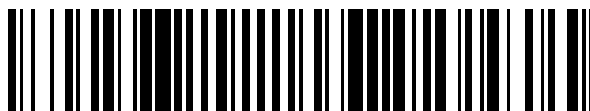


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 402 375**

51 Int. Cl.:

C07C 319/24 (2006.01)

C07C 321/18 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.11.2007** **E 07824508 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.01.2013** **EP 2079686**

54 Título: **Procesamiento del ajo**

30 Prioridad:

11.11.2006 GB 0622549

12.06.2007 GB 0711308

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
03.05.2013

73 Titular/es:

ECOSPRAY LIMITED (100.0%)
Grange Farm Cockley Cley Road
Hilborough Thetford, IP26 5BT, GB

72 Inventor/es:

BLOCK, ERIC y
GROOM, MURREE

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 402 375 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Procesamiento del ajo

Campo de la invención

- 5 La presente invención se refiere a métodos para procesar extractos del género *Allium*, especialmente ajo, para manipular la concentración y espectro de los polisulfuros contenidos en el mismo. La invención también se refiere a los productos así producidos, y a sus usos industriales, especialmente como agentes para la protección de cultivos y preparaciones terapéuticas.

Antecedentes y técnica anterior conocida por el solicitante

- 10 Las plantas del género *Allium* y, en particular, el ajo, han evolucionado para usar diversas moléculas que contienen azufre como agentes de defensa contra el daño tisular por microbios y el daño por alimentación por herbívoros.

- 15 El medio principal de defensa química de la planta de ajo requiere la conversión de aliina, un constituyente de la planta que contiene azufre, por una enzima aliinasa. El resultado de esta interacción es la liberación de alicina, una molécula inestable y biológicamente activa que contiene dos moléculas de azufre. La aliina a su vez se convierte en formas más reducidas de azufre, tales como polisulfuros con grupos funcionales metilo o bien alilo unidos a cada extremo de la cadena de azufre.

- 20 Las moléculas con longitudes de cadena de azufre más cortas tales como disulfuro de dialilo, disulfuro de dimetilo y sulfuro de dimetilo son muy estables, con una solubilidad en agua limitada, y pueden ser producidas en muy alta pureza por medios sintéticos. Una vasta cantidad de bibliografía ha identificado un rango de efectos biológicos de estas moléculas de longitud de cadena de azufre corta, que incluyen repelencia, efectos insecticidas, efectos fisiológicos sobre plantas, efectos estimulatorios sobre germinación de esporas fúngicas y posiblemente un amplio intervalo de efectos terapéuticos en el hombre, incluyendo propiedades antibióticas y anticancerosas.

- 25 Las moléculas de polisulfuro con longitudes de cadena de azufre más altas ($S \geq 3$, es decir, que contienen tres o más átomos de azufre) son también muy activas, con crecientes evidencias de un intervalo muy amplio de actividad biológica (insecticida, nematocida, molusquicida, repelente, anticancerosa, antibiótica y fungicida). Numerosos grupos están empezando a examinar la bioquímica de los polisulfuros de longitudes de cadena más altas en gran detalle, con particular énfasis en los sitios de acción para el trisulfuro de dialilo y el tetrasulfuro de dialilo. Una reciente revisión de la actividad conocida y potencial de los polisulfuros esboza el área: Münchberg, U. et al., "Polysulphides as biologically active ingredients of garlic", Org. Biomol. Chem., 2007, 10, 1505-1518.

- 30 Está surgiendo un consenso sobre que los polisulfuros derivados del ajo ofrecen un nuevo grupo de compuestos activos para nuevos productos terapéuticos contra muchas formas de cáncer humano. También está surgiendo rápidamente una visión similar sobre el potencial de estas moléculas como agentes para la protección de los cultivos.

- 35 Un procedimiento para la preparación de una mezcla de polisulfuros de bis-(2-metilpropenilo) con una longitud de cadena de azufre media de 4,21 mediante la reacción de un haluro de alilo con sodio y azufre elemental se describe en N. Yamada, et al., "Direct preparation of anhydrous sodium oligosulphides from metal sodium and elemental sulphur in aprotic organic media directed toward synthesis of silane coupling agent", Chem. Lett., 2002, 454-455.

- La conversión de disulfuro de bis-(2-cloroetilo) al correspondiente trisulfuro por reacción con azufre elemental se describe en R.C. Fuson, et al., "Levinstein mustard gas. IV. The bis(2-cloroethyl)polysulphides", J. Org. Chem., 1946, 11, 487-498.

- 40 Aunque es posible sintetizar químicamente polisulfuros desde el principio, surgen considerables ventajas del uso de polisulfuros derivados del material vegetal parental (p.ej. en un extracto de ajo). En primer lugar, el uso de los compuestos dentro de la matriz derivada de la planta confiere algo de estabilidad al espectro de los polisulfuros. Además, la síntesis química de estos compuestos es compleja, e implica manejar materiales significativamente peligrosos. El material derivado de la planta impone una carga significativamente más baja sobre cualquier entorno de fabricación, y sobre el medio ambiente en general. Hay una necesidad, por lo tanto, de tecnologías que ayuden a la manipulación, control y optimización de metodologías para procesar ajo y otros extractos derivados de *Allium*, y de hecho cualquier extracto vegetal que contenga alicina, tales como extractos derivados de ajo, cebollas, puerros, cebolletas, chalotes o repollo. Está entre los objetos de la presente invención intentar buscar una solución para algunos de estos problemas.

- 50 **Compendio de la invención**

Por consiguiente, la invención proporciona, en un primer aspecto amplio, un método para producir polisulfuros que comprende la etapa de añadir azufre elemental a un extracto vegetal que contiene alicina.

En la mayoría de las plantas, la alicina (éster S-2-propenílico del ácido 2-propeno-1-sulfinotioico) es producida por la acción de la enzima aliinasa (S-alqu(en)il-L-cisteína sulfoxido liasa) sobre el sustrato aliina (ácido (2R)-2-amino-3-

[(R)-prop-2-enilsulfenil]propanoico). La aliina y aliinasa están presentes en la planta en compartimentos separados, produciéndose la conversión enzimática sólo después de un daño en el tejido de la planta. El término “extracto” por lo tanto incluye material vegetal procesado que ha sido tratado mecánicamente para efectuar esta transformación. Los tratamientos mecánicos apropiados incluirían cortar, machacar o picar el material vegetal. Un método particularmente preferido es el uso de un procedimiento de liquidización que usa un “mezclador” comercial para efectuar una reducción de tamaño de partícula muy fino. El extracto puede ser sometido también a una etapa de retirada de agua para mejorar la estabilidad del producto (véase p.ej. la solicitud de patente internacional WO 2006/109028).

En realizaciones particularmente preferidas, el azufre elemental comprende azufre en polvo, amorfo (“Flores de Azufre”). Se prevé, sin embargo, que también se puedan emplear otros alótropos de azufre, o azufre fundido.

Preferiblemente, y en un segundo aspecto, dicho extracto vegetal es un extracto del género *Allium*, y especialmente un extracto de ajo, *Allium sativum* L.

En cualquier método, y en un tercer aspecto, se prefiere particularmente que el método comprenda además la etapa de calentar la mezcla así producida; preferiblemente, en un cuarto aspecto, dicha mezcla se calienta al menos hasta 60 grados Celsius, y más preferiblemente, en un quinto aspecto, dicha mezcla se calienta al menos hasta 70 grados Celsius.

En cualquier método, se prefiere particularmente, en un sexto aspecto, que el azufre se añada hasta una concentración de al menos 0,1% (en peso), más preferiblemente hasta una concentración de al menos 0,2% (en peso), incluso más preferiblemente hasta una concentración de al menos 0,5% (en peso); y lo más preferiblemente, en un séptimo aspecto, el azufre se añade hasta una concentración de al menos 1% (en peso).

La invención también proporciona un método para producir polisulfuros de longitud de cadena aumentada que comprende un método como el citado anteriormente, y caracterizado por que el pH de la mezcla así producida se ajusta para que esté por debajo de pH 4,0. Se prefiere particularmente que tal ajuste de pH se lleve a cabo con un ácido orgánico tal como ácido cítrico, ácido acético o ácido láctico. Los ácidos minerales tales como ácido clorhídrico y especialmente ácido sulfúrico son también preferidos.

La invención también proporciona un método para producir polisulfuros de longitud de cadena disminuida que comprende un método acorde con un método de los aspectos primero a séptimo, y caracterizado por la adición de una amina. Los compuestos que poseen átomos de nitrógeno con pares de electrones solitarios son particularmente preferidos, y especialmente la dibutilamina, o un aminoácido. Los aminoácidos que tienen átomos de nitrógeno adicionales en cadenas laterales son especialmente preferidos. Preferiblemente, tal método se caracteriza además porque el pH de la mezcla así producida se ajusta para que esté por encima de pH 8.

Descripción de las realizaciones preferidas

Como ilustraciones de diversas realizaciones de la invención, se describirán ejemplos de métodos para manipular la composición de polisulfuros de extractos de ajo:

Fase 1 Experimentos

Se obtuvieron muestras de extracto de ajo enriquecido en alicina (“disolución estándar”) de Neem Biotech Ltd., Cardiff, CF14 6HR, Reino Unido. La concentración de alicina en el material de las muestras fue alrededor de 10.000 ppm (en peso).

Tales muestras enriquecidas en alicina se usaron por simplicidad analítica, pero los ejemplos descritos a continuación y los métodos descritos en la presente memoria se pueden usar igualmente con extractos vegetales que contengan alicina no enriquecidos. Se puede producir un material de partida adecuado mediante el tratamiento mecánico de bulbos del género *Allium*, y especialmente de ajo, *Allium sativum* L.

Se usaron dos submuestras del material enriquecido en alicina, una de las cuales se usó en estudios a 60°C y una se usó en estudios a 70°C.

A cada temperatura se generaron las siguientes condiciones de reacción, y se mantuvieron durante una hora:

(1) Disolución estándar (5 g) calentada.

(2) Disolución estándar (5 g) con 50 mg de azufre elemental añadido, después calentada.

(3) Disolución estándar (5 g) con 5 mg de azufre elemental añadido, después calentada.

(4) Disolución estándar (5 g) con 5 mg de azufre elemental añadido y 20 mg de dibutilamina, después calentada.

El azufre usado estaba en la forma de azufre en polvo comercial (“Flores de Azufre”).

Los estudios a ambas temperaturas fueron controlados frente a una muestra mantenida en un refrigerador durante el mismo periodo de una hora en que las disoluciones de ensayo estaban siendo calentadas.

Después de la compleción de la fase de calentamiento, las disoluciones fueron enfriadas rápidamente y después se analizaron por HPLC unas horas más tarde.

- 5 La Tabla 1 detalla la concentración de los polisulfuros encontrados en las muestras de control (refrigeradas durante 1 hora).

Tabla 1

Molécula	Control para el grupo de muestras a 60 grados		Control para el grupo de muestras a 70 grados	
	Concentración real mAU*s	% de polisulfuro, cromatograma	Concentración real mAU*s	% de polisulfuro, cromatograma
DAS	0	0	0	0
DAS2	17,3	11,6	100	4,6
DAS3	66,7	44,7	1311,1	61,3
DAS4	12,7	8,5	128,6	6,0
DAS5	0	0	14,5	0,7
DAS6	0	0	0	0
* Área bajo el pico de HPLC: Unidades de mili-Absorbancia.s				

Las moléculas analizadas fueron las que siguen:

- 10 DAS: Sulfuro de dialilo
 DAS2: Disulfuro de dialilo
 DAS3: Trisulfuro de dialilo
 DAS4: Tetrasulfuro de dialilo
 DAS5: Pentasulfuro de dialilo
 15 DAS6: Hexasulfuro de dialilo

Condición de reacción (1): Esta muestra fue calentada a 60°C o bien 70°C, y mantenida a esa temperatura durante 1 hora. Los resultados del análisis de los productos resultados de este tratamiento se presentan en la Tabla 2 (nomenclatura como antes):

Tabla 2

Molécula	Calentamiento a 60 grados		Calentamiento a 70 grados	
	Concentración real mAU*s	% de polisulfuro, cromatograma	Concentración real mAU*s	% de polisulfuro, cromatograma
DAS	0	0	0	0
DAS2	20	15,6	78,5	6,2
DAS3	79,0	60,9	820	64,7
DAS4	13,0	10,0	118,4	9,3
DAS5	0	0	12,6	1,0
DAS6	0	0	0	0

Condición de reacción (2): Esta muestra fue tratada mediante la adición de 50 mg de azufre elemental a los 5 g de muestra, dando una concentración total de 1% (en peso). La muestra se mezcló mediante agitación vigorosa, y se mantuvo a 60°C o bien 70°C. Los resultados del análisis de los productos resultados de este tratamiento se presentan en la Tabla 3 (nomenclatura como antes):

5

Tabla 3

Molécula	Grupo de muestras a 60 grados		Grupo de muestras a 70 grados	
	Concentración real mAUs	% de polisulfuro, cromatograma	Concentración real mAUs	% de polisulfuro, cromatograma
DAS	0	0	0	0
DAS2	26,4	13,0	28,2	3,3
DAS3	99,5	48,7	347,6	41,1
DAS4	23,6	11,5	241,8	28,64
DAS5	18,0	8,8	102,8	12,2
DAS6	9,1	4,4	20,7	2,4

Condición de reacción (3): Esta muestra fue tratada mediante la adición de 5 mg de azufre elemental a los 5 g de muestra, dando una concentración total de 0,1% (en peso). La muestra se mezcló mediante agitación vigorosa, y se mantuvo a 60°C o bien 70°C. Los resultados del análisis de los productos resultados de este tratamiento se presentan en la Tabla 4 (nomenclatura como antes):

10

Tabla 4

Molécula	Grupo de muestras a 60 grados		Grupo de muestras a 70 grados	
	Concentración real mAUs	% de polisulfuro, cromatograma	Concentración real mAUs	% de polisulfuro, cromatograma
DAS	0	0	0	0
DAS2	27,3	14,5	133,8	6,2
DAS3	104,8	55,76	1195,7	55,4
DAS4	19,8	10,5	313	14,5
DAS5	6,2	3,3	88,5	4,1
DAS6	0	0	0	0

Condición de reacción (4): Esta muestra fue tratada mediante la adición de 5 mg de azufre elemental a los 5 g de muestra, dando una concentración total de 0,1% (en peso) de azufre y también mediante la adición de 20 mg de dibutilamina (dando una concentración de 0,4% en peso). La muestra se mezcló mediante agitación vigorosa, y se mantuvo a 60°C o bien 70°C. Los resultados del análisis de los productos resultados de este tratamiento se presentan en la Tabla 5 (nomenclatura como antes):

15

Tabla 5

Molécula	Grupo de muestras a 60 grados		Grupo de muestras a 70 grados	
	Concentración real mAUs	% de polisulfuro, cromatograma	Concentración real mAUs	% de polisulfuro, cromatograma
DAS	7,2	4,1	3,0	0,5
DAS2	21,5	12,0	44,7	7,1

DAS3	84,2	47,1	379,0	60,4
DAS4	37,3	20,9	88,7	14,1
DAS5	12,1	6,8	29,7	4,7
DAS6	0	0	0	0

Aunque hubo diferencias bastante sustanciales en las concentraciones de polisulfuro iniciales, en las dos muestras “enriquecidas en alicina” los datos muestran una clara consistencia en reactividad en ambas disoluciones para la adición de calor, azufre y aminas básicas.

- 5 Los datos iniciales mostrados en las tablas 1-5 muestran claramente que el patrón de conversión de la alicina a polisulfuros en ausencia de azufre fue muy similar a las dos temperaturas, sin ninguna indicación de que los polisulfuros superiores tales como DAS4, DAS5 y DAS6 aumentarían en concentración según aumentó la temperatura de incubación.
- 10 Cuando se añadió azufre a 50 mg/5 g (1% en peso), hubo un claro aumento en la concentración de los polisulfuros superiores a ambas temperaturas. La concentración de DAS4 se duplicó a ambas temperaturas. La concentración de DAS5 aumentó cinco veces a 70°C, y el DAS6 apareció por primera vez tanto a 60°C como 70°C.
- 15 En el nivel más bajo de adición de azufre, 5 mg/5 g (0,1% en peso), hubo una ganancia en los polisulfuros superiores similar a la vista en la adición de 50 mg, pero, de manera más importante, hubo una ganancia relativa incluso mayor en DAS4 a 70°C, que pareció ser compensada por una reducción en las concentraciones relativas de DAS5 y DAS6. El DAS4 es un polisulfuro particularmente importante en relación con la protección de los cultivos.
- Estos resultados muestran claramente que en base a la concentración de DAS4, hay un considerable alcance para mejorar los extractos de ajo para aumentar la concentración de DAS4 mediante una combinación de adición de azufre y calentamiento suave.
- 20 En el primer análisis, la adición de azufre a 0,1% en peso (aprox. 1 kg/tonelada) podría triplicar la concentración de DAS4 si las disoluciones enriquecidas en alicina son calentadas posteriormente hasta 70°C durante una hora.
- 25 La última combinación experimental incluyó la adición de dibutilamina con 5 mg de azufre, lo que produjo un patrón de acumulación de polisulfuro completamente diferente a la adición de sólo azufre. La adición de la amina catalizó la descomposición de los polisulfuros superiores y produjo dos resultados relacionados con la temperatura de incubación: a la temperatura más fría, la catálisis de la dibutilamina en presencia de 0,1% en peso de azufre pareció triplicar la concentración de DAS4 cuando se comparó con el control de incubación frío. Esto contrastó con una reducción sustancial de la concentración de DAS4 observada a la temperatura de incubación de 70°C. Además, la dibutilamina (par de electrones solitario en el nitrógeno) también catalizó la generación de sulfuro de dialilo, DAS, la primera vez que esta molécula apareció en cualquiera de las secuencias de reacción.
- 30 Este grupo de experimentos identifica claramente un considerable alcance para mejoras en la producción de composiciones que contienen polisulfuros obtenibles a partir de fuentes vegetales tales como el ajo. Estas mejoras podrían tener significativos resultados de costes y eficacia.

Fase 2 Experimentos

- 35 En una serie adicional de experimentos, la manipulación de la composición de polisulfuros de extractos de ajo se llevó a cabo sobre extractos recién preparados, y también extractos que habían sido almacenados en estado congelado durante aproximadamente tres meses, para demostrar la aplicabilidad de la técnica sobre muestras que tenían variación en su matriz de fondo, que podría ser un resultado de la variación biológica típica observada a menudo con tales productos naturales. Las muestras tenían diferentes apariencias (un color diferente), siendo esto indicativo de diferencias entre la matriz vegetal en la que se encuentra la alicina.
- 40 Las muestras, de nuevo procedentes de Neem Biotech Ltd, que contenían aproximadamente 10.000 ppm de alicina, fueron almacenadas en estado congelado. Se descongelaron submuestras y se pesaron en alícuotas de 10 g seguido de diversos acondicionamientos con azufre elemental.
- Después, todas las muestras se calentaron a 70°C durante 1 hora con agitación vigorosa periódica, antes de un enfriamiento rápido en agua helada.
- 45 Después de enfriar, se añadieron muestras de 100 mg de los sobrenadantes reaccionados a 10 ml de etanol puro, después las disoluciones resultantes se mezclaron y se filtraron submuestras antes del análisis por HPLC.
- Las muestras fueron codificadas como “Nov 06” para las muestras envejecidas, que eran de color naranja claro. La muestra no envejecida fue codificada como “Mar 07”, y fue de un color claramente verde; ambas tenían un olor

similar a ajo recién machacado.

Las reacciones con azufre fueron controladas frente a una submuestra calentada sin adición de azufre y una submuestra sin adición de azufre colocada en un refrigerador. Después de una hora, todas las disoluciones experimentales fueron procesadas y analizadas por HPLC como un grupo.

5 Se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 6

Muestra:	Nov 06 Frío	Mar 07 Frío	Nov 06 Calor	Mar 07 Calor	Nov 06 Calor + 20 mg de Azufre	Mar 07 Calor + 20 mg de Azufre	Nov 06 Calor + 50 mg de Azufre	Mar 07 Calor + 50 mg de Azufre
Molécula								
DAS	-	-	-	-	-	-	-	-
DAS2	-	9,85	-	-	-	-	7,56	-
DAS3	39,27	61,06	136,46	121,85	86,89	85,6	116,29	106,9
DAS4	6,4	9,64	23,01	20,01	22,23	21,89	28,24	34,38
DAS5	-	-	-	-	14,58	15,69	18,80	38,35
DAS6	-	-	-	-	-	-	15,18	34,07
DAS7	-	-	-	-	32,73*	35,85*	94,93*	288,17*
* Estas respuestas también podrían incluir una respuesta del azufre elemental, y por tanto deben ser tratadas con precaución. Las unidades para todos los resultados son mAU.								

La nomenclatura para DAS, DAS2, etc. es como anteriormente. DAS7 es heptasulfuro de dialilo.

10 Los datos muestran claramente que algunos polisulfuros estaban presentes en las muestras al principio, teniendo ambas muestras un grado de similitud en el inicio del experimento. El impacto del calor es claro, mostrando ambas muestras, Nov 06 y Mar 07, un claro aumento en las concentraciones de DAS3 y DAS4. Las muestras Nov 06 muestran la mayor ganancia relativa: 247% frente a 99% para las muestras Mar 07. También es evidente un patrón similar para la ganancia en DAS4 (259% frente a 107%).

15 La inclusión de azufre a 20 mg/celda de ensayo induce claramente la aparición de DAS5, a costa de lo que parece ser el consumo de DAS3. También aparece DAS7, pero esto está aún por confirmar debido a la posibilidad de co-elución de DAS7 y azufre elemental.

Añadir azufre a 50 mg/celda de ensayo parece producir un aumento generalizado en todos los polisulfuros más allá de DAS3, con la aparición de DAS2 en las muestras Nov 06 y DAS6 en ambas muestras Nov 06 y Mar 07.

20 Los datos, en general, parecen confirmar que las diferentes fuentes de material enriquecido en alicina exhiben diferente reactividad al calor, convirtiendo la muestra Nov 06 relativamente más de la alicina en DAS3 y DAS4. En contraste a esto, la muestra Mar 07 parece convertir más del azufre elemental en los polisulfuros superiores (DAS5 y DAS6) en lo que parece ser una reacción que implica DAS3, dado que esta molécula está disminuyendo claramente en concentración según aumentan los polisulfuros superiores.

25 Estos datos, junto con otros estudios sobre las muestras Nov 06 (como se describe anteriormente) proporcionan fuertes evidencias de que la condición de la matriz portadora afecta al proceso de conversión de alicina en polisulfuros, bien mediante calor solamente, o bien con calor y azufre adicional.

Tanto los estudios de la fase 1 como de la fase 2 muestran que la elevación en la concentración de azufre conduce a la aparición de DAS6. Los dos estudios también muestran que un nivel intermedio de adición de azufre conduce a la generación de DAS5, sin la aparición de DAS6.

30 También se muestra que el DAS4 aumenta en concentración con la adición de azufre creciente, con aumentos en concentración de hasta cuatro veces, advertidos tanto en las muestras Nov 06 como Mar 07 cuando se añade azufre en proporciones de 50 mg/10 g.

Independientemente de las diferencias relativas en "reactividad" de las dos fuentes de alicina, hay un claro resultado

general para la combinación de calor y adición de azufre.

5 El calor convierte la alicina en DAS3, aumentar el azufre convierte el DAS3 en DAS4, DAS5 y DAS6, las ganancias relativas de los cuales parecen ser afectadas por la matriz y la concentración de azufre. El primer experimento sobre el material de Nov 06 (fase uno) también mostró claramente que la introducción de una base (p.ej. dibutilamina) tuvo un efecto catalítico sobre la descomposición de los polisulfuros superiores, en particular tetrasulfuro de dialilo y pentasulfuro de dialilo, causando la aparición de sulfuro de dialilo.

Observaciones generales

10 Los experimentos de la fase uno y la fase dos anteriores indican un alto grado de predictibilidad general en la conversión de alicina en polisulfuros. El calor, en combinación con azufre creciente, conduce inevitablemente a la acumulación de los polisulfuros superiores DAS3, DAS4, DAS5 y DAS6.

Los puntos finales en el proceso de conversión son susceptibles a la concentración de azufre relativa, sugiriendo que la relación de concentraciones de DAS3, DAS4, DAS5 y DAS6 puede ser manipulada mediante alteraciones en el control del proceso.

15 Hay también algunas evidencias, a partir del estudio de la fase uno, de que el pH de la matriz (y por tanto el estado de protonación de los pares de electrones solitarios del nitrógeno en p.ej. aminas endógenas y añadidas) tiene un profundo efecto sobre la acumulación de, por ejemplo, DAS4 y DAS5.

20 Parece por lo tanto que hay dos efectos opuestos que operan en un extracto de ajo "típico" cargado con alicina. Un efecto es el predecible aumento y acumulación de polisulfuros superiores como resultado de la adición de azufre elemental y calor. El segundo efecto es la rápida rotura catalítica de estos polisulfuros superiores a DAS y DAS2 en presencia de aminas no protonadas. Estos dos efectos, por lo tanto, permiten a los destinatarios expertos manipular el espectro de polisulfuros para producir un producto deseado.

25 Con una manipulación apropiada de la matriz antes del tratamiento, por ejemplo un control del pH y una regulación del contenido de aminoácidos, se pueden generar las condiciones para la generación sustancial de DAS4, DAS5 y DAS6 antes del calentamiento y la adición de azufre. La manipulación de la interrelación entre calor y azufre permite una diferenciación bastante sustancial en las concentraciones reales y relativas de DAS3, DAS4, DAS5 y DAS6 para ser tenidas en cuenta en el proceso de fabricación.

REIVINDICACIONES

1. Un método para producir polisulfuros, que comprende la etapa de añadir azufre elemental a un extracto vegetal que contiene alicina.
2. El método de la reivindicación 1, en donde dicho extracto vegetal es un extracto del género *Allium*.
- 5 3. Un método según cualquier reivindicación 1 o 2, que comprende además la etapa de calentar la mezcla así producida.
4. Un método según la reivindicación 3, en donde dicha mezcla se calienta al menos hasta 60 grados Celsius.
5. Un método según la reivindicación 3, en donde dicha mezcla se calienta al menos hasta 70 grados Celsius.
- 10 6. Un método según cualquier reivindicación precedente, en donde se añade azufre hasta una concentración de al menos 0,1% (en peso).
7. Un método según cualquier reivindicación precedente, en donde se añade azufre hasta una concentración de al menos 1% (en peso).
- 15 8. Un método para producir polisulfuros de longitud de cadena aumentada, que comprende un método según cualquier reivindicación precedente y **caracterizado por que** el pH de la mezcla así producida se ajusta para que esté por debajo de pH 4,0.
9. Un método para producir polisulfuros de longitud de cadena disminuida, que comprende un método según cualquiera de las reivindicaciones 1-7 y **caracterizado por** la adición de una amina.
10. Un método según la reivindicación 9, en donde dicha amina es dibutilamina.
11. Un método según la reivindicación 9, en donde dicha amina es un aminoácido.
- 20 12. Un método según cualquiera de las reivindicaciones 9-11, y además **caracterizado por que** el pH de la mezcla así producida se ajusta para que esté por encima de pH 8.