PID: $\pm 0.5^\circ$ C.); Oli de silicona Heat Transfer Fluid 510 Polyscience[®] (Rang de temp: 57° a 204°C.); Agitador mecànic PZP 50 HEIDOLPH. (rang de velocitats d'agitació: 50-200 rpm.); Vareta d'agitació d'acer inoxidable (hèlix marina de quatre pales 2.5x0.5 mm.); Xeringues d'insulina (1mL) amb una agulla de 0.5mm.; Rotovapor BÜCHI R-200 amb un bany termòstat.; Bomba de buit de membrana (diafragma) model MD 4CNT + AK + EK, de la casa Vacuubrand-GMBH.

(pressió mínima: 1.5mbar).; Filtres de vidre sinteritzat N°1-4 i els corresponents embuts kitasatos VIDRAFOC®; Bomba de buit de membrana (diafragma) model ME 2C, de la casa Vacuubrand-GmbH. (pressió mínima: 80.0mbar).; Bosses de diàlisi benzoilades (Sigma-Aldrich, D7884-10FT) de 32 mm d'amplada amb una capacitat de 100 mL/ft. (mida de por inferior a 3000 NMWCO).; Vasos de precipitats de 2000 mL; Pinces especials per diàlisi de la casa Sigma-Aldrich.; Una liofilitzadora CHRIST ALPHA 2-4 de B.BRAUN, (temp_{min}: -92°C); Bomba de buit d'oli EDWARDS-18 (pressió mínima de 0.01 mbar). Una balança analítica METLER TOLEDO B204-S amb error $\pm 5 \cdot 10^{-5}$ gr i un pH-metre THERMO ORION 550A equipat amb un elèctrode CRISON micro pH 2001, $\pm 0,01$. Reactor equipat amb control de temperatura, agitació, refrigerant i pH-metre tal i com es mostra a la Figura 4.6.

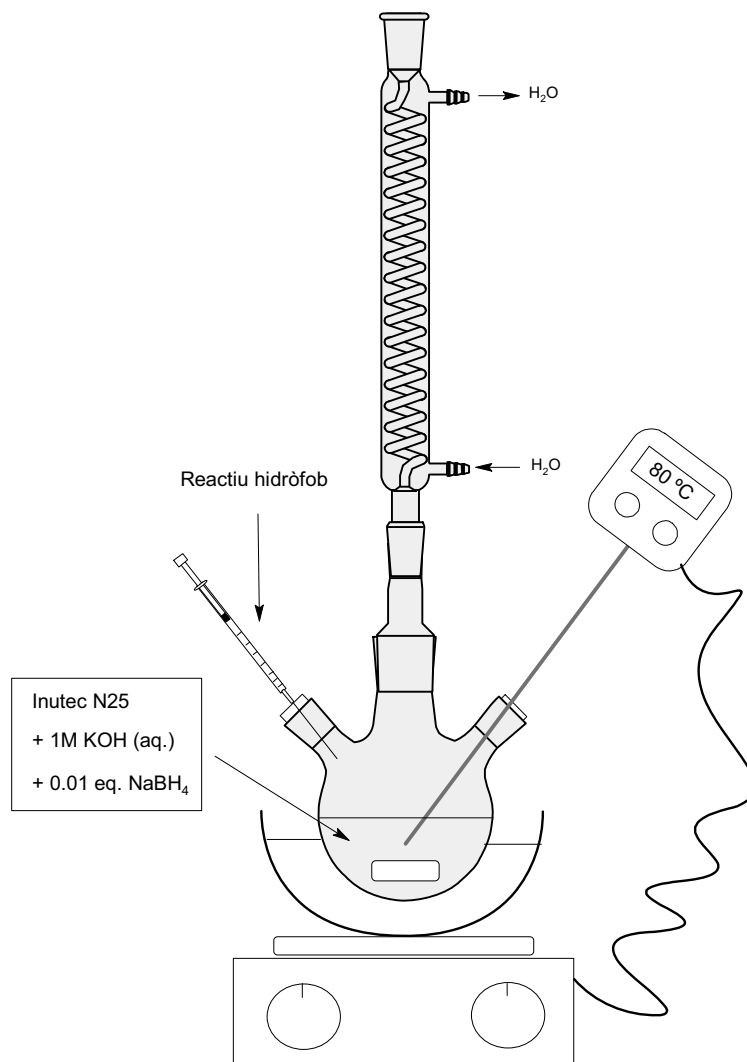


Figura 4.6 Representació esquemàtica del reactor de 250 mL on s'han dut a terme algunes reaccions de modificació hidrofòbica de la inulina utilitzant 1,2-alkuilepòxids. Per les modificacions utilitzant anhídrids de l'àcid alquenil succínic, a més a més, s'incorporava un pH-metre per el seguiment en continu del pH.

4.2 SÍNTESI QUÍMICA DE B-HIDROXIALQUIL ÈTERS D'INULINA

4.2.1 Obtenció de β -hidroxidodecil èters d'inulina en NMP anhidre

Es van dissoldre 5.00 g (31 mmol d'unitats de fructosa anhidre, UFA) d'InN25 assecats a 70° C durant 24h en 20 mL de NMP a 50°C en un matràs de fons rodó de tres boques de 50 mL. La solució d'inulina al 20% (p/p) en N-metil-2-pirrolidona (NMP) es va concentrar fins al 40% (p/p) per eliminació del solvent a pressió reduïda en un bany a 50°C. Un cop finalitzat aquest tractament el contingut en aigua era inferior al 0.05% (p/p). Seguidament, es va eliminar l'oxigen del medi fent passar un flux de nitrogen a través de la solució a 80°C durant aproximadament 15 min en agitació. A continuació es van afegir 0.1 equivalents de Et₃N (o la quantitat corresponent de catalitzador bàsic utilitzat) i al cap de 30 min es va procedir a l'addició gradual de la quantitat coneguda d'1,2-dodecilepòxid corresponent a una relació molar epòxid/UFA inicial χ_0 entre 0.05 i 0.3 durant aproximadament una hora. La mescla de reacció es va deixar reaccionar mantenint la temperatura a 80°C fins a la desaparició total de l'epòxid (o durant el temps fixat per l'experiment).

El cru (d'un color marró fosc) es va deixar refredar fins a temperatura ambient i es va abocar sobre uns 400 mL de solució al 2.5% d'àcid acètic glacial en acetona, en agitació vigorosa. La inulina modificada es va deixar cristal·litzar durant aproximadament 30 min, i es va filtrar i rentar amb tres fraccions d'acetona i tres de diclorometà. Finalment el producte obtingut s'assecà al buit en un dessecador fins aconseguir un pes constant.

Es va obtenir el β -hidroxidodecil èter d'inulina en forma de pols marró amb un rendiment entre un 85 i el 90 % i un contingut en impureses no superior al 5%. Les eficiències i condicions de reacció (quantitat i tipus de catalitzador bàsic) dels experiments es detallen a la Taula 2, pàgina 111.

4.2.2 Obtenció de β -hidroxidodecil èters d'inulina en mescles

NMP:aigua (1:1)

Es van dissoldre 1.00 g (6.2 mmol, UFA) d'InN25 assecats a 70° C durant 24h en 5 mL de NMP a 50°C en un matràs de fons rodó de 25 mL. A continuació la quantitat corresponent de catalitzador dissolta en 5 mL d'aigua es va afegir a la solució anterior d'inulina. La mescla es va agitar durant aproximadament 30 min a la temperatura de reacció i es va addicionar gradualment la quantitat coneguda d'1,2-alquilepòxid (χ_0 entre 0.05 i 0.3) durant aproximadament una hora. La mescla de reacció es va deixar en agitació i mantenint la temperatura de reacció fins a la desaparició total de l'epòxid (o durant el temps fixat per l'experiment).

Un cop finalitzada la reacció, el cru (de color marró fosc) es va deixar refredar fins a temperatura ambient i es va neutralitzar amb una solució al 5% de HCl (aq) fins a pH 6.00. Seguidament, la mescla final es va introduir en una bossa de diàlisi i es va dialitzar contra una mescla etanol/aigua (1:1) fins a reduir el contingut en 1,2-alquildioli (subproducte de hidròlisi) per sota de l'1%. Per últim es va dialitzar contra aigua fins a obtenir valors de conductivitat constants.

La solució final d'inulina modificada es va liofilitzar i es va obtenir un β -hidroxidodecil èter d'inulina en forma de pols marró amb un contingut en subproductes d'hydròlisi inferior a l'1% (GC) una puresa del 99%. La recuperació de la inulina

modificada fou del 75% aproximadament. Les eficiències de reacció i les condicions (tipus i quantitat de catalitzador i temperatura de reacció) dels experiments realitzats es mostren a la Taula 3, pàgina, 113.

4.2.3 Obtenció de β -hidroxialquil èters d'inulina en aigua

Es van dissoldre 4.00 g (24.7 mmol, UFA) d'InN25 assecats a 70° C durant 24h en agitació vigorosa a 25°C en 6.60 g d'una solució aquosa de 0.60 g (9.1 mmol) de KOH al 85% i 0.01 g (0.3 mmol) de NaBH₄ prèviament preparada en un matràs de fons rodó de 25 mL. La solució d'inulina resultant al 40% (p/p) es va escalfar a 80°C i es va agitar durant una hora aproximadament. A continuació, la quantitat corresponent d'1,2-alquilepòxid (χ_0 entre 0.05 i 0.3) es va addicionar gradualment durant una hora aproximadament. La mescla de reacció es va deixar reaccionar fins a la desaparició total de l'epòxid (o durant el temps fixat per l'experiment).

Un cop finalitzada la reacció, el cru (de color marró clar) es va deixar refredar fins a temperatura ambient i es va neutralitzar mitjançant una solució al 5% de HCl (aq.) fins a pH 6.00. Seguidament, la mescla final es va introduir en una bossa de diàlisi i es va dialitzar contra una mescla etanol/aigua (1:1) fins a reduir el contingut en 1,2-alquildiol (subproducte de hidròlisi) per sota de l'1%. Per últim es va dialitzar contra aigua fins a obtenir valors de conductivitat constants.

La solució final d'inulina modificada es va liofilitzar i es va obtenir un β -hidroxialquil èter d'inulina en forma de pols blanca amb un rendiment al voltant del 75% i un contingut en subproductes d'hidròlisi inferior al 1% (GC). Les eficiències de reacció i els detalls dels experiments realitzats es mostren a la Taula 4, pàgina, 119.

4.2.4 Obtenció de β -hidroxialquil èters d'inulina en mescles aigua:cosolvent

Es van dissoldre 4.00 g (24.7 mmol, UFA) d'InN25 assecats a 70° C durant 24h en agitació vigorosa a 25°C en 6.60 g d'una solució aquosa de 0.60 g (9.1 mmol) de KOH al 85% i 0.01 g (0.3 mmol) de NaBH₄ prèviament preparada en un matràs de fons rodó de 25 mL. La solució d'inulina resultant al 40% (p/p) es va escalfar a 80°C i es va agitar durant 30 min aproximadament. A continuació, la corresponent quantitat d'1,2-alquilepòxid (χ_0 entre 0.05 i 0.3) dissolta en la quantitat d'alcohol isopropílic (IPA) adequada en funció del 1,2-alquilepòxid utilitzat (veure condicions a la Figura 5.6, pàgina 120.) es va addicionar gradualment durant una hora aproximadament. La mescla de reacció es va deixar reaccionar fins a la desaparició total de l'epòxid (o durant el temps fixat per l'experiment).

Un cop finalitzada la reacció, el cru (de color marró clar) es va deixar refredar fins a temperatura ambient i es va neutralitzar mitjançant una solució al 5% HCl (aq.) fins a pH 6.00. Seguidament, la mescla final es va introduir en una bossa de diàlisi i es va dialitzar contra una mescla etanol/aigua (1:1) fins a reduir el contingut en 1,2-alquildiol (subproducte de hidròlisi) per sota de l'1%. Per últim es va dialitzar contra aigua fins a obtenir valors de conductivitat constants.

La solució final d'inulina modificada es va liofilitzar i es va obtenir β -hidroxialquil èter d'inulina en forma de pols blanca amb un rendiment al voltant del 75% i un contingut en subproductes d'hidròlisi inferior a l'1% (GC). Les eficiències i condicions de reacció (quantitat d'IPA i tipus d'epòxid) dels experiments realitzats es mostren a la Figura 5.6, pàgina 120.

4.2.5 Obtenció de β -hidroxialquil èters d'inulina en mescles aigua:tensioactiu

Es van dissoldre 4.00 g (24.7 mmol, UFA) d'InN25 assecats a 70° C durant 24h en agitació vigorosa a 25°C en 6.60 g d'una solució aquosa de 0.60 g (9.1 mmol) de KOH al 85% i 0.01 g (0.3 mmol) de NaBH₄ prèviament preparada en un matràs de fons rodó de 25 mL. Després, la quantitat de tensioactiu corresponent a una relació molar tensioactiu/UFA de 0.1 es va afegir a la solució anterior. Després d'un període d'agitació de 30 min aproximadament a 80-85°C, la corresponent quantitat d'1,2-alquilepòxid (χ_0 entre 0.05 i 0.3) es va addicionar gradualment durant una hora. La mescla de reacció es va deixar reaccionar fins a la desaparició total de l'epòxid (o durant el temps fixat per l'experiment).

Un cop finalitzada la reacció, el cru (de color marró clar) es va deixar refredar fins a temperatura ambient i es va neutralitzar mitjançant una solució al 5% de HCl (aq.) fins a pH 6.00. Seguidament, la mescla final es va introduir en una bossa de diàlisi i es va dialitzar contra una mescla etanol/aigua (1:1) fins a reduir el contingut en 1,2-alquildiol (subproducte de hidròlisi) per sota de l'1%. Per últim es va dialitzar contra aigua fins a obtenir valors de conductivitat constants.

Quan la reacció es va dur a terme en presència de tensioactius catiónics com per exemple DTAB o CTAB, la solució resultant es va passar a través d'una columna preparativa (27x4cm) d'intercanvi catiónic fort activada prèviament amb un solució 0.5M de KOH (aq). La inulina modificada es va eluir amb diversos volums d'aigua desionitzada i les fraccions pures es van liofilitzar. El tensioactiu catiónic es va recuperar gràcies a l'addició d'una solució 0.05 M de KCl a la columna.

Es va obtenir un β -hidroxialquil èter d'inulina en forma de pols blanca amb un rendiment al voltant d'un 70% i un contingut en subproductes d'hidròlisi inferior al 1% (GC). Les eficiències i condicions de reacció (tipus i quantitat de tensioactiu) dels experiments realitzats es mostren a la Taula 6, pàgina 130.

4.3 SÍNTESI QUÍMICA DE 2-ALQUEN-1-IL SUCCINATS D'INULINA

4.3.1 Obtenció de 2-alquen-1-il succinats d'inulina en aigua

Es van suspendre 20.00 g (0.121 mol, UFA) d'InN25 assecats a 70° C durant 24h en 60 mL d'aigua en un matràs de fons rodó de 250 mL. El pH del medi es va ajustar a pH 9.00 mitjançant l'addició d'una solució al 2% de NaOH (aq). Després de 30 min d'agitació, es va addicionar lentament la quantitat corresponent (χ_0 entre 0.05 i 0.3) d'ASA a la suspensió, mentre el pH del medi va ser mantingut entre els valors de pH òptims (8.3-8.5 per OSA i 8.5-9.0 per DDSA) mitjançant l'addició alternada de la solució al 2% NaOH (aq). La reacció d'esterificació es va donar per acabada una hora després de que el pH del medi fós constant a pH 9.00.

Un cop finalitzada la reacció, la suspensió es va neutralitzar mitjançant una solució al 5% de HCl (aq) fins a pH 6.00. Seguidament, la mescla final es va introduir en una bossa de diàlisi i es va dialitzar contra una mescla etanol/aigua (1:1) fins a reduir el contingut d'alquenil succinat sòdic (subproducte de hidròlisi) per sota de l'1%. Per últim es va dialitzar contra aigua fins a obtenir valors de conductivitat constants.

La solució dialitzada es va liofilitzar i es va obtenir un producte en forma de pols amb un rendiment al voltant del 75% i un contingut en subproductes d'hidròlisi inferior a l'1% (HPLC). Les eficiències i condicions de reacció (concentració d'inulina, rang de pH i longitud de cadena d'ASA) dels experiments realitzats es mostren a la Taula 7, pàgina 137.

4.3.2 Obtenció de 2-alquen-1-il succinats d'inulina en mescles aigua:tensioactiu

Es van dissoldre 4.00 g (24.7 mmol, UFA) d'InN25 assecats a 70° C durant 24h en 12.60 g d'una solució aquosa de 0.60 g (9.1 mmol) de KOH al 85% i 0.01 g (0.3 mmol) de NaBH₄ prèviament preparada en un matràs de fons rodó de 25 mL. Seguidament, la quantitat de tensioactiu corresponent a una relació molar tensioactiu/UFA de 0.1 es va afegir a la solució anterior. Després d'un període d'agitació de 30 min a 80-85°C, la temperatura del medi es va disminuir fins a 65°C. Després d'això es va afegir la quantitat corresponent d'ASA (χ_0 entre 0.05 i 0.3) gota a gota a la solució anterior, mentre el pH del medi va ser mantingut entre els valors de pH òptims (8.3-8.5 per OSA i 8.5-9.0 per DDSA) mitjançant l'addició alternada d'una solució al 2% de NaOH (aq). La reacció d'esterificació es va donar per acabada 10 min després de que el pH del medi fos constant a pH 9.00.

Un cop finalitzada la reacció, la suspensió es va neutralitzar mitjançant una solució al 5% de HCl (aq) fins a pH 6.00. Seguidament, la mescla final es va introduir en una bossa de diàlisi i es va dialitzar contra una mescla etanol/aigua (1:1) fins a reduir el contingut d'alquenil succinat sòdic (subproducte de hidròlisi) per sota de l'1%. Per últim es va dialitzar contra aigua fins a obtenir valors de conductivitat constants.

Quan la reacció es va dur a terme en presència de tensioactius catiónics com per exemple DTAB o CTAB, la solució resultant es va passar a través d'una columna preparativa (27x4cm) d'intercanvi catiónic fort activada prèviament amb un solució 0.5M de KOH (aq). La inulina modificada es va eluir amb diversos volums d'aigua desionitzada i les fraccions pures es van liofilitzar. El tensioactiu catiónic es va recuperar gràcies a l'addició d'una solució 0.05 M de KCl a la columna.

Es va obtenir un β -hidroxialquil èter d'inulina en forma de pols blanca amb un rendiment al voltant del 70% i un contingut en subproductes d'hidròlisi inferior a l'1% (HPLC). Les eficiències i condicions de reacció (rang de pH, quantitat de tensioactiu i temperatura) dels experiments realitzats es mostren a la Taula 8, pàgina 141.

4.4 ANÀLISI QUÍMICA I ESTRUCTURAL DE LA INULINA I DERIVATS (HMI)

4.4.1 Volumetries

4.4.1.1 Mètode Karl-Fischer per a la determinació d'aigua

El fonament teòric del mètode de Karl Fischer consisteix en que en presència de diòxid de sofre, metanol i una base adequada mitjançant l'addició de iode, les molècules d'aigua es converteixen estequiomètricament. La valoració (presència d'aigua) es pot seguir exactament usant un elèctrode de platí de dos pins amb un corrent elèctric aplicat entre els dos pols. El voltatge mesurat als pins de l'elèctrode polaritzat es usat pels controls del valorador com a senyal d'entrada ("input"), de manera que quan les últimes traces d'aigua han estat valorades, el voltatge cau virtualment a zero. En aquest punt els elèctrodes es troben despolaritzats pel iode present en el medi i la petita corrent elèctrica oxida el iode en un dels elèctrodes, reduint la mateixa quantitat de iode a l'altre elèctrode.

L'anàlisi del contingut en aigua es va realitzar per determinar el contingut d'aigua de la inulina abans i després del tractament tèrmic i abans de dur a terme la reacció en dissolvent orgànic (veure 4.2.1). D'aquesta manera es va poder assegurar que les reaccions es realitzaven en absència d'aigua, considerant com a medi anhidre quan el resultat de la determinació volumètrica de la quantitat d'aigua segons el mètode de Karl Fischer és igual o inferior a 0.05%.

Les mostres es van analitzar en un METLER DL18 Karl Fischer Titrator amb una bureta de 10mL equipat amb reactius i dissolvents de valoració lliures de piridina de la casa Aldrich. El procediment emprat fou el següent: En primer lloc es va calibrar el valorant i es va determinar que el “drift” (deriva) estava per sota de 25 $\mu\text{m H}_2\text{O}/\text{min}$. Després es van analitzar 1.000g d’una solució patró (1.000% en aigua) per comprovar que la lectura no es desvia en més d’un 0.005% d’aigua. A continuació mitjançant una xeringa es va extraure 1g de la solució (medi de reacció) aproximadament, i el conjunt (xeringa + mostra) es va pesar en una balança analítica. Un cop anotat el pes, es posa a zero (línia base) el Karl Fischer i s’introdueix la mostra a l’interior de la cel·la de valoració amb la major brevetat possible. Seguidament, es va tornar a pesar la xeringa i, per diferència, s’anotà el pes introduït a la cel·la de mesura. S’introduí el valor i després d’un breu període de dissolució, el resultat de la valoració automàtica (el contingut d’aigua present en la cel·la) es mostrà a la pantalla de l’analitzador.

4.4.1.2 Valoració àcid-base per la determinació del grau de substitució (GS)

El grau de substitució (GS) del derivats d’inulina de l’àcid alquenil succínic (ASA) es va determinar per un mètode de valoració àcid-base utilitzat en la modificació hidròfoba del midó¹¹⁶. El procediment adaptat fou el següent:

Es van pesar acuradament 1.0 g d’inulina modificada amb ASA i es van dissoldre en un volum de 10 mL d’aigua desionitzada a 40° C. A continuació, mitjançant l’addició d’una solució de NaOH 0.05 M es van desprotonar completament els àcids carboxílics de la inulina modificada elevant el pH fins a 9.00. En aquest punt, la solució resultant es va valorar amb un volum (V) d’HCl estàndard de concentració (0.05 M) fins al viratge del taronja de metil.

Finalment, a partir de les dades del punt d'equivalència es va calcular el grau de substitució (GS) mitjançant la següent equació:

$$GS = \frac{MW_{UFA}}{\frac{W_{MOSTRA}}{C_{HCL} \cdot V_{HCL}} - MW_{ASA}} \quad \text{Eq. 4-1}$$

On MW_{UFA} correspon al pes molecular de la unitat de fructosa anhidre (UFA), MW_{ASA} al pes molecular de l'anhidrid (ASA), W_{MOSTRA} al pes de la mostra i C_{HCL} i V_{HCL} a la concentració i el volum d'àcid clorhídric utilitzat per arribar al punt d'equivalència, respectivament.

El mètode dona un valor de GS amb un error mig de 20% d'error comparant els resultats amb els del mètode de RMN que tenen un error mig del 10%. Tot i que l'error és major es pot considerar un mètode vàlid pel seguiment de reaccions quan no es disposa d'equips de ressonància magnètica nuclear (veure 4.4.3.1.)

4.4.2 Mètodes cromatogràfics

La cromatografia es basa en la separació d'analits en funció del seu repartiment entre la fase estacionària (sòlid porós) i la fase mòbil (líquid o gas). Considerant dos analits diferents dissolts en una fase mòbil que entra en contacte amb la superfície de la fase estacionària, el balanç entre les interaccions de l'analit amb la fase estacionària i la fase mòbil determinen, la concentració d'analit dins la fase mòbil. Aquest fet permet la separació de mesclures d'analits en funció de la seva capacitat d'interaccionar amb la fase estacionària. Un sistema de detecció d'analits permet la quantificació d'aquesta separació.

Durant el desenvolupament del mètode d'obtenció dels diferents derivats d'inulina s'han emprat diferents tècniques cromatogràfiques en funció del tipus d'analit que es presenten a continuació:

4.4.2.1 CCF per al seguiment de reaccions.

Com el seu nom indica, la cromatografia de capa fina (CCF) es basa en les diferències que entre els analits respecte la capacitat d'absorbir-se sobre una fina capa de sílice (superfície polar) i la capacitat de solubilitzar-se en la fase mòbil (eluent, dissolvent apolar).. La força motriu del procés de separació és la capil·laritat de l'eluent (fase mòbil) a través de la superfície porosa de la sílice. Per tant, com més polar l'analit, més retenció. Tot i no poder determinar quantitativament la concentració d'analit de la mostra, la relació entre la posició de l'analit respecte el punt de partida i la distància recorreguda per la fase mòbil permet la identificació de l'analit a partir de la comparació amb patrons i es coneix com a factor de velocitats (Rf).

El procediment emprat fou el següent:

En primer lloc, es van prendre 0.1 mL del cru de reacció amb una xeringa i es van diluir (1/10) en metanol. Es va deixar precipitar i amb una micropipeta de vidre es van recollir 10 µl de la solució metanòlica per després aplicar-los sobre una placa cromatogràfica Alugram[®] Nano - SILG/UV254. La placa es va introduir en una cubeta amb un 50 mL d'AcOEt:Hexà (1:4) com a fase mòbil i es va deixar que per capil·laritat es produís el procés d'elució (fins a 1 cm per sota el límit superior de la placa). Seguidament, es va retirar la placa i un cop seca de dissolvent es va submergir en una solució d'àcid fosfomolibdic al 5% en etanol i es va escalfar fins a temperatures superiors als 100 °C amb una pistola de calor fins a poder observar els productes d'oxidació (d'una tonalitat més fosca). Seguint aquest procediment es van determinar

els coeficients Rf pels diferents analits: Pels 1,2-alquilepòxids el Rf: 0.7-0.8, pels 1,2-alquildiols el Rf: 0.2-0.3 i finalment la inulina modificada Rf ~0.

4.4.2.2 HPLC-UV per a la determinació d'epòxids aromàtics o anhídrids del 2-alquenil succínic

La determinació del contingut d'impureses del producte final en derivats d'epòxids aromàtics o anhídrids del 2-alquenil succínic es van realitzar per cromatografia líquida d'elevada eficàcia (HPLC) de fase reversa. Aquesta cromatografia utilitza el mateix principi que el de la CCF amb la diferència que la fase estacionària es una sílice funcionalitzada amb cadenes hidròfobes i per tant és apolar. En aquest cas, l'elució es va dur a terme mitjançant una bomba hidràulica a través d'una columna plena de fase estacionària de dimensions conegudes. Un aparell de detecció al final de la columna va permetre la identificació i la quantificació dels analits a través de la comparació amb patrons i rectes de calibrat, respectivament.

El procediment emprat fou el següent:

L'anàlisi de dilucions (1/10) del cru de reacció en metanol o de dissolucions aquoses de producte final a l'1% (p/v) es van realitzar injectant un volum de 20 µL en un cromatògraf de la casa Merk-Hitachi constituït per una bomba L-6200A, una columna cromatogràfica de fase inversa model Licrospher 100 CN (propilcian) 250 x 4 mm amb una mida de por de 5µm, un detector de UV (215nm) L-4250 units i un integrador D-2500. La fase mòbil utilitzada va ser ACN:H₂O (2:3) + 0.1% TFA a un flux de 1 mL/min i mode isocràtic. Els temps de retenció registrats per les espècies analitzades foren els següents: OSA-anhídrid (14.7-15.2 min); OSA-àcid carboxílic (9.6-10.0 min); OSA-carboxilat (3.4-3.8 min); DDSA-anhídrid (20.5 min); DDSA-àcid carboxílic (12.1 min) DDSA-carboxilat (6.7 min); PGE-epòxid (3.1-3.2 min); PGE-diol (6.3 min).

4.4.2.3 GC-FID per a la determinació d'epòxids alifàtics

La determinació del contingut d'impureses del producte final derivats d'epòxids alifàtics es va realitzar per cromatografia de gasos (GC) de fase reversa. Aquesta tècnica es molt semblant al HPLC amb la diferència que la fase mòbil és un gas i la detecció es realitza mitjançant un detector d'ionització de flama (FID) que assegura la detecció d'analits que normalment no es poden observar amb el detector d'absorció de llum ultraviolada del HPLC-UV.

El procediment d'anàlisi utilitzats es mostra a continuació:

Per determinar el contingut d'impureses d'una mostra de β -hidroxialquil èters d'inulina en 1,2-alquilepòxids es van suspendre 40 mg de producte en 2 mL de metanol. La suspensió resultant es va filtrar amb un filtre de tefló amb una mida de por de 0.42 μm . El líquid resultant es va injectar en un cromatògraf de gasos (GC) Hewlett Packard-5890 a través d'un injector automàtic a 200° C. Utilitzant N_2 com a fase mòbil amb una rampa de temperatures des de 25°C fins a 300° C a raó de 7 °C/min es va poder separar els analits retinguts en una columna de fase reversa CP Sil 8CB. La detecció i quantificació es va realitzar mitjançant un detector FID a 300°C. Els temps de retenció registrats per l'1,2-dodecilepòxid va ser de 12.7 min.

4.4.3 Mètodes òptics

Els mètodes òptics d'anàlisi són aquells que mesuren la radiació electromagnètica que es desprèn de la matèria o que interacciona amb ella. S'inclouen per tant, tots els camps del espectre electromagnètic des dels rajos gamma fins a les ones de radio. Cada mètode d'anàlisi descrit es basa en un determinat mecanisme d'interacció entre la radiació

electromagnètica i la matèria que varia en funció de les característiques del sistema analitzat i de la radiació electromagnètica implicada.

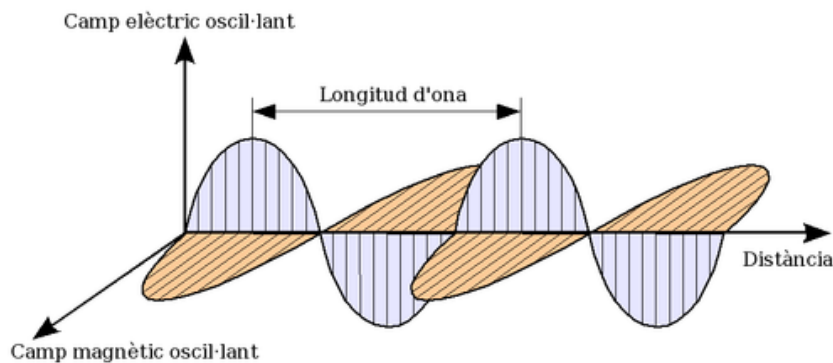


Figura 4.7 Representació d'una ona electromagnètica.

Com mostra la Figura 4.7 una radiació electromagnètica es caracteritza generalment per la seva longitud d'ona λ o la seva freqüència ν que estan relacionades entre si per l'expressió:

$$\lambda = \frac{c}{\nu} \quad \text{Eq. 4-2}$$

on c és la velocitat de la llum = 2.9979×10^8 m/s.

Els mètodes òptics es diferencien entre mètodes *espectrofotomètrics* i *no espectrofotomètrics*. En els primers la mesura de la intensitat i la longitud d'ona radiant abans i després d'interaccionar per mecanismes d'absorció-emissió de la matèria objecte d'estudi, com a resultat s'obté un espectre degut a transicions entre els estats d'energia característics de la matèria. El segons es basen en l'anàlisi dels canvis en la direcció o en les propietats físiques de la radiació implicada provocats per les característiques estructurals i de forma de la matèria objecte d'estudi per mecanismes com la dispersió, la refracció, la dispersió refractiva, la reflexió, les interferències, la difracció o la polarització de la llum¹¹⁷.

Gràcies a l'evolució de la interpretació d'espectres, actualment es possible caracteritzar estructuralment tot tipus d'àtoms i molècules. I el desenvolupament de models per a la interpretació de la dispersió de la llum, i en particular de la difracció dels raigs X, han permès l'accés a la caracterització estructural de sistemes amb un nivell d'organització superior com ara cristalls, sòlids i líquids, agregats supramoleculars i nanopartícules entre d'altres.

Donat que la present tesi doctoral s'emmarca en l'obtenció i caracterització de tensioactius polimèrics, mètodes òptics com la ressonància magnètica nuclear, l'espectrofotometria d'infraroig i la difracció de raigs X han fet possible tant la confirmació de la reacció de modificació i la determinació del grau de substitució de la inulina, com la caracterització d'aquests productes en solució.

4.4.3.1 RMN per a l'anàlisi química i estructural d'inulina i derivats (HMI)

L'espectroscòpia de ressonància magnètica nuclear (RMN) és una tècnica analítica que utilitza un tipus de radiació electromagnètica de longituds d'ona entre 1 i 300m coneguda com a radiofreqüència. A diferència d'altres tècniques d'absorció com la d'infraroig o la d'ultraviolada, la mostra a estudiar s'ha de situar en un camp magnètic intens abans de que la radiació sigui absorbida pels nuclis de la mostra. En absència del camp magnètic els estats de spin dels nuclis estan degenerats, és a dir, que tenen la mateixa energia, i no poden haver-hi transicions entre nivells energètics. En presència del camp magnètic intens, l'energia de certs nuclis es resol en nivells separats, i una radiació electromagnètica apropiada pot provocar transicions entre els diferents estats energètics de spin. Aquesta orientació respecte el camp magnètic només té lloc en nuclis que posseeixen moments magnètics d'spin. Els protons són els nuclis més estudiats ja que la seva abundància natural en la majoria de compostos orgànics és la més gran, però

hi ha altres nuclis com el carboni tretze (^{13}C) que tot i no ser tant abundants, donen molta informació en l'elucidació de l'estructura d'un compost orgànic.

Els espectres de ressonància magnètica nuclear (RMN) dels ^1H i ^{13}C es van obtenir en un espectròmetre Inova 500 MHz de la casa Varian[®], la potència del qual va permetre distingir entre les senyals corresponents als principals grups funcionals de la inulina i la modificació realitzada en cada cas. El procediment emprat en l'adquisició dels espectres fou el següent:

Les mostres es van preparar dissolent uns 30-40 mg de producte final pur en 1.0 mL de dimetilsulfòxid deuterat (DMSO- d_6) i la solució es va introduir un tub de ressonància. A continuació, es va preescalfar la cel·la de mesura a 50 °C. Un cop estabilitzada la temperatura es va realitzar el "shimming" (afinament) i es va ajustar el "lock" (intensitat) de l'aparell amb la mostra. El programa de mesura es va establir en 16 repeticions amb 30 segons de retard entre cada una, per assegurar un temps de relaxació suficient a 500 MHz.

El processat dels espectres és la transformada de Fourier de la intensitat emesa pels nuclis ressonants. La seva representació és realitza en un gràfic representant la intensitat en funció del desplaçament químic mesurat en ppm. En les següents figures es mostren els espectres de RMN- ^1H , RMN- ^{13}C de la inulina i un dels derivats sintetitzats l'InOSA.

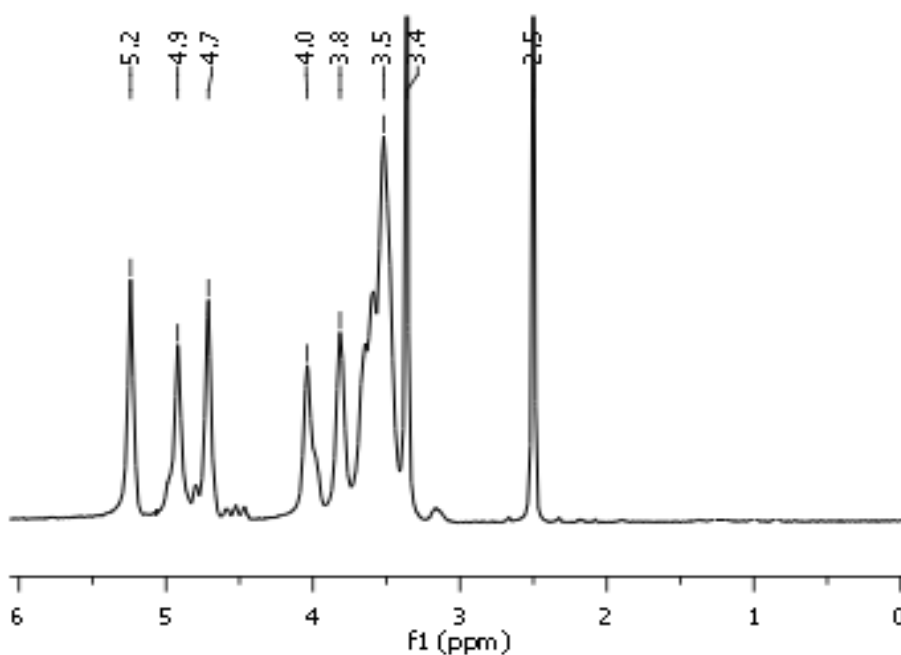


Figura 4.8 RMN-¹H espectre de la inulina en DMSO-d₆ at 50 °C. Fructòsil_{OH's} : 5.2-4.7 ppm; Fructòsil_{CH's i CH₂}: 4.0-3.5 ppm.

Com es pot veure en la Figura 4.8, degut a la semblança entre els entorns químics dels nuclis magnètics de les fructoses d'inulina, la suma de les senyals individuals formen una banda de desplaçaments químics que pot ser assignada a cada tipus de nucli. Per exemple, entre 5.2 i 4.7 ppm s'observen els tres hidroxils de la fructosa, un de primari (a l'esquerra) i els altres dos secundaris (a la dreta). També s'observen un grup de senyals entre 4.0 i 3.5 ppm corresponent als metins i metilens de la fructosa.

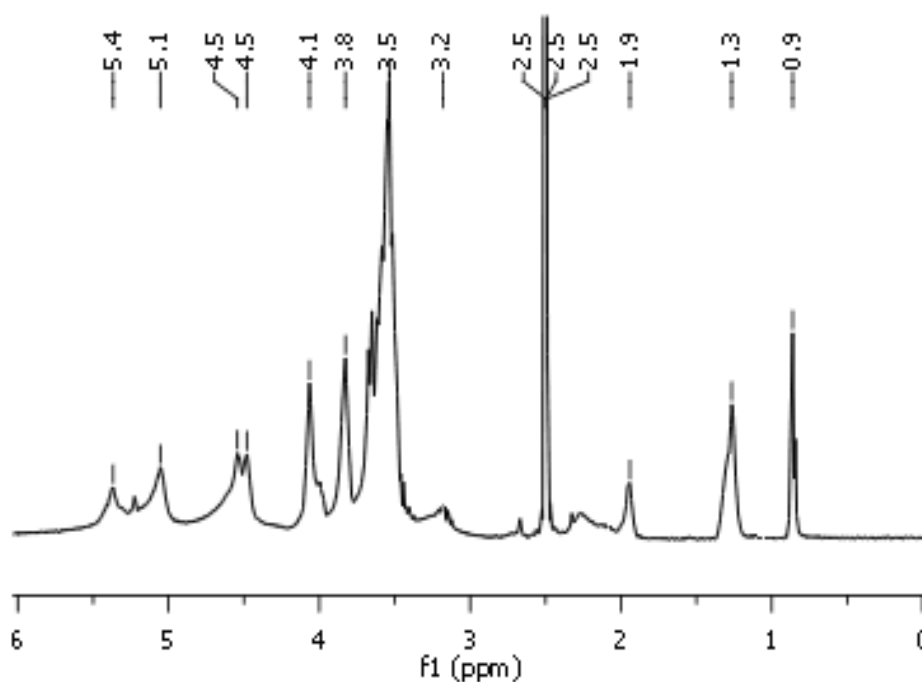


Figura 4.9 Espectre de RMN- ^1H de l'In-OSA esters in DMSO- d_6 at 50 °C. δ (ppm): Fructòsil $_{\text{OH's}}$: 5.1-4.5; Fructòsil $_{\text{CH's and CH}_2}$: 4.1-3.5; OSA $_{\text{CH=CH}}$: 5.4; OSA $_{(\text{CH}_2)_4}$: 1.9-1.3; OSA $_{\text{CH}_3}$: 0.87; OSA $_{\text{CH and CH}_2}$: 2.3-1.9. Els valors d'integració varien amb el GS i la longitud de la cadena alquènica.

La Figura 4.9 mostra l'espectre de ressonància de ^1H d'un dels derivats hidròfobs de la inulina, l'InOSA. Els desplaçaments químics de la inulina són pràcticament iguals al de la inulina sense modificar. Excepte el senyal corresponent a l'aigua de la inulina a 3.4 ppm, les diferències entre els dos espectres són els senyals corresponents a la modificació hidròfoba realitzada.

La Figura 4.10 mostra l'espectre de RMN- ^{13}C del derivat InOSA que ha permès identificar la unió entre la inulina i la cadena hidròfoba a través del enllaç èster amb senyal a 56 ppm.

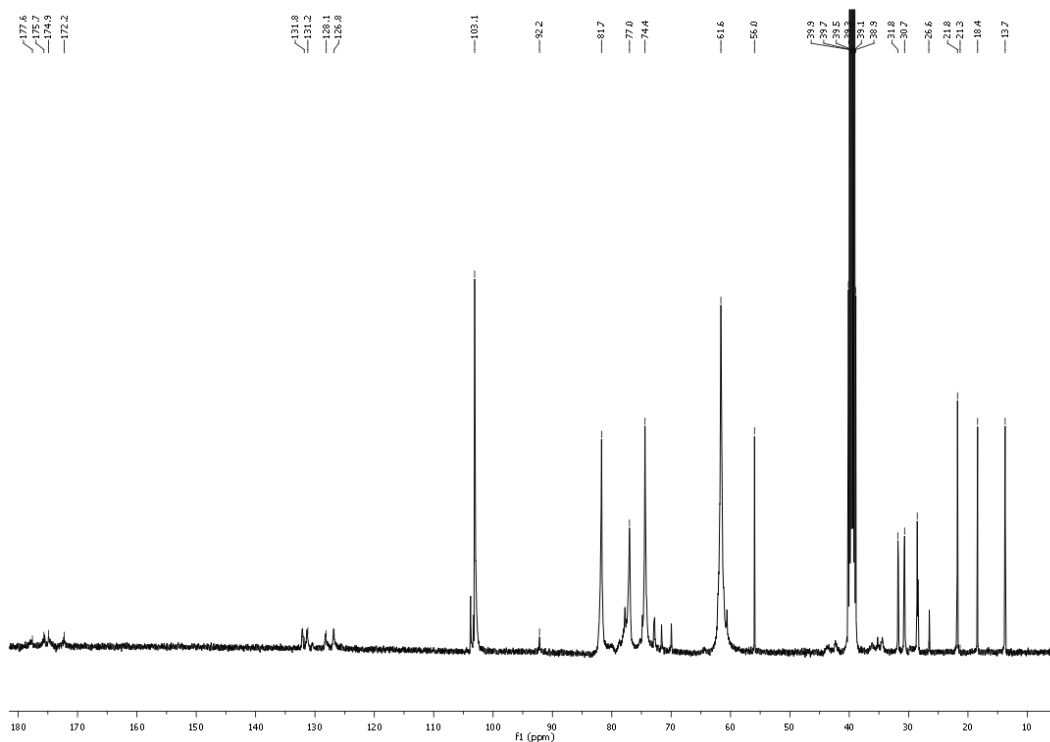


Figura 4.10. Espectre de RMN- ^{13}C de l'In-OSA esters en dmsd6 at 50 °C. δ (ppm): OSA $_{\text{C=O}}$'s: 172.3 – 178.0 ; OSA $_{\text{CH=CH}}$ (Z/E): 126.9 – 132.2 ; Fructòsil $_{\text{Cq}}$: 102.8 – 103.2 ; Fructòsil $_{\text{CH}}$'s: 74.0 – 82.0 ; Fructòsil $_{\text{CH}_2}$'s: 61.0 – 62.2 ; Enllaç èster (Fructosa- $\text{CH}_2\text{OOC}_{\text{OSA}}$): 56.0 ; OSA $_{\text{CH}}$'s: 34.6 – 35.3 ; OSA $_{\text{CH}_2}$'s: 18.4 – 31.8 ; OSA $_{\text{CH}_3}$: 13.7.

A l'annex 2 es mostren els espectres dels diferents HMI sintetitzats.

Identificació d'impureses per RMN. Es va poder determinar si la mostra problema (producte final) contenia impureses de catalitzadors o solvents utilitzats per la reacció o no a través de l'anàlisi de l'espectre de ressonància magnètica nuclear de protó (RMN- ^1H). En cas de no haver eliminat correctament les sals de catalitzador del producte final, les senyals corresponents als hidroxils apareixen com a bandes amples amb poca resolució. Si les sals del catalitzador micel·lar (DTAB o CTAB) encara estan presents en la mostra, un singlet molt intens corresponent als 3 metils a 3.0-3.1 ppm apareix a l'espectre de RMN- ^1H . A part de les senyals típiques del dissolvent, també resulta relativament fàcil identificar els protons dels anells de l'1,2-alkylepòxid en forma de doblet de doblets entre 2.2-2.4 ppm.

Determinació del grau de substitució (GS). El GS dels diferents HMI sintetitzats es va estimar a partir de l'anàlisi comparatiu de les integrals de les senyals de l'espectre de RMN-¹H corresponent a les cadenes hidrofòbiques amb els senyals corresponents a les fructoses de la següent manera:

$$GS = \frac{Int(CH_3)}{Int(CH_3) + Int(OH)} \quad \text{Eq. 4-3}$$

On, $Int(CH_3)$ és el valor de la integral del metil terminal (0.86 ppm.) i, $Int(OH)$ és el valor de la integral dels hidroxils de la molècula (4.40 -5.20 ppm.)

La precisió de la integració de les senyals d'RMN pot tenir cert error ja que l'amplitud de les senyals dels hidroxils de la inulina depèn del grau d'ionització d'aquests. Tot i això, en estudis previs, on reaccions amb alquilisocianats que tenien eficiències quantitatives, es va poder comprovar que l'error comès en el càlcul de GS pel mètode d'RMN no superava el 10%. Això es va poder confirmar amb un anàlisi d'HPLC després d'una hidròlisi àcida completa dels alquilcarbamat d'inulina obtinguts.

Determinació de l'eficiència de reacció (ER). L'ER és la relació entre el nombre de cadenes que s'han unit a la inulina i el nombre de reactius hidròfobs introduïts inicialment. L'ER es va poder calcular a partir dels valors de GS del producte final i el GS teòric considerant que el reactiu addicionat durant la reacció havia reaccionat tot amb la inulina segons la següent equació:

$$ER = \frac{GS_{actual}}{GS_{teòric}} \times 100 \quad \text{Eq. 4-4}$$

4.4.3.2 FT-IR per a la identificació de 2-alquen-1-il succinats d'inulina.

La regió infraroja del espectre electromagnètic s'estén entre el visible i les microones amb unes longituds d'ona entre les 0.75 μm i les 1000 μm . Quan un feix de llum monocromàtica d'aquestes característiques s'irradia sobre una mostra, els enllaços químics d'energia idèntica a la del feix incident absorbeixen l'energia irradiada. Aquesta energia continguda en els enllaços és alliberada després mitjançant diferents modes de vibració i rotació, en forma de calor. Això succeeix per què l'energia dels enllaços químics està quantitzada i és directament proporcional a la freqüència de vibració segons l'equació de Planck:

$$E = h\nu = h\bar{\nu}c \quad \text{Eq. 4-5}$$

on ν és la freqüència (s^{-1}), $\bar{\nu}$ és el nombre d'ona (cm^{-1}), c és la velocitat de la llum i h és la constant de Planck = $6.62 \cdot 10^{-27}$ erg·s.

Un espectre FT-IR consisteix en la transformada de Fourier de la intensitat de llum absorbida per una mostra irradiada per un feix monocromàtic dins la regió de l'infraroig fonamental. En aquesta regió compresa entre 2.5 μm (4000 cm^{-1}) i 25 μm (400 cm^{-1}) es pot obtenir una gran quantitat d'informació dels grups funcionals i de l'estructura molecular de la mostra. En particular, resulta una tècnica molt útil per detectar compostos carbonílics, ja que la seva freqüència de vibració característica (tensió C=O) és molt intensa i està situada a la regió de $\sim 1700 \text{ cm}^{-1}$.

Identificació d'alquenil succinats d'inulina (InASA). Donat que en aquesta tesi s'han realitzat modificacions químiques mitjançant reaccions d'esterificació, l'IR s'ha utilitzat principalment per a identificar els carbonils dels grups esters del succinat d'inulina. El procediment d'anàlisi utilitzat va emprar un espectrofotòmetre AVATAR 380-IR NICOLET[®] per l'adquisició dels espectres de transmitància en un rang de $\bar{\nu}$

entre $4000\text{-}400\text{cm}^{-1}$. Les diferents mostres es van preparar en una dispersió de la mostra sòlida en un film de KBr. Després de restar l'espectre corresponent al CO_2 de l'aire, l'espectre de la inulina modificada (InASA) i l'espectre de la inulina sense modificar (InN25) es van superposar per tal de poder realitzar la comparació.

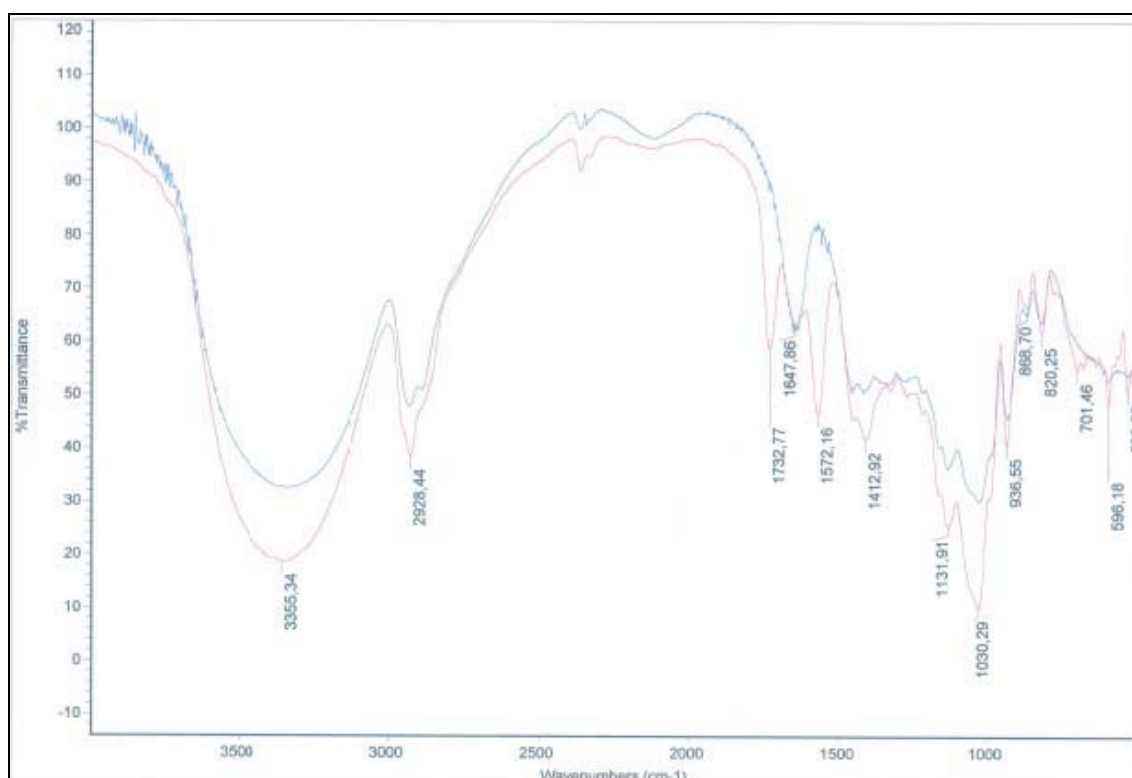


Figura 4.11 Espectres de transmitància de FT-IR en KBr del InN25 i In-OSA superposats.

La Figura 4.11 mostra els espectres de la inulina (blau) i del InOSA (vermell) superposats. L'espectre de la inulina està marcat per l'absorció característica dels OH polimèrics (tensió O-H, banda intensa entre $3650\text{-}3200\text{cm}^{-1}$, deformació en el pla C-O-H, d'intensitat mitjana a 1648cm^{-1} i tensió C-O banda intensa entre $1260\text{-}970\text{cm}^{-1}$) i dels CH's i el CH_2 de la inulina (tensions C-H a 2928cm^{-1}). En canvi, l'espectre del InOSA presenta senyals d'intensitat mitjana corresponents als carbonils dels grups èster i

carboxilat de la modificació amb OSA (tensions C=O (èster) a 1733cm^{-1} i tensions C-O-C simètrica i antisimètrica a 1572 i 1413cm^{-1} , respectivament.

Tenint en compte que el producte analitzat conté menys d'un 0.05% de OSA sense reaccionar com impuresa, la no aparició del senyal intens de l'àcid carboxílic (tensió C=O, 1730cm^{-1}) indicaria que el COOH lliure del succinat està majoritàriament ionitzat en forma de sal carboxílica.

4.5 CARACTERITZACIÓ FÍSICOQUÍMICA DELS DERIVATS HIDRÒFOBS DE LA INULINA (HMI)

4.5.1 Tensiometria per a la determinació de l'activitat superficial

La variació de la tensió superficial en funció de la concentració dels HMI es va mesurar en un tensiòmetre automàtic Krüss K12 amb una placa de Wilhelmy, d'estructura rectangular de platí i de dimensions conegudes. El principi del mètode de Wilhelmy¹¹⁸ per la mesura de la tensió superficial (γ) es mostra en la Figura 4.12.

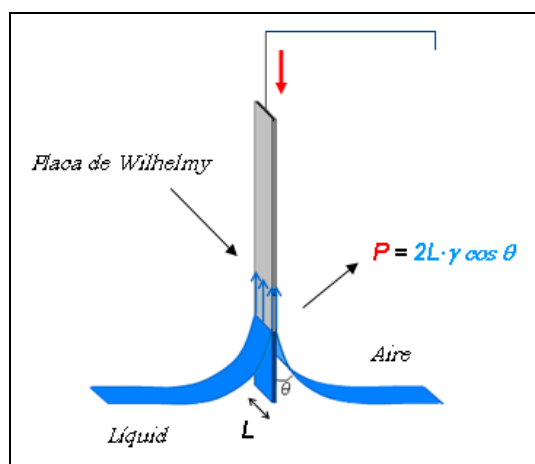


Figura 4.12 El mètode de la placa de Wilhelmy per la mesura de γ .

La Figura 4.12 representa una fina placa vertical suspesa a la superfície d'un líquid des del braç d'una balança. La posició de la part inferior de la placa està en el mateix pla que la superfície horitzontal del líquid al voltant de la placa. En aquest sistema, la tensió superficial i l'angle de contacte impliquen la formació del menisc. A l'equilibri, el pes

del menisc s'igual a la força ascendent exercida per la superfície del líquid en contacte amb la placa. En aquest punt, assumint que la balança s'ha tarat prèviament a la formació del menisc i que l'angle de contacte és proper a 0, la γ es pot calcular mitjançant la següent equació:

$$\gamma = \frac{P}{2 \cdot l \cdot \cos \theta} \xrightarrow{\theta \sim 0} \gamma = \frac{P}{2 \cdot l} \quad \text{Eq. 4-6}$$

On la tensió superficial γ (mN/m) és igual al quocient entre el pes del menisc (mN) i el perímetre de placa derivat de la longitud de la placa (l) i l'angle de contacte (θ).

El procediment utilitzat fou el següent:

Abans de preparar les diferents solucions del producte a estudiar es va comprovar que la tensió superficial de l'aigua a 25°C utilitzada fos superior a 71.4 mN/m¹¹⁹. Tenint en compte el pes molecular mig del producte sintetitzat es van preparar solucions a diferents concentracions de producte entre 10⁻⁵ i 10¹ mM. A continuació, de menys a més concentrada (per evitar contaminacions) es va mesurar la tensió superficial a 25°C cada 15 min aproximadament, considerant que s'havia assolit l'equilibri entre la interfase i el si de la dissolució quan la desviació estàndard dels valors obtinguts era igual o inferior a 0.5 mN/m.

4.5.2 Reologia per a la caracterització dels HMI en solució

L'estudi reològic es va realitzar a partir de les viscositats newtonianes obtingudes de solucions aquoses d'HMI i de la inulina sense modificar (InulinaN25) a diferents concentracions. La viscositat de tots els sistemes estudiats es va determinar imposant un esforç (σ) i mesurant una velocitat de deformació ($\dot{\gamma}$) amb un reòmetre rotacional

StressTech Rheologica[®] equipat amb un sistema de posicionament automàtic i un sistema Peltier de regulació de temperatura.

Per tal d'assegurar la màxima sensibilitat i precisió dels experiments es va utilitzar una geometria de cilindres concèntrics (CC15) per les solucions fluïdes i una geometria de con-pla (C 25 2) per les viscoses. Els experiments es van realitzar a la temperatura de treball utilitzant una rampa de 40 esforços creixents i continus entre 0.06 – 10 Pa per les solucions fluïdes, i entre 0.15 – 50 Pa per les solucions viscoses. En tots els experiments, cada esforç es va aplicar durant el temps suficient per tal que les velocitats de cisalla ($\dot{\gamma}$) mesurades per cada esforç no variessin significativament una de l'altra.

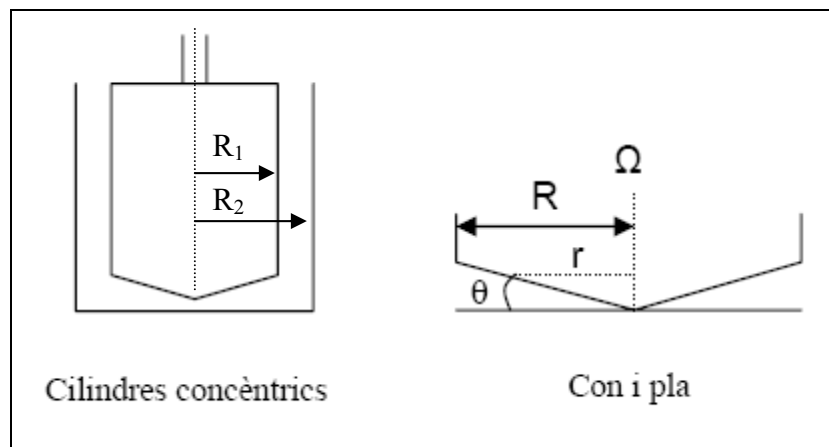


Figura 4.13 Dibuix esquemàtic de les dues geometries utilitzades per mesura la viscositat.

1) Cilindres concèntrics

En la geometria de cilindres concèntrics l'esforç aplicat σ (N/m^2) a una posició r del centre es calcula com la força aplicada (F) per unitat d'àrea (A):

$$\sigma = \frac{F}{A} = \frac{M/r}{2\pi \cdot r \cdot L} \quad \text{Eq. 4-7}$$

on la força es el parell o moment de forces M al radi r i l'àrea és $2\pi rL$. La velocitat de cisalla a un radi determinat r es calcula assumint que els elements de fluid es mouen en cercles entorn de l'eix comú a una velocitat que és funció del radi r . Utilitzant la llei de Newton per la qual l'esforç aplicat és igual a la velocitat de cisalla multiplicat per la viscositat aparent del fluid (η), la següent equació permet trobar la velocitat de cisalla:

$$\Rightarrow \dot{\gamma}(r) = \frac{2\Omega}{r^2} \left(\frac{1}{R_1^2} - \frac{1}{R_2^2} \right)^{-1} \quad \text{Eq. 4-8}$$

On Ω és la velocitat angular del cilindre exterior, i R_2 i R_1 els radis dels cilindres.

Notis que tant el valor de $\dot{\gamma}$ com σ són funció del radi. Per això, si la diferència entre els radis dels cilindres es suficientment petita ($<1\%$), la mitjana de la velocitat de cisalla i l'esforç aplicat, la viscositat es pot calcular de la següent manera:

$$\eta = \frac{\langle \sigma \rangle}{\langle \dot{\gamma} \rangle} \Rightarrow \begin{cases} \langle \dot{\gamma} \rangle = \Omega \frac{R_2}{R_2 - R_1} \\ \langle \sigma \rangle = \frac{M}{4\pi R_2^2 L} \end{cases} \quad \text{Eq. 4-9}$$

2) Geometria con-pla

Per la geometria de con-pla l'esforç aplicat σ (N/m^2) es calcula tenint en compte que el moment de força total és la suma de moments al llarg de tot el radi r , aleshores:

$$\sigma = \frac{3M_{Tot}}{2\pi R^3} \quad \text{Eq. 4-10}$$

Com que l'angle θ és petit, $\sin \theta \sim \theta$ i la velocitat de cisalla és igual a:

$$\dot{\gamma} = \frac{r\Omega}{r\theta} = \frac{\Omega}{\theta} \quad \text{Eq. 4-11}$$

Aleshores, la viscositat aparent s'obté del quocient entre σ i $\dot{\gamma}$. Les unitats del sistema internacional de la viscositat són Pa·s.

4.5.2.1 Preparació de mostres

Per solubilitzar completament els polímers, la suspensió resultant de mesclar el polímer en aigua es va escalfar a 85° C durant 10 min i després es va refredar ràpidament en un bany 0° C. En l'estudi de la interacció dels derivats d'inulina amb sistemes vesiculars (DDAB), les mescles a les concentracions desitjades es van preparar a partir de solucions concentrades dels constituents de la mescla: InEC12-DDAB, SP1-DDAB, Inulina(N25)-DDAB i DDAB sense polímer. Per tal d'aconseguir que les mostres més viscoses fossin homogènies, els constituents es van mesclar, centrifugar i sonicar repetidament fins que en observar les mostres en un microscopi òptic de llum polaritzada no s'apreciaven diferències significatives.

4.5.2.2 Càlcul de la fracció en volum, ϕ

Per caracteritzar la reologia d'un sistema s'ha de saber com es reparteixen les partícules el volum del sistema. La fracció en volum ϕ és la relació en volum del constituent d'una mescla respecte la suma de volums dels constituents abans de la mescla. ϕ dóna informació sobre la distribució de les partícules en el sistema i és un paràmetre imprescindible per entendre el comportament reològic d'una dispersió. Per definició $\phi = n \times V_p$ on n és el nombre de densitat (número de partícules dispersades per unitat de volum) i V_p el volum de la partícula dispersada.

El càlcul de la ϕ de la inulina tenint en compte la seva estructura química i la concentració en el medi ($conc_{polimer}$) es presenta a continuació:

$$\phi = n \times VM_{inulina} = \frac{conc_{polimer} (g / m^3)}{PM_{polimer} (g / mol)} \times 6.02 \cdot 10^{23} (mol^{-1}) \times VM_{inulina} (m^3) \quad \text{Eq. 4-12}$$

El pes molecular (PM) de la inulina s'ha calculat a partir del grau de polimerització mig de la inulina ($GP \sim 25$) i el pes molecular d'una unitat de fructosa anhidre (UFA) mitjançant la següent equació:

$$PM_{inulina} = GP \times (PM_{UFA}) \approx 4050 \text{ g/mol} \quad \text{Eq. 4-13}$$

El volum molecular ($VM_{inulina}$) s'ha calculat a partir de la densitat de la inulina $\rho_{inulina}^{20} = 1.63 \text{ g/ml}$, el grau d'hidratació corresponent a cada unitat de fructosa anhidre ($GH_{UFA} \sim 5$), i el volum ocupat per una molècula d'aigua ($V_{H_2O} \sim 0.030 \text{ nm}^3$) mitjançant la següent equació:

$$VM_{inulina} = \frac{PM_{inulina} (\text{g/mol})}{\rho_{inulina}^{20} (\text{g/ml}) \times 6,02 \cdot 10^{23}} \times 10^{-6} + GP \times GH_{UFA} \times V_{H_2O} \quad \text{Eq. 4-14}$$

$$VM_{inulina} \approx 8 \cdot 10^{-27} \text{ m}^3 / \text{mol}$$

En el cas de la inulina modificada, el PM i el VM s'han calculat a partir del $PM_{inulina}$ i el $VM_{inulina}$ calculats anteriorment i se li ha sumat la part corresponent a la modificació hidrofòbica tenint en compte que el volum molecular estimat de la part hidrofòbica correspon a la suma dels volums ocupats pels metilens ($V_{CH_2} \sim 0.027 \text{ nm}^3$) i pel metils ($V_{CH_3} \sim 0.055 \text{ nm}^3$) de la cadena¹²⁰.

4.5.3 Preparació d'emulsions oli en aigua

El poder emulsionant dels productes sintetitzats es va determinar com el temps que una emulsió oli en aigua preparada amb els HMI durava sense separar de fases.

Les emulsions oli/aigua es van preparar al 50% (v/v) a escala de 50 mL de la següent manera: 0.5 g de tensioactiu d'inulina es va dissoldre en 25 mL d'aigua desionitzada, a la qual se li van afegir 25 mL d'oli Isopar M. En la preparació es va utilitzar un homogeneïtzador d'elevada velocitat (CATx620) en un procediment d'agitacions

successives, de manera que: En primer lloc, durant 2 min la fase oliosa es va addicionar poc a poc sobre la solució aquosa de tensioactiu a 9 500 rpm. En segon, l'emulsió es va abocar del matraç de 50 mL a un de 100 mL i es va continuar la mescla durant 1 min a 13 500 rpm, 45 seg a 20 500 rpm i, finalment, a 24 000 rpm. L'emulsió resultant es va dividir en dues parts, una guardada a temperatura ambient i l'altra a 50 °C. Les mostres es van observar periòdicament cada setmana per comprovar l'estat de l'emulsió.

4.5.4 Microscòpia òptica

Es van utilitzar tècniques de microscòpia òptica per determinar la composició de fases de tot tipus de sistemes dispersos observats durant la tesi.

4.5.4.1 Microscòpia de llum polaritzada

Per observar els canvis de fases del medi de reacció en funció de la temperatura, es va utilitzar un microscopi òptic Leica REICHERT POLYVAR 2, equipat amb polaritzadors de llum creuats, prisma de contrast interferencial, objectius de immersió i objectius de contrast de fases. El microscopi disposava d'un sistema Peltier de calefacció LINKAM PE 94, una videocàmera digital Sony CCD-Iris connectada a un ordinador mitjançant un adaptador de càmera Sony i un captador d'imatges Leica IM500.

4.5.4.2 Microscòpia de fluorescència

Una tècnica de microscòpia òptica de tinció amb el colorant Roig del Nil (7-dietilamino-3,4-benzofenoxazin-2-ona) es va utilitzar per tal de poder observar els agregats del tensioactiu (DDAB). La caracterització de les mostres de sistemes HMI-DDAB es va dur a terme en un microscopi Olympus BX51M equipat amb una làmpada

de mercuri-UV (100 W Ushio Olympus) i un filtre del tipus MNIBA3 (470–495nm excitació i 505 nm mirall dicromàtic).

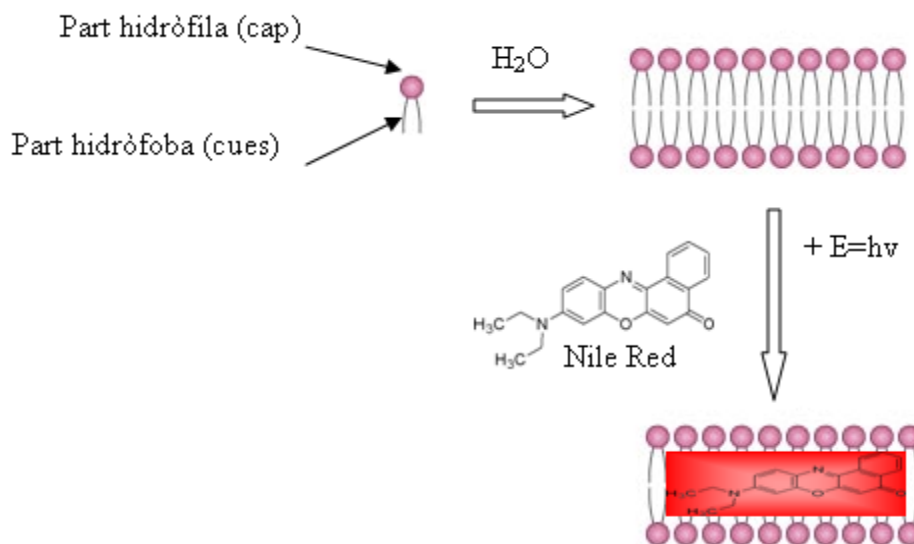


Figura 4.14. Mecanisme d'acció del Nile Red en presència de bicapes formades per DDAB.

Com il·lustra la Figura 4.14, quan les molècules de DDAB entren en contacte amb l'aigua formen unes superestructures anomenades vesícules. Les parets de les vesícules estan constituïdes per bicapes de manera que la part hidròfoba del tensioactiu ocupa el pla interior i la part hidròfila l'exterior. Les regions hidròfobes de les bicapes poden solubilitzar substàncies apolars, de manera que el tint Roig del Nil s'hi pot solubilitzar. Aquest és un fluorófor apolar que pot absorbir energia lumínica a longituds d'ona de l'ultraviolada i després emetre-la (per fluorescència) a longituds d'ona al infraroig proper. Gràcies a aquesta propietat quan les vesícules s'irradien amb llum ultraviolada les regions apolars d'aquestes es veuen acolorides a través del microscopi. El procediment per preparar les mostres abans de l'observació fou el següent:

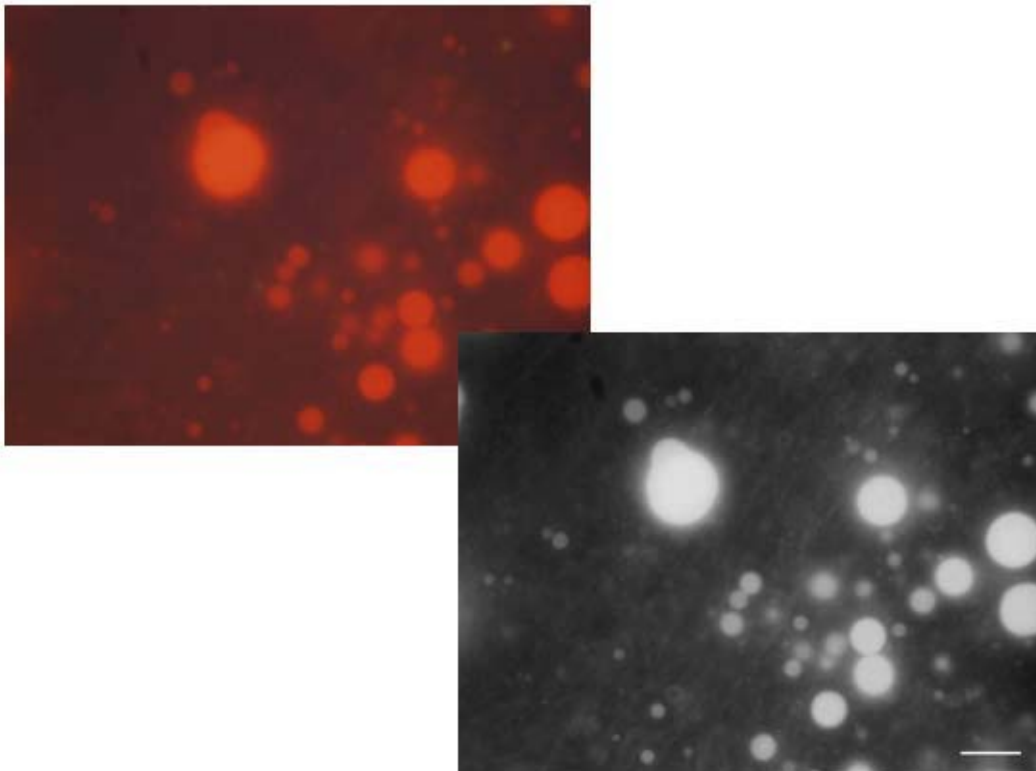


Figura 4.15 Exemple de microfotografia de DDAB a 126 mM obtinguda per microscòpia de tinció amb Nile Red (a dalt). Resultat del tractament d'imatge després de la separació del canal vermell de la resta de colors (a sota). La barra de referència són 5 micròmetres.

Sobre un portaobjectes, la mostra i una solució al 5% de Roig del Nil en aigua es van posar a parts iguals (20 μ L). Després, un cop coberta, la mostra es va introduir al microscopi. Com mostra la Figura 4.15, les fotografies obtingudes es van tractar amb el programa ImageJ per separar el color roig dels altres canals de color, de manera que la intensitat de llum de la fotografia en blanc i negre correspon a la intensitat de la llum emesa pel colorant.

4.5.5 Mesures de SAXS per a la resolució estructural de sistemes DDAB-HMI.

La resolució de sistemes aquosos DDAB-HMI es va realitzar a partir de les mesures de difracció i dispersió de raig-X a angle petit (SAXS). El patrons de difracció es van obtenir amb un difractòmetre S3 MICRO (Hecus X-ray systems GMBH Graz, Austria) amb una font de raigs X GENIX-Fox 3D (Xenocs, Grenoble). Un sistema de focalització mitjançant miralls que produeix un feix quasi puntual amb una $\lambda = 1.542$ nm (Cu $K\alpha$) amb una puresa superior al 97% i un $K\beta$ menor al 0.3%. La intensitat transmesa es va detectar usant un PSD 50 Hecus. La temperatura es va controlar per mitjà d'un Peltier TCCS-3 Hecus i les mostres es van introduir a través d'un capil·lar de vidre.

Les corbes o patrons de difracció de SAXS es van representar en escala absoluta (utilitzant el valor de transmissió de la mostra, del capil·lar de vidre i de l'aigua) en funció del mòdul del vector de difracció q dins un rang des de 0.08 fins a 6.0 nm⁻¹ de manera que les distàncies entre plans analitzades varien entre 60.0 i 1.1 nm.

5 Resultats i discussió

5.1 CARACTERITZACIÓ DE LA MODIFICACIÓ HIDROFÒBICA PER L'EFICIÈNCIA DE REACCIÓ (ER)

Un dels principals objectius d'aquesta tesi doctoral és el disseny d'un procés d'obtenció en medis de reacció aquosos de derivats hidròfobs de la inulina en base a l'estudi de la influència de diferents paràmetres experimentals sobre l'eficiència de reacció un cop consumit tot el reactiu hidròfob.

En aquest capítol es presenta l'*eficiència de reacció (ER)* com una característica equivalent a la constant cinètica de les reaccions entre molècules de baix pes molecular. Com s'indica en l'apartat 4.4.3.1, la seva determinació es pot realitzar a partir de l'anàlisi química del producte final, de manera que la seva utilització per optimitzar les reaccions de modificació hidrofòbica resulta més ràpida i senzilla que en el cas de la constant cinètica.

Si considerem que tant l'eterificació com l'esterificació de la inulina són reaccions que tenen lloc en un sistema d' n nucleòfils (*OH's de la inulina com a Nu_i*) en excés respecte l'electròfil (*reactiu hidròfob com a E*), es pot plantejar com un sistema de reaccions competitives de segon ordre que, degut a l'excés del nucleòfil respecte l'electròfil, es comporten com un sistema de reaccions de pseudoprimer ordre.

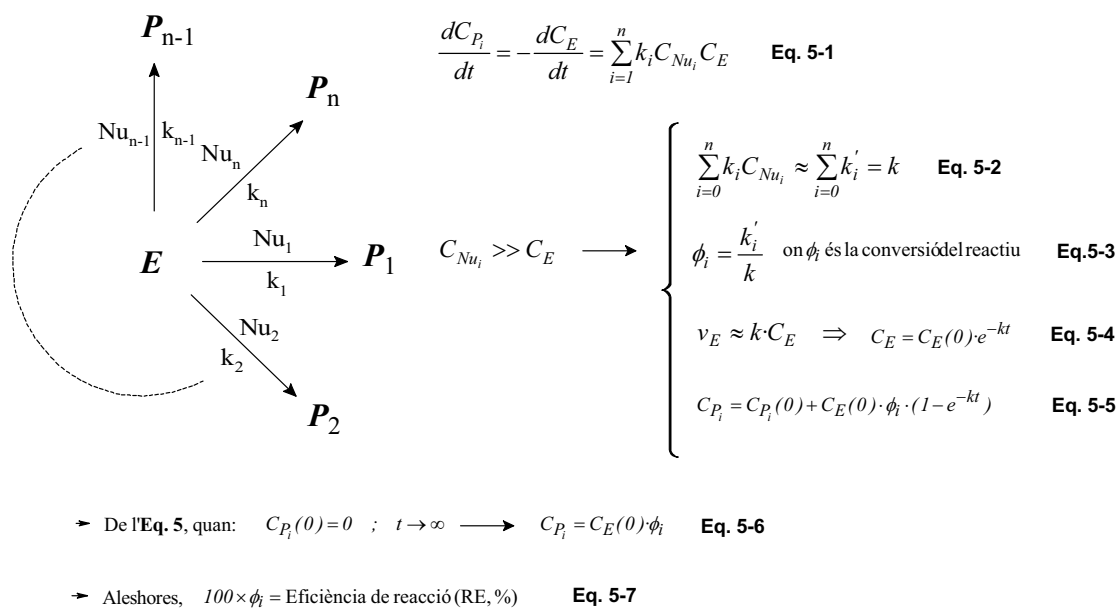


Figura 5.1. Sistema d'equacions que defineix un medi que conté n nucleòfils (Nu_i) en excés respecte l'electròfil (E) que s'introdueix posteriorment.

En un sistema com el de la Figura 5.1, substàncies electròfiles (E) com els 1,2-alquilepòxids o els anhídrids de l'àcid alquenil succínic poden reaccionar amb qualsevol dels n nucleòfils presents en el medi. Com indica l'eq.5-1, la concentració d'electròfil va decaient amb el temps i es va formant una barreja de productes (P_i), la composició final de la qual vindrà marcada per diferents variables com el temps transcorregut, la concentració de cada nucleòfil i la reactivitat del reactiu amb cada nucleòfil.

Donat que la concentració del nucleòfil és molt major que la de l'electròfil, la concentració inicial del nucleòfil no varia significativament amb el temps i es pot englobar en una constant k'_i (Eq.5-2). Aplicant això mateix per tots els altres nucleòfils, es dedueix que el sumatori de k'_i correspon a la constant cinètica global k , i que la relació entre k'_i i k correspon a la conversió ϕ_i per cada una de les reaccions del sistema (Eq.5-3). Finalment, de l'Eq.5-4 i l'Eq.5-5 s'obtenen la concentració de E i la

concentració del P_i , respectivament, en funció del temps, les condicions inicials ($C_E(0)$, $C_{P_i}(0)$) i la conversió de la reacció ϕ_i .

5.1.1 El grau de substitució

El grau de substitució (GS) és el número de cadenes alquílques introduïdes per unitat de fructosa anhidre (UFA) del polímer d'inulina i permet valorar la conversió del reactiu. Durant la reacció, el GS parteix de 0 i va augmentant progressivament el seu valor fins que ja no queda més reactiu per reaccionar, moment en el qual el GS assoleix el seu valor màxim. El GS és fàcilment caracteritzable per espectroscòpia del producte final purificat (veure 4.4.3.1).

A partir de la relació molar entre la concentració inicial d'electròfil ($C_E(0)$) i la concentració inicial de nucleòfil (UFA) s'obté χ_0 que correspon al grau de substitució teòric sí la eficiència de reacció fos del 100%. χ_0 es calcula tenint en compte tota la quantitat d'epòxid afegida a la mescla de reacció, encara que l'addició s'hagi realitzat per etapes (gota a gota). Per exemple, en la reacció d'eterificació de la inulina, les variables del sistema són les següents: E : 1,2-alquilepòxid ; P_i : cadenes β -hidroxialquil èter ; Nu_i : hidroxils del polímer de inulina (tres per unitat de fructosa). De manera que:

$$\chi_0 = \frac{\text{mol } 1,2\text{-alquilepòxid } (t=0)}{\text{mol UFA}} \Rightarrow \text{N}^\circ \text{ de } 1,2\text{-alquilepòxids inicials per UFA}$$

$$GS = \frac{\text{mol } \beta\text{-hidroxialquíl èter}}{\text{mol UFA}} ; 0 \leq GS \leq 3 \Rightarrow \text{N}^\circ \text{ de cadenes } \beta\text{-hidroxialquíl èter per UFA}$$

Per la reacció d'esterificació es poden aplicar de la mateixa manera assumint que la suma de les diferents addicions successives de reactiu (ASA) correspon als mols inicials de reactiu (χ_0).

Aleshores, es pot determinar la conversió del reactiu (ϕ_i) a través de les següents equacions:

$$GS = GS(0) + \chi_0 \cdot \phi_i \cdot (1 - e^{-kt}) \quad \text{Eq. 5-5'}$$

$$GS(0) = 0 \quad ; \quad t = \infty \quad \Rightarrow \quad (GS)_{t \rightarrow \infty} = \phi_i \cdot \chi_0 = GS_{FINAL} \quad \text{Eq. 5-6'}$$

5.1.2 Eficiència de reacció (ER)

Des del punt de vista d'enginyeria l'ER ens dóna informació sobre la conversió d'una determinada reacció. Es calcula com la relació molar entre el nombre de cadenes que s'han unit a la inulina ($P_i \propto GS$) i el nombre de reactius hidròfobs introduïts inicialment ($C_E(0) \propto GS_{teòric}$), veure 4.4.3.1.

La conversió ϕ_i és la fracció d'electròfil que es va convertint en un determinat producte. Per això, el valor $(1 - \phi_i)$ representa la influència que exerceixen els altres nucleòfils en la reacció d'estudi. Aleshores, valors de ϕ_i iguals o propers a 1 indicarien una eficiència màxima i una influència nul·la dels nucleòfils competidors en el medi de reacció. Per un mateix electròfil, el paràmetre ϕ_i depèn del poder nucleòfil (que augmenta amb la basicitat del nucleòfil) i de la concentració relativa de cada nucleòfil en el medi de reacció. Com veurem en els següents capítols l'eficiència de reacció també es pot augmentar modificant els paràmetres que influeixen en la velocitat de reacció (k'_i) d'una determinada reacció com per exemple la polaritat del medi, la temperatura o la presència de tensioactius en el medi entre d'altres.

5.1.3 Temps de reacció

Donat que en aquest tipus de reaccions es busca convertir la màxima quantitat d'electròfil en un producte determinat, es defineix el temps de reacció com el temps necessari per convertir el 99% de l'electròfil inicial o, el que és el mateix, moment en el que la concentració d'electròfil és inferior al 1%. Tal concentració s'ha detectat mitjançant tècniques de cromatografia com la CCF i l'HPLC (especificades al 4.4.2).

En situacions on les reaccions són extremadament lentes¹²¹ aquesta tècnica és poc precisa, i segurament seria millor utilitzar el temps de semivida ($t_{1/2}=1/k$), però degut a la dificultat de realitzar el seguiment complet de la reacció, aquesta opció va ser desestimada. El problema és que en reaccions lentes, si la reacció es para abans d'hora el valor d'eficiència de reacció està subestimat. Per tant, es podria donar el cas que en un medi de reacció en absència de nucleòfils competidors, l'ER fos inferior al 100%.

5.2 ETERIFICACIÓ DE LA INULINA AMB 1,2-ALQUILEPÒXIDS

L'objectiu d'aquest capítol fou dissenyar un procés químic d'obtenció en medi aquós i en un sol pas de β -hidroxialquil èters d'inulina per la reacció d'obertura d'anell entre els 1,2-alquilepoxids hidròfobs i els dels hidroxils de la inulina en medi bàsic.

El disseny del procés s'estructurà en base a l'estudi de la influència dels diferents paràmetres de reacció sobre l'eficiència de la reacció d'eterificació, estimada a partir de l'anàlisi de l'espectre de RMN-¹H del producte final purificat. Els β -hidroxialquil èters d'inulina amb diferent cadena hidròfoba proposats són els descrits a la Figura 5.2.

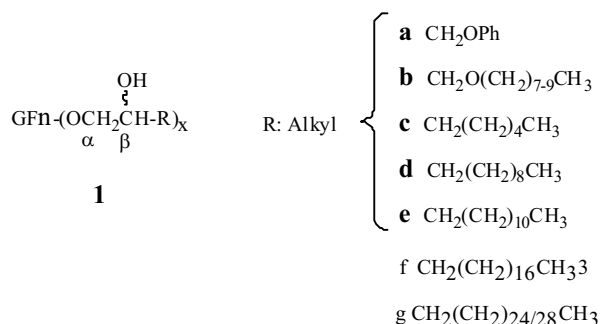


Figura 5.2. β -hidroxialquil èters d'inulina de diferent cadena hidròfoba proposats: β -hidroxi-3-fenoxipropil (**1a**, InPGE); β -hidroxi-3-[C₈-C₁₀]-alcoxipropil (**1b**, InGEC_{8/10}), β -hidroxiocetil (**1c**, InEC₈), β -hidroxidodecil (**1d**, InEC₁₂) i β -hidroxitetradecil (**1e**, InEC₁₄) èters d'inulina. La *x* correspon a nombre de cadenes introduïdes per unitat de fructosa de la inulina (GFnOH).

Des d'un punt de vista sintètic, la modificació hidrofòbica consisteix en introduir cadenes hidròfobes a la inulina. Des dels inicis, la modificació amb 1,2-alquilepòxids amb cadenes hidrocarbonades llargues ha esdevingut una etapa limitant en el desenvolupament d'aquests productes.

Abans d'entrar de ple en la discussió de resultats dedicarem un espai a considerar alguns antecedents de la reacció d'eterificació de la inulina:

L'eterificació de la inulina en solució bàsica aquosa va ser descrita per primer cop per Tomecko i Adams¹²² el 1923 i posteriorment, per Schacht et al.¹²³ el 1984 usant bromur d'al·lil i epiclorhidrina, respectivament. Però no va ser fins l'any 1995 que Kunz i Haji¹²⁴ patentaren l'obtenció de β -hidroxialquil èters d'inulina a partir de 1,2-alquilepòxids en medi aquós en presència hidròxid sòdic com a catalitzador. Tot i això, aquest mètode presentava alguns inconvenients que limitaven la seva utilització a escala industrial. Els principals problemes d'aquest mètode són els següents:

(1) Tant la reactivitat com la solubilitat en aigua decreixen a mesura que la longitud de cadena de l'epòxid és més gran. Així, mentre els epòxids solubles en aigua com l'òxid d'etilè o propilè donen lloc a eficiències per sobre del 70%, altres epòxids menys solubles, com el 1,2-butilepòxid o 1,2-hexilepòxid, reaccionen amb eficiències no superiors al 40%.

(2) La purificació del producte final per precipitació en solvent orgànic, per exemple amb acetona, diclormetà o èter, és ineficient degut a la formació d'alquil(etilenglicols) per reacció de l'epòxid amb aigua.

(3) La mescla de reacció adquireix una coloració marró fosc durant la reacció la qual cosa feia sospitar que en el medi de reacció es generava algun altre subproducte, de difícil identificació, que dona un color marró al producte final.

L'any 2004, el mètode descrit per Kunz i Haji va ser millorat per Rogge et al.¹²⁵ pels 1,2-alquilepòxids de cadena curta com l'òxid d'etilè o de propilè. El nou mètode es basava en la utilització d'un dissolvent orgànic polar (NMP) anhidre (% humitat < 0.05%) a 80°C i 0.1 equivalents. de catalitzador (Et_3N) com a medi de reacció. D'aquesta manera s'evitava la formació de glicols, però no solucionava el problema de la coloració. Com a alternativa al mètode de purificació amb dissolvent orgànic, es va intentar purificar el producte final per extracció sòlid-líquid amb anhídrid carbònic

supercrític, però els resultants foren similars als obtinguts per precipitació en diclorometà i l'acetona.

Actualment, les limitacions dels mètodes existents no permeten la modificació de la inulina amb 1,2-alquilepòxids de cadena llarga. El seu potencial en aplicacions com estabilitzants d'emulsions, additius en la indústria del tèxtil i el paper o ablanidors de polímers termoplàstics entre d'altres, estimula la recerca de noves rutes sintètiques que permetin la introducció de cadenes més hidròfobes a l'esquelet de la inulina mitjançant mètodes més eficaços i nets, acceptables mediambientalment.

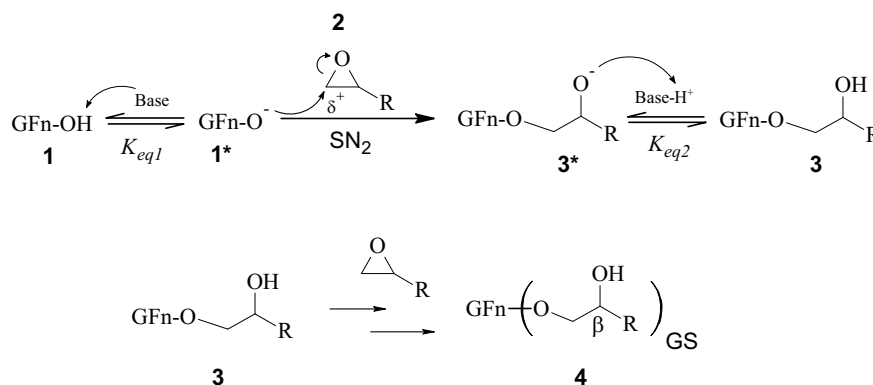


Figura 5.3. Mecanisme de la reacció d'eterificació de la inulina (GFn) a partir de 1,2-aquilepòxid en presència d'una base.

Com es pot observar en Figura 5.3, la base realitza una primera etapa d'activació de la inulina [1] on, els hidroxils de la polifruccosa augmenten la seva nucleofília mitjançant un equilibri àcid-base (K_{eq1}). A continuació, la presència d'una molècula de 1,2-alquilepòxid [2] en les proximitats de la inulina activada [1*] desencadena un atac nucleòfil sobre el carboni menys substituït del grup epòxid. Una de les col·lisions dona pas a la formació de l'intermedi iònic [3*] per un mecanisme S_N2 d'obertura d'anell. Finalment, l'intermedi [3*] es neutralitza amb el protó de la base i es converteix en el β -hidroxialquil èter d'inulina [3]. Un cop s'ha introduït la primera cadena, els hidroxils del β -hidroxialquil èter d'inulina [3] poden seguir reaccionant de la mateixa manera que

qualsevol altre molècula d'inulina fins a consumir la totalitat de les molècules de 1,2-alquilepòxid que hi hagi en el medi i obtenir el producte final [4].

Quan es duu a terme una reacció d'aquest tipus, cal tenir en compte que tot nucleòfil present en el medi és susceptible de reaccionar amb el grup electròfil (epòxid) i per tant, exercirà certa competència al nucleòfil principal (inulina). A la Figura 5.4 es mostren les reaccions competitives que poden tenir lloc amb el 1,2-alquilepòxid en medi bàsic aquós durant el procés d'eterificació de la inulina.

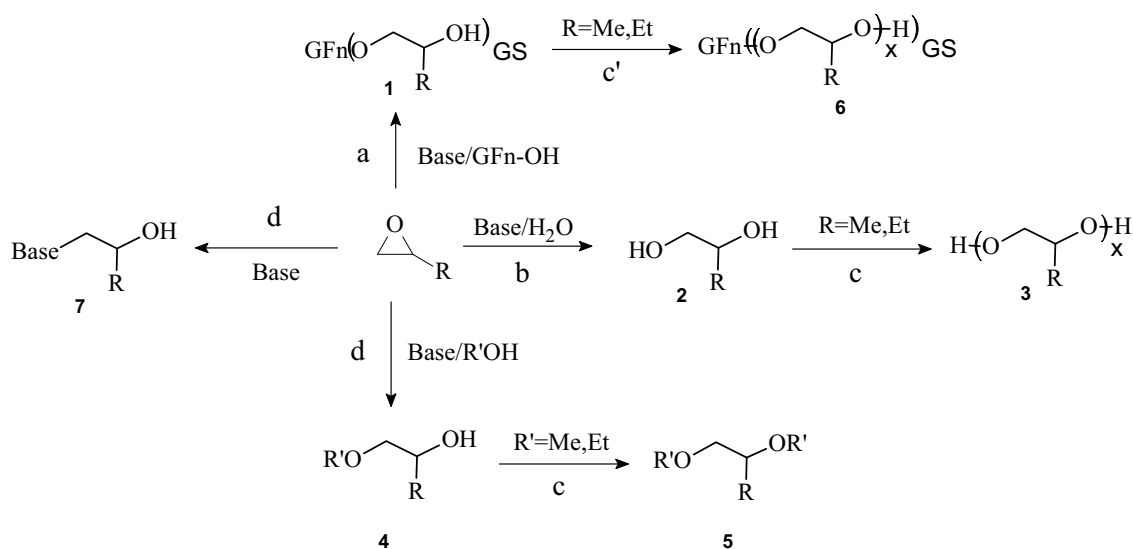


Figura 5.4. Reaccions químiques del 1,2-alquilepòxid en aigua durant el procés d'eterificació de la inulina en medi bàsic.

Com es pot observar, a part de l'eterificació amb la inulina (reacció a) que s'ha explicat anteriorment, en presència d'aigua es pot produir la hidròlisi de l'1,2-alquilepòxid (reacció b) donant lloc a la formació de l'alquilenglicol [2] corresponent. Per epòxids de cadena curta (R:Me,Et) on, la reacció d'eterificació és molt ràpida, l'intermedi iònic pot actuar com a nucleòfil i produir la polimerització de l'epòxid (reacció c i c') generant els corresponents polialquilenglicols, [6] i [3]. Per altra banda,

si la reacció es duu a terme en medis que contenen alcohols de cadena curta, com per exemple MeOH o EtOH, és possible que siguin activats per la base, generant els productes [4] i [5]. I per últim, la base també pot actuar com a nucleòfil competidor (reacció d). Aquesta última reacció s'haurà de tenir molt en compte, ja que en les eterificacions amb epòxids de cadena llarga serà precís usar una base com a catalitzador. Les reaccions secundàries es poden minimitzar si l'eterificació de la inulina es duu a terme en dissolvents orgànics apròxims anhidres i a concentracions catalítiques de base.

5.2.1 Reactivitat dels 1,2-alquilepòxids vers la inulina

5.2.1.1 Influència de la cadena

La síntesi de β -hidroxidodecil èter d'inulina es dugué a terme inicialment en (NMP) anhidre a 80°C en presència de 0.1 equivalents de Et₃N seguint el mètode establert per Rogge et al. per a l'òxid de etilè o de propilè, explicat anteriorment. La caracterització per RMN-¹H del producte marró obtingut indicà que durant la reacció la inulina quedà pràcticament inalterada amb tan sols una eficiència d'eterificació d'un 3% després d'unes 3 hores de reacció (Taula 2, entrada 0).

Es van realitzar diferents experiències en NMP anhidre a 80°C usant altres tipus de catalitzadors orgànics i inorgànics (veure Taula 2, entrades 2-10), alguns d'ells ja emprats en l'eterificació de la sucrosa¹²⁶. Però els valors d'eficiència obtinguts foren molt baixos, molt similars als obtinguts per les condicions de partida. Inclús amb temps de reacció de 72 h. només s'havia produït un 28% d'eterificació i l'anàlisi per cromatografia de capa fina revelava que encara no s'havia consumit tot l'epòxid.

El catalitzador de la reacció 6 de la Taula 2 és una mescla que en solució equival a LiHCO₃ que resulta ser una base no gaire més forta que el NaHCO₃ o la Et₃N, però amb

la peculiaritat que conté ions liti. Els ions liti en combinació amb NaHCO_3 , com passa amb l'esterificació de la cel·lulosa¹²⁷ en presència de LiCl i N,N -dimetilacetamida, podria formar complexos d'activació amb els hidroxils de la inulina. D'aquí el lleuger increment en l'eficiència de reacció fins al 7%. Tot i això, l'ús d'aquesta base com a catalitzador en medis aquosos no donava bons resultats, per què la seva basicitat en aigua no era suficient per desprotonar la inulina ($\text{pKa}(\text{HCO}_3^-) \sim 10$; $\text{pKa}(\text{inulina}) \sim 12-13$).

Taula 2. Síntesi de β -hidroxidodecil èters d'inulina (1d, Figura 5.2) en NMP anhidre a 80°C usant diferent catalitzadors.

N ^o Reacció	Base	Relació molar Base/UFA*	Temps (hores)	ER (%) [†]
0	Et_3N	0.1	3	3
1	Et_3N	0.01	3	2
2	DMAP	0.01	3	2
3	DABCO	0.01	3	2
4	NaH	0.01	3	1
5	Li_2CO_3	0.01	3	1
6	$\text{NaHCO}_3 + \text{LiCl}$	0.01 + 0.1	3	7
7	NaHCO_3	0.01	3	2
8	$\text{Et}_3\text{N} + \text{LiCl}$	0.01+0.1	3	1
9	$\text{Et}_3\text{N} + \text{DMAP}$	0.01+0.01	3	4
10	$\text{Et}_3\text{N} + \text{DMAP}$	0.01+0.01	72	28

Relació molar Epòxid/UFA entre 0.1 i 0.3; Concentració d'inulina 40% (p/p).

* UFA: Unitat de fructosa anhidre, 162,14 g/mol

[†] Mitjana de tres experiments. Anàlisi per $\text{RMN-}^1\text{H}$ en $\text{dmsO-}d_6$ a 50°C.

Pel que fa a la coloració del producte final, el fet que es produís inclús abans d'introduir l'epòxid dins el medi de reacció indicava que aquesta es produïa quan la inulina entrava en contacte amb la base en presència del dissolvent. Per aquesta raó, es

va realitzar un segon intent de reacció, però aquest cop amb deu vegades menys de base (Taula 2, entrada 1). El resultat fou que l'eficiència d'eterificació era molt semblant, però el producte final reduïa considerablement la seva coloració.

La comparació dels resultats de la reacció amb el 1,2-dodecilepòxid amb els de la reacció amb l'òxid d'etilè o de propilè descrita a la bibliografia, ER entre 50-60% en 4 hores evidencià que la reacció amb 1,2-dodecilepòxid era més lenta que amb l'òxid d'etilè o de propilè.

Donat que les condicions de reacció eren les mateixes, les diferències de reactivitat entre els dos tipus epòxids, cadena curta i cadena llarga, es podrien explicar per les diferències entre els coeficients de difusió dels dos epòxids, i també per la possible formació de micel·les inverses per part dels epòxids de cadena llarga, que en presència de traces d'aigua es veuria afavorida.

5.2.1.2 Influència de la quantitat de base

Degut a la baixa reactivitat del 1,2-dodecilepòxid vers la inulina, els nostres esforços es van dedicar a millorar l'etapa d'activació de la inulina mitjançant increments de la concentració de base en el medi. Per fer-ho, es van usar mescles H₂O-NMP (1:1) en la síntesi de β-hidroxidodecil èter d'inulina. En aquestes condicions s'aconseguia solubilitzar la inulina i l'epòxid en el mateix medi, tot i que la inulina era considerablement menys soluble que en el medi NMP. Per aquesta raó, la síntesi es va realitzar a concentracions d'inulina al 10%.

La Taula 3 mostra les eficiències de reacció obtingudes en la síntesi de β-hidroxidodecil èter d'inulina en mescla H₂O-NMP (1:1) usant diferents catalitzadors bàsics en diferents concentracions. Com es pot observar, les reaccions amb bases orgàniques no iòniques (Taula 3, entrades 17-19) van donar resultats molt similars als

obtinguts en NMP anhidre. Encara que tot i el dissolvent orgànic, la relació molar d'aquestes bases només es va poder augmentar fins a 0.1.

Taula 3. Síntesi de β -hidroxidodecil èter d'inulina en mescla H₂O-NMP (1:1) usant diferents catalitzadors bàsics.

N ^a de reacció	Base	Relació molar Base/UFA*	Temperatura(°C)	Temps (h)	ER (%) [†]
11	---	0	80	18	0
12	KOH	0.2	80	18	0
13	KOH	0.4	25	18	0
14	KOH	0.4	80	18	22
15	KOH	0.6	80	18	16
16	KOH	1.0	80	18	9
17	DABCO	0.1	80	18	1
18	DMAP	0.1	80	18	5
19	Et ₃ N	0.1	80	18	2
20	TBAOH	0.8	80	18	23
21	TBAOH	0.8	25	120	96
22	TBAOH	0.8	25	168	56 [‡]

Relació molar Epòxid/UFA entre 0.1 i 0.3; Concentració d'inulina 10% (p/p).

* UFA: Unitats de fructosa anhidre

[†] Mitjana de tres experiments. Anàlisi per RMN-H¹ en dms_o-d₆ a 50°C.

[‡] Síntesi of β -hidroxitetradecil èter d'inulina (1e, Figura 5.2).

Contràriament, l'hidròxid potàssic (KOH) (Taula 3, entrades 12-16) que era insoluble en NMP anhidre per sobre d'un 2% (p/p), en H₂O-NMP (1:1) la seva solubilitat s'incrementava per la presència d'aigua. De la mateixa manera, bases iòniques d'origen orgànic com l'hidròxid de tetrabutilamoni (TBAOH)¹²⁸ es podien solubilitzar fins a elevades concentracions (Taula 3, entrades 20-22).

Incrementes de la quantitat de KOH (Taula 3, entades 11-16) en el medi H₂O-NMP a 80°C no va produir cap efecte significatiu fins que la relació molar base/UFA no va

assolir valors superiors a 0.4, quan l'eficiència de l'eterificació s'incrementà de 0 fins al 22%. Aquest fet es podria explicar per què, en aquest cas, la base no només ionitza els hidroxils, sinó que al mateix temps, també podria contribuir a l'inflament (swelling) dels agregats supramoleculars de la inulina, de manera similar a com succeeix amb el midó¹²⁹. Així, a elevades concentracions d'una base petita, com el KOH, les cadenes d'inulina tendeixen a separar-se les unes de les altres deixant que les molècules de 1,2-dodecilepòxid reaccionin amb els hidroxils de la inulina. En canvi, a majors concentracions de KOH, l'eficiència de reacció començà a decaure degut a la hidròlisi de l'epòxid per efecte de la base (veure Figura 5.4). Aquest efecte contrari de la base ja fou observat per Duran i Dellacherie en la modificació hidrofòbica del dextrà, un polisacàrid d'origen bacterià. En aquell cas, les reaccions es duïen a terme a temperatura ambient, ja que si s'augmentava la temperatura augmentava la proporció d'epòxid hidrolitzat.

5.2.1.3 Influència de la temperatura

Per tal de comprovar si un canvi de temperatura podia influir en l'eficiència de reacció es van realitzar diferents experiments, a temperatura ambient i a 80°C, en presència de KOH i TBAOH (Taula 3, entrades 13-14 i 20-21, respectivament). En el cas del KOH, a temperatures baixes ni la reacció d'hidròlisi ni la reacció d'eterificació no tenen lloc, en canvi a temperatures altes, l'epòxid sí que reaccionava però la reacció d'hidròlisi era més important que l'eterificació. Com es pot observar, en el cas del TBAOH la reacció a temperatures baixes, era molt lenta i requeria aproximadament unes 120 hores per consumir tot el 1,2-dodecilepòxid (Taula 3, entrada 21) i unes 168 hores en el cas del 1,2-tetradecilepòxid (Taula 3, entrada 21). Malgrat l'excel·lent eficiència obtinguda, els llargs períodes de reacció i les elevades quantitats de base

utilitzades poden limitar qualsevol ús pràctic d'aquestes condicions. A temperatures altes, el comportament observat en el KOH es tornava a repetir, i l'ER no superava el 23%. Això indicaria que a temperatures baixes el TBAOH és millor catalitzador que el KOH, però a temperatures altes el seu comportament és similar.

5.2.1.4 Conclusions parcials

Les conclusions de l'estudi de reactivitat dels 1,2-alquilepòxids en funció de la presència d'aigua es resumeixen a continuació,

- (1) En dissolvent NMP anhidre no s'ha pogut sintetitzar el β -hidroxidodecil èter d'inulina. La minimització de la reacció d'hidròlisi per l'absència d'aigua no ha millorat l'ER d'eterificació, aquest fet es podria atribuir a la possible formació de micel·les inverses d'1,2-alquilepòxid en presència de traces d'aigua.
- (2) En dissolvent mescla H₂O-NMP (1:1) ha estat necessari elevar la concentració de la base (catalitzador) per sobre del 5% (p/p) per què els hidroxils de la inulina puguin reaccionar amb l'1,2-dodecilepòxid (ER:22%).
- (3) La reacció d'hidròlisi i la reacció d'eterificació del 1,2-dodecilepòxid són competitives i el balanç final depèn de la temperatura de reacció:
 - a. A temperatures altes, la hidròlisi és més important que l'eterificació i no hi ha distinció entre el TBAOH i el KOH com a catalitzadors bàsics.
 - b. A temperatures baixes, s'ha trobat que l'1,2-dodecilepòxid i l'1,2-tetradecilepòxid reaccionen preferentment amb la inulina del medi (ER 94% i 56%, respectivament), però el temps necessari per consumir tot

el reactiu supera els 5 i 7 dies. Tanmateix, aquestes condicions no són acceptables a escala industrial.

Aquests resultats han estat publicats a: **Morros, J., Levecke, B., Infante, M. R.**
Carbohydrate Polymers **81** (2010) 681-686.

5.2.2 Eterificació en medi bàsic aquós

Amb l'objectiu d'incrementar l'eficiència d'eterificació i reduir el temps de reacció, es van intentar trobar les condicions idònies que aconseguissin minimitzar la reacció competitiva d'hidròlisi i el temps de reacció. Tenint en compte que les bases iòniques, KOH i TBAOH, presentaven les millors eficiències per a l'eterificació de la inulina en mescles H₂O-NMP (1:1) i que el sistema TBAOH en aigua ja havia estat provat amb poc èxit per Durand i Dellacherie (reacció d'eterificació en medi 100% aquós), la reacció es va dur a terme en presència d'un 5% (p/p) de KOH (relació molar base/UFA de 0.4) com a catalitzador bàsic. Sorprenentment, en aquestes condicions, el KOH permetia la solubilització de la inulina fins a valors superiors al 40% (p/p) a temperatura ambient. Aquest fet podria afavorir la reacció amb la inulina degut a la major presència d'inulina en el medi i a una menor viscositat del medi de reacció.

En els següents apartats s'ha estudiat la influència de diferents paràmetres com la temperatura, les característiques hidrofòbiques dels 1,2-alquilepòxids i la presència d'isopropanol (IPA) en el medi per tal de trobar unes condicions que en permetin obtenir els derivats d'inulina amb unes eficiències i temps de reacció raonables.

5.2.2.1 Influència de la temperatura

L'efecte de la temperatura en medi bàsic aquós va ser estudiat a través de la reacció d'eterificació amb un epòxid mitjanament soluble, el fenil glicidil èter (PGE). La Figura 5.5 mostra l'evolució de la concentració de PGE en el medi de reacció durant el temps de reacció a dues temperatures diferents. Com es pot observar, un increment de la temperatura de reacció de 35 a 80°C resultà en una disminució considerable del temps

de reacció, passant d'unes 30 hores fins a 3 hores, i en un increment de l'eficiència, essent del 85% a 80°C i del 67% a 35°C. Tenint en compte que la hidròlisi i l'eterificació són reaccions competitives, la diferència entre els pendents de les dues corbes indicarien que en aquestes condicions, un increment de temperatura beneficiaria l'eterificació en detriment de la hidròlisi.

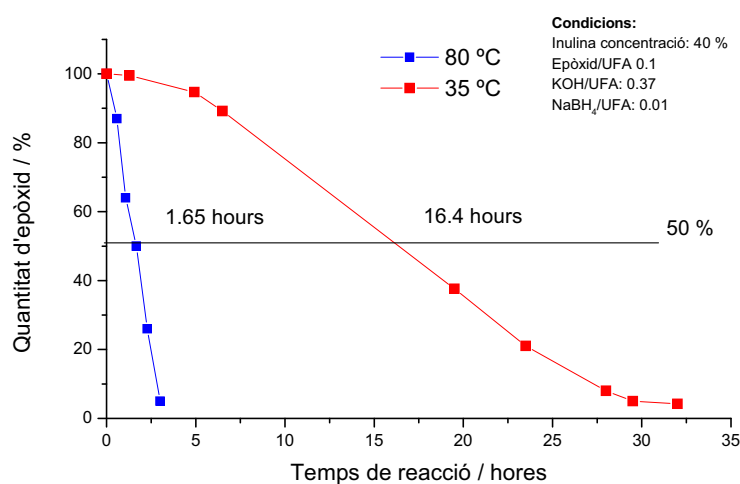


Figura 5.5. Evolució de la concentració de PGE en el medi de reacció durant el temps de reacció a 35°C i 80°C.

En medis monofàsics on tots els components són solubles, la velocitat de reacció depèn de la velocitat de la constant cinètica i de la seva concentració. En aquest cas, l'increment de velocitat de reacció (pendent de la corba cinètica) observat està dins els marges normals per un augment de temperatura d'uns 45°C, però l'increment d'eficiència de 67% (35°C) a 85% (80°C) indicaria que a major temperatura l'eterificació es veu afavorida.

La reacció a 35°C (sèrie vermella) pateix un retardament d'unes 5 hores abans de començar a reaccionar. Això podria ser una conseqüència de la particular estructura de la inulina en medi aquós¹³⁰ ja que a temperatures baixes les cadenes formen petits agregats supramoleculars que podrien limitar el pas de l'epòxid pel seu interior. En

canvi a temperatures de 80°C (sèrie blava) el retard inicial desapareix i la reacció esdevé més ràpida. S'ha determinat que a temperatures superiors als 90°C la reacció d'hidròlisi comença a ser més important, reduint considerablement l'eficiència.

Durant la reacció a 80°C i a una concentració del 40% (p/p) d'inulina, el cru de reacció adquireix la coloració marró fosc que s'observava en les reaccions en NMP anhidre. S'observà que addicionant una petita quantitat d'un reductor com el NaBH₄ la coloració disminueix considerablement, probablement degut a la inhibició d'algun procés d'oxidació amb l'oxigen dissolt en el medi bàsic. Més tard es trobà que altres autors ja havien utilitzat una tècnica similar anteriorment amb la inulina¹³¹.

5.2.2.2 Relació entre solubilitat i reactivitat del 1,2-alquilepòxid

En aquest apartat, la reactivitat de diferents 1,2-alquilepòxids amb diferent solubilitat va ser estudiada en medi aquós a 80°C. Efectivament, com es pot observar en la Taula 4, com més soluble l'alquilepòxid (Taula 4, entrada 23-24), major la seva reactivitat vers la inulina. Així, a longituds de cadena superiors (Taula 4, entrades 25 i 26) la solubilitat es reduïa al mateix temps que ho feia l'eficiència d'eterificació.

Taula 4 Síntesi diferents β-hidroxi alquil èters d'inulina en aigua usant KOH (veure Figura 5.2.)

Nº de reacció	R	Solubilitat en aigua	Temps (h)	ER (%) [†]
23	CH ₂ OPh	+	3	79
24	CH ₂ (CH ₂) ₄ CH ₃	+/-	14	60
25	CH ₂ O(CH ₂) ₇₋₉ CH ₃	-	12	9
26	CH ₂ (CH ₂) ₈ CH ₃	-	24	3

Relació molar: Epòxid/UFA entre 0.1 i 0.3; Concentració d'inulina 40% (p/p). Relació molar KOH/UFA: 0.4; NaBH₄/UFA: 0.01; Temperatura de reacció: 80°C.

En sistemes aquosos on l'1,2-alquilepòxid és molt poc soluble, les reaccions d'eterificació tenen lloc a la interfase entre la fase oli (epòxid) i la fase aigua (base,

inulina) i en canvi, les reaccions d'hidròlisi poden tenir lloc en ambdues fases, ja que a diferència de la inulina, el KOH es pot solubilitzar parcialment en la fase oli i reaccionar amb el 1,2-alquilepòxid. Aquest fet provoca que en les condicions de reacció (5% KOH, 40% inulina, 80 °C), l'eterificació de la inulina estigui desafavorida en benefici de la hidròlisi del 1,2-alquilepòxid.

5.2.2.3 Efecte de l'addició d'alcohol isopropílic (IPA).

Amb l'objectiu de millorar l'eterificació respecte la hidròlisi, la reacció es va dur a terme en presència d'IPA com a cosolvent per així poder augmentar la solubilitat de l'epòxid en la fase aquosa. La variació de la concentració IPA mantenint la quantitat d'epòxid va permetre avaluar l'efecte sobre l'eficiència per diferents 1,2-alquilepòxids amb característiques hidrofòbiques diferents.

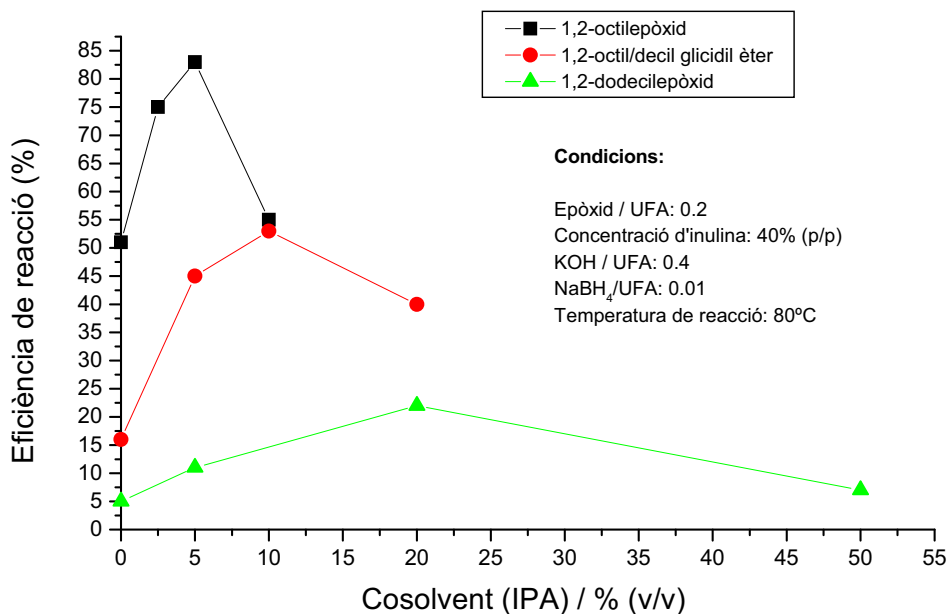


Figura 5.6. Eficiència de la reacció d'eterificació en medi aquós per diferents 1,2-alquilepòxids hidrofòbs en funció de la concentració de IPA en el medi.

La Figura 5.6 mostra la variació de l'eficiència de reacció en funció de la concentració d'IPA en el medi de reacció aquós. En tots els casos, l'eficiència s'incrementava a mesura que s'incrementava el contingut en IPA fins a un màxim a partir del qual disminuïa fins a valors similars a la reacció sense cosolvent.

Com es pot observar en el gràfic de la Figura 5.6, el màxim d'eficiència està estretament relacionat amb les característiques hidròfobes del epòxid. Així, per epòxids menys hidròfobs com el 1,2-octilepòxid (línia negra del gràfic) o l'octil/decil glicidil èter (línia vermella) l'increment d'eficiència fou d'un 35%, quan per l'1,2-dodecilepòxid l'increment només fou d'un 15%.

Altrament, les concentracions d'IPA per maximitzar l'eficiència també depenen de la hidrofobicitat del l'epòxid. Essent del 5, el 10 i el 20% (p/p) per l'1,2-octilepòxid, l'octil/decil glicidil èter i l'1,2-dodecilepòxid, respectivament. A concentracions d'IPA superiors al màxim, altres reaccions secundàries d'obertura de l'epòxid com la hidròlisi i/o la alcoholisi comencen a ser més importants (menor eficiència) donant com a resultat grans quantitats de glicols i la necessitat de llargs períodes de purificació per diàlisi. En resum, l'eficiència d'eterificació es va millorar gràcies a la millora de la solubilitat de l'epòxid en la fase aquosa de la reacció mitjançant l'addició de les quantitats suficients d'alcohol isopropílic (IPA). En aquest punt, es van investigar nous sistemes aquosos per obtenir β -hidroxialquil èters de cadena llarga amb eficiències i temps de reacció raonables.

5.2.2.4 Conclusions parcials

De les reaccions d'eterificació realitzades en medi bàsic aquós, s'ha arribat a les següents conclusions,

- (1) S'han trobat les condicions idònies per dissoldre la inulina a concentracions del 40% mitjançant l'addició sobre 1M KOH (aq.) en presència d'un reductor (NaBH_4) que ha permès minimitzar la degradació de la inulina.
- (2) En medi 1M KOH (aq.) com més soluble l'1,2-alquilepòxid, major l'ER% d'eterificació de la inulina:
 - a. Pels 1,2-alquilepòxids parcialment solubles (fenil glicidil èter, PGE) l'eterificació s'ha dut a terme satisfactòriament des del punt de vista d'ER i temps de reacció.
 - b. Pels 1,2-aquilepòxids moderadament hidròfobs (1,2-octilepòxid) la reacció està limitada per l'efecte hidrofòbic. Les ER han millorat en presència de petites quantitats d'alcohol isopropílic (IPA) que milloren la solubilitat de l'epòxid en la fase aquosa.
 - c. Pels 1,2-aquilepòxids més hidròfobs (1,2-dodecilepòxid) la limitació per l'efecte hidrofòbic és encara més important, i fa que en aigua, l'ER no superi el 5%. En presència d'IPA, l'ER millora però només fins al 20%.

Aquests resultats han estat publicats a: **Morros, J., Levecke, B., Infante, M. R.** *Carbohydrate Polymers* **81** (2010) 681-686.

5.2.3 Eterificació en medi bàsic aquós en presència de tensioactiu

En aquest apartat, l'objectiu principal fou incrementar l'eficiència de reacció dels 1,2-alquilepòxids més hidròfobs, mitjançant l'addició de tensioactiu al medi de reacció. La presència de micel·les provoca, en un gran nombre de reaccions químiques, un augment significatiu de la velocitat de reacció^{132,133,134,135}, la qual cosa podria ajudar a assolir l'objectiu. La capacitat de proveir un entorn favorable per les reaccions desitjades¹³⁶, ha estat estudiada en profunditat.

5.2.3.1 Influència de l'estructura i quantitat de tensioactiu

Freqüentment, el remarcable increment de les velocitats de reacció en presència de tensioactiu prové de la concentració localitzada i de la gran proximitat dels reactius. A través de la solubilització micel·lar, adsorció i la interacció electrostàtica amb la superfície de les micel·les, els components hidròfobs i hidròfils poden interaccionar més fàcilment, de manera que la reacció succeeix més ràpidament.

S'ha descrit en nombroses publicacions que la multiplicitat de càrregues positives en la superfície de les micel·les podia catalitzar la reacció entre anions nucleòfils i substrats no iònics¹³⁷. Particularment, a mitjans de la passada dècada, es va presentar una elegant metodologia per preparar el dextrà modificat hidrofòbica mitjançant la catàlisi bàsica micel·lar¹³⁸. En aquest treball es va concloure que en presència d'una base, l'addició de tensioactius catiónics promovia la modificació hidrofòbica del polisacàrid dextrà amb 1,2-dodecilepòxid a temperatura ambient amb eficiències del 16% en 96 hores en 1M NaOH en presència de DTAB (relació DTAB/dextrà: 0.4 (p/p)).

Motivats pel treball de Durand, es van examinar diferents paràmetres com la concentració i el tipus tant de tensioactiu com de l'epòxid. Els detalls de la síntesi usant els tensioactius EC12, CTAB i DTAB amb el 1,2-dodecilepòxid es mostren a la Taula 5, juntament amb les reaccions en aigua i IPA/aigua (sense tensioactiu) per raons comparatives.

Taula 5 Síntesi de β -hidroxidodecil èter d'inulina usant diferents tensioactius en medi aquós.

Nº de Reacció	Tensioactiu	Relació molar tensioactiu/UFA [*]	Solvent	ER (%) [†]
27	---	---	Aigua	5
28	---	---	IPA/Aigua [‡]	20
29	EC12	0.1	Aigua	6
30	CTAB	0.1	Aigua	10
31	CTAB	0.05	Aigua	36
32	DTAB	0.05	Aigua	31
33	DTAB	0.1	Aigua	51
34	DTAB	0.2	Aigua	49
35	DTAB	0.1	IPA/Aigua [‡]	6

Relació molar: Epòxid/UFA 0.2 ; KOH/UFA: 0..37; Concentració d'inulina 40% (p/p); 80 °C, 24hr.

^{*} UFA: Unitats de fructosa anhidre. En tots els casos les concentracions estan per sobre la CMC del tensioactiu.

[†] Mitjana de tres experiments. Anàlisi per RMN-¹H en dms_o-d₆ a 50C.

[‡] Solució al 20% (p/p) de Alcohol isopropílic (IPA) en aigua.

En primer lloc, es va seleccionar el tensioactiu InEC₁₂ que correspon justament al producte de la reacció d'eterificació (el β -hidroxidodecil èter d'inulina). Amb aquest experiment, es volia comprovar si existia algun tipus d'autocatàlisi per efecte de les propietats emulsionants del producte de reacció. El resultat obtingut (Taula 5, entrada 29) fou que ni l'eficiència de reacció ni el temps de reacció es veieren modificats respecte de la mateixa reacció en medi bàsic aquós (Taula 5, entrada 27). A continuació,

es van utilitzar tensioactius catiónics com el bromur de cetiltrimetilamoni (CTAB) i el bromur de dodeciltrimetilamoni (DTAB) com a catalitzadors micel·lars. Inicialment, el CTAB es va usar amb una relació molar tensioactiu/UFA de 0.1 (Taula 5, entrada 30). Durant la reacció, el CTAB en contacte amb la inulina generava una solució viscosa que al final impedia la correcta agitació del sistema. El resultat fou que l'eficiència no superava el 10%. En el següent experiment (Taula 5, entrada 31) la reacció es va dur a terme en presència d'una menor quantitat de CTAB respecte la inulina (0.05 relació molar CTAB/UFA) la qual cosa evitava la formació del gel. En aquelles condicions, la solució es podia agitar millor i els reactius es podien mesclar correctament amb el resultat que l'eficiència d'eterificació d'inulina augmentà fins a 36%.

Per tal d'augmentar el rang usable de concentració de tensioactiu, es va canviar el CTAB per DTAB. En DTAB el medi de reacció era una sola fase i les reaccions es van dur a terme sense problemes d'agitació per diferents relacions molars DTAB/UFA (Taula 5, entrades 32-34). Per la relació molar DTAB/UFA de 0.05 es va obtenir una eficiència d'un 31% (Taula 5, entrada 32), similar a la obtinguda amb el CTAB amb la mateixa relació molar. Un increment fins a valors de 0.1 o 0.2 produïen eficiències majors entorn al 50% en ambdós casos. (Taula 5, entrades 33 i 34). Finalment, es va provar la reacció amb DTAB en presència de IPA, però el resultat fou una forta reducció de l'eficiència de reacció fins a valors semblants a les reaccions en medi basic aquós (només H₂O).

Aquest últim experiment mostra la importància de la presència de micel·les catióniques en la catàlisi del sistema estudiat. Es ben sabut que alcohols hidròfils com el MeOH, EtOH o IPA poden afectar al procés de micel·lització del tensioactiu per un augment de la solubilitat dels monòmers, i per tant a la seva capacitat catalítica i solubilitzadora¹³⁹.

Els bons resultats obtinguts amb tensioactius catiónics demostren que en presència de tensioactius l'eterificació és possible gràcies a la càrrega positiva del cap polar, la qual cosa indicaria que les micel·les catióniques no només exerceixen un efecte catalitzador gràcies a la capacitat solubilitzadora, sinó que també hi podria tenir lloc un complex activat amb la inulina que facilités l'eterificació.

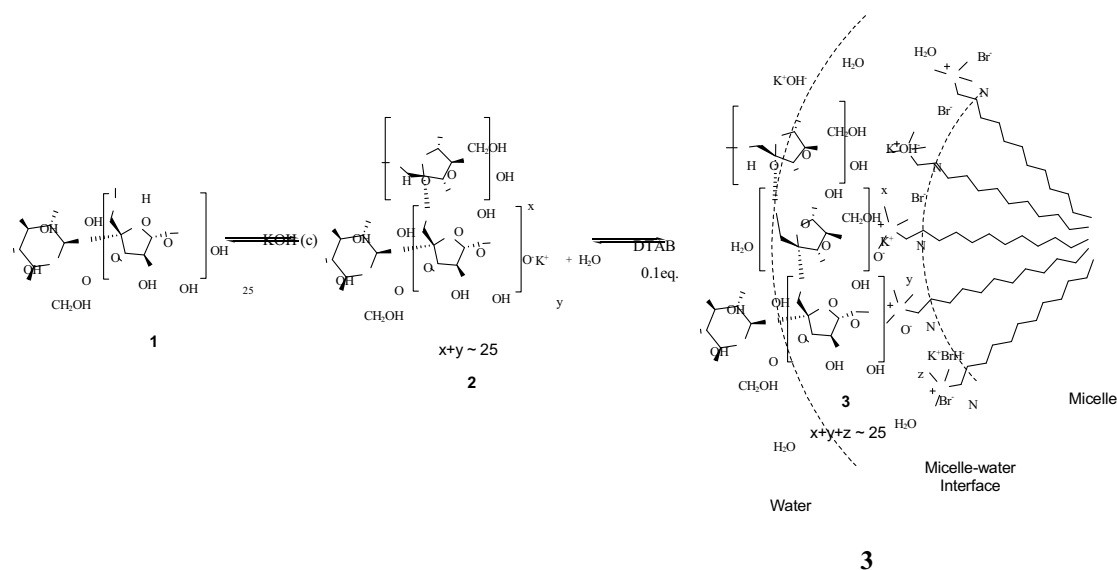


Figura 5.7. Representació esquemàtica de l'equilibri dinàmic aquós de la inulina en medi bàsic aquós en presència de DTAB.

5.2.3.2 Proposta de mecanisme de reacció en presència de tensioactius catiónics

Tenint en compte que l'efecte de les micel·les de DTAB pot ser atribuït tant a interaccions electrostàtiques (inulina/DTAB) com a interaccions hidrofòbiques (epòxid/DTAB) s'ha proposat un mecanisme de reacció pel sistema estudiat.

La Figura 5.7 mostra l'equilibri dinàmic aquós de la inulina en presència de KOH i DTAB. En primer lloc, la inulina [1] es converteix en una forma més reactiva amb els seus hidroxils ionitzats [2], a través d'un equilibri àcid-base per acció de la base (KOH) concentrada. La inulina ionitzada [2] pot unir-se a la interfase catiónica de les micel·les

principalment per interaccions electrostàtiques, formant un complex activat [3] entre la inulina i les molècules de DTAB. Quan la inulina s'uneix per interaccions electrostàtiques a la superfície de la micel·la, el poder nucleòfil del hidroxils ionitzats [2] podria ser augmentat pel desplaçament del corresponent catió potassi (K^+) i les molècules d'aigua degut al bescanvi de cations.

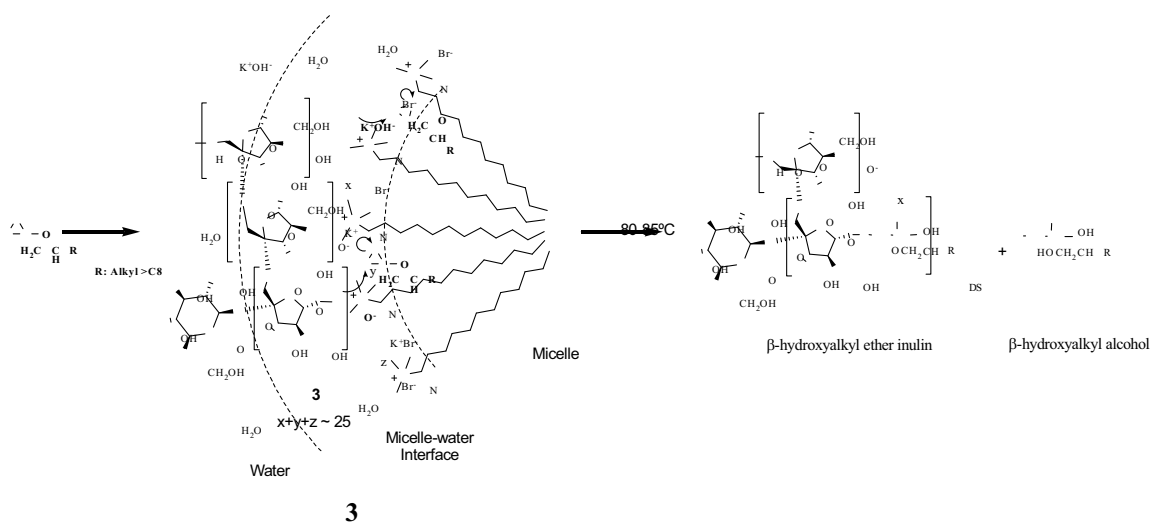


Figura 5.8. Representació esquemàtica de la reacció d'eterificació de la inulina mitjançant 1,2-alkilepòxids a la interfase aigua-micel·la.

La Figura 5.8 mostra com les molècules d'1,2-dodecilepòxid es solubilitzen a l'interior de la micel·la. Com es pot observar, l'1,2-alkilepòxid tendeix a incorporar-se al sistema micel·lar, de manera que la regió hidròfila (anell epòxid) s'exposa a la interfase aigua-micel·la, i la regió hidròfoba (cadena alquíllica) queda al interior més hidrofòbic. Aquest segon complex activat permet la coexistència de la inulina i el grup funcional l'epòxid en un ambient (la interfase) on s'afavoreix la reacció d'obertura de l'anell epòxid. Malauradament, en condicions bàsiques la inevitable presència de la base (OH^-) en aquesta regió limita que l'eterificació sigui superior a valors entorn al 50 %.

5.2.3.3 Efecte de la temperatura.

Paral·lelament, es va observar l'evolució del medi de reacció en funció de la temperatura mitjançant l'observació de mostres del cru de reacció en un microscopi òptic amb llum polaritzada. La Figura 5.9 mostra les textures del sistema de reacció a 25, 40, 60 i 80°C. Com es pot veure, a temperatures baixes es forma un cristall líquid (laminar) que a mesura que s'augmenta la temperatura van desapareixent fins a donar una solució micel·lar, no birefringent, a 80°C. En base aquesta observació es pot concloure que per dur a terme l'eterificació és preferible mantenir el sistema de reacció per sobre dels 80°C on majoritàriament hi ha micel·les, ja que en la fase cristall líquid la viscositat del medi de reacció limitaria la difusió dels reactius de la reacció i també serien absents les micel·les.

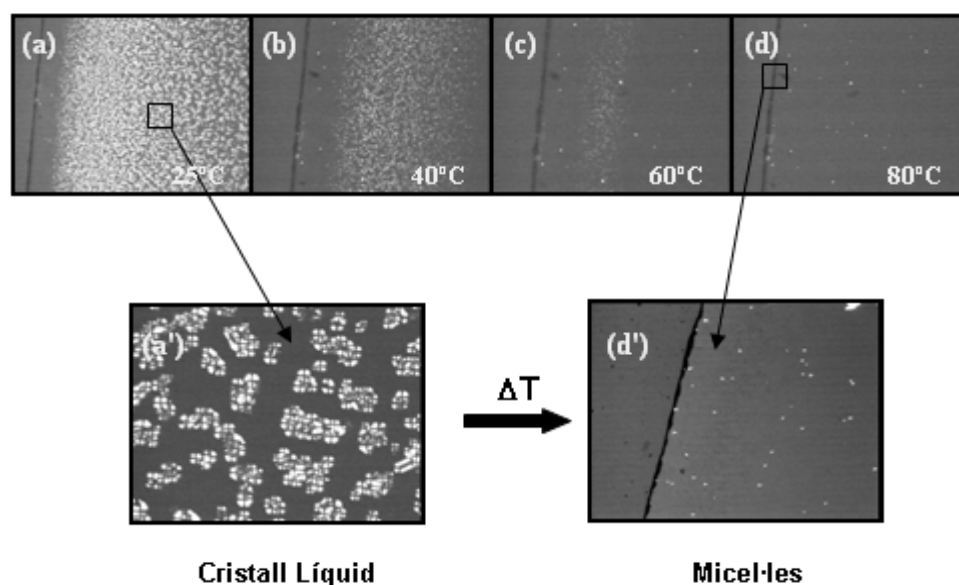


Figura 5.9. Micrografia òptica (magnificació 10X: (a) 25°C, (b) 40°C, (c) 60°C, (d) 80 °C) i 40X: (a') 25°C, (d') 80°C) del medi de reacció en les següents condicions: 40% inulina (p/p), relació molar: KOH/1,2-dodecilepòxid/DTAB/UFA: 0,37/ 0,2 / 0,1/1.

5.2.3.4 Influència de la concentració d'epòxid

Per què la catàlisi micel·lar sigui efectiva el reactiu hidrofòbic ha d'estar solubilitzat a l'interior de la micel·la formada pel tensioactiu. Per això s'ha estudiat la influència de la concentració de 1,2-dodecilepòxid en l'eficiència de reacció, per mitjà de la variació de la quantitat de 1,2-alquilepòxid inicial en el medi de reacció.

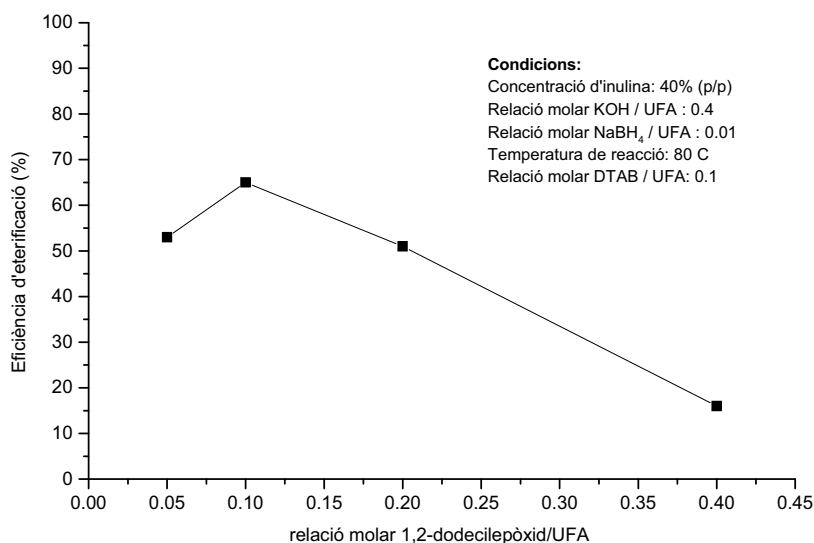


Figura 5.10. Eficiència d'eterificació de la inulina en funció de la quantitat de 1,2-dodecilepòxid en medi bàsic aquós en presència de DTAB.

La Figura 5.10 mostra l'eficiència d'eterificació en funció de la relació molar d'1,2-dodecilepòxid respecte de les unitats de fructosa anhidre (UFA) en un rang entre 0,05 i 0,40. Els bons resultats d'eficiència (50-65%) obtinguts entre 0,05 i 0,2 contrasten amb les baixes eficiències registrades (15%) per relacions molars de 0,4. Aquesta baixada a elevades quantitats d'1,2-alquilepòxid podria ser deguda a la limitada capacitat solubilitzant del sistema micel·lar format pel DTAB. Com s'ha explicat anteriorment, un

sistema bifàsic afavoreix la formació dels subproductes d'hidròlisi i/o polimerització de l'epòxid.

5.2.3.5 Efecte de la longitud de cadena en presència de tensioactiu catiònic

Després d'analitzar l'eficiència de reacció en medis aquosos, s'ha vist que com més soluble l'1,2-alquilepòxid major era la seva eficàcia com a reactiu. En aquest apartat s'ha estudiat l'efecte de la longitud de cadena en presència d'un tensioactiu catiònic.

Taula 6 Eterificació de la inulina amb diferents 1,2-alquilepòxids en medi bàsic aquós en presència de DTAB.

Nº de reacció	Cadena hidrofòbica	Temps (h)	ER (%) [†]
36	O _{Ph}	1	23
37	C ₆	4	50
38	C ₁₀	15	51
39	C ₁₂	18	54
40	C ₁₆	20	55
41	C _{18/26}	24	45

Relació molar: Epòxid/UFA 0.2; KOH/UFA: 0.37; DTAB/UFA: 0.1; Concentració d'inulina 40% (p/p); 80°C.

[†]Mitjana de tres experiments. Anàlisi per RMN-¹H en dms_o-d₆ a 50°C.

La Taula 6 mostra les eficiències de les reaccions realitzades en presència de DTAB usant epòxids de diferent longitud de cadena. Es pot observar que existeix una diferència important entre el fenil glicidil èter (23%, Taula 6, entrada 36) i els altres 1,2-alquilepòxids (~50%, Taula 6, entrades 37-41). Això pot ser degut a que les molècules més polars (o polaritzables), com el fenil glicidil èter, tenen més tendència a posar-se a

la interfase de la micel·la que els més hidròfobs¹⁴⁰ on la hidròlisi és més important que l'eterificació.

5.2.3.6 Conclusions parcials

Les conclusions parcials de l'estudi d'eterificació de la inulina en medi aquós en presència de tensioactius es detallen a continuació,

- (1) S'han obtingut β -hidroxialquil èters d'inulina en medi aquós i en un sol pas de síntesi, en presència d'hidròxid potàssic (1M KOH (aq.)) i de bromur de dodeciltrimetilamoni (0.1M, DTAB (aq.)) a 80-85°C. El temps de reacció necessari per dur a terme la modificació hidrofòbica ha estat entre 4 i 24 hores en funció de la hidrofobicitat de l'epòxid utilitzat (de C₆ a C₂₈) i les ER han estat entre 50 i 60%, exceptuant els epòxids parcialment solubles com el fenil glicidil èter (PGE) que han reaccionat tan sols en una hora, però amb una ER del 23%.
- (2) S'ha determinat que a 80-85°C el DTAB és millor catalitzador que el CTAB degut a que en aquest medi, el primer forma micel·les esfèriques i el segon micel·les cilíndriques entrelaçades (entagled worm like micelles) que augmenten considerablement la viscositat del medi.
- (3) S'ha determinat que l'efecte de les micel·les de DTAB sobre la reacció d'eterificació depèn de les proporcions molars entre epòxid/DTAB i inulina/DTAB, la qual cosa ha permès atribuir l'efecte a interaccions de tipus electrostàtic entre la inulina i el DTAB i a interaccions de tipus hidrofòbic entre l'epòxid i el DTAB.
- (4) S'ha proposat un mecanisme de reacció per tal d'explicar les reaccions implicades en l'eterificació de la inulina en presència de tensioactius catiònics.

- (5) En presència de DTAB, els epòxids parcialment solubles (fenil glicidil èter, PGE) s'hidrolitzen més ràpid que els epòxids insolubles (alquil > C6), possiblement per què els primers se situen a regions més externes de la micel·la, on la presència d'aigua és més important i la possibilitat d'hidròlisi augmenta respecte l'eterificació. Per aquesta raó, tot i que els epòxids més insolubles tardin més a reaccionar, l'ER s'ha mantingut al 50% independentment de la longitud de cadena.
- (6) Una altra característica d'aquest nou procés d'obtenció de derivats hidròfobs de la inulina és que els tensioactius catiónics utilitzats com a catalitzadors micel·lars són recuperables al final del procés. Així mateix, el KCl obtingut al final del procés és de suficient puresa com per ser reutilitzat.

Aquests resultats han estat publicats a: **Morros, J., Levecke, B., Infante, M. R.** *Carbohydrate Polymers* 82 (2010) 1168–1173.

5.3 ESTERIFICACIÓ DE LA INULINA AMB ANHÍDRIDS DE L'ÀCID ALQUENIL SUCCÍNIC (ASA)

El principal objectiu de l'estudi d'esterificació va ser preparar 2-octenil i 2-dodecenil succinats d'inulina (Figura 5.11) amb un grau de substitució (GS) entre 0.05 i 0.3 en condicions alcalines aquoses, partint de la inulina comercial (InN25).

La introducció de cadenes hidrofòbiques mitjançant la formació d'enllaços ester amb la inulina obra la possibilitat d'obtenir un altre tipus de tensioactius polimèrics, més biodegradables i amb propietats emulsionants sensibles al pH del medi. Per altra banda, la presència de grups carboxilat units a les cadenes hidròfobes pot produir nous inhibidors de la precipitació del carbonat càlcic, més acceptables mediambientalment que alguns dels productes comercials actuals (pe. EDTA). Tot això ens va encoratjar a estudiar el procés d'esterificació de la inulina mitjançant anhídrids de l'àcid alquenil succínic (ASA) en medi aquós.

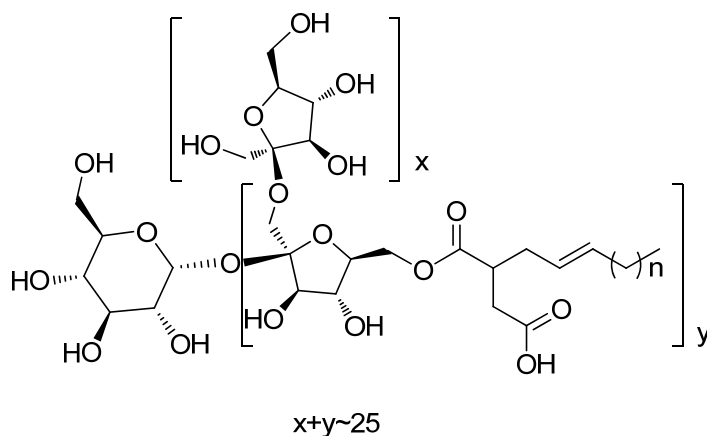


Figura 5.11. Estructura de l'alquenil succinat d'inulina (In-ASA) sintetitzat: 2-octen-1-il-succinat d'inulina (In-OSA, $n=4$) and 2-dodecen-1-il-succinat d'inulina (In-DDSA, $n=8$).

Com en l'apartat 5.2, es descriuran prèviament la reacció de la inulina amb els ASA, els antecedents i algunes consideracions mecanístiques.

El primer carbohidrat esterificat amb ASA fou sintetitzat en medi orgànic bàsic anhidre per Caldwell i Wurzburg al 1953¹⁴¹, utilitzant el midó com a carbohidrat. No fou fins al 1999, quan Jeon, Y-S et al.¹⁴² descriviren la reacció d'eterificació amb ASA del midó en suspensió aquosa. Aquest mètode aprofitava el major poder nucleòfil dels hidroxils del polisacàrid respecte els de l'aigua i que, en condicions moderadament bàsiques ($8 < \text{pH} < 9$) ni el ASA ni l'enllaç ester no s'hidrolitzaven. La Figura 5.12 mostra les reaccions que poden tenir lloc amb els ASA en medi bàsic aquós durant el procés d'esterificació de la inulina amb ASA.

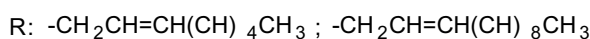
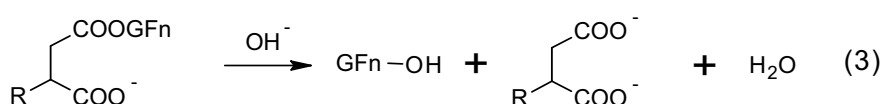
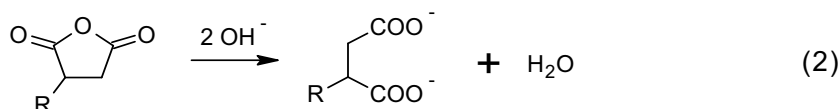
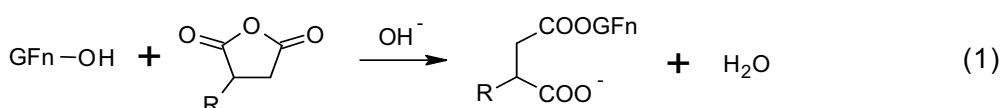


Figura 5.12. Reaccions químiques que tenen lloc durant la modificació hidrofòbica mitjançant els anhídrids de l'àcid alquenil succínic (ASA) en medi aquós. (1) Esterificació In-ASA, (2) hidròlisi del ASA, (3) hidròlisi del In-ASA.

A diferència de l'eterificació amb 1,2-alquilepòxids, la reacció d'eterificació amb ASA en medi aquós s'ha de dur a terme en un interval de pH en el qual, per una banda, activi suficientment els hidroxils del polisacàrid (reacció 1), i que per l'altra, minimitzi

tant la hidròlisi de l'ASA (reacció 2) com la hidròlisi de l'enllaç ester format (In-ASA) (reacció 3). Tots els productes i subproductes de les reaccions químiques que tenen lloc durant el procés d'esterificació amb ASA contenen algun grup àcid carboxílic. La formació d'aquestes espècies àcides fa disminuir el pH del medi fins al punt que ni l'aigua ni la inulina reaccionen. Aquest efecte es pot contrarestar mitjançant l'addició d'una solució diluïda de la base i així mantenir el pH entre els nivells òptims durant tota la reacció. El pH és una variable de procés fàcilment controlable, però és molt sensible als múltiples equilibris àcid-base esmentats. És freqüent que, en funció de l'extensió de la modificació, la mescla de reacció actuï com a solució tampó i que cada cop es requereixi més base per assolir el pH òptim. Tot i això, per a graus de modificació petits, la mesura de pH es un bon indicador de l'avenç de reacció.

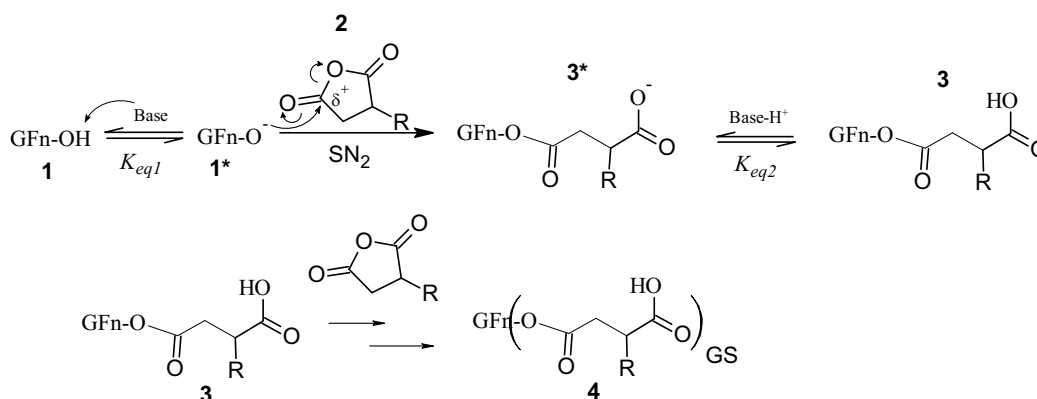


Figura 5.13. Mecanisme de la reacció d'esterificació de la inulina (GFn) a partir de l'anhídrid de l'àcid 2-alquenil succínic en presència d'una base.

Com es pot observar en la Figura 5.13, la introducció d'una cadena alquíllica al polímer d'inulina [1] mitjançant la reacció d'esterificació amb ASA [2] és molt similar al mecanisme d'eterificació proposat en el capítol anterior (Figura 5.3). Igualment, la reacció requereix la presència d'una base en el medi de reacció que realitza una primera etapa d'activació de la inulina on, els hidroxils de la polifruccosa augmenten el seu poder nucleòfil mitjançant un equilibri àcid-base (K_{eq1}). A continuació, la presència

d'una molècula d'ASA [2] en les proximitats de la inulina activada [1*] desencadena un atac nucleòfil sobre el carbonil menys substituït de l'anhídrid succínic. Aquest atac dona pas a la formació de l'estat de transició tetraèdric per un mecanisme de substitució nucleòfila tipus II d'obertura d'anell. Finalment, el grup carboxilat (millor grup sortint) es desprèn del carbonil que ha rebut l'atac donant el producte [3*] que es neutralitza amb el protó de la base i es converteix en l'alquenil succinat d'inulina [3]. Un cop s'ha introduït la primera cadena, els hidroxils de l'alquenil succinat d'inulina [3] poden seguir reaccionant de la mateixa manera que qualsevol altre molècula d'inulina [1] fins a consumir la totalitat de les molècules de anhídrids ASA [2] que hi hagi en el medi donant lloc al producte final [4].

Típicament, la reacció amb ASA és més ràpida que la reacció amb 1,2-alquilepòxids, ja que el mecanisme d'obertura del anell del ASA genera un grup carboxilat molt estable en solució que desplaça la reacció a productes.

Les modificacions amb ASA es van dur a terme per addició catalitzada per base d'ASA a un sistema inulina-aigua. L'efecte de la concentració de la inulina, el rang de pH, la temperatura de reacció i la longitud de la cadena de l'ASA en medi aquós així com en presència d'un tensioactiu catiònic com el DTAB es van avaluar per tal d'estudiar l'esterificació de la inulina i optimitzar-ne les condicions de reacció, seguint així les mateixes pautes de la síntesi dels β -hidroxialquil èters d'inulina en medi aquós.

Les condicions idònies per dissoldre la inulina a concentracions del 40% mitjançant l'addició sobre 1M KOH (aq.) en presència d'un reductor (NaBH_4) van ser desenvolupades en el capítol anterior. El mecanisme d'acció de la base per solubilitzar la inulina era que mitjançant e l'inflament (swelling) dels agregats de la inulina, les cadenes de polímer acabaven per desprendre's unes de les altres. En el present capítol, l'esterificació s'ha de dur a terme a un pH < 9 per prevenir la hidròlisi del propi ASA.

En aquestes condicions de pH, la inulina deixa de ser soluble i fa que el medi de reacció sigui una suspensió del polímer en aigua.

En aquest capítol s'ha avaluat la influència de la concentració d'inulina, així com l'efecte de la presència de tensioactiu i els pH de la solució en la solubilitat i eficiència de reacció (ER).

5.3.1 Esterificació en medi bàsic aquós

Taula 7 Eficiència de la reacció de modificació amb ASA en medi aquós a diferents concentracions de la inulina i pH de reacció

No. Reacció	Cadena	% Inulina (p/p)	Δ pH	temps (h)	ER (%) ^a	ER (%) ^b
42	2-Octen-1-il	35	8.5-9.0	4	56±38	---
43	2-Octen-1-il	20	8.5-9.0	6	88±5	80± 5
44	2-Octen-1-il	20	9.0-9.5	5	78±5	71± 5
45	2-Octen-1-il	20	8.3-8.5	8	94±2	---
46	2-Dodecen-1-il	20	8.3-8.5	24	35±21	---

Condicions de reacció, relació molar: ASA/UFA de 0.18 ; Temperatura: 25°C ; Solució bàsica :2% NaOH

^aGS determinat pel mètode de RMN, mitjana de tres experiments.

^bGS determinat pel mètode de la valoració, mitjana de tres experiments.

La Taula 7 mostra les eficiències i el temps d'esterificació en funció de la concentració de la inulina, del rang de pH de reacció i del tipus de cadena hidròfoba. Els valors de l'eficiència obtinguts pel mètodes de RMN i de la valoració (veure 4.4.1.2) també es mostren per tal de apreciar-ne la seva convergència. Finalment, també s'ha introduït un marge de error estimat a partir de les repeticions realitzades per cada experiment. A continuació es discuteixen els diferents paràmetres implicats en la reacció esterificació.

5.3.1.1 Influència de la concentració d'inulina

Com es pot observar, els resultats de la síntesi a concentracions d'inulina del 35% (p/p) (Taula 7, entrada 42) tenen un marge d'error molt gran comparat amb el mateix experiment al 20% d'inulina (p/p) (Taula 7, entrada 43). La modificació hidrofòbica amb ASA en suspensió aquosa de la inulina és un medi heterogeni de reacció. Les molècules de ASA (OSA i DDSA) no són del tot solubles en aigua, per això la reacció d'esterificació hauria de tenir lloc entre la fracció parcialment solubilitzada i els hidroxils de la inulina accessibles. Els agregats supramoleculars de la inulina són poc solubles en aigua a temperatura ambient¹⁴³ i formen partícules de gel a elevades concentracions quan s'agita correctament en aigua¹⁴⁴. Aquesta particular propietat de la inulina podria afectar el procés de mescla de la reacció i consegüentment a la modificació de la inulina, donant elevades variabilitats en els valors de GS i afavorint les reaccions secundàries d'hidròlisi. Per tant, en els subseqüents experiments les reaccions s'han dut a terme a concentracions del 20%.

5.3.1.2 Influència del pH de reacció

La Taula 7 mostra els resultats d'eficiència obtinguts en la modificació In-OSA a diferents rangs de pH: 9.0-9.5 (entrada 44) ; 8.5-9.0 (entrada 43) ; 8.3-8.5 (entrada 45). La resta de paràmetres foren concentració d'inulina al 20%, relació molar OSA/UFA de 0.18 i la temperatura de reacció de 25°C.

D'acord amb les observacions de Song et al.¹⁴⁵ per la modificació del midó amb ASA, el pH del sistema de reacció és un paràmetre influent. Els resultats de la Taula 7 pels tres rangs de pH indiquen que l'eficiència s'incrementa substancialment quan es treballa a pH més baixos (entrada 43, a pH 8.3-8.5 l'ER 94%). Considerant les reaccions de la Figura 5.12, es podria esperar que a pH superiors a 9.0, la reacció d'hidròlisi del

OSA es veuria afavorida, mentre que a pH entre 8.3-8.5 els hidroxils de la inulina estarien suficientment activats com per donar la reacció d'esterificació amb un temps de reacció raonable sense hidròlisi d'OSA.

L'esterificació de la inulina amb DDSA (cadena de C₁₂) es va provar en medi aquós a 20% d'inulina, pH: 8.3-8.5, i una temperatura de reacció de 25°C. En aquestes condicions, la reacció donà una eficiència del 35% i va necessitar fins a 24 hores per consumir tot el DDSA addicionat al medi de reacció (Taula 7, entrada 46). A aquesta concentració el procés de formació de gel de la mescla començava a complicar l'agitació quan havien transcorregut unes 8 hores de reacció, la qual cosa afavoria les reaccions secundàries d'hidròlisi, donant elevades variabilitats en els valors de GS.

Dels valors obtinguts pels dos mètodes de determinació de GS (RMN i valoració) cal destacar que efectivament són comparables entre ells, però la gran quantitat de producte necessari per realitzar la valoració (1g) es va desestimar pels experiments a escala de laboratori. Tot i això, la valoració podria ser útil en produccions a major escala.

5.3.1.3 Conclusions parcials

Les conclusions de l'esterificació de la inulina en aigua utilitzant anhídrids de l'àcid 2-alquen-1-il succínic (ASA) es detallen a continuació,

- (1) S'ha determinat la concentració màxima d'inulina (20%) per dur a terme la reacció d'esterificació amb l'anhídrid de l'àcid 2-octen-1-il succínic (OSA) en medi aquós, sense que la formació del gel d'inulina afecti significativament al procés de mescla del reactiu.
- (2) S'ha determinat la concentració d'ions hidroxil òptima per catalitzar la reacció d'esterificació amb OSA que es troba entre 2-3 μM ($8.3 < \text{pH} < 8.5$). Aquesta

concentració permet activar els hidroxils de la inulina, sense hidrolitzar el reactiu hidròfob OSA.

(3) Com en el cas dels 1,2-alquilepòxids, s'ha determinat que com més soluble l'anhídrid de l'àcid alquenil succínic, major l'ER d'esterificació i menor el temps de reacció. Així, les condicions més favorables per obtenir èsters InASA en aigua i a temperatura ambient són les següents:

- a. Els derivats hidròfobs InOSA s'han obtingut per reacció de la inulina amb l'anhídrid de àcid octenil succínic (OSA) en aigua a pH: 8.3-8.5 amb una eficiència de reacció del 94% en 8 hores.
- b. La reacció amb l'anhídrid de l'àcid 2-dodecen-1-il succínic (DDSA) a iguals condicions que el InOSA, ha donat com a producte el InDDSA, però només amb una eficiència del 35% i 24 hores de reacció.

(4) S'ha desenvolupat un mètode per determinar el GS dels derivats InASA sintetitzats mitjançant una valoració àcid-base que pot ser de gran utilitat en cas de no disposar d'un aparell de RMN.

En aquest punt, es van investigar noves condicions en presència de tensioactius catiónics per tal de millorar l'ER i el temps de reacció, que es descriuran en el pròxim apartat.

Aquests resultats han estat publicats a: **Morros, J., Levecke, B., Infante, M. R. Carbohydrate Polymers 84 (2011) 1110–1116.**

5.3.2 Esterificació en medi bàsic aquós en presència de DTAB

Per tal de millorar l'ER en l'obtenció d'In-DDSA esters, es van investigar noves condicions de reacció mitjançant catalisi micel·lar-DTAB en medi aquós.

5.3.2.1 Influència del pH de reacció

Donat que la modificació In-ASA depèn del pH, primer de tot es va estudiar el rang de pH òptim en la esterificació amb DDSA en presència de DTAB. Tenint en compte el nostre resultat de la síntesi de β -hidroxialquil èters d'inulina en medi aigua-DTAB¹⁴⁶, la síntesi d'In-DDSA es va dur a terme amb una relació molar de tensioactiu DTAB/UFA de 0.1 per tres pHs diferents (veure Taula 8).

Taula 8. Eficiència de reacció per la modificació In-DDSA en el sistema DTAB-H₂O a diferents rang de pH.

No. Reacció	Δ pH	temps (h)	ER (%) ^a
42	8.3-8.5	< 1	41±5
43	8.5-9.0	< 1	54± 5
44	9.0-9.5	< 1	37±5

Condicions de reacció, relació molar: DDSA/UFA de 0.15 ; DTAB/UFA de 0.1; Temperatura: 25°C ; Solució bàsica :2% KOH

^a GS determinat pel mètode de RMN, mitjana de tres experiments.

Els resultats de la Taula 8 mostren la influència del rang de pH en la modificació In-DDSA en el sistema H₂O-DTAB. De la mateixa manera que en la modificació In-OSA, la modificació In-DDSA també depèn del pH. La eficiències observades són menors que les corresponents al In-OSA en aigua i el rang de pH òptim es troba desplaçat a valors superiors a 8.3-8.5. Comparant els valors indicats a la Taula 8, amb els valors descrits

per altres autors de modificacions amb DDSA de midó¹⁴⁷, no es van observar diferències entre els dos polisacàrids. Això podria indicar-nos que el pH òptim depèn essencialment de la longitud de cadena de l'ASA. A pH majors, l'inflament de la inulina també es major, la qual cosa redueix l'impediment estèric provocat per la cadena més voluminosa de DDSA.

Sorprenentment, en aquestes condicions, el sistema era una sola fase (fins i tot a pH: 8.3-8.5) i la reacció es podia dur a terme sense problemes d'agitació. De manera que tant la inulina com el DDSA estaven incorporats perfectament en el medi de reacció. Com a resultat l'eficiència de reacció i la velocitat de reacció assoliren valors superiors al medi aquós. Tal i com havíem observat en l'eterificació, la interacció entre les micel·les catióniques i la inulina podria accelerar la reacció mentre que el procés de formació del gel d'inulina en el cru podria ser aturat per la formació del complex catalític.

5.3.2.2 Influència de la relació molar DTAB/UFA

La Figura 5.14 mostra la influència de la variació de la relació molar DTAB/UFA en l'eficiència de reacció a 25°C, mantenint constant la concentració d'inulina i DDSA. Les relacions molars de 0 fins a 0.1, la eficiència es va incrementar de 35% a 54%. En canvi, un increment de 0.1 a 0.2 proporcionà una disminució fins a valors del 40%.

En el rang de concentracions de DTAB estudiades, la millor relació molar va ser 0.1. Curiosament, l'eterificació del dextrà i de la inulina¹⁴⁸ coincideixen en que la millor concentració de tensioactiu catiónic correspon amb la relació molar DTAB/UFA de 0.1. Pel que fa al temps de reacció, és notable que en presència de tensioactiu disminuís de les 24 hores a menys d'una hora. El remarcable increment de la velocitat de reacció, com en el cas de l'eterificació podria resultar de la concentració localitzada i de la gran

proximitat entre els reactius hidròfobs i hidròfils per solubilització micel·lar i interaccions electrostàtiques¹⁴⁹.

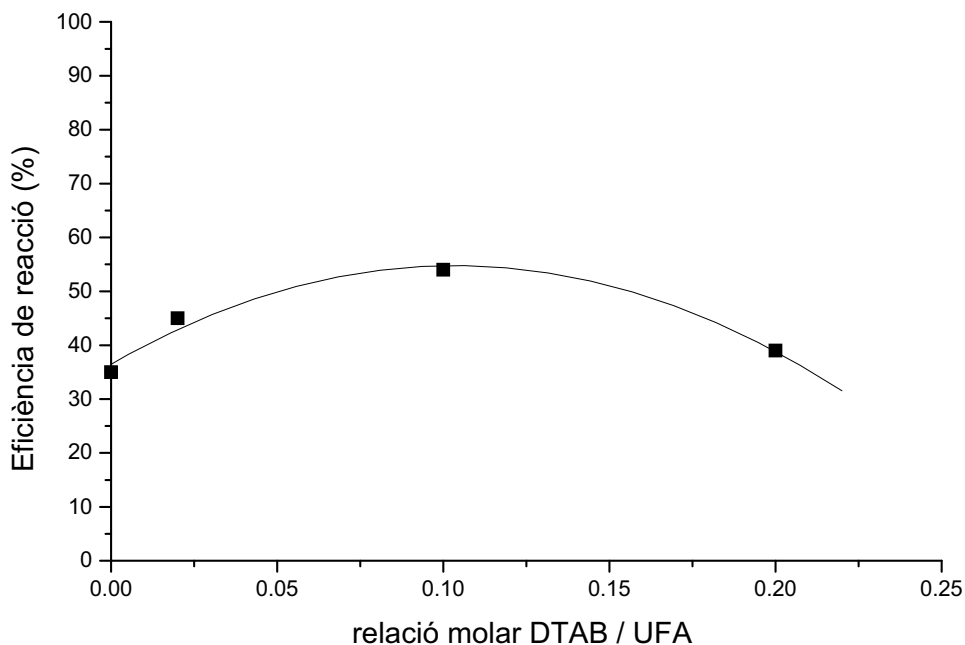


Figura 5.14. Efecte de la relació molar DTAB/UFA sobre l'eficiència de reacció de modificació In-DDSA. Condicions de reacció: concentració d'inulina: 20%; relació molar DDSA/UFA: 0.15; Temps 1h; rang de pH : 8.5-9.0, Temperatura: 25°C.

En aquest sistema complex de DTAB-inulina, l'esterificació i la hidròlisi també són reaccions competitives i ambdues estan catalitzades per la superfície catiònica micel·lar, veure Figura 5.15. Per tant, les variacions d'eficiència de la gràfica de la Figura 5.14 podrien ser degudes a variacions de les interaccions electrostàtiques entre DTAB i la inulina ionitzada, les quals estan principalment governades per la relació molar DTAB/UFA.

A relacions molars de DTAB/UFA inferiors a 0.1, l'increment d'eficiència a mesura que s'incrementa la proporció de DTAB es podria explicar per una major acceleració de

l'esterificació respecte la hidròlisi, ja que la inulina tendeix a adsorbir-se progressivament a la interfase de les micel·les provocant el desplaçament de les molècules d'aigua cap al si de la solució.

A una relació molar de 0.1 l'eficiència és màxima al voltant del 50%, l'increment de la interfase micel·lar catiònica degut a la major concentració de tensioactiu¹⁵⁰, podria permetre que les cadenes d'inulina del si de la solució cobrissin tota la interfase micel·lar disponible, assolint així la màxima velocitat d'esterificació pel sistema. A relacions molars DTAB/UFA superiors a 0.1 un increment de la quantitat de micel·les podria incrementar la velocitat d'esterificació enlloc de la d'esterificació. Això podria ser degut perquè les noves micel·les formades podrien tenir menys inulina a la seva superfície, de manera que més punts de catàlisi estarien disponibles per les molècules d'aigua que produirien hidròlisi.

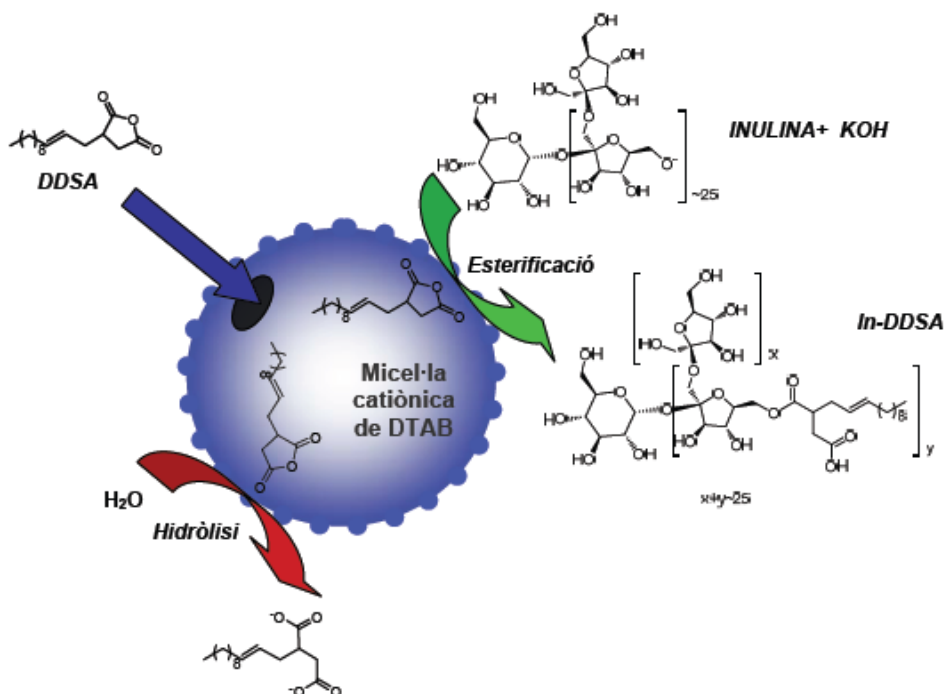


Figura 5.15 Representació esquemàtica de reaccions químiques involucrades en l'esterificació de la inulina amb DDSA en medi bàsic aquós en presència de DTAB.

5.3.2.3 Influència de la temperatura

Fins aquest punt tots els experiments descrits fins ara s'havien realitzat a 25°C. En aquest apartat l'efecte de la temperatura en l'eficiència de reacció es va estudiar a temperatures entre 5° C i 85 ° C. Les condicions de reacció foren 20% de concentració d'inulina, relacions molar DDSA/UFA de 0.15, DTAB/UFA de 0.1 i rang de pH entre 8.5-9.0. La Figura 5.16 mostra com l'eficiència de reacció es veu afectada per la temperatura.

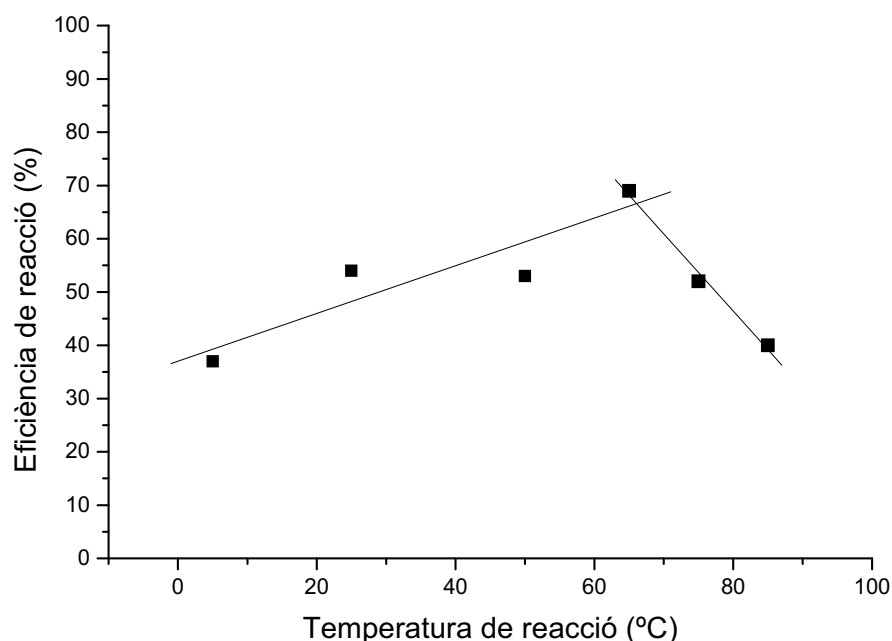


Figura 5.16 Eficiència de reacció de la modificació In-DDSA en el sistema DTAB-H₂O a diferents temperatures de reacció. Condicions de reacció: concentració d'inulina: 20%; Temps de reacció: ~1h; rang de pH: 8.5-9.0; L'eficiència correspon a la mitjana dels graus de substitució (RMN) de tres experiments i té un error d'un 10%. Les línies representen la tendència del sistema per esterificar la inulina o per hidrolitzar els enllaços ester en funció de la temperatura en què es dugui a terme la reacció.

Com era d'esperar incrementant la temperatura des de 5°C fins a 65°C, l'eficiència va créixer del 37% a valors pròxims al 70%. A temperatures superiors a 65°C, l'ER va decaure fins a valors del 40%. La caiguda de l'ER podria estar associada a la

solubilització de la inulina a aquestes temperatures, de manera que un major nombre de punts catalítics de la superfície de les micel·les estarien disponibles per les molècules d'aigua.

5.3.2.4 Conclusions parcials

Les conclusions de l'esterificació de la inulina en aigua utilitzant l'anhídrid de l'àcid 2-dodecen-1-il succínic (DDSA) en presència de DTAB es detallen a continuació,

- (1) Com en els 1,2-alkilepòxids, s'ha proposat un mecanisme per tal d'explicar les reaccions implicades en l'esterificació de la inulina en presència de tensioactiu catiònic.
- (2) En aquest sistema micel·lar, l'esterificació i la hidròlisi són competitives i el balanç final depèn de molts factors com el pH, la concentració d'inulina en el medi, la relació molar DTAB/UFA i temperatura de reacció entre altres que afecten a la proximitat entre les espècies reactives (inulina, reactiu hidròfob (ASA), ions hidroxil) dins l'equilibri micel·lar.
- (3) L'optimització d'aquests factors ha permès obtenir els èsters hidròfobs de la inulina (InDDSA) per reacció de la inulina amb l'anhídrid de l'àcid dodecenil succínic (DDSA) en medi aquós en presència de 0.1M DTAB, a pH entre 8.5-9.0 i a 65 °C, amb una ER del 70% i un temps de reacció d'una hora.
- (4) El mecanisme pel qual l'ER d'esterificació augmenta amb la temperatura fins a 65 °C, i després disminueix s'ha relacionat amb la temperatura a partir de la qual el DDSA comença a ser més soluble, i la seva velocitat d'hidròlisi comença a ser més important que la d'esterificació.

Aquests resultats han estat publicats a: **Morros, J., Levecke, B., Infante, M. R.**
Carbohydrate Polymers 84 (2011) 1110–1116.

5.4 CARACTERITZACIÓ FÍSICOQUÍMICA DE LA INULINA I DERIVATS (HMI) EN SOLUCIÓ AQUOSA

5.4.1 Comportament de la inulina i els seus derivats en solució aquosa

Fent una recerca bibliogràfica sobre les propietats de solubilitat de la inulina no es van trobar referències que descrivissin les propietats de la inulina en solució aquosa. Per tal de cobrir aquesta mancança i per la importància de conèixer la solubilitat de la inulina en aigua s'ha estudiat aquesta qüestió. En aquest apartat es descriuran fenòmens com la dispersió, la gelificació i la solubilització de la inulina (InN25), i alguns derivats (HMI) com l'SP1 i l'InEC12 en posar en contacte el biopolímer amb l'aigua a diferents pH i temperatures. La Figura 5.17 resumeix les observacions realitzades al laboratori a l'intentar dissoldre la inulina i els seus derivats en aigua desionitzada de pH neutre.

a) Dispersió de la inulina en aigua. La inulina i els seus derivats es van poder dispersar fàcilment en aigua mitjançant una simple agitació. Seguidament, donat que la inulina estava deshidratada en un forn a 70°C durant 24h, la tendència observada fou la hidratació. Durant aquest procés, es va observar que el medi augmentava uns pocs graus la seva temperatura, la qual cosa podria està associat al procés d'hidratació.

b) Gelificació de la inulina. Quan el sistema tenia una concentració superior al 15% i s'agitava vigorosament, la suspensió inicial d'inulina evolucionava cap a una fase gel cada cop més consistent. Per tal d'avaluar-ne l'estabilitat, el gel d'inulina es va

centrifugar. La fotografia de la Figura 5.17 mostra el resultat de la centrifugació a 4500 rpm durant 15min en dos exemples de gel al 15% (dreta) i al 20% (p/p) (esquerra). Com es pot observar, l'acceleració imposada va provocar la ràpida separació física de les partícules dispersades del sistema. Aquest comportament típic de gels poc estables s'anomena sinèresi i indicaria que les cadenes polimèriques hidratades d'inulina, que són poc solubles, es podrien haver agregat fins a formar un sistema d'un sòl agregat a través del qual les molècules d'aigua hi podrien circular lliurement.

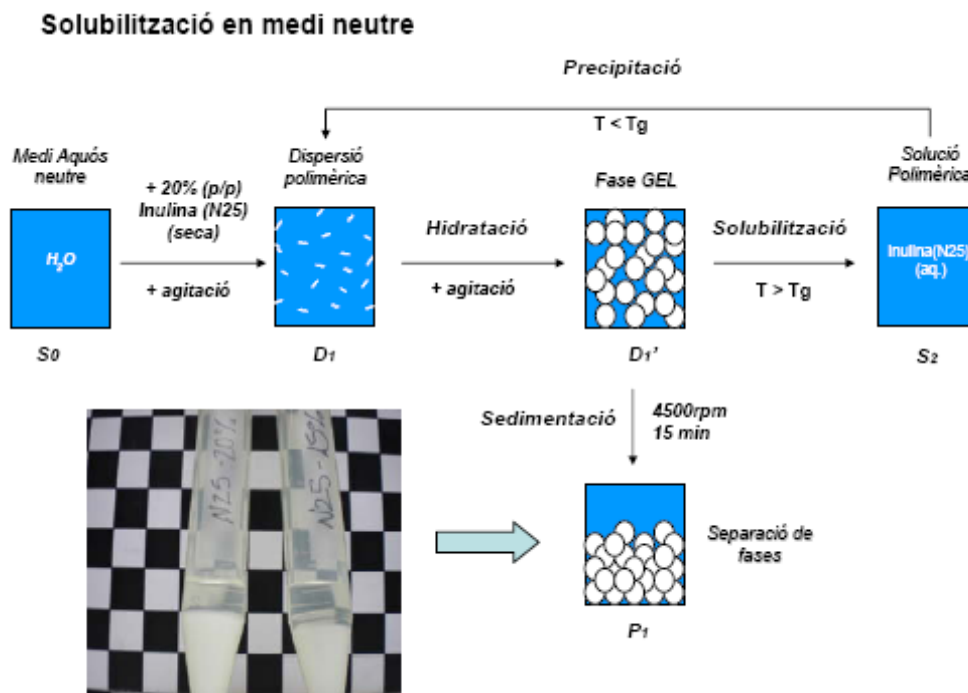


Figura 5.17 Esquema del comportament de la inulina en medi aquós (neutre) a partir de les observacions realitzades en el laboratori.

c) **Solubilització de la inulina en medi neutre.** Per tal de solubilitzar la inulina fou precís incrementar la temperatura fins a uns 80°C per la inulina i, uns 65°C pels derivats d'inulina. Les fotografies A i B de la Figura 5.18 mostren com després del tractament

tèrmic, la dispersió polimèrica va perdre tota la consistència fins a formar una dissolució clara i transparent. Malauradament, després d'un determinat temps a temperatura ambient, totes les solucions van evolucionar cap a una separació de fases. Cal destacar que mentre a concentracions del 20 % es produïa un gel tot just després d'una hora (senyalada amb una fletxa sobre la fotografia C), quan les concentracions rondaven el 5 % aquestes es mantenien estables durant uns quants dies fins que començaven a formar un precipitat blanc. En canvi, quan les concentracions eren inferiors a l'1% fou necessari esperar un mes per tal de poder veure petites partícules (flocs) d'inulina en el si de la dissolució.

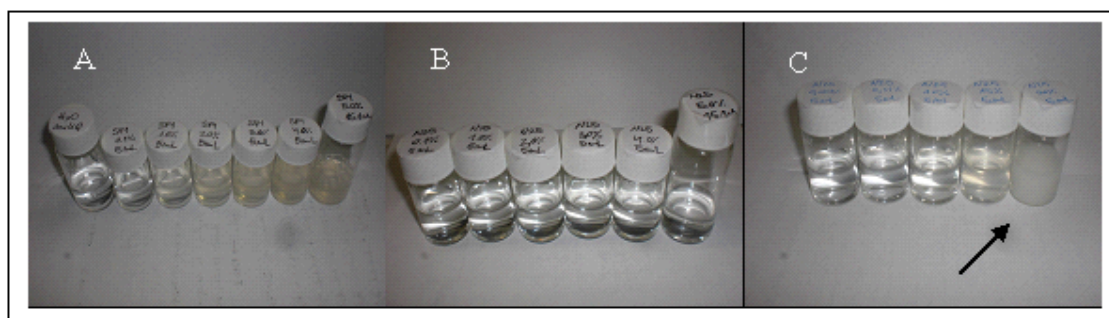


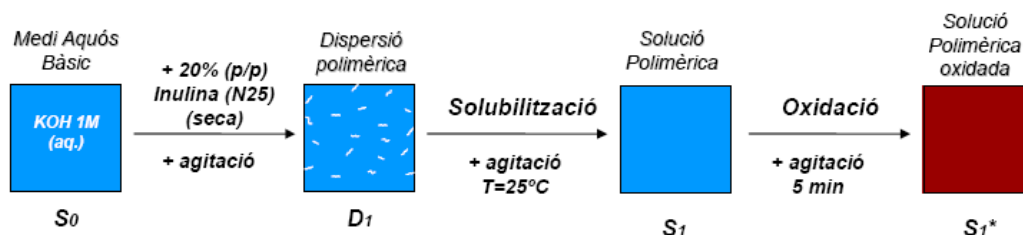
Figura 5.18. Aspecte de les solucions la inulina modificada hidrofòbica (A) i de la inulina (B) a diferents concentracions després del tractament tèrmic. La imatge C correspon a les mateixes solucions d'inulina una hora després de la solubilització, la fletxa senyala la solució d'inulina al 20% que ja comença a formar el gel.

Aquesta solubilització de la inulina a partir d'una temperatura determinada és difícilment explicable amb la informació de què es disposa. Potser altres experiments per determinar la solubilitat en funció de la temperatura, així com estudis sobre l'existència d'algun tipus de transició vítria en solució mitjançant tècniques espectrofotomètriques d'IR-Raman, podrien aportar llum a la resolució d'aquest problema que ara per ara està fora de l'àmbit de la present tesi.

d) Solubilització de la inulina en medi fortament alcalí. Durant l'etapa de síntesi de la inulina modificada hidrofòbica en medi aquós, era precís poder dissoldre la

inulina en el medi per aconseguir fer-la reaccionar en les millors condicions. Durant l'etapa d'optimització del mètode d'obtenció, quan s'estava augmentant la quantitat de KOH en el medi, es va observar que el procés de gelificació no es produïa i la inulina s'anava solubilitzant a mesura que s'introduïa en el medi. També es va poder observar que el procés de solubilització era molt més senzill mitjançant KOH que utilitzant altres base iòniques com per exemple el NaOH o el LiOH. En tots els casos, quan s'addicionava la inulina sobre el medi, el despreniment de calor en medi alcalí era molt superior que en medi neutre. En presència d'un medi fortament alcalí es produeixen reaccions d'ionització dels hidroxils de la inulina, és possible que tal reacció faci augmentar la temperatura de la cadena polisacàrida, provocant així la seva dissolució.

Solubilització en medi fortament bàsic



Solubilització en medi fortament bàsic reductor

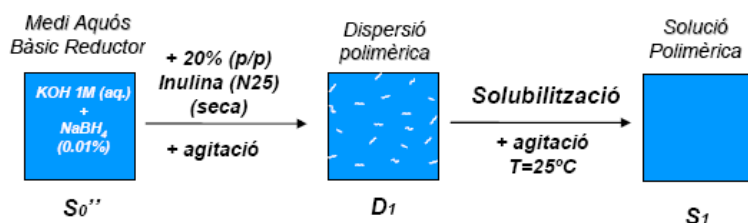


Figura 5.19 Comportament de la inulina en medi aquós fortament alcalí amb i sense reductor a partir de les observacions realitzades en el laboratori.

Com mostra la Figura 5.19, la dissolució de la inulina anava precedida per una progressiva coloració de la dissolució, la qual cosa feia difícil determinar si la inulina era soluble o no en aquestes condicions. Tanmateix, es pot argumentar que la presència

de les càrregues negatives dificulten l'agregació de les cadenes d'inulina contràriament al que succeeix en medi neutre. Per altra banda, per bé que l'espectre RMN de la inulina restava aparentment inalterat, la tonalitat marró (producte de reaccions d'oxidació de la inulina en medi bàsic) no seria desitjable si el producte s'ha de comercialitzar.

Per tal d'evitar la coloració marró de la solució, es van addicionar un 0.1% (p/p) de borohidruir sòdic (NaBH_4) al medi, un reductor suau, per minimitzar les reaccions d'oxidació dels terminals ionitzats de la inulina. Com mostra la Figura 5.19, l'èxit d'aquesta mesura va permetre dur a terme les reaccions de síntesi en medi bàsic inclús a temperatures de fins a 80-85 °C sense alterar l'estructura química de la inulina, segons es va poder comprovar per CCF i la cromatografia HPAEC-PAD (Dionex), veure 2.4.1.

5.4.2 Tensió superficial de la inulina modificada hidrofòbica (HMI)

La caracterització fisicoquímica per tensió superficial es va realitzar per tal d'establir el seu caràcter tensioactiu i determinar les relacions entre l'estructura i les propietats com l'activitat superficial, l'agregació i l'àrea per molècula de les inulines modificades hidrofòbica (HMI: InSP1, InEC₈, InEC₁₂, InEC₁₄).

La Figura 5.20 mostra les corbes $\gamma - \ln C$ dels HMI. Tots els productes analitzats presenten una disminució de la tensió superficial (γ) amb la concentració de polímer fins a una concentració per sobre de la qual hi ha un canvi de pendent que associem a la saturació de la superfície. En tensioactius de baix pes molecular aquesta concentració es relaciona amb la formació de micel·les i s'anomena concentració micel·lar crítica

(CMC). Donat que en principi desconeixem si formen micel·les a aquetes concentracions, atribuïm el canvi de pendent a algun tipus d'agregació (CAC).

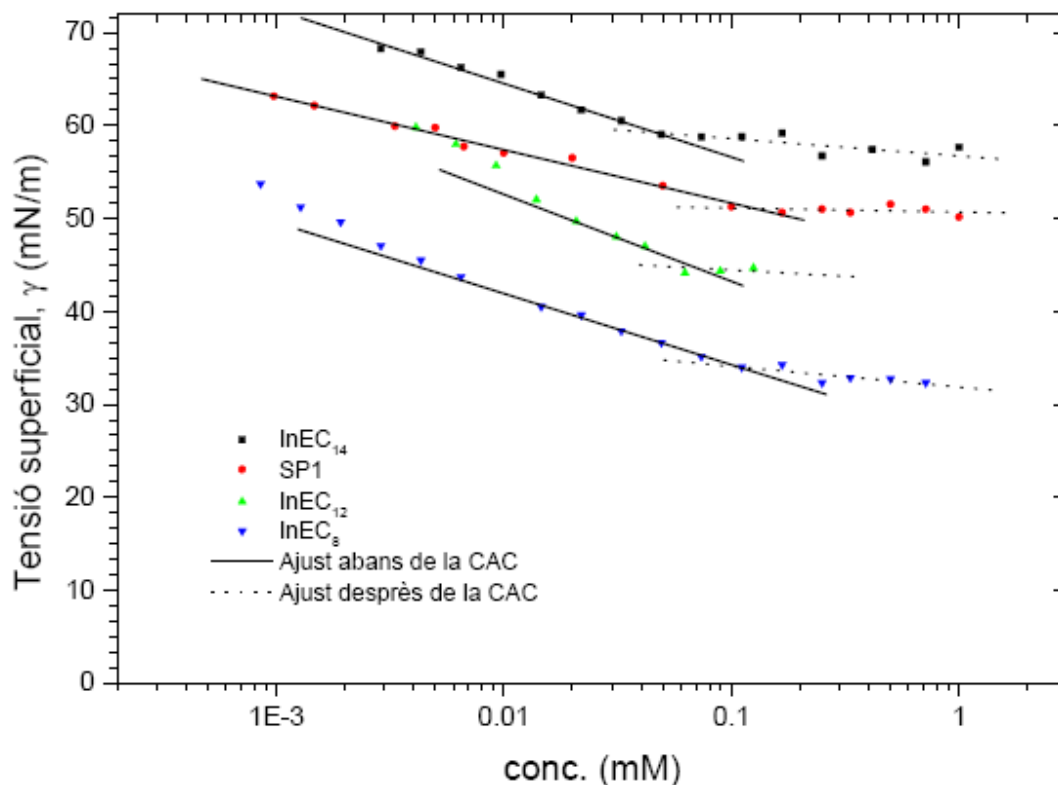


Figura 5.20. γ - $\ln C$ dels HMI obtingudes mitjançant un tensiòmetre equipat amb una placa de Wilhemy, a una temperatura de 25° C. Les línies representen les regressions lineals corresponent a darrera part de la corba γ - $\ln C$, on l'adsorció a la interfase se suposa que és màxima.

Altrament, a partir del pendent de la corba γ - $\ln c$ abans de la CAC s'ha calculat l'àrea per molècula de polímer a la interfase aire/aigua a partir de l'equació d'absorció de Gibbs:

$$\frac{d\gamma}{d(\ln C)} = -n\Gamma RT \quad \text{Eq. 2-1}$$

Segons la variació de la tensió superficial γ (N/m) respecte el logaritme natural de la concentració és proporcional a l'energia de les n molècules de tensioactiu que ocupen la

superfície. El terme $-\Gamma RT$ defineix aquesta energia i es compon de la constant R ($8.314 \text{ J}\cdot\text{K}^{-1}\cdot\text{mol}^{-1}$), la temperatura de mesura T (K) i per l'excés superficial Γ (mol/m^2) màxim ocupat per les molècules d'HMI.

A partir de Γ trobat es pot deduir l'àrea mínima associada a cada molècula A (nm^2) mitjançant el número d'Avogadro, N_A , com mostra l'equació

$$A(\text{nm}^2 / \text{molècula}) = \frac{10^{18}}{\Gamma N_A} \quad \text{Eq. 2-2}$$

El valor de CAC, com en el cas de la CMC es pot trobar en el punt d'intersecció entre les dues tendències de la corba $\gamma - \log C$. L'activitat dels diferents productes com a agents de superfície s'ha comparat en termes d'efectivitat (π_{CAC}) en la reducció de la tensió superficial de l'aigua. ($\pi_{\text{CAC}} = \gamma_0 - \gamma_{\text{CAC}}$). Com a referència, un producte es considera tensioactiu quan la seva π_{CAC} supera els $20 \text{ mN}/\text{m}$. Els resultats obtinguts a partir de la corba $\gamma - \log C$ dels diferents HMI s'han resumit a la Taula 9.

Taula 9 Valors de π_{CAC} (mN/m), CAC (mM) i $A_{\text{molècula}}$ (nm^2) dels diferents productes d'inulina.

Producte	CAC (mM)	π_{CAC} (mN/m) ± 1	$A_{\text{molècula}}$ (nm^2) ± 0.25	Nº de carbonis per cadena hidròfoba	Nº de cadenes per nm^2 de superfície
InEC8	0.11	38	1.44	6	3.1
InEC12	0.07	27	0.94	10	3.2
InEC14	0.05	14	1.20	12	3.0
SP1	0.09	20	1.67	12	---
Inulina	---	9*	---	0	0

* Punt únic d'una solució al 0.25M d'inulina (N25)

5.4.2.1 Efecte de la cadena hidròfoba sobre l'agregació (CAC) de l'HMI

Tenint en compte els errors associats a la corba $\gamma - \log C$ es pot dir que la CAC dels HMI es troba entorn a ~ 0.1 mM, tot i que presenta una lleugera tendència a la baixa a mesura que s'incrementa la longitud de la cadena hidròfoba. És ben sabut que el procés d'agregació d'un tensioactiu està governat principalment pel balanç entre les estructures lipòfiles i les estructures hidròfiles.

En aquest tensioactiu polimèric el cap polar (estructura hidròfila) és la polifruccosa amb les corresponents aigües d'hydratació, per tant si tots els productes tinguessin el mateix cap polar seria raonable pensar que l'InEC₁₄, amb una residu hidròfob més insoluble que la resta, tingués una tendència a agregar-se més forta que l'InEC₁₂ i encara més que l'InEC₈. El cas del InSP1, amb una CAC lleugerament superior a la que li pertocaria (similar al InEC₁₄), no segueix la tendència de la sèrie InEC_x.

5.4.2.2 Efecte de la cadena hidròfoba sobre l'activitat superficial (π_{CAC}) de l'HMI

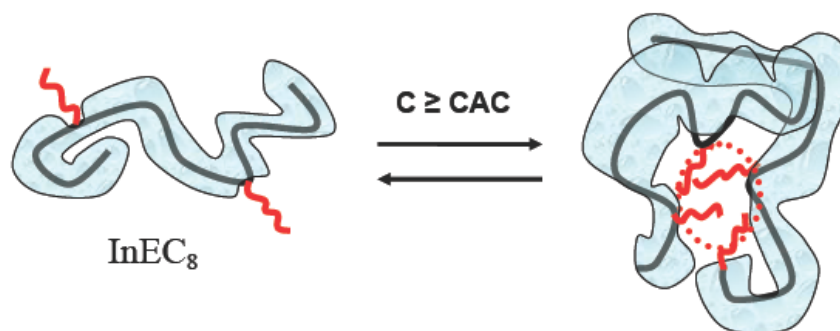
Pel que fa a l'activitat entesa com l'efectivitat en la reducció de la tensió superficial de l'aigua (π_{CAC}), els HMI presenten unes diferències bastant significatives entre ells: L'HMI més actiu és l'InEC₈ amb una π_{CAC} comparable amb la dels tensioactius de baix pes molecular de 38 mN/m, seguit de l'InEC₁₂ amb una reducció de 27 mN/m i finalment, per sota del llindar dels productes considerats bons tensioactius, l'SP1 i l'InEC₁₄ amb una reducció de tant sols 20 i 14 mN/m, respectivament. Finalment, la inulina amb una reducció d'uns 9 mN/m, no es considera actiu a la superfície. Per norma general, els tensioactius de baix pes molecular no mostren una variació de l'activitat superficial tant pronunciada en funció de la longitud de la cadena hidròfoba. L'únic cas comparable trobat a la literatura són els sistemes formats per sèries de

tensioactius gemini quaternaris amb diferents longitud d'espaiador. Li et al.¹⁵¹ expliquen l'efectivitat d'aquests tensioactius en termes de major o menor empaquetament de les cadenes a la superfície, de manera que tant la longitud de l'espaiador com la longitud de la cadena hidròfoba anaven en contra de l'empaquetament a la superfície, és a dir l'efectivitat. Per tal de discutir els resultats d'efectivitat en termes de balanç entre les interaccions hidròfobes i hidròfiles s'ha estimat el número mig de cadenes hidròfobes per nm² de superfície ocupada. Aquest valor es pot calcular a partir del grau de substitució de l'HMI, el grau de polimerització mig i l'àrea per molècula obtinguda per tensiometria i es mostra a la Taula 9.

Si comparem els valors d'efectivitat amb el N^o cadenes hidròfobes per nm² de la sèrie InECx, es pot comprovar que les diferències d'efectivitat entre els diferents HMI no es poden atribuir exclusivament a diferències entre el número de cadenes hidròfobes a la superfície ja que aquestes són molt petites. Sorprenentment, si que s'observa una menor activitat a mesura que s'augmenta el nombre de carbonis a la cadena hidròfoba. Aquesta tendència, molt més acusada que en els sistemes de tensioactius de baix pes molecular, es podria explicar per què la inulina es un polímer flexible que pot adoptar diferents conformacions en solució. Per tant, quan la inulina està modificada hidrofòbicaament amb cadenes molt hidròfobes (>12 carbonis), la possibilitat de dimerització de les cadenes hidròfobes gràcies al replegament de la inulina preval sobre la possibilitat d'orientar-se cap a la superfície. Així, l'efectivitat en la reducció de la tensió superficial és petita en casos com l'InEC₁₄ o l'InSP1, menor en l'InEC₁₂ i moderada per l'InEC₈.

Els fenòmens d'agregació i de dimerització per HMI de cadena curta i cadena llarga es representen a la Figura 5.21.

- **Agregació entre dues unitats polimèriques:**



- **Dimerització de les cadenes hidròfobes d'una unitat polimèrica:**

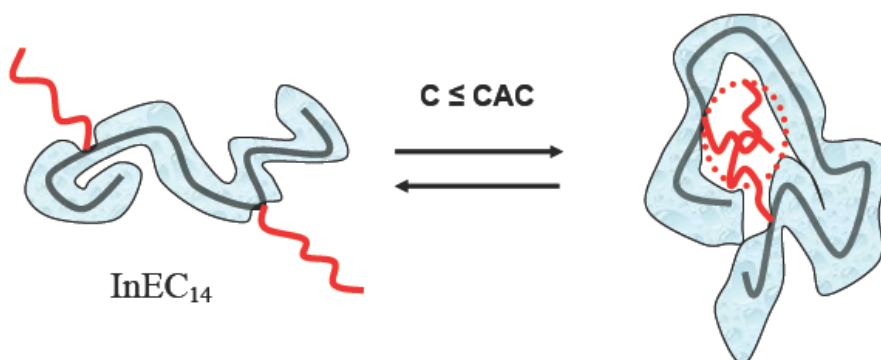


Figura 5.21 Representació esquemàtica dels processos d'agregació (a sobre) i dimerització (a sota) per HMI de cadena curta i llarga respectivament.

En tensioactius de cadena hidròfoba curta (p.e l'InEC₈) la tendència a l'agregació a $C \geq CAC$ es produeix preferentment entre diferents unitats polimèriques. En canvi quan la cadena hidròfoba és més llarga, l'efecte hidrofòbic i la flexibilitat de la cadena d'inulina fan que el mateix polímer es replegui produint-se la interacció de cadenes hidròfobes d'una mateixa unitat polimèrica a $C \leq CAC$.

Finalment, dels valors de la Taula 9 es pot dir que els HMI tenen un comportament tensioactiu i les seves propietats són comparables a l'HMI comercial, InSP1. La tendència marcada per la sèrie InEC_x, i en particular la del InEC₁₄ que té el mateix nombre de àtoms de carboni a la cadena difereixen molt poc.

5.4.3 Viscositat de les solucions aquoses d'inulina i InSP1

La Figura 5.22 mostra la viscositat newtoniana relativa de les dissolucions d'inulina i d'inulina modificada en funció de la fracció en volum ϕ calculada segons s'ha explicat a l'ap. 4.5.2. El rang de concentracions es va limitar fins a $\phi=0.12$ ($C_{\text{polímer}} \sim 20\%$ (p/p), degut a les propietats gelificants de la inulina (veure, ap. 5.4.1). La mesura es va realitzar just després de la solubilització del polímer seguint el procediment de l'ap.5.4.1.

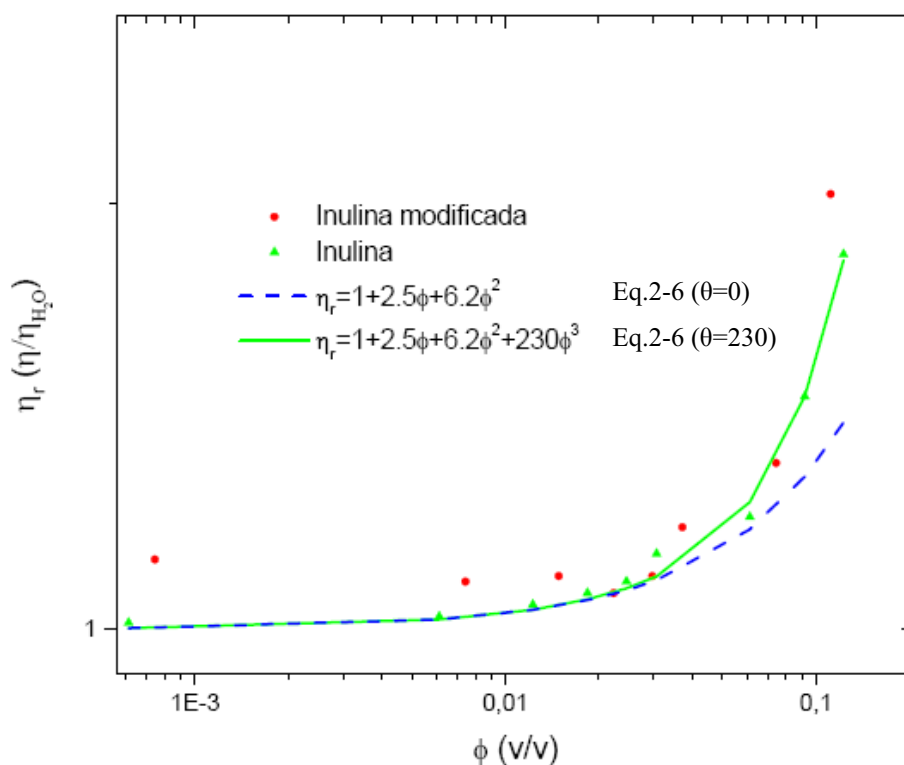


Figura 5.22 Corba de viscositat newtoniana relativa (η_r) de la inulina (triangles) i de la HMI (punts) en solució fins a concentracions de 0.2 g/mL a 25 °C . Les línies corresponen al comportament descrit per esferes rígides segons l'equació de Batchelor, tenint en compte interaccions hidrodinàmiques entre dues partícules (discontínua) i interaccions entre més de dues partícules (contínua). Per més informació veure cap.2.2.

Comparat amb altres polímers modificats de major pes molecular com la hidroxietilcel·lulosa, la viscositat intrínseca dels polímers d'inulina és considerablement

petita, la qual cosa és raonable tenint en compte el baix pes molecular de la inulina respecte la cel·lulosa.

Els resultats obtinguts s'han interpretat en termes d'interacció entre partícules segons el model d'esferes rígides descrit per Batchelor. Les línies del gràfic adjunt descriuen el comportament en solució descrit per un fluid newtonià compost d'esferes rígides monodisperses. La línia discontinua, correspon al model (Eq. 2-6, tenint en compte només el 3 primers termes) d'esferes rígides tenint en compte les interaccions hidrodinàmiques partícula-partícula. En canvi, la línia contínua correspon al model corresponent al comportament d'esferes rígides tenint en compte les interaccions hidrodinàmiques entre més de dues partícules. Com es pot observar, les corbes de viscositat d'ambdós polímers descriuen un perfil molt similar que s'ajusta més al model d'interaccions hidrodinàmiques entre més de dues partícules (model 2) amb un coeficient d'interacció entre més de dues partícules de 230. A les baixes concentracions a les quals s'han dut a terme els experiments, el comportament esperat per un sistema d'esferes rígides seria el descrit pel model (línia discontinua). En aquest cas, la correcció sobre el model 1 podria ser deguda a que, en realitat, la inulina ocupa un volum superior al calculat. Això es podria donar, per exemple si el grau d'hidratació fos superior a l'estimat pel càlcul de ϕ , si les partícules no són compactes o si no són esfèriques. Per alta banda, aquest augment de la viscositat respecte al comportament esperat per esferes rígides podria estar relacionat amb les propietats gelificants de la inulina comentades en l'apartat anterior.

5.4.4 Dispersió de raigs X de la inulina modificada hidrofòbica- (HMI) en solució

Per tal de comprovar la possible agregació, també es van mesurar els patrons de difracció mitjançant Raigs X a angles petits. Per tal d'obtenir un senyal raonable, fou necessari preparar mostres més concentrades que les més concentrades emprades per a les mesures de tensió superficial, però encara comparables, d'uns 2 mM.

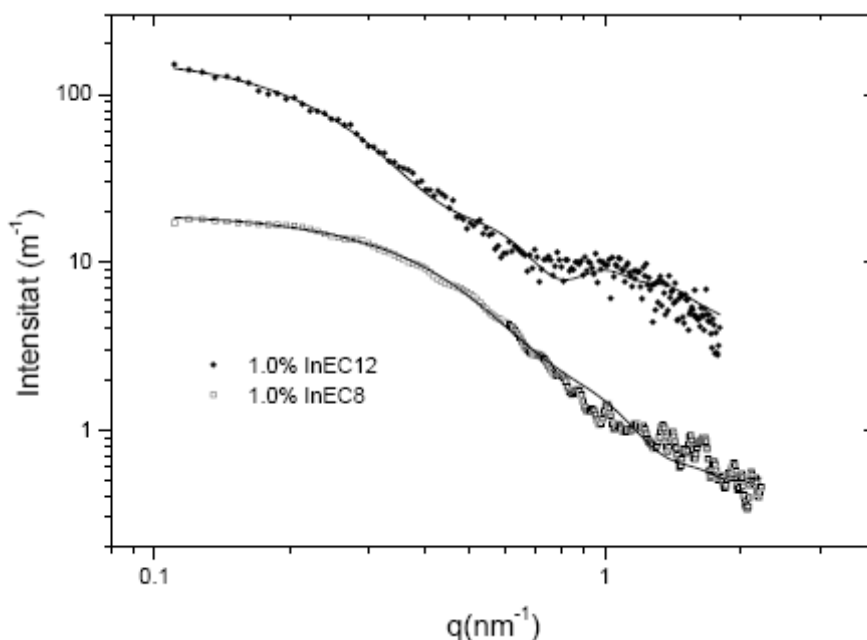


Figura 5.23 Les línies són l'ajust amb factor de forma per a cilindres en dues capes (longitud del cilindre menor que el radi, forma de pastilla o disc). La intensitat del InEC12 s'ha multiplicat per 4 per no solapar.

A la gràfica de la Figura 5.23, podem veure els espectres corresponents als HMI InEC12 i InEC8 en solució a l'1%. En tots dos casos es pot veure que hi ha agregació. Aquest agregats, relativament poc definits, poden ser ajustats a un model de cilindres concèntrics amb dues capes. En tots dos casos, la longitud del cilindre és menor que el radi, això correspon a una forma de discs o pastilles. Els ajustos en que la longitud era major que el diàmetre eren lleugerament pitjors. Aquests ajustos també són comparables

als que s'obtenen per el·lipsoïdes concèntrics. Els agregats formats per l'InEC12 (radi 8.4 nm i longitud 6.2 nm) són de l'ordre de 5 vegades més voluminosos que els formats per l'InEC8 (radi 5.2 nm i longitud 3 nm).

5.4.5 Propietats emulsionants dels derivats hidròfobs de la inulina.

Per tal d'avaluar els productes sintetitzats en medi aquós com agents emulsionants, es van preparar emulsions oli/aigua al 50% (v/v) amb un 2% de tensioactiu polimèric. L'estabilitat de l'emulsió es va comprovar visualment per l'aparició de coalescència i de sedimentació.

Taula 10 Estabilitat dels diferents productes sintetitzats a diferents condicions de temperatura i pH. L'estabilitat s'indica en nombre de setmanes que l'emulsió no separa fases.

Tensioactiu	Grau de substitució (GS)	Cadena hidròfoba	pH:7			pH:5		
			25°C	40°C	50°C	25°C	40°C	50°C
InGE _{8,10}	0.05	C8+C10	1	1	1	---	---	---
InPGE	0.1	Ph	1	1	1	---	---	---
InEC ₈	0.05	C6	1	1	1	---	---	---
InEC ₈	0.15	C6	---	---	+16	---	---	---
InEC ₈	0.2	C6	---	---	+16	---	---	---
InEC ₁₂	0.3	C10	---	---	+16	---	---	---
InOSA	0.1	C8	4	4	2	7	4	2
InOSA	0.15	C8	14	8	2	+16	7	2
InDDSA	0.1	C12	1	1	1	1	1	1
SP1	0.05-0.3	C12	---	---	+16	---	---	---

Les propietats dels derivats d'inulina depenen del grau de polimerització (GP), del grau de substitució (GS), de la estructura i de la distribució dels substituents al llarg de

l'esquelet de la inulina (uniformitat del producte) i, dins les unitats fructòsil, la possible reactivitat relativa dels tres hidroxils¹⁵². La Taula 10 resumeix els resultats d'estabilitat d'emulsions oli/aigua, a diferents condicions de temperatura i pH, formades pel diferents HMI sintetitzats més el comercial.

Comparant els resultats obtinguts amb l'estabilitat del producte de referència (InSP1) se'n desprèn que els productes sintetitzats en medi aquós requereixen un major nombre de cadenes alquíliques per assolir un poder emulsionant equiparable a l'InSP1. Aquest fet podria ser degut a que la modificació en medi aquós estigués conduïda per l'efecte hidrofòbic de les cadenes, de manera que després d'unir-se la primera cadena, la tendència de la següent cadena seria la d'unir-se en una regió pròxima a la primera. En canvi, quan el tensioactiu es sintetitza en dissolvent orgànic, com l'InSP1, la modificació té lloc aleatòriament sobre la cadena d'inulina la qual cosa augmentaria la seva efectivitat com a emulsionant. Aquest efecte s'observa clarament amb el derivat InDDSA que tot i tenir un grau de substitució i nombre de carbonis a la cadena que a l'SP1, les seves emulsions presenten separació de fases immediatament després de preparar l'emulsió.

Com es pot observar dels resultats corresponents als derivats InOSA a diferent pH i temperatures, aquests HMI produeixen emulsions més estables a baixes temperatures i pH lleugerament àcids. Per exemple, quan les emulsions preparades amb InOSA-0.1 tenen un pH de 5.0, l'estabilitat de l'emulsió està al voltant de les 7 setmanes, en canvi a pH de 7, separen després de 4 setmanes. Per altra banda, aquestes mateixes emulsions s'emmagatzemen a 50°C, l'estabilitat de l'emulsió decau a només 2 setmanes.

Aquests dos efectes observats en tots els derivats InOSA es podrien justificar per mecanismes d'adsorció/desorció. El pKa intrínsec d'aquests compostos té un valor de 5.3, és a dir, que per sobre d'aquest valor $[\text{COO}^-]$ es major que la $[\text{COOH}]$, per tant el

polímer té més càrrega. Aquest fet faria augmentar la solubilitat del polímer en aigua, la qual cosa afavoriria la desorció del polímer de la interfase cap al si de la solució. La temperatura podria exercir un efecte similar, augmentant la fracció de carboxilats amb càrrega dels HMI.

Podem afirmar que les propietats emulsionants de la inulina modificada depenen del grau de substitució, la longitud de la cadena hidròfoba, de la distribució de les cadenes a la inulina i de l'equilibri àcid-base de les cadenes unides a la inulina.

5.4.6 Conclusions parcials

Les conclusions de la caracterització fisicoquímica de la inulina i els seus derivats hidròfobs es resumeixen a continuació,

- (1) S'han trobat unes condicions de solubilització per la inulina i els seus derivats adequades (solucions homogènies i baixa viscositat) per poder dur a terme les reaccions de modificació i la caracterització fisicoquímica. També, s'han identificat els processos que tenen lloc durant la solubilització de la inulina.
- (2) S'ha comprovat que, efectivament, els productes analitzats es poden considerar polímers tensioactius. Dels productes sintetitzats, l'InEC8 i l'InEC12 són els que produeixen una reducció de la tensió superficial de l'aigua més important, comparable a altres tensioactius polimèrics o de baix pes molecular. Aquests productes formen agregats nanomètrics en solució.

- (3) L'estudi de la viscositat ha confirmat que a concentracions petites es comporten com a esferes rígides i que la fracció en volum aparent és superior a la real.
- (4) S'ha determinat que les propietats emulsionants dels HMI depenen del grau de substitució i l'estructura de les cadenes hidròfobes unides a la inulina.
- (5) S'ha comprovat que els productes sintetitzats tenen propietats emulsionants,. Entre tots ells el millor i comparable al producte de referència InSP1 és l'InEC₁₂.

5.5 CARACTERITZACIÓ FÍSICOQUÍMICA DE MESCLES HMI-DDAB EN MEDI AQUÓS

A principis de la dècada del 1990, es van començar a investigar les interaccions entre polímers modificats i sistemes dispersos formats per tensioactius amb especial èmfasi sobre els sistemes formats per micel·les¹⁵³. Gràcies a això els principals tipus de comportament fàsic, les forces subjacents i els efectes estructurals/reològics implicats es poden entendre bastant bé la qual cosa ha permès l'ampliació del camp d'aplicació dels polímers modificats hidrofòbament com ara el poli(etilenglicol), la poli(acrilamida), l'hidroxietilcel·lulosa o la carboximetilcel·lulosa entre d'altres, en diferents àrees comercialment importants com la recuperació de cru, l'alliberament de fàrmacs o la formulació cosmètica¹⁵⁴.

Després d'una recerca bibliogràfica es va poder comprovar que les propietats de la inulina modificada en sistemes dispersos formats per tensioactius havien rebut comparativament molta menys atenció. Malgrat que degut al seu baix pes molecular, la inulina modificada hidrofòbament (HMI) difícilment pugui, a priori, formar gels amb sistemes dispersos formats per tensioactius (micel·les o vesícules), es raonable pensar que les seves parts hidròfobes interaccionin d'alguna manera amb les regions hidròfobes dels agregats.

La primera evidència d'interacció entre inulina i tensioactius es va manifestar durant el desenvolupament del procés d'obtenció de HMI en sistemes aquosos en presència de DTAB (veure ap. 5.2.3). Com s'ha explicat en l'apartat de síntesi, l'efecte que produïa la concentració de tensioactiu sobre l'eficiència de la reacció de modificació es podia explicar per la formació d'un complex entre la inulina i el tensioactiu catiònic usat per

catalitzar la reacció, el *bromur de dodeciltrimetilamoni* DTAB. Així doncs, el complex, estabilitzat tant per interaccions electrostàtiques com per interaccions hidrofòbiques¹⁵⁵, permetia la catàlisi micel·lar de la reacció de modificació.

Per tal de realitzar l'estudi d'interacció es va escollir el tensioactiu *bromur de didodecildimetilamoni* (DDAB), un tensioactiu dicatenari de referència fàcilment disponible i que forma vesícules. Per aquest estudi, els HMI seleccionats han estat l'InSP1 i l'InEC₁₂. A partir de l'estudi dels efectes de l'addició d'HMI sobre el comportament reològic i la nanoestructura de solucions de DDAB s'han interpretat els resultats obtinguts en termes d'interacció.

5.5.1 Reologia del sistema HMI-DDAB

Dels resultats de la caracterització reològica de les solucions pures d'inulina i de l'inulina modificada se'n desprèn que per poder estudiar les interaccions entre l'HMI i el tensioactiu (DDAB) a través de mesures de viscositat, el rang de concentracions de treball del polímer havia de ser dins del regim diluït (conc polímer <5%) per així minimitzar els efectes deguts a les interaccions polímer-polímer. Per altra banda, tots els experiments es van realitzar a 35°C per evitar la proximitat a la temperatura de Kraft del tensioactiu, on la precipitació del tensioactiu (interaccions DDAB-DDAB) fan augmentar la viscositat del sistema¹⁵⁶. Finalment, la concentració de DDAB es va limitar fins al 7.25% (p/p) ja que per sobre d'aquesta concentració no es podia assegurar una bona mescla dels tres components (HMI-DDAB-H₂O). Per tant, les condicions per analitzar la interacció entre els HMI sintetitzats i els agregats formats pel DDAB van ser entre 0-2.0% d'HMI, i entre 0-7.25 % (p/p) de DDAB.

En primer lloc, per tal de caracteritzar el comportament reològic del DDAB en solució, es va mesurar la viscositat newtoniana de diferents solucions de DDAB sol (sense polímer). En segon lloc, per tal de caracteritzar la influència de la presència del polímer d'inulina sense modificar, es van mesurar solucions a l'1% d'InN25 en funció de la fracció en volum de DDAB (veure 4.5.2.2). Finalment, les viscositats dels polímers modificats també es van mesurar en solucions a l'1% d'HMI. Els símbols de la Figura 5.24 il·lustren les diferents corbes de viscositat newtoniana relativa (η_r) corresponents a les solucions de polímer modificat (InEC₁₂ i InSP1), de polímer no modificat (InN25) i de DDAB sol (sense polímer).

La Figura 5.24 es mostren els resultats de viscositat pels diferents sistemes DDAB-Polímer. Aquests resultats s'han ajustat a l'equació de Brady¹⁵⁷:

$$\eta_r(0) = \frac{\eta'(0)}{n_0} \approx (1 - \phi / \phi_c)^{-2} \quad \text{Eq. 2-7}$$

A l'Eq. 2-7 η_r és la viscositat relativa del sistema, la ϕ és la fracció en volum del DDAB i la ϕ_c és la fracció en volum crítica a partir de la qual la viscositat del sistema divergeix. El valor de la ϕ_c s'ha trobat representant $\sqrt{\eta_r}$ vs. ϕ de manera que el pendent de la recta correspon a la inversa de la ϕ_c . Les línies del gràfic s'han representat utilitzant la ϕ_c trobada (llegenda del gràfic) per cada sistema. Per poder discutir els resultats en base al model d'esferes rígides, s'ha representat també el comportament reològic corresponent al valor de $\phi_c \rightarrow \phi_{gel} 0.6$ seguint aquesta equació.

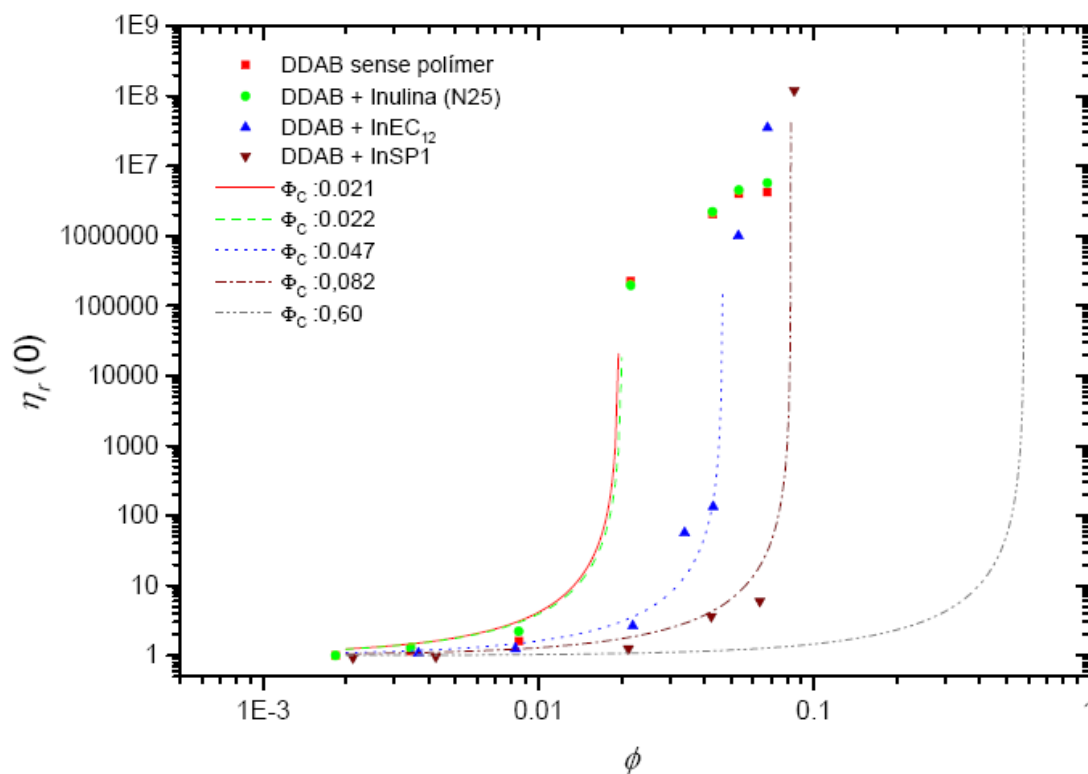


Figura 5.24 Viscositat newtoniana relativa (a la viscositat de l'aigua) dels sistemes al 1% de polímer (InEC₁₂ i InSP1) en funció de la fracció en volum hidròfob del DDAB.

Respecte de la ϕ , els sistemes DDAB-InEC₁₂ (blau marí) i DDAB-InSP1 (blau cel) difereixen considerablement de la mescla DDAB-Inulina(N25) (verd), que pràcticament es comporta igual que la solució de DDAB sense polímer (vermell). En el cas del DDAB+InN25 i DDAB sol, la viscositat newtoniana relativa a baixa cisalla ($\dot{\gamma} \rightarrow 0$) presenta una divergència a partir d'una ϕ_c de 0.021. En canvi, les solucions amb InEC₁₂ i SP1 la divergència apareix a concentracions superiors, 0.047 i 0.082, respectivament. La variació de la posició de la ϕ_c respecte la corresponent al model d'esferes rígides indica que l'addició d'HMI a solucions de DDAB té importants efectes sobre la microestructura del sistema DDAB (aq.), de manera que aquests canvis podrien venir

donats tan per variacions en el volum ocupat pels agregats de DDAB, com per canvis en la magnitud de les interaccions partícula-partícula.

El fet de que el comportament reològic del sistema mescla 1% Inulina(N25)-DDAB sigui pràcticament el mateix que pel DDAB sol, es pot deduir que la microestructura d'ambdós sistemes és la mateixa. Tenint en compte que el DDAB sol forma estructures laminars amb forma de vesícules¹⁵⁸, el comportament s'hauria de poder explicar fins a cert punt segons un model convenientment adaptat per considerar les repulsions a llarga distància. L'augment sobtat de la viscositat d'ambdós sistemes es podria explicar per la formació d'un gel de vesícules estabilitzat per interaccions electrostàtiques entre la superfícies carregades de les vesícules. En aquest cas, la superfície vesicular estaria neutralitzada per una distribució equivalent de contraions formant el que es coneix com a doble capa elèctrica. El gruix d'aquesta capa depèn de la càrrega dels seus components i de la concentració d'electròlit en el medi, essent de centenars de nm a baixes concentracions d'electròlit fins a 1 o 2 nm a elevades concentracions. Aquest fet explicaria la reducció significativa de la viscositat observada en gels de DDAB en presència de petites quantitats de NaCl en el sistema.

Com es pot observar en la Figura 5.25, degut a l'estructura "buida" de les vesícules, no és possible determinar la seva fracció en volum efectiva sense conèixer prèviament el radi, el gruix de bicapa i el número de bicapes per caracteritzar els seu comportament reològic.

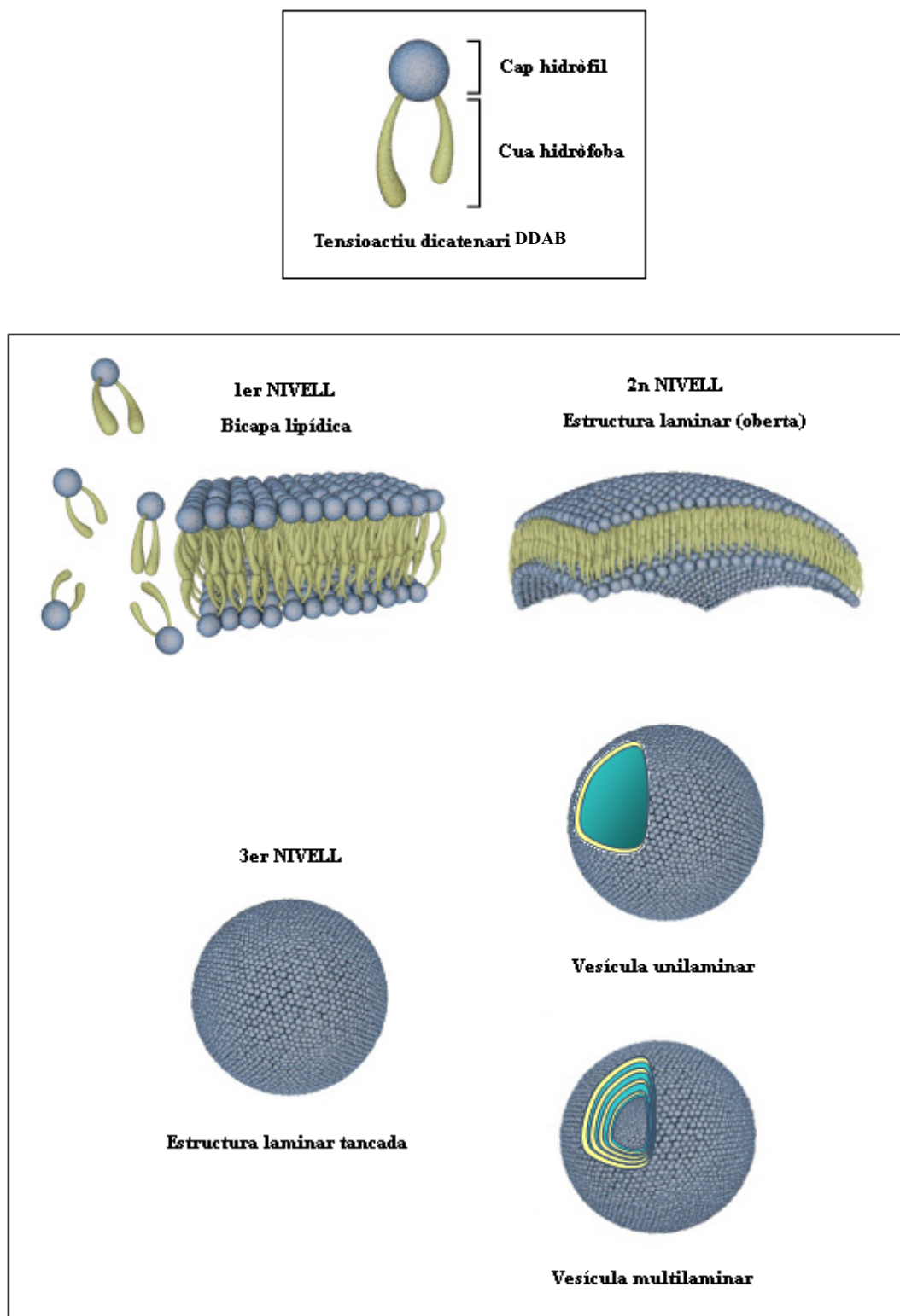


Figura 5.25 Diferents nivells d'organització del sistema DDAB-H₂O en funció de la concentració de DDAB.

5.5.2 Microscòpia del sistema HMI-DDAB

En una primera aproximació es van observar les mostres mitjançant microscòpia òptica de fluorescència per tal de conèixer l'estructura dels sistemes caracteritzats per reologia. El colorant (Nile Red) és hidròfob i es situa preferentment a l'interior de les bicapes formades pel DDAB.

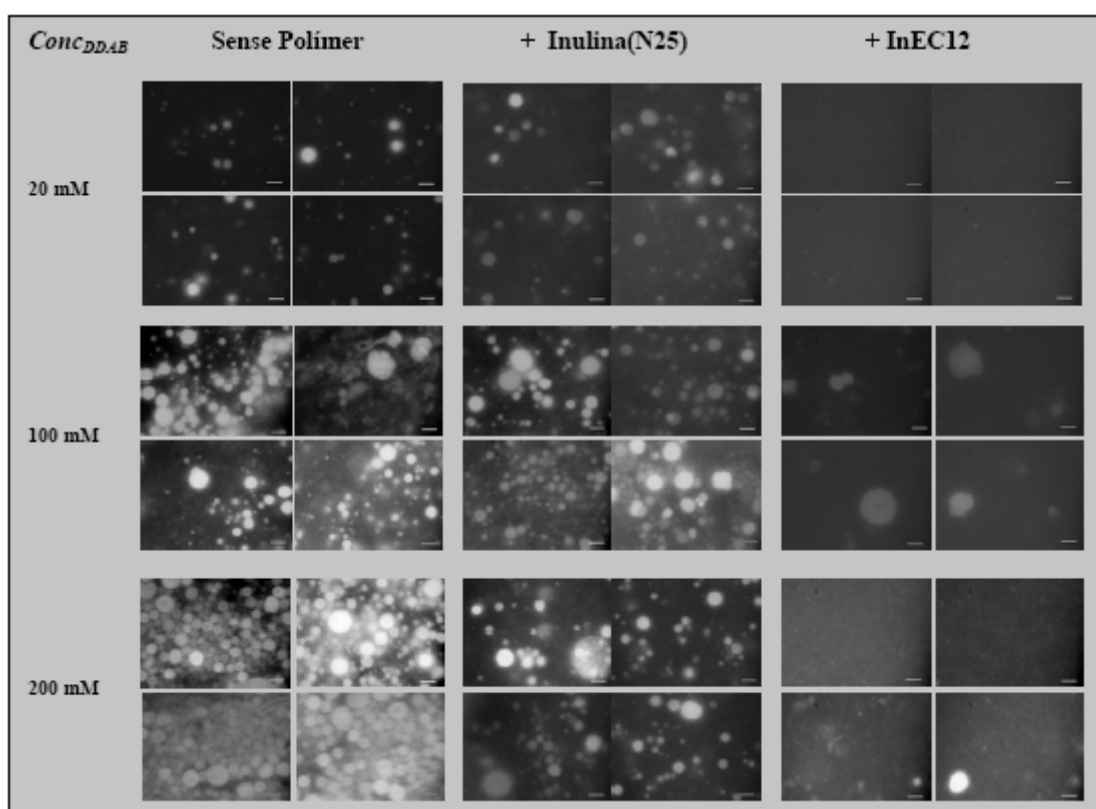


Figura 5.26 Fotomicrografies amb Nile Red (100X) obtingudes per les diferents solucions de DDAB, DAB+Inulina(N25) i DDAB+InEC₁₂, on la concentració de polímer es va fixar al 1% (p/p). El color vermell del colorant es va filtrar per donar més contrast a la imatge (ara correspon al color blanc) i a cada micrografia se li va introduir una unitat de mesura de 5µm a la part inferior dreta.

La Figura 5.26, mostra una selecció de 4 fotomicrografies per cada sistema, ordenats en funció del tipus de polímer i la concentració de DDAB. Com es pot observar la columna de l'esquerra i la del mig de la figura representen els sistemes de DDAB sense polímer i 1% InN25-DDAB, respectivament. Ambdós sistemes augmenten el numero de

vesícules observades a mesura que s'incrementa la concentració de tensioactiu en el medi. Tot i això, la distribució de les vesícules observades no correspon amb el comportament reològic observat, on per exemple a 100 mM DDAB, la viscositat del sistema és 7 ordres de magnitud superior a la viscositat de l'aigua, mentre que l'observació per microscòpia de fluorescència faria pensar ue tenim vesícules multilaminars allunyades unes de les altres, i per tant, amb poca interacció, el que implicaria una viscositat similar a la del medi. Un sistema d'aquestes característiques reològiques, com per exemple el descrit per Gradzielski, M et al.¹⁵⁹, hauria d'estar constituït per vesícules molt més petites, aproximadament 10 vegades més petites que les que es poden observar per microscòpia de fluorescència (~1-5 μm).

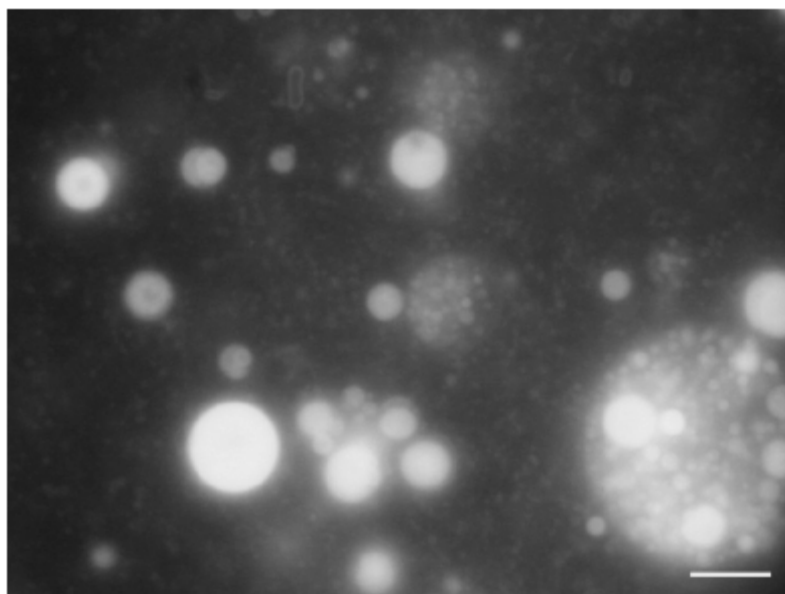


Figura 5.27 Ampliació de la fotomicrografia del sistema DDAB + Inulina(N25) a 200 mM de DDAB.

La Figura 5.27 mostra una ampliació de la fotomicrografia del sistema DDAB + Inulina(N25) a 200 mM de DDAB. Tot i la dificultat per determinar la mida de

partícules inferiors a 1 μm , es possible observar una tonalitat de fons de partícules més petites que podria explicar la viscositat del sistema.

El sistema més sorprenent és el 1% InEC₁₂-DDAB que es mostra a la columna dreta de la Figura 5.26. Com es pot observar, sigui quina sigui la concentració de DDAB, en presència d'inulina modificada hidrofòbica, la distribució característica dels sistemes anteriors canvia radicalment.

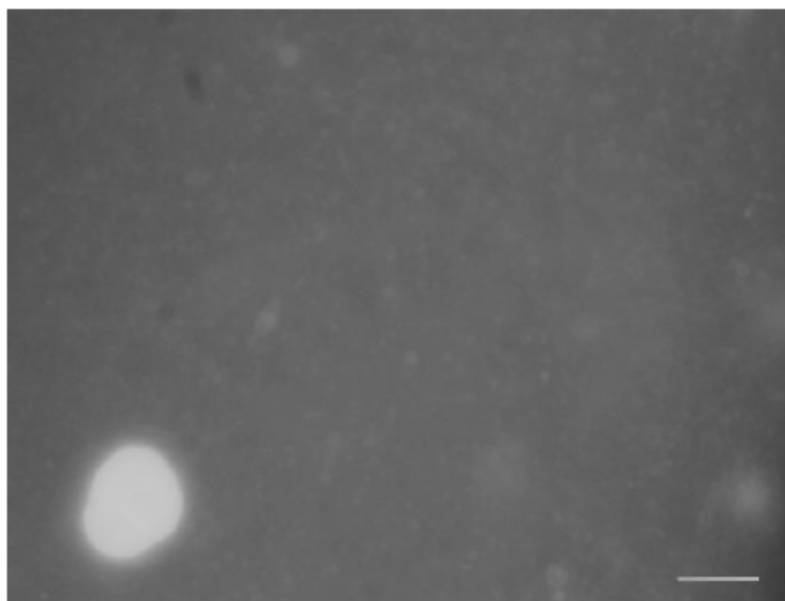


Figura 5.28 Ampliació de la fotomicrografia del sistema 1%InEC₁₂ a 200 mM DDAB.

La Figura 5.28 mostra l'ampliació de la fotomicrografia del sistema 1%InEC₁₂ a 200 mM DDAB. D'aquest resultat podem deduir que el colorant es troba dispers en dominis molt petits que donen lloc a una coloració uniforme.

5.5.3 Difracció de raigs X a angle petit (SAXS) del sistema HMI-DDAB

Degut a la dificultat per resoldre la microestructura dels sistemes HMI-DDAB a través dels resultats de reologia i microscòpia, es van utilitzar tècniques de difracció de raigs X els resultats dels quals es mostren a continuació.

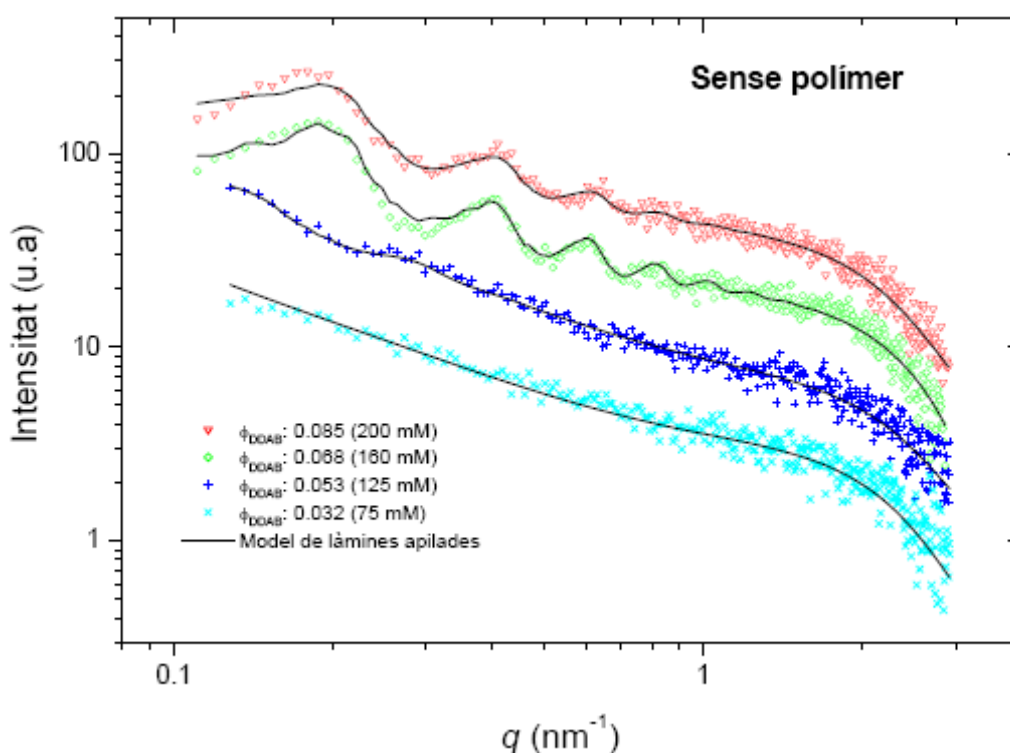


Figura 5.29 Patrons de difracció de SAXS de diferents mostres pures de DDAB a diferents concentracions (75, 125, 160, 200 mM) (símbols), juntament amb els millors ajusts al model de làmines apilades obtinguts (línies).

La Figura 5.29 mostra els patrons de difracció de SAXS de diferents mostres pures de DDAB a diferents concentracions. Com es pot observar, les mostres a 75 i 125 mM no presenten cap màxim d'intensitat difractada dins la finestra d'observació de l'aparell. Aquest fet indica que la distància de separació entre bicapes és massa gran per poder veure-la o bé que no estan ordenades. Les solucions a 160 i 200 mM DDAB si que

presenten màxims i ho fan a les mateixes q , i únicament es diferencien en la intensitat, que és superior a major concentració. Segons el model de làmines apilades, entre 160 i 200 mM DDAB l'estructura de la bicapa es manté constant, essent el gruix de la bicapa (d_b) de 29 ± 1 nm i la distància entre bicapes (d_c) de 12.5 ± 1 nm. El paràmetre de Caillé (η_l) dóna informació sobre la flexibilitat de la bicapa; a major η_l , menor rigidesa de la bicapa.

Taula 11 Distància de repetició (d), paràmetre de Caillé o flexibilitat (η_l), nombre de bicapes apilades (N) i paràmetre estadístic chi quadrat χ_{red}^2 (bondat de l'ajust) obtinguts pel mètode de làmines apilades per sistemes DDAB pur a diferents concentracions.

Paràmetres d'ajust	ϕ_{DDAB} (V_{hidrof}/V)			
	75 mM	125 mM	160 mM	200 mM
d (nm)	43.9 ± 1.4	42.3 ± 0.5	30.0 ± 0.03	29.3 ± 0.06
η_l	0.52 ± 3.9	0.24 ± 0.03	0.05 ± 0.01	$0,092 \pm 0.01$
N	1.1 ± 0.6	5.4 ± 2.1	7.2 ± 4.1	7.9 ± 4.8
χ_{red}^2	5.7	3.7	2.9	3.5

$$\chi_{red}^2 = \frac{\sum (\chi_i - \mu_i)^2}{N - n - 1} = 1 \rightarrow \text{Error purament estadístic (N: número de punts; n: número de paràmetres)}.$$

Com es pot observar en Taula 11, el sistema DDAB pur mostra una disminució de les distàncies de repetició i un augment de la rigidesa de la bicapa amb la concentració de DDAB. A majors concentracions de DDAB, les vesícules formades pel tensioactiu estan més pròximes, augmentant la repulsió entre les superfícies. Aquest augment de la interacció entre les vesícules es tradueix, primer, en una disminució de la distància de repetició, i segon, en un augment tant de la rigidesa com del nombre de bicapes correlacionades. Aquesta observació està en concordança amb els resultats de viscositat, ja que a major repulsió entre vesícules major la dificultat per desplaçar-les i, per tant major viscositat.

Per tal de poder avaluar el canvis sobre la microestructura del DDAB en presència dels polímers d'inulina, es va mesurar l'espectre de SAXS dels sistemes 1% InEC₁₂-

160mM DDAB, 1%InOSA-160mM, 1%Inulina(N25) i es van comparar amb l'espectre del 160 mM DDAB sense polímer.

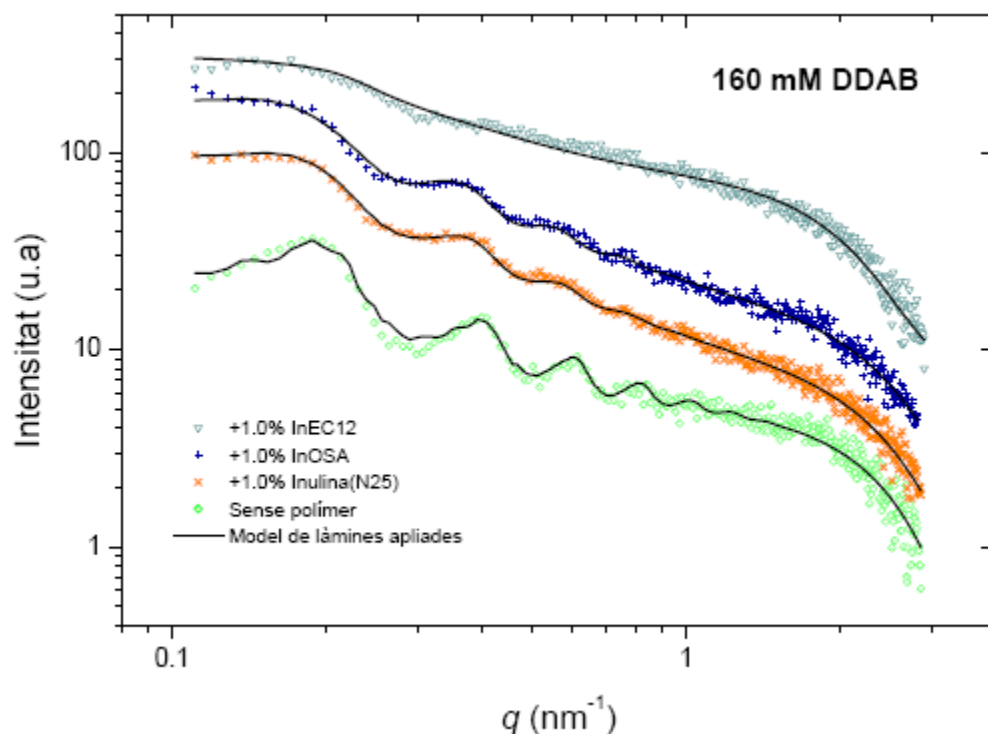


Figura 5.30 Patrons de difracció de SAXS de diferents mostres a 160 mM de DDAB en presència d'un 1% de diferents polímers d'inulina (símbols), juntament amb els millors ajusts al model de làmines apliades obtinguts (línies).

Dels patrons de difracció de la Figura 5.30 es pot deduir la influència del tipus de modificació del polímer d'inulina sobre la microestructura del DDAB. Com es pot comprovar, segons el tipus de modificació hidrofòbica de la inulina els efectes són diferents: la modificació amb anhidrid de l'àcid alquenil succínic (ASA) no presenta diferències significatives respecte de la inulina(N25) sense modificar, mentre que hi ha un desplaçament dels pics cap a l'esquerra, distàncies més grans, i menys marcats, la modificació amb 1,2-alquilepòxids produeix canvis importants respecte la intensitat i la posició dels pics de difracció. Això indicaria que la presència de la càrrega negativa del InOSA podria neutralitzar l'efecte observat en l'InEC₁₂ que és neutre.

Taula 12 Distància de repetició (*d*), paràmetre de Caillé o flexibilitat (η_1), nombre de bicapes apilades (*N*) i paràmetre estadístic chi quadrat χ_{red}^2 (bondat de l'ajust) obtinguts pel mètode de làmines apilades per sistemes 160 mM DDAB i mescles 1% InN25-DDAB, 1%InOSA-DDAB i 1%InEC₁₂-DDAB.

Paràmetres d'ajust	Polímer 1% + DDAB 160 mM			
	DDAB pur	+ Inulina(N25)	+ InOSA	+ InEC ₁₂
<i>d</i> (nm)	30.0	31.4	32.1	27.6
η_1	0.054	0.092	0.088	1.18
<i>N</i>	7.2	2.4	2.49	46
χ_{red}^2	2.9	1.5	1.6	2.1

$$\chi_{red}^2 = \frac{\sum(\chi_i - \mu_i)^2}{N - n - 1} = 1 \rightarrow \text{Error purament estadístic (N: número de punts; n: número de paràmetres).}$$

La Taula 12 conté els valors dels paràmetres d'ajust corresponents als diferents sistemes. Per una banda, en presència de la inulina(N25) i l'InOSA, l'estructura laminar del DDAB tendeix a ampliar la distància entre làmines al mateix temps que el paràmetre de Caillé (flexibilitat) augmenta i el nombre de capes correlacionades disminueixen respecte el sistema de DDAB sol, discutit anteriorment. Aquest comportament es podria explicar pel fet que els polímers es situen entre les diferents bicapes de DDAB del sistema. Conseqüentment, la distància entre les bicapes augmenta amb la presència de polímer, provocant que la rigidesa (potencial de repulsió) entre bicapes disminueixi. En el cas de l'InEC₁₂, tot i que la bondat de l'ajust es comparable als casos anteriors, presenta un nombre de capes correlacionades i de flexibilitat de la bicapa molt grans totes dues, el que li resta sentit físic. Aquest error es deu a la dificultat d'ajustar un model de làmines apilades a espectres poc definits.

Per tal de caracteritzar el sistema InEC₁₂-DDAB es van mesurar els espectres de SAXS de diferents sistemes variant la quantitat de polímer entre 0 i 2% mantenint

constant la concentració de DDAB a 200mM. Els difractogrames es mostren a continuació, a la Figura 5.31.

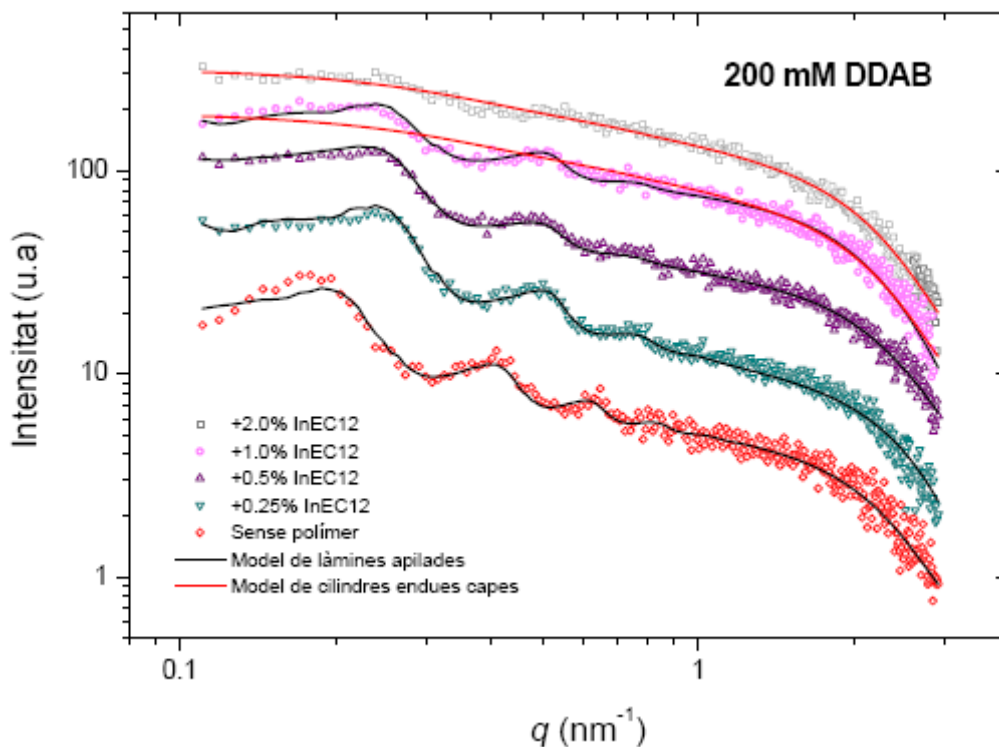


Figura 5.31 Patrons de difracció de SAXS de diferents mostres a 200 mM de DDAB en presència d'un 1% del polímer InEC₁₂ a diferents concentracions (0, 0.25, 0.5, 1.0, 2.0%) (símbols), juntament amb els millors ajusts al model de làmines apilades i/o al model de cilindres concèntrics obtinguts (línies).

Els patrons de difracció de la Figura 5.31 i els valors de la Taula 13 mostren la variació de la microestructura del sistema 200mM DDAB en funció de la concentració del polímer InEC₁₂. Com es pot observar, a concentracions molt petites de polímer es produeix un canvi sobtat de la posició dels pics de difracció cap a la dreta (distàncies més petites), mantenint el patró de cristall líquid laminar. Després, malgrat que l'addició successiva de més quantitat de polímer no produeix cap efecte sobre la posició dels pics, si que ho fa sobre la intensitat dels pics, que va disminuint amb la concentració fins a desaparèixer pràcticament.

A partir dels espectres de SAXS de la Figura 5.31 podem deduir que hi ha separació de fases. El fet que l'addició de petites quantitats provoquin un canvi sobtat, i després, addicions successives no produeixin cap efecte sobre la posició del pic i per tant sobre la microestructura del sistema, es pot entendre si hi ha una separació de fases per mitjà d'un fenomen de depleció que consisteix en l'eliminació d'una part del líquid constituent d'una mescla. Degut a que l'efecte es produeix a concentracions molt petites de polímer, els sistema podria assemblar-se a un sistema crític (petits canvis de concentració produeixen grans canvis en les proporcions de les fases separades). Després de la separació, les dues fases resultants estan en equilibri, aleshores el grau de llibertat que resta és la proporció de les fases a partir de considerar la *regla de les fases*¹⁶⁰ per tres components (InEC12-DDAB-H₂O) (encara que sabem que en realitat poden ser més). Aquest fet explicaria l'observació de la disminució progressiva de la intensitat dels màxims de difracció.

Taula 13 Distància de repetició (*d*), paràmetre de Caillé o flexibilitat (η_1), nombre de bicapes apilades (*N*) i paràmetre estadístic chi quadrat χ_{red}^2 (bondat de l'ajust) obtinguts pel mètode de làmines apilades per sistemes 200 mM DDAB i mescles amb diferent concentració d'InEC₁₂.

Paràmetres d'ajust	% (p/p) InEC ₁₂ + 200 mM DDAB				
	0%	0,25%	0,50%	1%	2%
<i>d</i> (nm)	29.3	23.5	23.9	23.6	23.4
η_1	0.09	0.17	0.23	0.22	0.29
<i>N</i>	8	16	7	297	725
χ_{red}^2 *	3.5	1.8	1.7	1.9	1.6

$$\chi_{red}^2 = \frac{\sum(\chi_i - \mu_i)^2}{N - n - 1} = 1 \rightarrow \text{Error purament estadístic (N: número de punts; n: número de paràmetres).}$$

Per tal de caracteritzar les noves fases produïdes per la presència del polímer InEC₁₂ en el sistema DDAB-H₂O, es van modelar els patrons de difracció utilitzant el model de làmines apilades.

El sistema probablement en una fase gel formada per vesícules unilaminars empaquetades, en cas d'haver-hi depleció, les vesícules del sistema reduirien la distància de separació entre elles, la qual cosa produiria una reducció de la distància de repetició (desplaçament a la dreta a l'espectre de SAXS). En aquest cas però, la major proximitat de les superfícies produiria també un augment de la rigidesa de la bicapa que es traduiria en una disminució del paràmetre de Caillé η_l . Com es pot observar en la Taula 13 η_l no disminueix, si no que tendeix a augmentar. Per tant, no es pot considerar que el sistema estigui format per vesícules unilaminars. Per veure si el sistema responia com un model compost per vesícules unilaminars empaquetades com el descrit per Gradzielski et al., el sistema formaria un "ringing gel" que és un sistema capaç de vibrar a freqüències en el rang audible, i això no s'ha observat.

Una altra possibilitat a considerar és la formació d'una fase gel micel·lar formada per micel·les cilíndriques tipus cuc enredades (entangled wormlike micelles). En un sistema com aquest, l'evolució del creixement micel·lar, la ramificació o l'entrecruament d'aquestes estructures es pot predir en base el comportament reològic i la difracció de raigs X a angle petit (SAXS)^{161,162}. Tot i que, els patrons de difracció escalen segons q^{-1} (característica dels sistemes micel·lars cilíndrics), resulta difícil justificar l'increment tant sobtat de la viscositat, malgrat l'existència d'interaccions electrostàtiques de repulsió. Dues característiques reològiques d'aquest tipus de fases gel, es la poca influència de la força iònica sobre la viscositat¹⁶³ i l'efecte Weissenberg¹⁶⁴. No es pogué detectar l'efecte Weissenberg en els sistemes InEC₁₂-DDAB i l'addició de petites quantitats de NaCl produïa una reducció considerable de la viscositat per reducció de la doble capa elèctrica. Aquest comportament reològic i de difracció es podria explicar per l'existència de partícules cilíndriques més petites que les micel·les tipus cuc i amb fortes repulsions electrostàtiques.

En un gel format per partícules cilíndriques s’hauria de poder observar un mòdul elàstic i un lllindar de fluència. Com que a partir de les mesures de reologia es va poder observar que les mostres tenien mòdul elàstic i un lllindar de fluència i que aquest comportament és compatible amb un sistema de partícules cilíndriques¹⁶⁵. Ens va permetre pensaren l’aplicació d’un model de cilindres en dues capes, nucli-coberta a les fases més concentrades en polímer (1% InEC₁₂-DDAB; 2%InEC₁₂-DDAB).

Taula 14 Dimensions dels cilindres i paràmetre estadístic chi quadrat χ_{red}^2 (bondat de l’ajust) obtinguts pel mètode de cilindres en dues capes per sistemes mixtes InEC₁₂ + DDAB.

Dimensions del cilindre (nm)	% (p/p) InEC ₁₂ + 200mM DDAB	
	1%	2%
Radi total(R)	1.8	2.1
Gruix hidròfil	0.84	1.1
Longitud total(L)	13.7	18.2
χ_{red}^2	6.4	1.2

$$\chi_{red}^2 = \frac{\sum(\chi_i - \mu_i)^2}{N - n - 1} = 1 \rightarrow \text{Error purament estadístic (N: número de punts; n: número de paràmetres).}$$

Observant l’ajust sobre el gràfic es pot observar que el 1% InEC₁₂-DDAB no s’ajusta al model. En canvi, en el 2% InEC₁₂-DDAB com que els pics pràcticament han desaparegut el sistema s’ajusta raonablement bé al model de cilindres de dues capes. Segons aquest resultat, el gel format per DDAB (0.2M) i InEC₁₂ (2%) podria correspondre bàsicament a una dispersió de cilindres de dimensions nanomètriques. Segons l’ajust els cilindres tindrien un aspecte ($r=L/R$) al voltant de 9 i una longitud (L) d’uns 18 nm (les dimensions del cilindre es detallen a la Taula 14), si tenim en compte que tenim dues fases és possible que els diferents espectres de la transició de làmines a cilindres són un combinació a diferents proporcions de cada fase.

Per tal de comprovar aquesta hipòtesi es va calcular la ϕ_c d’un sistema com el descrit a la caracterització reològica, on a concentracions al 1% d’InEC₁₂ produïen un

augment de la ϕ_c de 0.02 (DDAB) a 0.05 (1% InEC₁₂-DDAB). El comportament reològic d'una dispersió depèn del volum efectiu que ocupen les partícules. En aquest cas, els cilindres ocuparien un volum efectiu equivalent a una esfera rígida de radi L/2.

Aleshores, si es coneix L, es pot trobar el valor de ϕ_c , de la següent manera:

$$\phi_c = \phi_{gel} \times \left(\frac{V_{cilindre}}{V_{esfera_{eq.}}} \right) = \phi_{gel} \times \left(\frac{\pi LR^2}{\frac{1}{6} \pi L^3} \right) = 6 \frac{\phi_{gel}}{r^2} = 0.0483$$

Per unes dimensions del cilindre: L=18.2 nm i R=2.1nm.

Si comparem aquest valor amb el trobat per reologia, ambdós valors coincideixen, la qual cosa ens permet afirmar que el comportament reològic també és compatible amb un model de cilindres.

5.5.4 Birefringència dels sistemes HMI-DDAB

Es va observar que hi havia mostres que presentaven birefringència, mostres que no en presentaven i mostres que només presentaven birefringència en ésser cisallades. Per estudiar a què era degut aquest fenomen es van preparar diferents solucions mixtes mantenint constant la concentració de DDAB a 100mM ($\phi_{DDAB} = 0.046$) i variant la concentració de InEC₁₂ (0%, 0.005% (CAC), 0.05%, 0.125%, 0.25%, 0.5% i 1%). les mostres es van enganxar en un suport metàl·lic que permetia manipular les mostres per igual. Per observar la birefringència, es van fotografiar les mostres amb una càmera digital convencional abans i després de capgirar les mostres després mitjançant uns polaritzadors creuats com mostra la Figura 5.32.

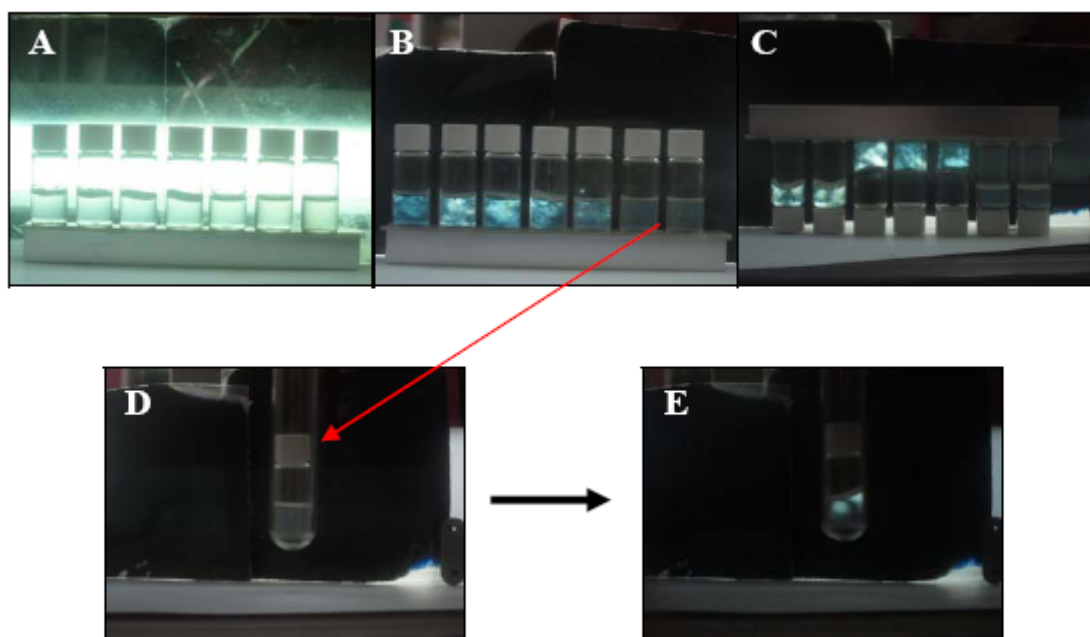


Figura 5.32 Solucions mixtes mantenint constant la concentració de DDAB a 100mM ($\phi_{DDAB} = 0.046$) i variant la concentració de InEC₁₂ en aquest ordre: 0, 0.005 (~CAC), 0.05, 0.125, 0.25, 0.5 i 1%. A fotografia amb llum normal, B fotografia amb llum polaritzada, C fotografia amb llum polaritzada després de capgirar les mostres, D i E mostra 1% InEC₁₂ + 100mM DDAB abans i després de la cisalla.

Els resultats de les fotografies es poden agrupar en dos grups en funció de la birefringència. La birefringència estàtica, observada a concentracions de polímer entre $0 \leq C_{POLÍMER} \leq 0.25 \%$, indica la presència de la fase laminar concentrada que s'ha caracteritzat per SAXS. En canvi, l'aparició de birefringència després de cisallar el sistema, implica que hi ha estructures que s'orienten durant la cisalla. Aquest fenomen, característica d'estructures cilíndriques i discoïdals, s'anomena dinàmica, i reforça la hipòtesi de les estructures cilíndriques.

Pel que fa al comportament reològic, les mostres presenten diferències significatives que coincideixen amb el model proposat de coexistència de dues fases. Així, l'addició d'HMI a concentracions properes a la CAC disminueix lleugerament la viscositat del DDAB, la qual cosa evidencia un canvi en la microestructura del sistema. Segons el model proposat, la separació de fases produeix una fase concentrada (vesícules) i una

fase diluïda (cilindres), per tant resulta lògic que la fase que es va formant a mesura que s'incrementa la concentració de polímer tingui una viscositat menor.

Aquestes mostres conservades en repòs al laboratori durant 6 mesos presentaven indicis visibles de separació de fases. Això confirmaria les deduccions fetes a partir de SAXS. Observacions al cap de tres mesos no mostraven cap indicatiu de separació, el que és indicatiu de la lentitud dels processos implicats que suposen una elevada metaestabilitat.

5.5.5 Conclusions parcials

Les conclusions de la caracterització fisicoquímica de mescles aquoses HMI-DDAB es presenten a continuació,

- (1) S'ha determinat una reducció important de la viscositat de les solucions de DDAB en presència de petites quantitats de HMI (InEC₁₂ i InSP1).
- (2) A partir de les observacions realitzades, la reducció de viscositat es pot atribuir a un canvi de la microestructura del sistema DDAB, passant de vesícules a nanocilindres formats per molècules d'HMI i DDAB.
- (3) S'ha determinat que la transició de vesícules a nanocilindres succeeix a través d'una microseparació de fases, donant lloc a una fase laminar més concentrada i una altra composta per nanocilindres.
- (4) Les mostres multifàsiques tenen metaestabilitats remarcables, cosa que en dificulta l'estudi.

6 Conclusions generals

Les conclusions generals d'aquesta tesi doctoral s'exposen a continuació,

1.- S'han dissenyat i optimitzat processos d'obtenció de tensioactius polimèrics basats en la inulina en medi aquós que han permès evitar l'ús de dissolvents orgànics en el medi de reacció.

2.- La modificació hidrofòbica de la inulina en medi bàsic aquós s'ha realitzat eficientment mitjançant la unió covalent de cadenes hidròfobes al polímer d'inulina, variant el tipus d'unió (enllaç èter o èster), el grau de substitució (0.05-0.3) i la longitud de cadena hidròfoba (C₆-C₂₈).

3.- S'han superat les dificultats d'aconseguir modificacions hidrofòbiques eficients en medi bàsic aquós mitjançant reactius amb cadenes molt hidròfobes (alquil > C₁₀), a través d'introduir DTAB en el medi de reacció com a catalitzador micel·lar.

4.- S'ha demostrat que els HMI sintetitzats són tensioactius polimèrics, s'agreguen i tenen propietats equiparables al tensioactiu polimèric comercial basat en la inulina, SP1. Això ha estat possible gràcies a estudis del seu comportament en solució.

5.- S'ha determinat que la presència de petites quantitats d'HMI (InEC₁₂ o InSP1) produeix una reducció important de la viscositat del DDAB en aigua. Aquest fenomen s'ha pogut relacionar amb canvis de la microestructura del sistema.

A partir de les conclusions d'aquesta tesi es pot esperar que els HMI puguin tenir aplicació en la formulació de vehicles d'alliberament controlat en biomedicina.

7 Bibliografia

¹ Gandini, A. (1992) *Polymers from Renewable Resources*. In *Comprehensive Polymer Science*, First Supplement; Aggarwal, S. L., Russo, S., Eds.; Pergamon Press: Oxford,; p 528.

² Nobelprize.org. (20 Sep 2010) http://nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/1963.html

³ Corradini, P. J. (2004) *The discovery of isotactic polypropylene and its impact on pure and applied science*. *Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.*, 42, 391.

⁴ Aleklett, K. (2010) *Coal and Oil: The Dark Monarchs of Global Energy*, Uppsala University. PhD thesis.

⁵ Roper, H. (2002) *Renewable Raw Materials in Europe - Industrial Utilisation of Starch and Sugar* *Starch-Starke*, 54, 89.

⁶ Lichtenthaler, F. W. Peters, S. (2004) *Carbohydrates as Green Raw Materials for Chemical Industry* *Comptes Rendus Chimie*, 7, 65-90 i referències citades.

⁷ Clark, J. H., Deswarte, F. E. I., Farmer, T. J. (2009) *The integration of green chemistry into the futer biorefineries* *Biofuels bioproducts & biorefining-biofpr*, 3, 72.

⁸ Kjellin, M., Johansson, I. (2010) *Surfactants from renewable Resources* Ed. John Wiley & Sons. Inc., series preface by Stevens, C. V.

⁹ Anastas, P.T, Warner, J. C. (2000) *Green Chemistry, Theory and Practice* Oxford University Press.

¹⁰ Rosen, M. J., (2004) *Surfactants and Interfacial Phenomena*. 3rd. Ed., John Wiley & Sons. Inc., 1.

¹¹ Adamson, A. W. (1992) *Physical Chemistry of Surfaces*, 5th Ed. John Wiley & Sons, Inc.

¹² Hiemenz, P. C., Rajagopalan, R. (1997) *Principles of Colloid and Surfaces Chemistry*. 3rd Ed. Marcel Dekker, Inc. 6, 248.

¹³ Rosen, M. J. (2004) *Surfactants and Interfacial Phenomena*, 3rd Ed. John Wiley & Sons, Inc. 215-229.

¹⁴ Adamson, A. W. (1990) *Physical chemistry of surfaces*, 5th Ed. John Wiley & Sons, Inc. 77-83.

¹⁵ Rosen, M.J. (2004) *Surfactants and Interfacial Phenomena*. 3rd. Ed., John Wiley & Sons., 3, 105.

¹⁶ Arnold T, Linke D. (2008) *The use of detergents to purify membrane proteins* In "Current protocols in protein science", Ed. Coligan J.E., Wiley-Intescience:Newe York.

¹⁷ Riess, G. (2003) *Micellization of block copolymers* *Prog. Polym. Sci.* 28 1107.

¹⁸ Garnier, S. Laschewsky, A., J. Storsberg (2006) *Polymeric surfactants: Novel Agents with exceptional Properties*. *Tenside Surf. Det.* 43, 2.

¹⁹ Matsuoka, H., Maeda, S. Kaewsaiha, P. i Matsumoto, K. (2004) *Micellization of Non-Surface-Active Diblock Copolymers in Water. Special Characteristics of Poly(styrene)-block-Poly(styrenesulfonate)* *Langmuir* 20, 7412.

-
- ²⁰ Storsbeg, J., Laschewsky, A. (2004) SÖFW-Journal 14, 130.
- ²¹ Rosen, M. J., (2004) *Surfactants and Interfacial Phenomena*. 3rd. Ed., John Wiley & Sons. Inc., 6.
- ²² Comisió Europea (Març 2011) http://ec.europa.eu/environment/chemicals/reach/reach_intro.htm; Generalitat de Catalunya (Abril 2011) <http://inforeach.gencat.cat/>
- ²³ Hill, K. Rhode, O. (1999) *Sugar-based surfactants for consumer products and technical applications* Fett/Lipid, 101, 25-33.
- ²⁴ Tadros, T (2009). *Polymeric surfactants in disperse systems*. Adv.Colloid Interface Sci. 147–148, 281–299.
- ²⁵ Magny, B., Iliopoulos, I., Audebert. R., Piculell. L., Lindman, B. (1992) *Interactions between hydrophobically modified polymers and surfactants*. Progr. Colloid. Polym. Sci. 89, 118-121
- ²⁶ Antunes, F. E., Marques, E. F., Miguel, M. G., Lindman, B. (2009) *Polymer-vesicle association*. Advances in Colloid and Interface Science 147-148, 18-35.
- ²⁷ Scott, M. J., & Jones, M. N. (2000). *The biodegradation of surfactants in the environment*. Biochimica et Biophysical Acta (BBA) – Biomembranes, 1508, 235–251.
- ²⁸ Landoll, L., M. (1982) *Nonionic polymer surfactants* J. Polym. Sci: Polym Chem Ed, 20, 443-445.
- ²⁹ Wesslén, K. B., Wesslén, B. (2002). *Synthesis of amphiphilic amylose and starch derivative*. Carbohydrate Polymers, 47, 303–311.
- ³⁰ Rouzes, C., Durand, A., Leonard, M., Dellacherie, E. (2002). *Surface activity and emulsification properties of hydrophobically modified dextrans*. Journal of Colloid and Interface Science, 253, 217–223.
- ³¹ Desbrières, J., Martinez, C., Rinaudo, M. (1996). *Hydrophobic derivatives of chitosan. Characterization and rheological behaviour*. International Journal of Biological Macromolecules, 19, 21–28.
- ³² Stevens, C. V., Meriggi, A., Peristeropoulou, M., Christov, P. P., Booten, K., Leveck, B., et al. (2001). *Polymeric surfactants based on inulin, a polysaccharide extracted from chicory. 1. Synthesis and interfacial properties*. Biomacromolecules, 2, 1256–1259.
- ³³ Wierenga, A. M., Philipse, A. P. (1998) *Low-shear viscosity of isotropic dispersions of (Brownian) rods and fibers; a review of theory and experiments* Colloids & Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects 137, 355-372.
- ³⁴ Tadros, Th. F. (1994) *Fundamental principles of emulsion rheology and their applications*. Colloids and Surfaces Physicochemical and Engineering Aspects 91, 39-55.
- ³⁵ Olsen, E., D. (1986) *Métodos ópticos de análisis* Ed. Reverté. S.A cap 12, 495-519.
- ³⁶ Glatter, O., Kratky, O. (1982) *Small Angle X-ray Scattering*. Eds., Academic Press: London, Chapter 4, Data Treatment, 119-125.
- ³⁷ Morán, MC., Pinazo, A., Clapés, P., Infante, MR., Pons, R. (2005) *The effect of Molecular Shape on the thermotropic Liquid Crystal Behavior of Monolauroylated Amino Acid Glyceride Conjugates*. J. Phys. Chem. B 109, 22899-22908.
- ³⁸ Pérez, L., Pinazo, A., Infante, MR., Pons, R. (2007) *Investigation of the micellation process of Single and Gemini Surfactants from Arginine by SAXS, NMR Self-Diffusion, and Light Scattering*. J. Phys. Chem. B 111, 11379-11387.
- ³⁹ Pabst, G.; Rappolt, M.; Amenitsch, H.; Laggner, P. *Phys. Rev. E* 2000, 62, 4000-4009.
- ⁴⁰ Pedersen, J. S. (1997) *Adv. Colloid Interface Sci.*, 70, 171-210.
- ⁴¹ PAC, 1995, 67, 1307 (Glossary of class names of organic compounds and reactivity intermediates based on structure (IUPAC Recommendations 1995)) on page 1338. White Book, p. 136

-
- ⁴² Mathews, C. K., Van Holde, K. E. (1998) *Bioquímica*, 2n Ed.; McGraw-Hill 9, 306-348.
- ⁴³ De Leenheer, van Bekkum, H., Roper, H., Voragen, A. L. J.L. (1996) *In Carbohydrates as Organic Raw Materials III*, Eds.; VCH: Weinheim, p 67.
- ⁴⁴ Dumitriu, S. (2005) Polysaccharides: structural diversity and functional versatility, 2n Ed. Marcel Dekker, 1-1204.
- ⁴⁵ Heinze, T. *Polysaccharides I: structure, characterisation and use*. Advances in polymer science. Ed Springer, 1-281.
- ⁴⁶ Kim, O. K., Je, J., Steven, J. W. B., Pehrsson, K. Pher E., and Buckley, L. J. (2003) *Solubilization of single-Wall Carbon Nanotubes by supramolecular encapsulation of helical amylose* J.Am. Chem. Soc. 125 (15), 4426-4427.
- ⁴⁷ Pollock, C. J., Cairns, A.J. (1991) *Ann. Rev. Plant. Mol. Biol.* 42, 77.
- ⁴⁸ Vijn, I., Smeekens, S. (1999) *Plant Physiol.* 120, 351.
- ⁴⁹ Livingston, D. P., Henson, C. A. (1998) *Plant Physiol* 116, 403.
- ⁵⁰ Rose, V. (1804) *Über eine eigenthümliche vegetabilische Substanz*, Gehlens Neues Algem. Jarhrb. Chem. 3 217.
- ⁵¹ Thomson, T.(1818); *A System of chemistry*, 5th London edition, vol. 4, Abraham Small, Philadelphia, p.65.
- ⁵² Sachs, J. (1864) *Über die Sphärokristalle des Inulins und dessen microscopische, Nachweisung in den Zellen*, Bot. Ztg. 22 77.
- ⁵³ Tanret, G. (1893) *Bull. Soc. Chim.* 3(9), 200.
- ⁵⁴ Tanret, G. (1893) *Bull. Soc. Chim.* 3(9), 622.
- ⁵⁵ Tanret, G. (1909) *C. R. Acad. Sci. Paris*, 149, 48.
- ⁵⁶ Haworth, W. N., Learner, A. (1928) *J. Chem. Soc.* 619.
- ⁵⁷ Haworth, W. N., Hirst, E.L., Percival E.G.V (1932) *J. Chem. Soc.* 2389.
- ⁵⁸ Haworth, W. N., Streight, H.R.L. (1932) *Helv. Chim. Acta* 15, 609.
- ⁵⁹ Bodycote, E.W., Haworth, W. N., Woolvin, C.S. (1932) *J. Chem. Soc.*, 2389.
- ⁶⁰ Hirst, E. L., McGilvray, D. I., Percival, E. G. V. (1950) *J.Chem. Soc.* 1297.
- ⁶¹ Suzuki, M., Chatterton N.J. (1993) *In science and technology of fructans*, Eds.; CRC Press: Boca Raton, FL, 21.
- ⁶² De Bruyn, A., Alvarez, A. P., Sandra, P., De Leenheer, L. (1992) *Carbohydr. Res.* 235, 303.
- ⁶³ De Leenheer, L., Hoebregs, H. (1994) *Starch* 46, 193.
- ⁶⁴ André, I., Puteaux, J.L., Chanzy, H. Tavel, F.R., Timmermans, J.W., De Wit, D. (1996) *Int. J. Biol. Macromol.* 18, 195.
- ⁶⁵ André, I., Mazeau, K., Tvaroska, I., Puteaux, J.L, Winter, W.T., Tavel, F.R., Chanzy, H. (1996) *Macromolecules*, 29, 4626.
- ⁶⁶ Liu, J., Waterhouse. A.L., Chatterton, N. J. (1993) *Carbohydr. Chem.* 12, 859.
- ⁶⁷ Koch, K., Andersson, R., Rydeberg, I.(1999) *J.Sci. Food & Arg.* 79, 1503.
- ⁶⁸ De Leenheer, L., Van Bekkum, H., Röper, H., Voragen, A.L.J. (1996) *In Carbohydrates as raw organic materials III.*, Eds. Elsevier Science Publishers, VCH, Weinheim, , 67.
- ⁶⁹ Stevens, C. V., Meriggi, A., Booten, K. (2001) *Chemical Modification of Inulin, a Valuable Renewable Resource, and Its Industrial Applications*. *Biomacromolecules* 2, 1.

-
- ⁷⁰ Praznik, W.; Beck, R. H. F.; Nitsch, E. (1984) *J. Chromatogr.* 303, 417.
- ⁷¹ Moerman, F.T., Van Leeuwen, M. B., Delcour, J.A. (2004) *J. Agric. Food. Chem.*, 52, 3780.
- ⁷² Niness, K. R., (1999) *J. Nutr.*, 129, S1402.
- ⁷³ Loesche, W. (1986) *J. Microbiol. Rev.* 50, 353.
- ⁷⁴ Lüscher, M.; Erdin, C.; Sprenger, N.; Hochstrasser, U.; Boller, T.; Wiemken, A (1996) *FEBS Lett.*, , 385, 39.
- ⁷⁵ Van den Ende, W.; Van Laere, A. (1996) *Planta*, 200, 335.
- ⁷⁶ Heyer, A.G., Schroer, B., Radosta, S., Wolff, D., Czapla, S., Springer, J. (1998) *Carbohydr. Res.*, 313, 165.
- ⁷⁷ Franck, A., Leveck, B. (2003) *Inulin*. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. DOI: 10.1002/14356007.g14_g02.
- ⁷⁸ eurostat.eu 2011 http://appsso.eurostat.ec.europa.eu/nui/show.do?dataset=apro_cpp_crop&lang=en
- ⁷⁹ Wilson, R. G., Smith, J.A., Yonts, C. D.(2004) *Crop Sci.*, 44 (3), 748-752.
- ⁸⁰ Van Loo, J.; Coussement, P.; De Leenheer, L.; Hoebregs, H.; Smits, G. (1995) *Crit.Rev.Food Sci. Nutr.*, 35, 525.
- ⁸¹ Sanno, T.; Ishikawa, M.; Nozawa, Y.; Hoshi, K.; Someya, K., (1984) *Proced. 2nd Neosugar Research Conference*, Tokyo.
- ⁸² Root, H., Baker, M.(1925) *Inulin and artichokes in the treatment of diabetes*. *Arch. Intern.Med.* 36, 126.
- ⁸³ Van Loo, J.; Cummings, J.; Delzenne, A.; Englyst, H.; Franck, A.; Hopkins, M.; Kok, N.; Macfarlane, G.; Newton, D.; Quigley M.; Roberfroid, M.; van Vliet, T.; van den Heuvel, E. (1999) *Br. J. Nutr.*, 81, 121.
- ⁸⁴ Taper, H. S.; Lemort, C.; Roberfroid, M. B.(1998) *Anticancer Res.*, 18, 4123.
- ⁸⁵ Taper, H. S.; Delzenne, N. M.; Roberfroid, M. B.(1997) *Int. J. Cancer*, 71, 1109.
- ⁸⁶ Reddy, B. S. (1998) *Br. J. Nutr.*, 80, Suppl. 2, S219.
- ⁸⁷ Reddy, B. S. (1997) *Hamid, R., Rao, C. V. Carcinogenesis*, 18, 1371.
- ⁸⁸ Mgina, C. A. K (2004) *Applications of D-Fructose and related carbohydrates in Organic Chemistry*. Ph Thesis, ISBN 90-90181873.
- ⁸⁹ Kieboom, A. P. G., van Bekkum, H., A. Fuchs (1985) *Verslagen van de Themadag Inulin*. Eds , NRLO Report W203, The Hague, 64.
- ⁹⁰ Fuchs, A. (1987) *Starch/Stärke*, 39, 335.
- ⁹¹ Van Dam, H. E., Kieboom, A. P. G., van Bekkum, H. (1986) *Starch/Stärke*, 38, 95.
- ⁹² Kunz, M., Fuchs, A. (1993) *Inulin and Inulin Containing Crops*. *Studies in Plant Science*. Eds. Elsevier Science Publishers, London/Amsterdam, Vol.3, 149.
- ⁹³ Franck, A., De Leenheer, D (2002).*Inulin*, in A.Steinbuchel: *Biopolymers*, vol. 6, VCH Weinheim, Germany, 439-479.
- ⁹⁴ Besemer, A. Van Bekkum, H. (1994) The relation between calcium sequestering capacity and oxidation degree of dicarboxy-starch and dicarboxy-inulin; *Starch/Stärke* 46, 419.
- ⁹⁵ Bessemer, A., van Bekkum, H. (1991) TNO, Method for preparation of calcium-binding polycarboxy compounds based on polysaccharides and replacements for phosphates in detergents, based on these polycarboxy compounds, PCT WO 91/17189.

-
- ⁹⁶ Verraest, D., Peters, J., van Bekkum, H. (1995) *Oxidation and carboxymethylation of sucrose and inulin*. Zuckerindustrie 120, 799.
- ⁹⁷ Besemer, A. C., van Bekkum, H. (1991) PCT WO 17189, 1991; Chem. Abstr., 115, 73980.
- ⁹⁸ Besemer, A. C., Van Bekkum, H. (1994) *Starch* 46, 419.
- ⁹⁹ Verraest, D., Peters, J., Batelaan, J., van Bekkum, H. (1995) *Carboxymethylation of inulin* Carbohydrate Research. 271, 101.
- ¹⁰⁰ Verraest, D., Batelaan, J., Peters, J. Van Bekkum, H. (Azko Nobel, 1995) *Carboxymethyl inulin* PCT WO 95/15984.
- ¹⁰¹ Verraest, D. L., Peters, J. A., Batelaan, J. G., Van Bekkum, H. (1995) Carbohydrate Research 271, 101-112.
- ¹⁰² Johnson, L., Verraest, D. L., Besemr, A. C., Van Bekkum, H., Peters, J. (1996) J. Inorg. Chem. 35, 5703.
- ¹⁰³ Palumbo, G., Carlucci, G. (1998) *Cationic polysaccharides* US005731259A.
- ¹⁰⁴ Tsai, J., Trzasko, P.T., Philbin, M. T., Billmers, R. L., Tessler M. M., Van Gompel, J.A., Rutenberg, M. W. (Última actualizació 27 Feb 2001) *Cationic polysaccharide(s) and reagents for their prepn. - polycationic reagent with polysaccharide reactive gp. and cationic gps., useful in mfr. of paper*. EP406837-A2; EP406837-A; CA2019675-A; JP3050201-A; FI9003441-A; AU9057942-A; AU9181195-A; AU9181197-A; AU9181189-A; AU9181191-A; AU633221-B; US5227481-A; AU638149-B; AU9335539-A; AU639352-B; AU639353-B; AU647332-B; US5349089-A; EP406837-B1; DE69023055-E; JP2509739-B2; CA2019675-C; US6193843-B1..
- ¹⁰⁵ Morille et al. (2008) Progress in developing cationic vectors for non-viral systemic gene therapy against cancer. Biomaterials, 29, 3477-3496.
- ¹⁰⁶ Kuzee, H. C., Bolkenbaas, M. E., Jonker, R. (1998) PCT WO 98/14482, 2, 15.
- ¹⁰⁷ Tadros, T.F. (2009) *Polymeric surfactants in disperse systems*. Advances in Colloid and Interface Science 147-148, 281-299.
- ¹⁰⁸ Tadros, TF., Vandamme, A., Booten, K., Levecke, B., Stevens., C.V. (2004) *Stabilization of emulsions using hydrophobically modified inulin (polyfructose)* Colloids and Surfaces A- Physicochemical and engineering aspects 250, 133-140.
- ¹⁰⁹ Exerowa, D., Kolarov, T., Pigov, I., Levecke, B., Tadros, T. (2006) Interaction forces in thin liquid films stabilized by hydrophobically modified inulin polymeric surfactant. 1. Foam films. Langmuir, 22 (11) 5013-5017.
- ¹¹⁰ Esquena, J., Dominguez, F.J., Solans, C., Levecke, B., Booten, K., Tadros, TF. (2003) *Stabilization of latex dispersions using a graft copolymer of inulin based surfactants*. Langmuir 19 (25) 10463-10467.
- ¹¹¹ Van den Mooter, G., Weuts, I., De Ridder, T., Blaton, N. (2006) International Journal of Pharmaceutics 316, 1-2.
- ¹¹² Ehrhardt, S. Haji Begli, A. Kunz, M., Sheiwe, L. (Südzucker, 1999) *Aliphatic carboxylate esters of inulin*, US Patent US 5, 877, 144.
- ¹¹³ Rogge, T. M.; Stevens, C. V. (2004) *Facilitated Synthesis of Inulin Esters by Transesterification* Biomacromolecules, 5, 1799-1803.
- ¹¹⁴ Rogge, T. M., Stevens, C. V., Booten, K., Levecke, B., Vandamme, A., Vercauteren, C., Haelterman, B., Carthouts, J., D'hooge, C. (2004) *Improved synthesis and physicochemical properties of alkoxylated inulin.*, Topics in Catalysis, 27, 1-4.
- ¹¹⁵ Hoebregs, (1997) AOACS methods nr 997.08, J. AOAC int., 80, 1029.

-
- ¹¹⁶ Shogren, R. L., Viswanathan, A., Felker, F., Gross, R. A., (200) *Distribution of Octenyl Succinic Anhydride Modified Waxy Maize Starch* Starch/Stärke 55, 196-204.
- ¹¹⁷ Olsen, E., D. (1986) *Métodos ópticos de análisis* Ed. Reverté. S.A 1,1.
- ¹¹⁸ Hiemenz, P. C., Raj Rajagopalan (1997) *Principles Colloid and Surface Chemistry*. 3rd. Ed. Marcel Dekker. Inc., 248-296.
- ¹¹⁹ Rosen, M. J., (2004) *Surfactants and Interfacial Phenomena*. 3rd. Ed., John Wiley & Sons. Inc., 103.
- ¹²⁰ Tanford, C. (1980) *The hydrophobic effect: Formation and biological membranes*. 2nd. Ed. John Wiley & Sons. Cap 4, 42-59.
- ¹²¹ Smith, M. B., March, J. (2001) *March's advanced organic chemistry, reactions, mechanisms, and structure*. 5th Ed. John Wiley & Sons, inc., 438.
- ¹²² Tomecko, C. G., & Adams, R. (1923). *The allyl ethers of various carbohydrates*. Journal of the American Chemical Society, 45, 2698-2701.
- ¹²³ Schacht, E., Ruys, L., Vermeersch, J., & Remon, J. P. (1984). Polymer-drug combinations: Synthesis and characterization of modified polysaccharides containing procainamide moieties. *Journal of Controlled Release*, 1, 33-46.
- ¹²⁴ Kunz, M., & Haji, B.A. (1995). *Inulin Derivatives, process for their preparation and their use*. EU Patent Office, Pat N°. EP 638589 A1.
- ¹²⁵ Rogge, T. M., Stevens, C. V., Booten, K., Levecke, B., Vandamme, A., Vercauteren, C., Haelterman, B., Carthouts, J., D'hooge, C. (2004) *Improved synthesis and physicochemical properties of alkoxyated inulin*, *Topics in Catalysis*, 27, 1-4.
- ¹²⁶ Gagnaire, J., Toraman, G., Descotes, G., Bouchu A., & Queneau, Y. (1999) *Synthesis in water of amphiphilic sucrose hydroxyalkyl ethers*. *Tetrahedron Letters*, 40, 2757-2760.
- ¹²⁷ Biranchinarayanan, T., Chowdhury, N. S., Narendra, N. D. (2000) *Carbohydrate Research*, 327, 345.
- ¹²⁸ Durand, A., & Dellacherie, E. (2006) *Neutral Amphiphilic Polysaccharides: Chemical structure and emulsifying properties*, *Colloid Polymer Science*, 284, 536-545.
- ¹²⁹ Song, X.; He, G.; Ruan, H.; Chen, Q. (2006) *Preparation and Properties of Octenyl Succinic Anhydride Modified Early Indica Rice Starch*. *Starch/Stärke*, 58, 109-117.
- ¹³⁰ Naskar, B., Dan, A., Ghosh, S., Moulik, S. P. 2010 *Viscosity and Solubility Behaviour of the Polysaccharide Inulin in Water, Water+Dimethylsulfoxide, and Water + Isopropanol Media*. *J. Chem. Eng. Data.*, 55, 2424-2427.
- ¹³¹ BeMiller, J. N., Steinheimer, T. R., & Allen, Earl E., Jr. (1967) *Alkaline degradation of inulin and its structural implications*. *Clinical Chemistry*, 13, 261-269.
- ¹³² Lipshutz, B. H. & Ghorai, S.. PQS: A New Platform for Micellar Catalysis. RCM reactions in water, with Catalyst Recycling, (2009) *Organic Letters*, 11, 3, 705-708.
- ¹³³ Miyagawa, C.C., Kupka, J. & Schumpe, A. *Rhodium-catalyzed hydroformylation of 1-octene in micro-emulsions and micellar media* (2005) *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 234, 9-17.
- ¹³⁴ Otto, S., Engberts, J. & Kwak, J. (1998). *Million-Fold Acceleration of Diels-Alder Reaction due to Combined Lewis Acid and Micellar Catalysis in Water*, *J. Am. Chem. Soc.*, 120, 9517-9525.
- ¹³⁵ Siswanto, C., Battal, T., Schuss, O. E. & Rathman, J. F. (1997). *Synthesis of Alkylphenyl Ethers in Aqueous Surfactant Solutions by Micellar Phase-Transfer Catalysis*. 1. *Single-Phase Systems*, *Langmuir*, 13, 6047-6052.
- ¹³⁶ Tascioglu, S. (1996) *Micellar Solutions as Reaction Media*, *Tetrahedron*, 52, 34, 11113-11152.

-
- ¹³⁷ Bunton, C. A., Nome, F., Quina, F. H. & Romsted, L. S. (1991). Ion Binding and Reactivity at Charged Aqueous Interfaces. *Acc. Chem. Res.*, 24, 12, 357-364.
- ¹³⁸ Durand, A. (2006) Synthesis of amphiphilic polysaccharides by micellar catalysis *J. Mol. Catal. A: Chem.*, 256, 284-289.
- ¹³⁹ Zana, C. (1995) *Aqueous Surfactant-Alcohol Systems: A Review*, *Adv. Colloid Interface Sci.* 57, 1-64.
- ¹⁴⁰ Rosen, M. J. (2004) Surfactants and interfacial phenomena, 3rd ed., Eds., John Wiley & Sons, Inc. Hoboken, New Jersey . Chapter 4.
- ¹⁴¹ Caldwell, C.G., Wurzburg, O. B. (1953) Polysaccharide derivatives of substituted dicarboxylic acids US 2,661,249.
- ¹⁴² Jeon, Y-S.; Viswanathan, A.; Gross, R. A. (1999) Studies of Starch Esterification: Reactions with Alkenylsuccinates in Aqueous Slurry Systems. *Starch/Stärke*, 51, 90-93.
- ¹⁴³ Dan, A.; Ghosh, S.; Moulik, S. P. (2009) Physicochemical Studies on the Biopolymer Inulin: A Critical Evaluation of Its Self-Aggregation, Aggregate-Morphology, Interaction with Water, and Thermal Stability Biopolymers, 9, 687-699.
- ¹⁴⁴ Bot, A.; Erle, U.; Vreeker, R.; Agterof, Wim G. M. (2004) *Influence of crystallisation conditions on the large deformation rheology of inulin gels*. *Food hydrocolloids*, 18, 547-556.
- ¹⁴⁵ Song, X.; He, G.; Ruan, H.; Chen, Q. (2006) Preparation and Properties of Octenyl Succinic Anhydride Modified Early Indica Rice Starch. *Starch/Stärke* 58, 109-117.
- ¹⁴⁶ Morros, J., Levecke, B. & Infante, MR, (2010). Chemical hydrophobic modification of inulin in aqueous media: Synthesis of β -hydroxyalkyl ethers of inulin. *Carbohydr. Polym.* 81, 681-686.
- ¹⁴⁷ Chi, H.; Xu, K.; Xue, K.; Song, C.; Zhang, W.; Wang, P. (2007) *Synthesis of dodecyl succinic anhydride (DDSA) corn starch*. *Food Research International*, 40, 232-238.
- ¹⁴⁸ Morros, J.; Levecke, B.; Infante, M. R. (2010b) *Synthesis of β -hydroxyalkyl ethers of inulin in aqueous surfactant media*. *Carbohydr. Polym.* 82, 1168-1173.
- ¹⁴⁹ Tascioglu, S. (1996) *Micellar solutions as reaction media* *Tetrahedron*, 52, 11113-11152.
- ¹⁵⁰ Hayter, J. B., Pentfold, J. (1983) *Determination of micelle structure and charge by neutron small-angle scattering*. *Colloid & Polymer Science* 261, 1022-1030.
- ¹⁵¹ Li, P. X., Dong, C. C., Thomas, R. K., Penfold, J., Yilin W. (2011) *Neutron Reflectometry of Quaternary Gemini Surfactants as a Function and Premicellar Aggregation* [dx.doi.org/10.1021/la104608k](https://doi.org/10.1021/la104608k) | *Langmuir* xxxx,xxx, 000-000.
- ¹⁵² Verraest, L., Peters J.A., Kuzee, H.C., Raaijmakers, W.C., Bekkum, H. ; *Carbohydrate Research* 302 (1997) 203.
- ¹⁵³ Magny, B., Iliopoulos, I., Audebert. R., Piculell. L., Lindman, B. (1992) *Interactions between hydrophobically modified polymers and surfactants*. *Progr. Colloid. Polym. Sci.* 89, 118-121
- ¹⁵⁴ Antunes, F. E., Marques, E. F., Miguel, M. G., Lindman, B. (2009) *Polymer-vesicle association*. *Advances in Colloid and Interface Science* 147-148, 18-35.
- ¹⁵⁵ Morros, J., Levecke, B., Infante, M. R. (2010). *Synthesis of β -hydroxyalkyl ethers of inulin in aqueous surfactant media*. *Carbohydrate Polymers.* 82, 1168-1173.
- ¹⁵⁶ Marques, E., Khan, A., Miguel, M. G., Lindman, B. (1993) *Self-Assembly in Mixtures of a Cationic and an Anionic Surfactant: The Sodium Dodecyl Sulfate-Didodecyl dimethylammonium Bromide-Water System*. *J.Phys. Chem.* 1993, 97, 4729-4736.
- ¹⁵⁷ Quemada, D., Berli, C. (2002) *Energy of interaction in colloids and its implications in rheological modeling*. *Adv. Colloid & Interface Science* 98, 51-85.

-
- ¹⁵⁸ Dubois, M., Zemb, Th. (2000) *Swelling limits for bilayer microstructures: the implosion of lamellar structure versus disordered lamellae* Current opinion in Colloid Science & Interface Science 5, 27-37.
- ¹⁵⁹ Gradzielski, M., Bergmeier, M., Müller, M. & Hoffman, H. (1997) *Novel Gel Phase : A Cubic Phase of Densely Packed Monodisperse, Unilamellar Vesicles* J. Physical Chemistry B 101, 10, 1719-1722.
- ¹⁶⁰ Tanford, C. (1980) *The hydrophobic effect: Formation and biological membranes*. 2nd. Ed. John Wiley & Sons; Cap. 6, pàg. 42-59.
- ¹⁶¹ Acharya, D. P., Kunieda, H. (2006) *Wormlike micelles in mixed surfactants solutions*. Advances in Colloid and Interfaces Science 123-126, 401-413.
- ¹⁶² Dreiss, C. A. (2007) Wormlike micelles: where do we stand? Recent developments , linear rhology and scattering techniques Soft Matter 3, 956-970.
- ¹⁶³ Khatory, A., Lequeux, F., Kern, F., Candau, S.,J. (1993) Linear and Nonlinear Viscoelasticity of Semidilute Solutions of Wormlike Micelles at high Salt Content. Langmuir 9, 1456-1464.
- ¹⁶⁴ Ignatius A., Kadoma and W. van Egmond, J. (1997) Shear-Enhanced orientation and concentration fluctuations in wormlike micelles: effect of Salt. Langmuir 13, 4551-4561.
- ¹⁶⁵ Spicer, T. P., Soloman, M. J. (2010) Microstructural regimes of colloidal rod suspensions, gels, and glasses Soft Matter 6, 1391-1400.