
DESARROLLO DE NANOEMULGELES CON ACEITE ESENCIAL DE MANDARINA ECOLÓGICA Y GOMA GUAR



19 de junio de 2019

Universidad de Sevilla
Trabajo Fin de Grado
Curso 2018/2019

Jesús Manuel Antúnez Domínguez

Directoras: Dra. D^a Nuria Calero Romero y Dra. D^a Jenifer Santos García
Dpto. Ingeniería Química (Facultad de Química)

Índice general

1. Objetivos Generales	4
2. Fundamento teórico	5
2.1. Química Verde. Aceite esencial de Mandarina	5
2.2. Emulsiones	6
2.2.1. Termodinámica de las emulsiones	7
2.2.2. Parámetros de estabilización	8
2.2.2.1. Tamaño de gota	8
2.2.2.2. Estabilizantes. El sistema HLB	10
2.2.2.3. Modificadores. Geles	13
2.3. Mecanismos de desestabilización	14
2.3.1. Separación gravitacional	15
2.3.2. Floculación	16
2.3.3. Coalescencia	16
2.3.4. Maduración de Ostwald	17
2.3.5. Inversión de fase	17
2.4. Reología	18
2.4.1. Comportamientos ideales	19
2.4.2. Comportamientos reales	20
2.4.2.1. Dependencia con la velocidad de cizalla	20
2.4.2.2. Dependencia con el tiempo de cizalla	21
2.4.2.3. Comportamiento viscoelástico	21
2.4.3. Ensayos reológicos	22
3. Desarrollo Experimental	25
3.1. Equipamiento	25
3.1.1. Materiales	25
3.1.2. Dispositivos	25

3.1.3. Medidas de seguridad	27
3.2. Procedimientos	27
3.2.1. Formulación	27
3.2.2. Preparación de nanoemulgeles	28
3.2.3. Ensayos	29
3.2.3.1. Medidas de la DTG	29
3.2.3.2. Ensayos reológicos	29
3.2.3.2.1. Barrido de esfuerzo:	29
3.2.3.2.2. Barrido de frecuencia:	29
3.2.3.2.3. Curva de flujo:	29
3.2.3.3. Medidas de estabilidad	30
4. Resultados y Discusión	31
4.1. Medidas de la DTG	31
4.2. Ensayos reológicos	35
4.2.1. Barridos de esfuerzo. Cálculo del esfuerzo crítico	35
4.2.2. Barrido de frecuencias	38
4.2.3. Curvas de flujo. Ajuste al modelo de Cross	38
4.2.4. Medidas de estabilidad	40
5. Conclusión	45
6. Nomenclatura	46
7. Referencias	48
Referencias	48

Resumen

Mediante la síntesis de nanoemulgeles, se consiguió mejorar la utilidad y la seguridad del aceite esencial de mandarina ecológica para su uso en la nueva generación de productos de la química verde. Varios aspectos se tuvieron en cuenta para asegurar la optimización de la estabilidad del formato en el tiempo:

- Se tomó el tamaño de gota como parámetro fundamental de control, alcanzando el tamaño nanométrico en las gotas de la fase dispersa de aceite esencial usando el homogeneizador a presión Micofluidizer.

- Se valoró el efecto de dos agentes tensioactivos en conjunto, el polisorbato 80, también conocido como Tween 80, y el monooleato de sorbitano conocido como Span 80, de tal manera que se compararon las propiedades resultantes para diferentes proporciones relativas de cada uno respecto a la formulación general.

- Se reforzó el sistema a través del uso de goma guar de grado alimentario, que no solo proporciona estructura a la emulsión, sino que también altera las propiedades reológicas del conjunto para hacerlas más atractivas.

Finalmente, una vez preparados los nanoemulgeles, fueron caracterizados para determinar el tamaño de gota, las propiedades reológicas a través de barridos de deformación, de frecuencia y curvas de flujo; y se estudiaron los mecanismos de desestabilización mediante la técnica de Multiple Light Scattering (MLS).

Palabras clave: aceite esencial de mandarina, emulsiones, emulgeles, reología, tensioactivos.

Sección 1

Objetivos Generales

Los objetivos perseguidos con la realización de este trabajo son:

1. Obtención de nanoemulgeles estables, a partir del aceite esencial de mandarina ecológica y goma guar.
2. Optimización del tamaño de gota y estabilidad según la proporción de tensioactivos Tween/Span empleados en la emulsión.
3. Estudiar la reología de los nanoemulgeles resultantes para la caracterización de sus propiedades y estructura.
4. Identificar los mecanismos de desestabilización para cada una de las formulaciones sintetizadas.

Sección 2

Fundamento teórico

2.1. Química Verde. Aceite esencial de Mandarina

Una de las motivaciones esenciales en este trabajo está destinada a su aplicación en el desarrollo de productos renovables y más respetuosos con el medio ambiente. Este es uno de los cometidos principales de la química verde, rama en pleno desarrollo de la química en la que la prioridad de la investigación y producción reside en la sostenibilidad medioambiental.

La base de la química verde reside en principios relacionados no sólo con aspectos ecológicos, sino también sociales y económicos. (Anastas y Warner, 1998). Favoreciendo la prevención de la generación de residuos en lugar de una posterior gestión, siendo además cualquiera de los componentes involucrados sustancias de toxicidad nula o reducida. En cuanto al origen de los componentes, debe ser preferiblemente renovable y su explotación sostenible. En el procesado del producto, se debe fomentar el ahorro energético y material, evitando el uso de sustancias que no formen parte del resultado final y al término de su vida, los componentes deben degradarse en sustancias inocuas y cuyo impacto no persista en el medio ambiente.

En la elaboración de las emulsiones de este trabajo se tienen en cuenta varios de estos preceptos. Al provenir del cultivo de la mandarina, el aceite esencial usado es renovable, es más, por su denominación de ecológico, se asegura la sostenibilidad en su producción. Se trata de un compuesto no tóxico y regulado como “sustancia generalmente reconocida como segura” (GRAS) (FDA, 2017), aunque en laboratorio requiere ciertas medidas de seguridad para su manipulación a la vez que tiene riesgos de peligrosidad asociados a su inflamabilidad. Sus efectos en el medio ambiente son de corta duración, y aunque es tóxico para la vida acuática; su baja solubilidad, alta volatilidad y biodegradabilidad, lo hacen seguro para el medio ambiente (Nikfar y Behboudi, 2014).

El aceite esencial de mandarina tiene reconocidas muchas cualidades de interés en la industria química: antifúngico y antibacteriano, insecticida y repelente, antiproliferativo, quimioprotector, antioxidante y por supuesto, posee excepcionales características organolépticas (Dosoky y Setzer, 2018). Por ello, es un componente de gran interés en aplicaciones medicinales, industriales y alimentarias. Su componente mayoritario es el D-limoneno, seguido del γ -terpineno, disolventes

de gran interés en la química verde ; ahí su potencial uso en el desarrollo de nuevos productos (Ciriminna R, Lomeli-Rodriguez M, Demma Carà P, Lopez-Sanchez JA, 2014).

El aceite esencial proviene del procesamiento de la cáscara de la mandarina (*Citrus nobilis* o *Citrus reticulata*) mediante la técnica de prensado en frío, que permite obtener los extractos a través de grandes compresiones sin elevar la temperatura. Por lo tanto, la ventaja de este proceso respecto a otros comunes, como la destilación, reside en una mejor conservación de los elementos volátiles y susceptibles de desnaturalizarse u oxidarse a altas temperaturas que están presentes en la cáscara.

Estos fenómenos también ocurren, aunque en menor medida, a temperatura ambiente; siendo necesario garantizar las condiciones de conservación adecuadas para su correcto almacenamiento: un recipiente hermético, en lugar resguardado de la luz y a temperatura constante preferiblemente baja, incluso refrigerado. De lo contrario, sus propiedades se verán considerablemente mermadas. Por consiguiente, la estabilidad de sus componentes es un factor clave en la utilidad del aceite esencial.

Por estas razones, la aplicación directa del aceite esencial se vuelve entonces inviable en la mayoría de los casos, y se requiere la síntesis de un formato lo que separe y conserve durante su uso de forma sencilla. Además, como se dijo anteriormente, su uso en estado puro puede resultar peligroso por su inflamabilidad y efectos irritantes al contacto. Por ello, se aprovecha su uso en emulsiones que permiten el mantenimiento de sus características durante mayor tiempo además de disminuir la cantidad necesaria del aceite, suponiendo una optimización del recurso y un aumento de la seguridad.

2.2. Emulsiones

Una emulsión es un tipo de coloide, esto es, una mezcla homogénea formada por dos fases inmiscibles. Está formado por una fase continua que contiene las partículas de la fase dispersa distribuidas por todo su volumen. El que la mezcla sea homogénea conlleva que estas partículas o gotas de la fase dispersa tengan tamaño micrométrico o menor, siendo imposible diferenciar los dos componentes a simple vista.

En el caso de las emulsiones, ambas fases se encuentran en estado líquido, por lo que una de ellas suele ser una fase orgánica y la otra acuosa. Dependiendo de cuál sea la fase continua, las emulsiones se clasifican en emulsiones O/W (oil in water) si es el agua o W/O (water in oil) si por el contrario lo es el aceite. El primer parámetro de importancia de una emulsión es entonces la fracción de fase dispersa respecto al total, que puede calcularse en volumen ϕ o en masa ϕ_m , estando ambas relacionadas por:

$$\phi_m = \frac{\phi \rho_2}{\phi \rho_2 + (1 - \phi) \rho_1} \quad (2.1)$$

Existen también sistemas más complejos en los cuales gotas de una emulsión son a su vez dispersadas en una fase continua formando emulsiones múltiples (Figura 2.1). En el caso de tres componentes se forman emulsiones O/W/O o W/O/W, en las que la fase dispersa original puede o no coincidir con la fase continua final. (Rosano, Gandolfo, y Hidrot, 1998)

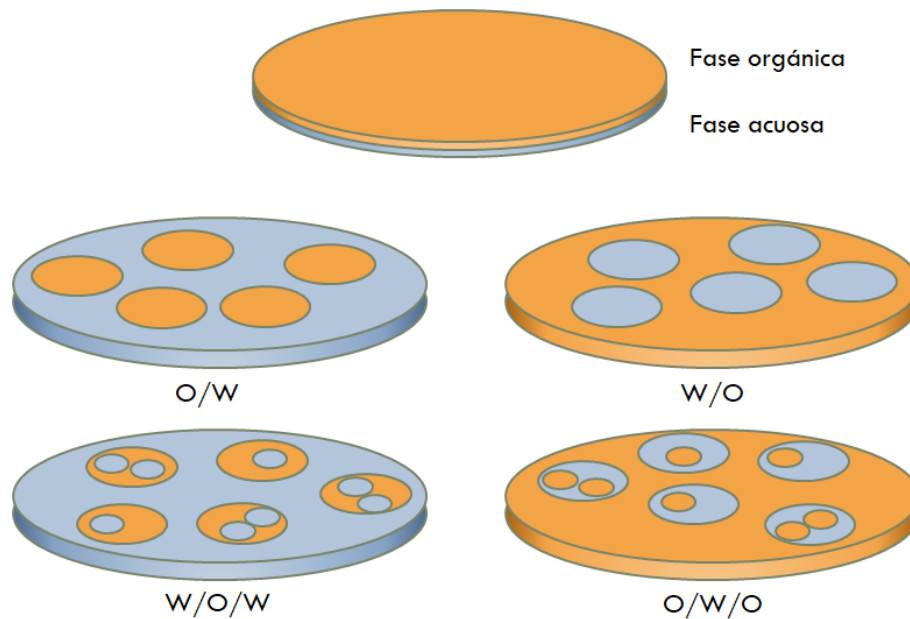


Figura 2.1: Clasificación de las emulsiones simples y múltiples según su composición.

2.2.1. Termodinámica de las emulsiones

Una de las principales características de las emulsiones es que son termodinámicamente inestables y con el paso del tiempo las fases tienden a separarse. Sin embargo, si pueden llegar a ser cinéticamente estables y mantenerse por períodos prolongados dadas ciertas circunstancias, que serán desarrolladas más adelante en el apartado 2.2.2. La termodinámica de las emulsiones procede del cambio en la energía libre del sistema. El cambio de una única intercara entre los líquidos inmiscibles, que consideramos esférica, respecto a un sistema en el que la fase dispersa se divide en varias esferas o gotas, viene dado por:

$$\Delta G^{emul} = \Delta A\sigma - T\Delta S \quad (2.2)$$

Donde la contribución que proviene del aumento de área por la tensión superficial σ que

soporta se compensa con el aumento de la entropía. En la mayoría de casos, la suma suele ser positiva, lo que conlleva que la formación de emulsiones sea un proceso no espontáneo que requiere el suministro de energía (T. F. Tadros, 2013). Aun así, existen excepciones como es el caso del efecto Ouzo, en el que la fase dispersa se encuentra previamente disuelta en un disolvente que sí es soluble en la fase continua, provocando la saturación y separación del primero al mezclarlos y formando una emulsión espontánea (Vitale y Katz, 2003).

Una emulsión tiende a descomponerse por uno de los varios procesos de desestabilización existentes en ausencia de la participación de ninguna forma de estabilización. Por el contrario, cuando están presentes, se forman valles de estabilidad en la energía libre que dificultan y retrasan su degradación (Figura 2.2).

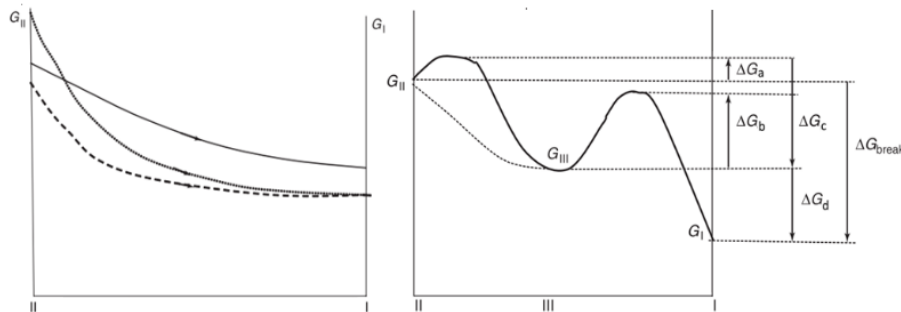


Figura 2.2: Transición de energía libre de un estado II (emulsión) a I (separación) sin y con mecanismos de estabilización respectivamente, donde cada curva representa una forma de desestabilización del sistema. En la segunda figura se aprecia la aparición de un estado intermedio estable III (T. F. Tadros, 2013).

2.2.2. Parámetros de estabilización

2.2.2.1. Tamaño de gota

Uno de los parámetros principales el comportamiento de una emulsión es el tamaño de gota de la fase dispersa, cuya influencia afecta no solo a la reología y a la apariencia exterior, sino también en su estabilidad. Por este motivo, el tamaño de gota de las emulsiones desarrolladas va a ser una de las variables de control en el procedimiento de desarrollo.

En base a su tamaño de gota, las emulsiones se suelen clasificar en macroemulsiones y nanoemulsiones. En las primeras, las gotas tienen un tamaño superior a una micra, mientras que en las otras siempre se encuentran en el intervalo comprendido entre un nanómetro y un micrómetro (Sjöblom, 2006).

Un tamaño de gota menor supone un efecto más débil de la fuerza de gravedad sobre la partícula, y por lo tanto, las gotas seguirán recorridos diferentes entre sí por el movimiento

browniano sin una dirección preferente que las agrupe (T. Tadros, Izquierdo, Esquena, y Solans, 2004). Igualmente, el tamaño alcanzado en las nanoemulsiones permite su aplicación como agente de encapsulación para la liberación controlada de sustancias en un tiempo prolongado. Este efecto se ve potenciado por la textura que adquiere a la nanoemulsión, de tal manera que su aplicación resulta más sencilla y, debido a las dimensiones de la fase dispersa, su distribución es más uniforme. En general, muchas propiedades de gran interés, como son la mojabilidad, penetración y untabilidad del sistema, se ven considerablemente mejorados respecto a las macroemulsiones convencionales.

El tamaño de gota de una emulsión viene dado por la presión interfacial o presión de Laplace:

$$p = \sigma \left(\frac{1}{r_x} - \frac{1}{r_y} \right) \quad (2.3)$$

Donde, a priori, no se consideran las gotas como esféricas y se describen a través de dos radios de curvatura. En esta expresión, la presión p nos da una idea de la energía que hay que aplicar para deformar las gotas y finalmente, separarlas. Además de la dependencia con la tensión superficial, se observa una proporcionalidad inversa con el tamaño de gota, de modo que, a menor radio, mayor es la energía que se precisa para disminuirlo.

La adición de energía que requiere la formación de emulsiones suele hacerse, en el caso de macroemulsiones, a través de esfuerzos de cizalla aplicados por aparatos mezcladores que remueven los componentes y distribuyen la que será la fase dispersa. Entre estos dispositivos se encuentran los motores que incluyen dispositivos fijos contra los se que ejercen los esfuerzos cortantes sobre el fluido (rotor-stator). Sin embargo, el tamaño que se alcanza por esta técnica está limitado, aproximadamente, a diámetros de un micrómetro y, para superar dicha barrera en la dimensión de las gotas, es necesaria la aplicación de más energía.

Algunas técnicas para la síntesis de nanoemulsiones incluyen el uso de ultrasonidos, membranas o, como en este caso, homogeneizadores de alta energía, pero hay que puntualizar que este último método no es directo, y requiere la formación previa de una macroemulsión, que se denominará preemulsión. Los homogeneizadores para la formación de nanoemulsiones se componen de dos partes principales, una bomba de alta presión, entre 30 y 200 MPa, por la que circula la emulsión de la alimentación, y una serie de boquillas y cámaras de geometría especialmente diseñada para separar las gotas, que permiten clasificarlos en los basados en difusores radiales, dispersores jet y los Microfluidizers (Figura 2.3). Los diferentes mecanismos por los que se distribuye la fase dispersa incluyen la cavitación, producida por el impacto a altas presiones con la superficie de la cámara, la cizalla sobre el flujo de la mezcla al pasar por conductos estrechos y por último, la fuerzas de inercia en régimen turbulento generadas por la despresurización del flujo. (Stang, M., Schuchmann, H., & Schubert, 2001). La variable

de control de estos sistemas es la presión ejercida, aunque no siempre una mayor presión proporciona un menor tamaño de gota como se refleja en (2.3) y puede ocurrir el fenómeno del sobreprocesamiento, por el que se unen las gotas de la emulsión.

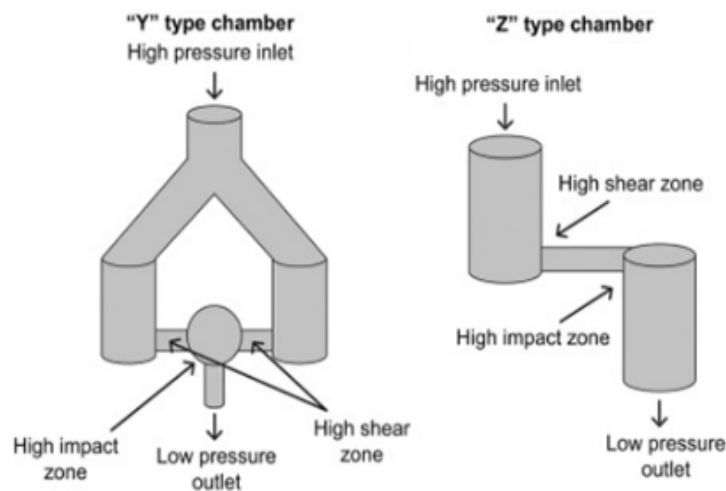


Figura 2.3: Geometrías características de las cámaras de los homogeneizadores de alta presión Microfluidizer (Villalobos-Castillejos y cols., 2018).

En las nanoemulsiones obtenidas, no todas las gotas tendrán las mismas dimensiones, y se dará una distribución del tamaño de gota (DTG). Cuanto más uniforme sea este parámetro, más sencillo resultará la caracterización y será además un indicativo de una formulación y procedimientos adecuados durante la síntesis. El objetivo es obtener un único diámetro medio predominante con un margen de distribución estrecho, mientras que una distribución multimodal, donde varios tamaños forman una porción importante de la dispersión será señal de una mala formulación o de la necesidad de otros mecanismos de estabilización.

2.2.2.2. Estabilizantes. El sistema HLB

La estabilidad de las emulsiones también puede verse afectada por el uso de aditivos. Se conoce como emulgente a cualquier sustancia que es capaz de favorecer la formación de emulsiones o su estabilidad en el tiempo. Una de las formas más comunes de alterar la inestabilidad de la emulsión consiste en intervenir en la intercara que separa ambas fases de manera que se evite la unión progresiva de las gotas. Este es el caso de los tensioactivos, que reducen la tensión superficial en el área de separación de los dos líquidos, y reduciendo la presión que es necesario ejercer según (2.3). Tal es la influencia de estas sustancias, que gracias a ellas es posible conformar las llamadas microemulsiones, sistemas en los que sí se alcanza la estabilidad termodinámica y no sólo cinética, pero a cambio de necesitar concentraciones

considerablemente altas respecto al total del sistema, en torno al 20% (Grumezescu, 2016).

En las nanoemulsiones, los tensioactivos no son un componente mayoritario, sino un aditivo, aunque su efecto tiene grandes repercusiones en el comportamiento general del sistema. De forma general, las gotas en una emulsión interactúan entre sí a través de las fuerzas de Wan der Waals, en concreto, las fuerzas de dispersión London. Esta interacción es atractiva y disminuye rápidamente al aumentar la distancia, pero conforme las gotas se acercan, tenderán a unirse y agregarse si no existe repulsión que lo impida. Los tensioactivos se encargan de generar esta repulsión para mantener la estabilidad, clasificándose según la naturaleza de la repulsión que provocan (Figura 2.4):

- Tensioactivos iónicos: adquieren carga en solución acuosa, que impiden la coalescencia de las gotas mediante repulsión electrostática al adherirse a su interfase. Se forma la llamada doble capa de carga, que ejerce una repulsión entre gotas de menor alcance que las fuerzas de dispersión, pero de mayor intensidad. Este tipo de tensioactivo es susceptible a la presencia de electrolitos y sales disueltas cuyos iones pueden apantallar su acción.
- Tensioactivos no iónicos: también llamados poliméricos, pues se componen de largas cadenas, que, por la interacción elástica y factores restrictivos de entropía y volumen, producen repulsión entre las gotas.

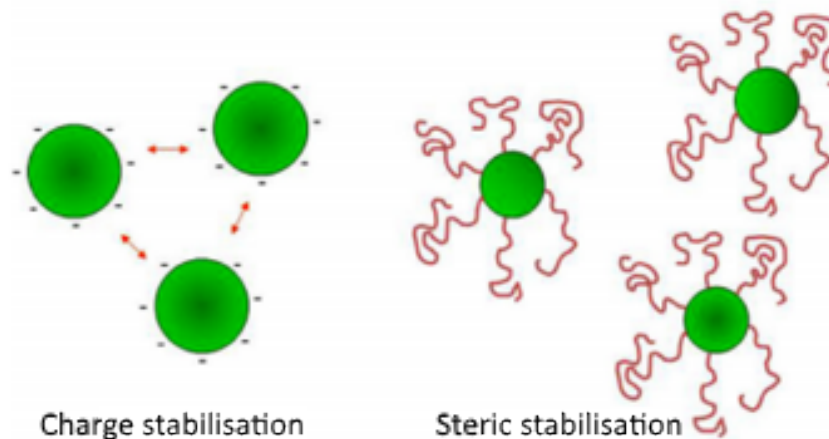


Figura 2.4: Procesos de estabilización de gotas a partir de tensioactivos (Grumezescu, 2016).

Una de las características esenciales de los tensioactivos, que permite su adhesión a la superficie de separación, es su naturaleza anfifílica. El origen de esta propiedad se encuentra en la estructura de la molécula, formada por una cabeza hidrófila polar con preferencia por el medio acuoso y una cola lipófila no polar formada por cadenas con afinidad a unirse a la fase oleosa (Figura 2.5). Si la interacción de la cabeza es más fuerte, el tensioactivo será hidrosoluble

y será más indicado para la formación de emulsiones O/W, igualmente, en el caso contrario, se facilitará la formación de emulsiones W/O. Este fenómeno es el origen de la regla de Bancroft, que establece que el tensioactivo usado debe ser soluble en la fase continua de la emulsión (Miller, 2016).

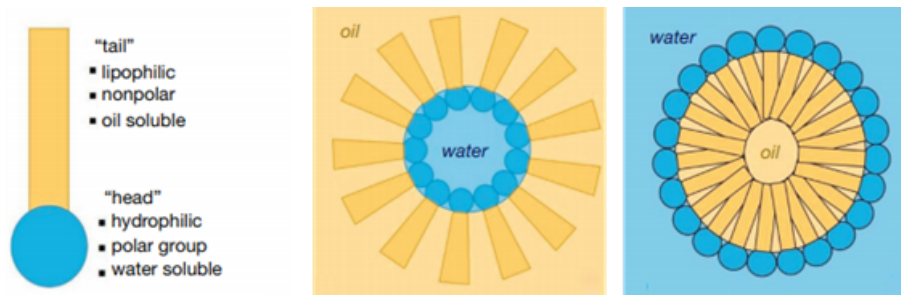


Figura 2.5: Estructura anfifílica de un tensioactivo no iónico (Miller, 2016).

No obstante, el comportamiento de los tensioactivos no siempre es tan claro y puede establecerse una escala en el comportamiento hidrosoluble-liposoluble a partir del cálculo del balance hidrófilo lipófilo HLB. Este método semiempírico consiste en el cálculo de un índice a través de la proporción de la parte hidrófila de la molécula tensioactiva respecto al total, bien en peso molecular o través fórmulas ponderadas como (2.4). La escala comienza en el cero para tensioactivos liposolubles y aumenta hasta 20 para indicar un comportamiento altamente hidrosoluble.

$$HLB = 7 + \sum \text{grupos hidrófilos} \pm \sum \text{grupos lipófilos} \quad (2.4)$$

Hydrophilic group	Group number	Lipophilic group	Group number
$-\text{SO}_4\text{Na}^+$	38.7	$-\text{CH}-$	0.475
$-\text{COO}^-\text{H}^+$	21.2	$-\text{CH}_2-$	0.475
Tertiary amine	9.4	$-\text{CH}_3$	0.475
Sorbitan ring	6.8		
$-\text{COOH}$	2.1		
$-\text{O}-$	1.3		

Figura 2.6: Valores de diferentes grupos moleculares para la determinación del índice HLB (ICI Americas Inc, 1980).

También se asigna un valor óptimo HLB a cada emulsión dependiendo de sus componentes, mediante pruebas en las que se varía el índice HLB del tensioactivo usado. Para poder recorrer toda la escala, se aprovecha el hecho de que la mezcla de tensioactivos proporciona un emulgente con un índice HLB intermedio dependiendo de la proporción, permitiendo así la obtención del

valor HLB óptimo con la exactitud que se desee. Debido a que este óptimo es independiente de la especie química del tensioactivo, estos valores están tabulados y presentes en la bibliografía tanto para diferentes fases oleosas como tensioactivos, no obstante, si es posible que para un mismo valor HLB, dos tensioactivos den resultados ligeramente diferentes. De forma general, el foco de interés en estos coeficientes reside en la estabilidad de la emulsión; pero en el caso de que otro parámetro tenga mayor relevancia, es posible que se obtengan mejores resultados para un índice HLB diferente (ICI Americas Inc, 1980).

Entre los tensioactivos, algunos de los más usados en la industria alimentaria, y que por lo tanto, resultan útiles en el desarrollo de emulsiones no tóxicas, son la familia de los polisorbatos, más conocidos como Tween. Estos son emulgentes no iónicos hidrófilos y se clasifican con un número según el ácido graso asociado en su estructura: 20 (monolaurato), 40 (monopalmitato), 60 (monoestearato), 65 (triestearato), y 80 (monooleato). En concreto, el Tween 80, conocido por la regulación alimentaria europea como E-433, es un aditivo ampliamente usado en emulsiones O/W por su índice HLB de 15. Análogamente, en la formación de emulsiones W/O es común el uso de los ésteres de sorbitano o Span. También se clasifican según el ácido graso asociado y en el caso del Span 80 o E-494 el valor del HLB es 4,3.

2.2.2.3. Modificadores. Geles

Finalmente, el último elemento de la formulación es el modificador, que en este caso se trata de un gel. Los geles son estructuras coloidales en las que la fase dispersa es el líquido y la fase continua es el sólido. Normalmente, la fase dispersa es un líquido acuoso o agua mientras que la fase continua es un componente la contiene en una red o entramado tridimensional poroso. Esta proporción puede ser extremadamente dispar, como ocurre por ejemplo, en los hidrogeles, cuyo contenido en agua en peso puede superar el 95%. La fase continua, tras dispersarse, sufre un proceso de gelificación en el que se forman enlaces progresivamente hasta dar lugar a una estructura tridimensional de más o menos consistencia, caracterizada por la ausencia de fluidez en estado estable, lo que los acerca más al comportamiento sólido que líquido. Sin embargo, al ejercer esfuerzos sobre la estructura esta se deforma y fluye con facilidad, desembocando en un comportamiento viscoelástico.

Los geles funcionan como modificadores de textura, habitualmente como espesantes que afectan a la viscosidad, aplicación y estabilidad de las emulsiones. La adición de geles a las emulsiones dota a la fase continua (acuosa) de cierto grado de estructura, dependiendo de la concentración. Simplemente debido al volumen efectivo que ocupan las largas cadenas poliméricas al moverse inmersas en el agua, la viscosidad se ve considerablemente alterada. Además, al dificultar el desplazamiento de las gotas, se consigue un retardo de los mecanismos

de inestabilidad de la emulsión y un mejor mantenimiento de sus propiedades (McClements, 1999).

En el caso de aplicaciones alimentarias, se requiere el uso de una fase continua no tóxica, por lo que se recurre a los biopolímeros naturales altamente biocompatibles. Las proteínas y polisacáridos son los biopolímeros más representativos, cuyas unidades de repetición son los aminoácidos y los monosacáridos respectivamente.

La gelificación de los biopolímeros depende esencialmente de la concentración, aunque dependiendo del caso pueden verse relacionada con otras variables como temperatura y pH. Para concentraciones muy bajas, las moléculas del biopolímero apenas interactúan entre sí y no afectan a las propiedades reológicas del disolvente. Pero, llegado un primer valor crítico de concentración C^* conocido como concentración “de solape”, se alcanza el régimen semidiluido, en el que comienza la interacción entre moléculas de forma que se empiezan a apreciar las propiedades viscoelásticas de la disolución. Si la concentración siguiera aumentando, se producirían enredos o puntos de unión entre las cadenas a partir de la llamada concentración “de agregación” C^{**} , que dan las propiedades de gel al sistema. (Oliveira, Michel, McBride, Moreira, y Lomba, 2013).

En este trabajo, el modificador para dar lugar a los emulgeles es la goma guar, un polisacárido de amplio uso en la industria alimentaria y clasificado como “generalmente reconocido como seguro” (GRAS) procedente del tratamiento de la legumbre *Cyamopsis tetragonoloba*. En la normativa europea es el aditivo E-412 y puede tener diferentes grados de calidad según su pureza (Mudgil, Barak, y Khatkar, 2014). A nivel químico, se compone de largas cadenas de elevado peso molecular de galactomanano con proporciones de galactosa y manopiranososa 1:2 (Figura 2.7). Se caracteriza por ser soluble independientemente de la temperatura del agua, requiriendo únicamente un mezclado adecuado del polvo inicial y sin necesidad de calor adicional para producir su efecto espesante. Además, las concentraciones para apreciar la influencia en sus propiedades es baja, siendo C^* 0.55 g/l y C^{**} 3 g/l (Launay, Cuvelier, y Martínez-reyes, 1997).

2.3. Mecanismos de desestabilización

Como sistemas termodinámicamente inestables, las nanoemulsiones tienden a descomponerse con el tiempo. No obstante, a través del uso de estabilizantes como los vistos, es posible su mantenimiento en estados metaestables progresivos durante largos períodos de tiempo. Estos estados siguen siendo susceptibles a la separación, pero requieren de energías de activación que retrasan sensiblemente este fenómeno. La energía de activación de estos procesos debe de ser elevada, o al menos, mayor que la energía térmica del sistema; de lo contrario, la separación ocu-

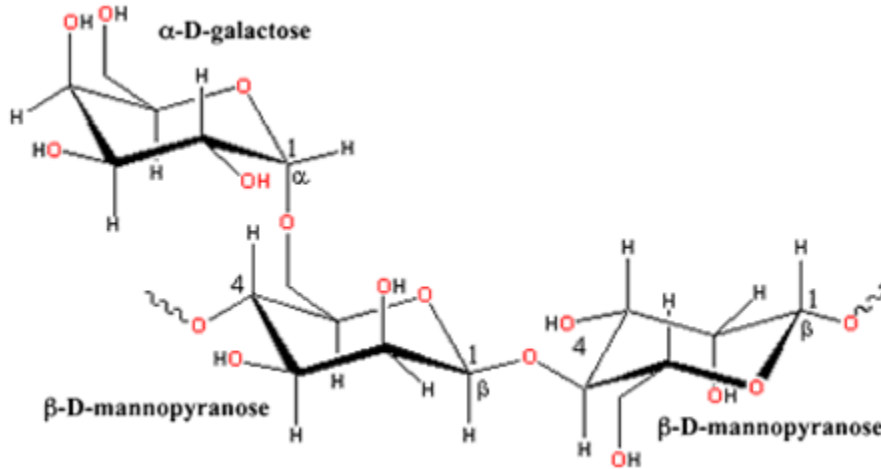


Figura 2.7: Estructura molecular de la goma guar empleada como modificador de la textura de los nanoemulgeles. (Mudgil y cols., 2014)

rrirá rápidamente. Es por eso que la separación de las fases es un proceso dinámico, relacionado con el movimiento y la interacción de las gotas dispersas entre sí. Dependiendo de las condiciones en las que se produzca, se diferencian los siguientes procesos de desestabilización (Figura 2.8), aunque sus efectos están estrechamente conectados y la aparición de uno frecuentemente favorece el desarrollo de los otros, siendo bajo ninguna circunstancia excluyentes.

2.3.1. Separación gravitacional

Los principales generadores de movimiento de las gotas dispersas en la emulsión en reposo son la acción de la fuerza de gravedad y el movimiento browniano. Mientras que la primera tiende a agruparlas por su diferencia de densidad respecto a la fase continua, la segunda es aleatoria y promueve una distribución uniforme por todo el volumen disponible. La fuerza gravitatoria tenderá a agrupar el líquido más denso en la parte inferior del contenedor y al más liviano en la superior. Si la fase dispersa es más densa se produce la sedimentación de las gotas en el fondo, mientras que si es menos densa se produce el cremado y se forma una capa de fase dispersa por encima de la emulsión. Este comportamiento viene descrito por la ley de Stokes:

$$v_{stokes} = -\frac{2gr^2(\rho_1 - \rho_2)}{9\eta_1} \quad (2.5)$$

Esta velocidad límite, la velocidad de cremado, resulta de la atracción de la gravedad y del rozamiento con el medio disperso. El resultado de la confluencia de las gotas en una zona de la muestra genera la diferenciación de fases a simple vista: una capa de gotas unidas o emulsión rica en gotas conocida como sedimento o crema, una zona intermedia que desaparece

progresivamente de la emulsión inicial, y una parte mayoritariamente acuosa pobre en gotas dispersas llamada serum.

2.3.2. Floculación

La floculación es un proceso de agregación de las gotas en cúmulos, y aunque esta unión no es total y puede ser reversible, sí contribuye a la separación gravitacional aumentando el tamaño efectivo de las gotas en emulsiones diluidas, esto es, de baja fracción dispersa ϕ . Sin embargo, si la emulsión es muy concentrada, las gotas pueden formar un entramado que impida el movimiento y consecuente unión entre ellas, aumentando la estabilidad general de la emulsión de forma similar a un gel.

La floculación de una emulsión está dictada por las interacciones entre las gotas, de modo que las fuerzas de repulsión y atracción entre ellas se igualan en una distancia de equilibrio que mantiene sus superficies unidas. A este efecto hay que añadir la acción de fuerzas externas, que por un lado pueden aumentar la frecuencia con la que las gotas colisionan y se unen, o si son suficientemente elevadas, separar los agregados formados mediante esfuerzos de cizalla.

2.3.3. Coalescencia

En este proceso la unión de las gotas es permanente y comprende su fusión en una sola. Al igual que en el caso de la floculación, la coalescencia supone un aumento en la distribución de tamaños de gota, pero además, también implica un descenso en la superficie de contacto entre los líquidos. Por consiguiente, este mecanismo es el que más acerca al sistema al estado termodinámicamente estable de una única interfase y suele estar ligado a la etapa final de otros mecanismos de desestabilización.

Pueden diferenciarse dos tipos de coalescencia: la producida por la colisión de dos gotas de forma inmediata; y la que se produce por el contacto prolongado entre dos gotas. Ambas están relacionadas con debilidades en la interfase que producen la fusión de las gotas, no obstante, en el primer caso es evitable fácilmente con el uso de tensioactivos que provoquen la repulsión entre gotas, mientras que en el segundo aparece espontáneamente por fluctuaciones a pesar de dicha repulsión. El primer tipo da lugar a la separación gravitacional mientras que el segundo está condicionado por el contacto entre las gotas, producido tanto por la cremado (o sedimentación) como por la floculación o la acción de fuerzas externas.

2.3.4. Maduración de Ostwald

La maduración de Ostwald es un proceso por el cual se produce la transferencia de masa desde las gotas de menor tamaño a la de mayor tamaño, desencadenando el crecimiento de las últimas. Este proceso tiene su origen en las diferencias de presión de la interfase que viene dadas por la presión de Laplace (2.3). La separación entre las dos fases no es totalmente abrupta y existe cierto grado de progresión en la concentración de un medio a otro, que se refleja en cierta solubilidad del líquido disperso en los alrededores de la gota. La solubilidad dependerá de la presión sobre la superficie, que es mayor para gotas menores. Como consecuencia, una mayor parte de la masa de las gotas de menor tamaño se encuentra solubilizada en la interfase y es susceptible de su transporte y absorción por parte de una gota mayor. La velocidad a la que ocurre la difusión causante de maduración de Ostwald viene dada por la teoría LSW (Lifshitz, Slezov y Wagner), la cual aunque formulada para sólidos, describe adecuadamente el fenómeno en líquidos:

$$\omega_{ostwald} = \frac{dr_c^3}{dt} = \frac{8 DC_{\infty} \sigma V_m^2}{9 R_g T} \quad (2.6)$$

Resulta llamativa la existencia de un radio crítico r_c , al cual las gotas no experimentan ni reducción ni crecimiento, este valor fluctúa con el tiempo y experimentalmente ha demostrado aproximarse al radio medio de las gotas de la emulsión (Taylor, 1995). A causa de la maduración de Ostwald se producen desigualdades en la distribución de tamaños de gota y se fomenta la aparición de distribuciones multimodales.

2.3.5. Inversión de fase

La inversión de fase es un cambio en la estructura de la emulsión, intercambiando las posiciones entre la fase dispersa y el medio continuo, esto es, una emulsión O/W pasa a ser W/O o viceversa. Este tipo de cambios está estrechamente relacionado con el tensioactivo usado, y dependiendo de las condiciones en las que se produce el proceso de inversión de fase se pueden distinguir dos tipos (Salager, 2016):

- Transicional: alteraciones en la temperatura provocan una variación de la afinidad de los grupos hidrófilos y lipófilos de un tensioactivo, resultando en un cambio en el índice HLB y la existencia de la conocida como la temperatura de inversión de fase (PIT), en la cual se produce el cambio reversible de una emulsión a la otra (McClements, 1999).

- Catastrófica: la inversión se produce de forma dinámica, añadiendo de forma continua más cantidad de la fase dispersa para elevar su concentración súbitamente.

Este fenómeno también ha suscitado interés por su capacidad de aplicación en el proceso de emulsificación, permitiendo crear emulsiones a partir de otras más sencillas.

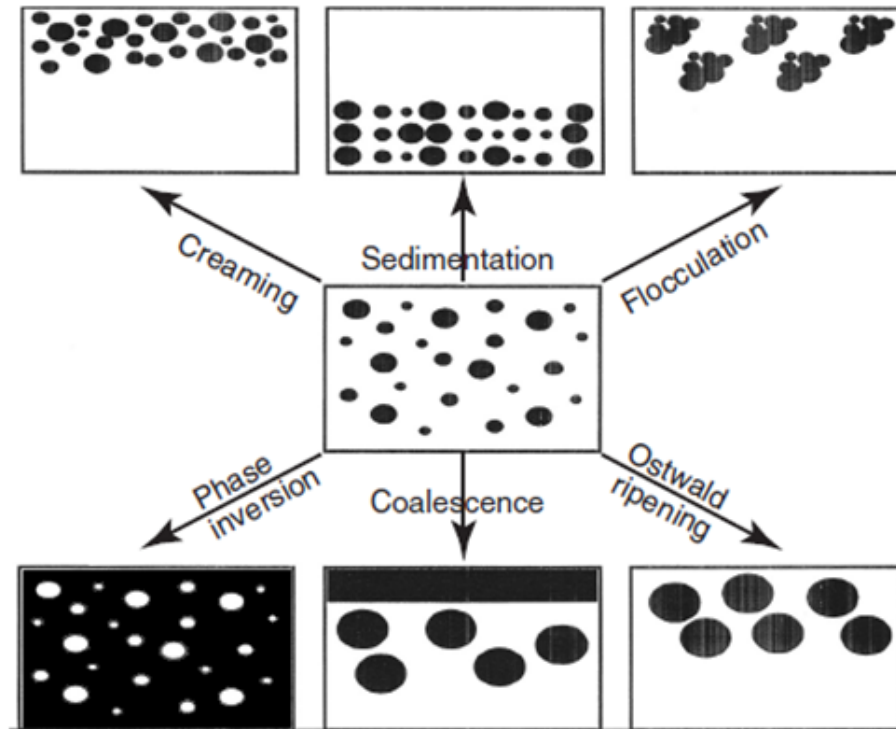


Figura 2.8: Representación del aspecto de cada uno de los mecanismos de desestabilización de emulsiones (T. F. Tadros, 2013).

2.4. Reología

La reología es la ciencia dedicada al estudio del flujo y la deformación de los materiales en relación a las tensiones ejercidas. En el entorno industrial, el conocimiento de estas propiedades es de vital importancia en, por un lado, el procesamiento y envasado del material y por el otro, en las características típicamente deseadas por los consumidores de las industrias alimentaria y cosmética.

La deformación se define como la variación de la forma de un material sin afectar a su integridad tras aplicar un esfuerzo, mientras que el flujo es la continuidad de dicha deformación en el material durante el período que se mantiene la tensión. Existen dos formas en las que se puede producir el flujo ante una fuerza, cortante o extensional (Figura 2.9). En el primero, las partículas del cuerpo se desplazan en planos paralelos al esfuerzo, es decir, deslizan entre sí. En el segundo, el desplazamiento ocurre axialmente, y puede significar el acercamiento o

alejamiento de las partículas.(Barnes, 2000)

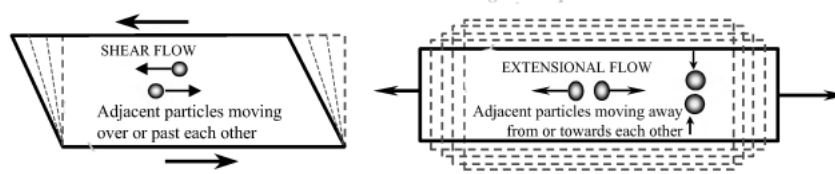


Figura 2.9: Representación de las diferencias entre esfuerzos cortantes o de cizalla y esfuerzos extensionales en el flujo que producen (Barnes, 2000).

2.4.1. Comportamientos ideales

Los materiales pueden exhibir dos comportamientos bien diferenciados respecto a las deformaciones que se ejercen sobre ellos (McClements, 1999):

- Sólidos ideales: son capaces de almacenar la energía transmitida por el esfuerzo en los enlaces de sus partículas, de manera que una vez este cese, el material recuperará su forma original. Se conocen como sólidos elásticos y su proporcionalidad entre la tensión aplicada y la deformación resultante sigue la ley de Hooke:

$$\tau = E\gamma \quad (2.7)$$

La constante de proporcionalidad es el módulo elástico, cuyo significado físico es la rigidez del material, que no es más que su capacidad para almacenar energía. La ecuación (2.7) es útil solo en el caso de un material homogéneo e isótropo, y, dependiendo el tipo de esfuerzo, el módulo elástico será diferente: módulo de Young para tensiones o compresiones simples, módulo de cizalla para tensiones de cizalla y módulo de compresibilidad para compresión uniforme. Sin embargo, en la realidad, los materiales solo son capaces de actuar de forma elástica por deformaciones reducidas, tras lo cual se produce la deformación plástica y flujo o, por el contrario, se pierde la integridad del material y se produce la ruptura.

- Líquidos ideales: la energía aplicada por el esfuerzo se disipa e invierte en el desplazamiento de las partículas y en la ruptura de los enlaces de la estructura, que se rompen y crean con facilidad. Se produce entonces el flujo del material durante el periodo de aplicación de la fuerza y una vez esta cesa también lo hace el flujo. No existe recuperación alguna de la energía y ni de la forma inicial. Se conocen como fluidos newtonianos y siguen la relación:

$$\tau = \eta\dot{\gamma} \quad (2.8)$$

La constante de proporcionalidad se conoce como viscosidad, y su valor da una idea de la resistencia que ejerce el líquido al flujo. Aquí, la ecuación (2.8) exige que el líquido sea incompresible, homogéneo e isótropo. Aunque existe la viscosidad extensional, este comportamiento se asocia habitualmente a esfuerzos de cizalla (McClements, 1999). Como en el caso anterior, la viscosidad es difícilmente constante y varía con parámetros como la temperatura.

2.4.2. Comportamientos reales

Más interesante desde el punto de vista reológico, resultan los cambios en la viscosidad relacionados con el esfuerzo producido en los fluidos no newtonianos:

2.4.2.1. Dependencia con la velocidad de cizalla

La viscosidad puede variar dependiendo de la velocidad de cizalla (Figura 2.10), se diferencian los siguientes tipos de materiales:

- Materiales pseudoplásticos: reducen su viscosidad conforme aumenta la velocidad a la que se produce la deformación. Este comportamiento es común en emulsiones por mecanismos como la floculación, ya que al unirse las gotas provocan un aumento aparente de la viscosidad, pero, al ejercer un esfuerzo estas se separan y el valor de la viscosidad disminuye.

- Materiales dilatantes: su viscosidad se incrementa al aumentar la velocidad de deformación. Es común entre geles y polímeros con largas cadenas unidas puntos de enredo y entrecruzamientos que van perdiendo libertad de movimiento al fluir.

- Plásticos de Bingham: la dependencia entre esfuerzo y velocidad de deformación es lineal, no obstante, no existe el flujo de materia hasta que no se supera cierto umbral de esfuerzo, asociado a la pérdida de estructura por parte del material.

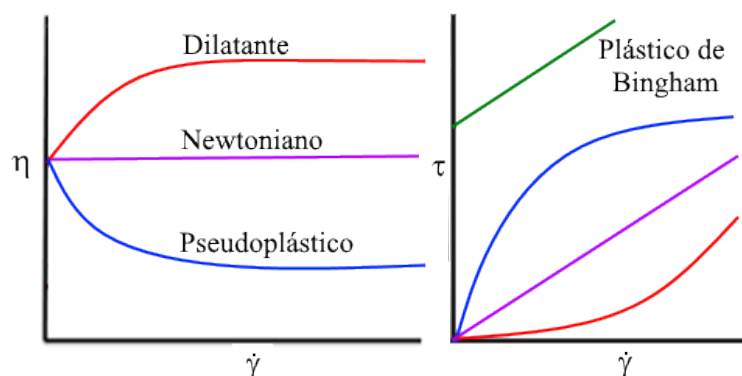


Figura 2.10: Representación de los comportamientos dependientes de la velocidad de cizalla para la viscosidad y el esfuerzo respectivamente.

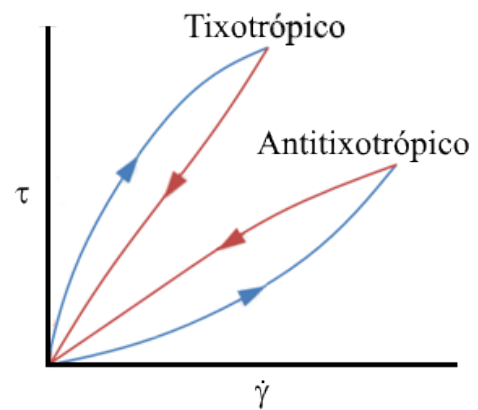
2.4.2.2. Dependencia con el tiempo de cizalla

También existen diferentes comportamientos en relación con cómo afecta a la viscosidad la duración del esfuerzo. Aquí, la velocidad de cizalla es constante, pero, aun así, se aprecia un cambio en el valor de la viscosidad. Este cambio es reversible cuando desaparece la tensión, aunque igualmente requiere un tiempo de recuperación.

- Tixotropía: la viscosidad disminuye cuanto mayor sea el tiempo en el que se ha ejercido el esfuerzo.

- Antitixotropía: también conocida como reopexia, consiste en el aumento de la viscosidad conforme mayor es la duración de la tensión.

Características de estos comportamientos son curvas de histéresis al retroceder en el barrido de velocidades de cizalla (Figura 2.11), puesto que existen pérdidas de energía por cambios reversibles en la estructura del material (Grumezescu, 2016).



2.4.2.3. Comportamiento viscoelástico

Los comportamientos de sólido y líquido ideales se alejan por lo tanto de lo que se encuentra en la naturaleza y se consideran más bien como casos extremos. En el caso de muchos sistemas materiales, se produce un comportamiento intermedio, con cierto grado de elasticidad y cierto grado de viscosidad. Esto se conoce como viscoelasticidad, y en numerosos casos, este comportamiento puede aproximarse por la suma de dos contribuciones, una perfectamente elástica, representada por un muelle, y otra perfectamente viscosa, representada por un amortiguador (Figura 2.12) (Grumezescu, 2016).

Figura 2.11: Representación de los comportamientos dependientes del tiempo de cizalla, formando ciclos de histéresis cuyo área es equivalente a la pérdida de energía.

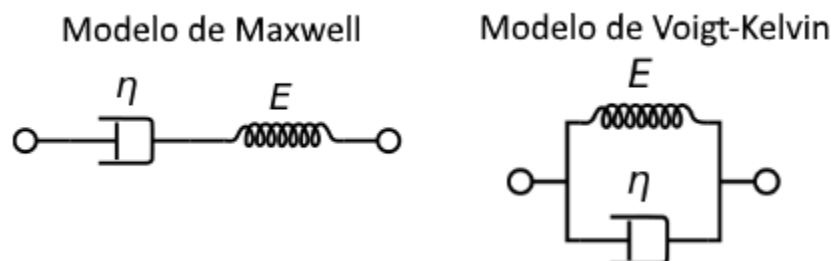


Figura 2.12: Modelos simples basados en muelles y amortiguadores para la descripción de comportamiento viscoelástico.

2.4.3. Ensayos reológicos

La viscoelasticidad es el principal dominio de estudio de la reología, para su caracterización, se llevan a cabo ensayos reológicos. La caracterización reológica se realiza a través de los ensayos dinámicos de cizalla oscilatoria en un reómetro. En los barridos de esfuerzo, se ejerce una señal de tensión sinusoidal con frecuencia (2.9) y se recorren valores de baja amplitud (SAOS). La deformación del material será entonces el objeto de medida (2.10):

$$\tau = \tau_0 \cos(\omega t) \quad (2.9)$$

$$\gamma = \gamma_0 \sin(\omega t + \delta) \quad (2.10)$$

Existe un desfase δ entre la variable de control y su respuesta que da información sobre el comportamiento general del sistema. Para sólidos ideales elásticos su valor es 0 y para líquidos ideales viscosos ideales es de 90° , el comportamiento viscoelástico comprende entonces todo el intervalo entre ambos valores (Figura 2.13).

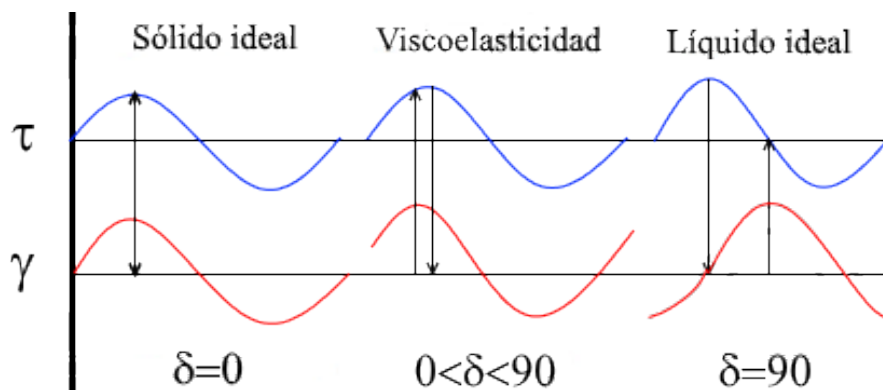


Figura 2.13: Comportamientos de los modelos ideales respecto al viscoelástico en la relación de esfuerzos y deformaciones oscilatorias.

A partir de este valor, y debido a la forma sinusoidal, es posible la separación de las contribuciones elástica y viscosa a través de las funciones seno y coseno, desfasadas 90° al igual que las respuestas de un sólido y un líquido ideales:

$$G' = \left(\frac{\gamma_0}{\tau_0}\right) \cos \delta \quad (2.11)$$

$$G'' = \left(\frac{\gamma_0}{\tau_0}\right) \sin \delta \quad (2.12)$$

$$\operatorname{tg} \delta = \frac{G''}{G'} \quad (2.13)$$

Estas magnitudes son los módulos viscoelásticos, siendo el primero el módulo elástico o de almacenamiento (2.11) y el segundo el módulo viscoso o de pérdidas (2.12). Ambos constituyen el módulo complejo (2.14).

$$G^* = G' + iG'' \quad (2.14)$$

En una representación de los módulos frente a la deformación, para valores bajos, ambos serán constantes y paralelos en la conocida como región lineal viscoelástica (LVR). Dependiendo de cuál de los dos módulos sea mayor, se puede hablar de un sólido o un líquido viscoelástico, pues predomina el comportamiento elástico o viscoso respectivamente. Llegado el valor de tensión de cizalla conocido como tensión crítica τ_c , este comportamiento se pierde debido a la destrucción de la estructura interna, que se traduce en una caída súbita del módulo elástico G' . Posteriormente, también le ocurre a G'' aunque es posible que antes se alcance un punto de corte entre ambos módulos, el punto de flujo, que indica el cambio a un comportamiento más fluido en sólidos viscoelásticos (Figura 2.14).

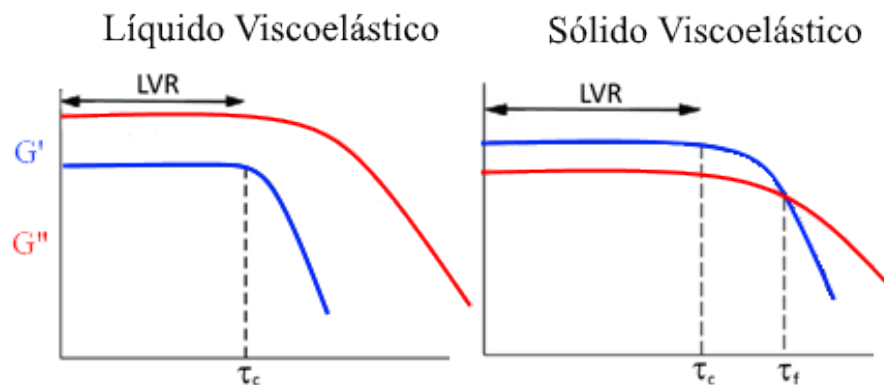


Figura 2.14: Comportamiento típico de un sólido y un líquido viscoelásticos para un barrido de los esfuerzos, apreciándose en ambos casos la meseta de la LVR.

Otra forma de distinguir un comportamiento más sólido o fluido se halla en otro ensayo dinámico, el barrido de frecuencias. La variable a recorrer es la frecuencia y se representa la forma de los módulos al respecto en la LVR, esto es, sin llegar a producir efectos destructivos en la muestra (Figura 2.15). Aún así, el comportamiento viscoelástico de un material puede no limitarse a un solo régimen, y cambiar con la frecuencia, de ahí el interés por este tipo de ensayos.

Para conocer el comportamiento del viscoelástico del material, también es necesaria la caracterización de la viscosidad. Como se vio en la sección 2.4.2.1, la viscosidad puede depender de la velocidad de deformación, y su relación se muestra en las curvas de flujo. Se realizan a través de medidas del par de torsión sobre la muestra al incrementar la velocidad de cizalla,

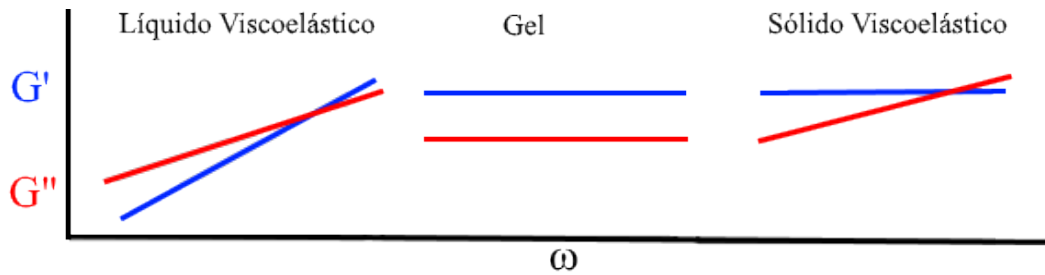


Figura 2.15: Comportamiento de los módulos elástico y viscoso para diferentes sistemas viscoelásticos en función de la frecuencia.

procurando mantener el estado estacionario para evitar efectos dependientes del tiempo. En el caso de los nanoemulgeles, lo habitual es un comportamiento pseudoplástico.

Este comportamiento, se distingue por partir de un valor inicial estable a bajas velocidades de cizalla, que se identifica como el intervalo en el que se consigue mantener un orden irregular en la estructura por la acción del movimiento browniano. Al aumentar la velocidad de cizalla se produce un descenso marcado por la separación de agregados y la ordenación de las gotas y partículas en dirección del esfuerzo, disminuyendo las interacciones entre estos elementos que contribuyen a la viscosidad. No obstante, este nivel de ordenación tiene un límite alcanzable, y la viscosidad tiende a estancarse entorno a un valor límite η_{∞} . Este comportamiento es posible describirlo a través del modelo de Cross (2.15) (Santos, Trujillo-cayado, y Calero, 2014).

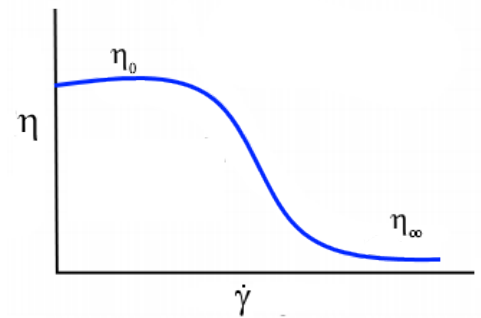


Figura 2.16: Comportamiento de la viscosidad en algunos materiales pseudoplásticos comprendida entre dos valores límite.

$$\eta = \frac{\eta_0}{1 + \left(\frac{\dot{\gamma}}{\dot{\gamma}_c}\right)^{1-n}} \quad (2.15)$$

Las constantes presentes en (2.15) tienen además significados físicos que aportan información del sistema; $\dot{\gamma}_c$ representa la velocidad crítica a la que se desvía el comportamiento pseudoplástico del material del aquel propio de un fluido newtoniano. La viscosidad inicial del sistema antes de que se produzca su disminución es η_0 y n un parámetro llamado índice de flujo cuyo valor está comprendido entre cero y la unidad, correspondientes a los extremos del comportamiento viscoelástico, sólido ideal y líquido newtoniano respectivamente.

Sección 3

Desarrollo Experimental

3.1. Equipamiento

3.1.1. Materiales

- Fase continua: agua ultrapurificada procedente del purificador Synergy UV de Millipore.
- Fase dispersa: aceite esencial de mandarina ecológica de la marca Bidah Chaumel.
- Tensioactivos: Tween 80 y Span 80 de la marca Sigma-Aldrich.
- Modificador: Goma guar en polvo de Grado Alimentario.

3.1.2. Dispositivos

• Mezclador Silverson L5M: se trata de un mezclador rotor-stator empleado para la preparación de la preemulsión al mezclar todos los componentes.

• Malvern Mastersizer 2000: empleado en las medidas de la DTG mediante difracción láser. Realiza medidas en dos longitudes de onda, rojo procedente de un láser de He-Ne de 633 nm , y azul mediante un láser de estado sólido estimulado por diodos, radiante en 473 nm; siendo capaz de abarcar longitudes desde 2000 hasta 0,02 μm . Dispone además de una unidad de dispersión Malvern Instruments Sample Presentation Unit DIF2012 que prepara la muestra para su correcta medida.



Figura 3.1: Mezclador Silverson L5M en A y Malvern Mastersizer 2000 en B.

•Microfluidizer M-110P: homogeneizador de alta presión basado en microcanales con dos cámaras de interacción: una Y y otra Z. Para el control de la temperatura se acopló un baño térmico Thermo Haake D1.



Figura 3.2: Microfluidizer M-110P.

•Mezclador IKA modelo VISC MR-D1: usado en el mezclado de la goma guar para su disolución.

•Advanced Rheometer AR 2000: dispositivo con el que se realizaron las medidas reológicas, con un sensor plano placa-placa rugoso de 60 mm de diámetro. Dispone además de una cubierta de muestras vidrio para evitar la pérdida de humedad durante los ensayos. El control de la temperatura se realizó mediante un baño térmico Thermo Haake C10.

•Turbiscan Lab Expert: utilizado en las medidas de estabilidad de los nanoemulgeles a partir de la técnica de dispersión de luz múltiple (MLS), que representa la retrodispersión de la luz frente a la altura de la muestra.



Figura 3.3: Advanced Rheometer AR 2000 y Turbiscan Lab Expert.

3.1.3. Medidas de seguridad

Debido a los riesgos de manipulación del aceite esencial de mandarina en estado puro y acorde con sus pictogramas de peligrosidad que presenta, fue necesario equipamiento de seguridad más allá de la bata de laboratorio y los guantes de nitrilo:



Figura 3.4: Pictogramas de peligrosidad asociados al aceite esencial de mandarina en estado puro.

- Gafas de protección
- Máscara de protección: para evitar la respiración prolongada de los componentes volátiles.
- Campana extractora de gases: impide que escapen los componentes volátiles al resto de las instalaciones.



Figura 3.5: Dispositivos de seguridad adicionales usados en el laboratorio.

3.2. Procedimientos

3.2.1. Formulación

Se partió de una formulación habitual en el desarrollo de nanoemulgeles en relación a un total de 250g de emulsión, que se pesaron con ayuda de una balanza de precisión:

- 5 % de fase dispersa (aceite esencial de mandarina ecológico): 12.5g
- 94,5 % de fase continua (agua ultra pura): 236.25g
- 0,5 % de tensioactivo en diferentes proporciones:
 - 100 % Tween 80 / 0 % Span 80 HLB=15.0
 - 75 % Tween 80 / 250 % Span 80 HLB=12.3
 - 50 % Tween 80 / 50 % Span 80 HLB=9.7
 - 25 % Tween 80 / 75 % Span 80 HLB=7,0
 - 0 % Tween 80 / 100 % Span 80 HLB=4.3

Aparte se preparó una disolución de goma guar al 1 % en agua con el mezclador IKA VISC MR-D1 añadiendo una pequeña cantidad de azida de sodio para evitar la proliferación de microorganismos en el sistema. Una vez preparada la emulsión, se añade en proporción para que represente un 0.25 % en seco, que en disolución al 1 % equivale a 62.5g para una cantidad de 250g de emulsión.

3.2.2. Preparación de nanoemulgeles

Para empezar, se forma la preemulsión que permita el procesado a alta presión mezclando los componentes. Se disuelve el Tween 80 en el agua con ayuda de un agitador magnético y el Span 80 en el aceite esencial dentro de la campana extractora. Además, se añade una gota de antiespumante Dow Corning MP 10 en la disolución acuosa para evitar la formación de espuma durante el procesado. El proceso de adición de la fase oleosa a la acuosa se realizó en el mezclador Silverson L5M a 4000 rpm durante los primeros 30 segundos, para después continuar mezclando a 6000 rpm durante otros 30 segundos.

Después, para obtener el tamaño de gota nanométrico, se hace una pasada de la preemulsión a través del sistema Microfluidizer a 25000 psi a una temperatura de 5°C del baño térmico. Este procedimiento se consideró como el óptimo tras la realización de pruebas de procesado de una o dos pasadas a presiones de 15000 o 25000psi, cuya influencia en el tamaño de gota se aprecia en el apartado 4.1 de los resultados.

Finalmente, se pesa la nanoemulsión obtenida, pues una porción considerable se pierde durante el procesamiento. Se añade directamente la cantidad correspondiente de goma guar al 1 % para la masa de emulsión restante según la formulación establecida anteriormente en el apartado 3.2.1. Se mezclan ambos componentes de forma manual.

3.2.3. Ensayos

3.2.3.1. Medidas de la DTG

La distribución de tamaños de gota de la emulsión se midió mediante el dispositivo Malvern Mastersizer. Para ello, se utilizó un valor del índice de refracción del aceite esencial de mandarina de 1.475. Los resultados vienen representados en el porcentaje del volumen respecto al total que representa la fracción de gotas de un determinado tamaño, a través de la aproximación de las gotas como esféricas. Se calcularon como parámetros de interés el diámetro medio de volumen $D_{4,3}$ y el diámetro de Sauter $D_{3,2}$ referido a la superficie, y, además el *span* como medida de la polidispersidad del tamaño. Las medidas se tomaron de la macroemulsión inicial, la nanoemulsión y el emulgel en el primer día, para después tomar medidas del emulgel en los días 3 y 7 desde su síntesis.

$$D_{3,2} = \frac{\sum_{i=1}^N n_i d_i^3}{\sum_{i=1}^N n_i d_i^2} \quad (3.1)$$

$$D_{4,3} = \frac{\sum_{i=1}^N n_i d_i^4}{\sum_{i=1}^N n_i d_i^3} \quad (3.2)$$

$$span = \frac{D_{(v,90)} - D_{(v,10)}}{D_{(v,50)}} \quad (3.3)$$

3.2.3.2. Ensayos reológicos

3.2.3.2.1. Barrido de esfuerzo: ensayos de cizalla oscilatoria de baja amplitud para una frecuencia de 1 Hz a 20°C con la tensión aplicada como variable de control, realizando un barrido desde 0.05 hasta 5 Pa. En estos ensayos se pretende identificar la LVR y el esfuerzo crítico.

3.2.3.2.2. Barrido de frecuencia: ensayos de cizalla oscilatoria en la que la frecuencia es la variable de control para una tensión dentro del LVR obtenido del barrido de esfuerzo y a una temperatura de 20°C. Se valora el comportamiento del nanoemulgel en un rango de frecuencia angular desde 20 hasta 0.2 rad/s para un muestreo de 3 ciclos.

3.2.3.2.3. Curva de flujo: este no se trata de un ensayo de cizalla oscilatoria, en su lugar, es un ensayo de estado estacionario en el que se toma la medida al alcanzar el equilibrio. Se tomaron medidas para deformaciones crecientes desde 0.05 hasta 1.8 Pa a 20°C, requiriendo un período previo de atemperación de 5 minutos.

3.2.3.3. Medidas de estabilidad

Se Aprovechan las propiedades ópticas de las nanoemulsiones, que adquieren opacidad debido la dispersión de la luz por parte de las gotas. Se analiza entonces, a una temperatura de 20°C, el porcentaje de retrodispersión respecto al haz incidente que producen las gotas de la emulsión a lo largo de su altura, repitiéndose este proceso cada hora durante 15 horas el primer día y hasta cumplir los 21 días para valorar su evolución temporal, excepto para las emulsiones 100/0 y 0/100 que fueron 10 y 16 días respectivamente. Una mayor retrodispersión indica una mayor proporción de gotas a una determinada altura, por lo que se analiza también el cambio en la retrodispersión global de la muestra a través del TSI o índice de estabilidad de Turbiscan (Trujillo-Cayado, Santos, Alfaro, Calero, y Muñoz, 2016), dado por:

$$TSI = \sum_i BS_{ref}(h_i) - BS_t(h_i) \quad (3.4)$$

Sección 4

Resultados y Discusión

4.1. Medidas de la DTG

Para empezar, la distribución del tamaño de gota sirvió como variable principal para distinguir el procesado óptimo con el Microfluidizer, para ello, se ensayaron muestras con una proporción de tensioactivos al 50/50.

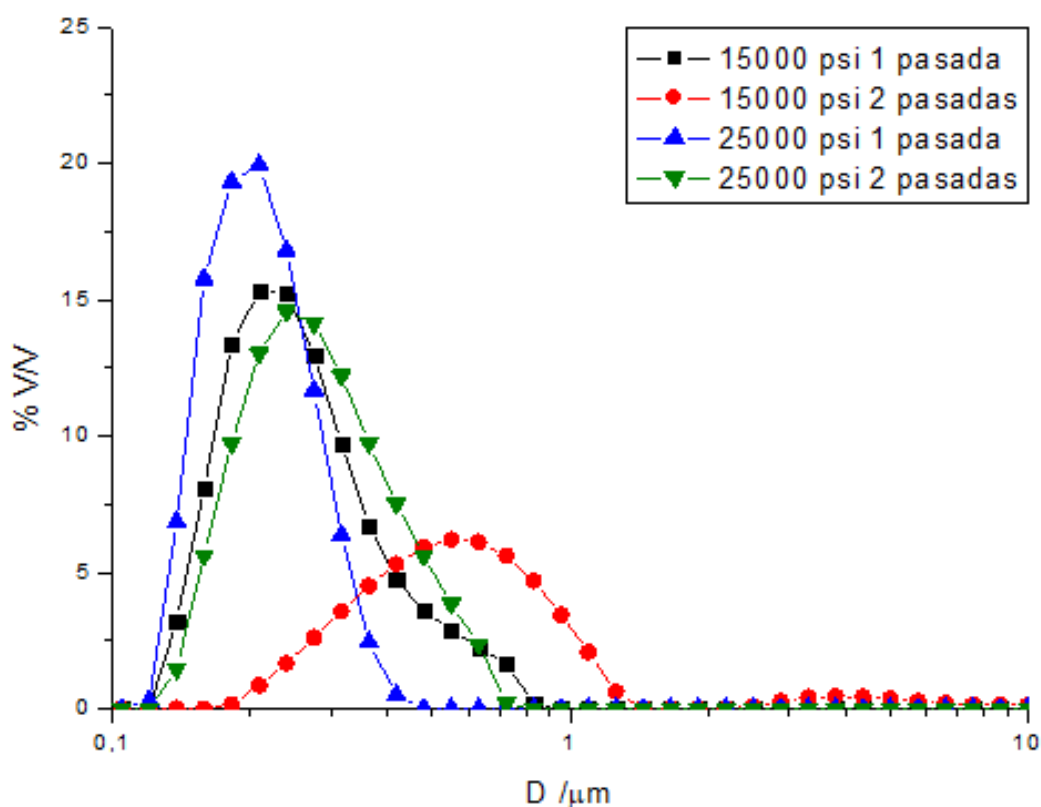


Figura 4.1: Influencia del procesado de las emulsiones en la DTG.

La distribución de gotas menores se corresponde con una sola pasada por el homogeneizador Microfluidizer a una presión de 25000 psi (Figura 4.1). Además, este proceso no solo se

	15000psi 1p	15000psi 2p	25000psi 1p	25000psi 2p
$D_{3,2}(\mu\text{m})$	0.227	0.866	0.192	0.246
$D_{4,3}(\mu\text{m})$	0.263	0.441	0.208	0.279
Span	1.179	1.320	0.723	1.066

Cuadro 4.1: Valores de $D_{3,2}$, $D_{4,3}$ y span de las muestras en dependiendo del procesado.

corresponde al mínimo en el tamaño de las gotas, sino que también supone una distribución más estrecha, con tamaños de gotas más similares entre sí. Efectuar varias pasadas tuvo un efecto contraproducente, parecido al de aplicar menores presiones, se destaca entonces la susceptibilidad por parte de estas nanoemulsiones al sobreprocesamiento. La combinación de ambos factores produjo la peor emulsión, dispersa y con gotas más cercanas al límite de macroemulsiones. Los valores de $D_{4,3}$, $D_{3,2}$ y span también concuerdan con el comportamiento descrito (Cuadro 4.1), sirviendo de apoyo para dilucidar que una sola pasada a 25000 psi es el procedimiento óptimo para la síntesis de nanoemulsiones.

A continuación, se comparó el estado de las nanoemulsiones según su proporción de tensioactivos en función del tiempo transcurrido. Comparando las distribuciones, resulta fácil deducir que las proporciones extremas producen peores resultados y duran menos, es más, en el caso de estos nanoemulgeles, se perdió el tamaño nanométrico antes de los 7 días. Las demás muestras obtuvieron resultados favorables, en especial, la proporción a partes iguales, aunque al final su distribución tendió a distribuciones similares al resto. Se presentan además los diámetros medios de Sauter, de volumen y el valor de span obtenidos en el primer día del nanoemulgel (Cuadro 4.2).

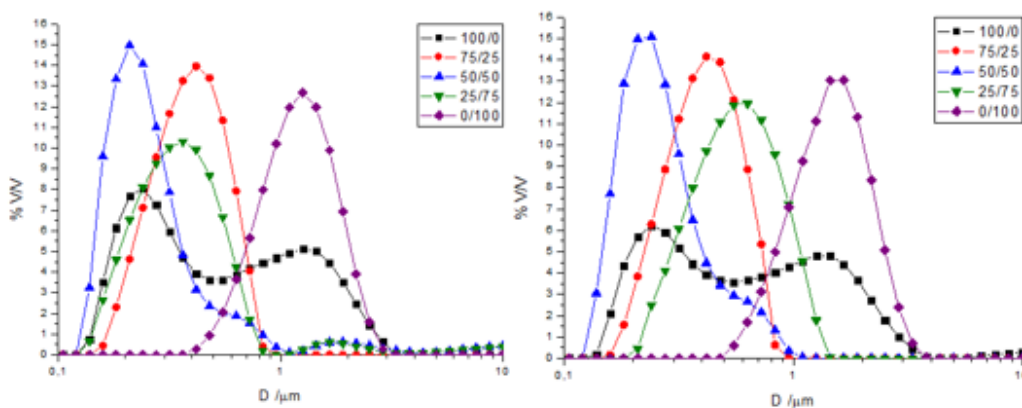


Figura 4.2: Comparación de la DTG de las emulsiones en los días 1 y 3 desde su creación.

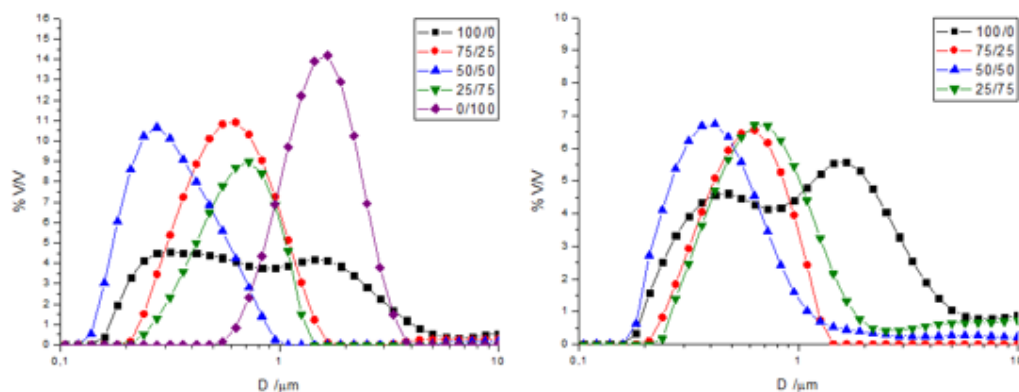


Figura 4.3: Comparación de la DTG de las emulsiones en los días 7 y 14 desde su creación.

Día 1	100/0	75/25	50/50	25/75	0/100
$D_{3,2}(\mu\text{m})$	0.367	0.338	0.232	0.308	1.143
$D_{3,2}(\mu\text{m})$	0.691	0.383	0.275	3.980	9.789
Span	3.063	0.949	1.342	1.752	23.259

Cuadro 4.2: Valores de $D_{3,2}$, $D_{4,3}$ y de las muestras según su proporción en el primer día.

Estos parámetros permiten diferenciar las cualidades de las nanoemulsiones más parecidas en la distribución de tamaños de gota, así la emulsión 75/25 a pesar de ser parecida a la 25/75, posee en realidad mejores características en relación a los diámetros medios de las gotas y por ello, probablemente presente mejor estabilidad también.

Finalmente, se utiliza la DTG para establecer diferencias en la calidad y estabilidad de los nanoemulgeles generados con distintas proporciones de tensioactivos Tween 80/Span 80. Se compara por un lado la evolución del tamaño de las gotas con el paso del tiempo para una misma proporción, que comprende cuatro medidas en el intervalo de 7 días. En el caso de la muestra que sólo contenía Span 80, el tamaño ya estaba fuera de lo aceptable para nanoemulsiones casi desde el principio, viéndose menos afectada por el paso del tiempo. Por el otro, se incluyen, además, medidas realizadas en los pasos intermedios para analizar la influencia de cada uno en el tamaño de gota.

En general, resultaron emulsiones monomodales, contando con un único tamaño de gota predominante, salvo en el caso de la emulsión que contaba únicamente con Tween 80. Este fenómeno se vio acrecentado por la agitación asociada a la mezcla del gel con la nanoemulsión, y, con el tiempo degeneró en una amplia distribución de tamaños incluso por encima de la micra, a pesar de tener un tamaño deseable al inicio. En todos los casos el paso del tiempo supuso un aumento tanto del tamaño de las gotas como de la amplitud de la distribución en la que se encuentran, indicando que el mecanismo de desestabilización predominante para las

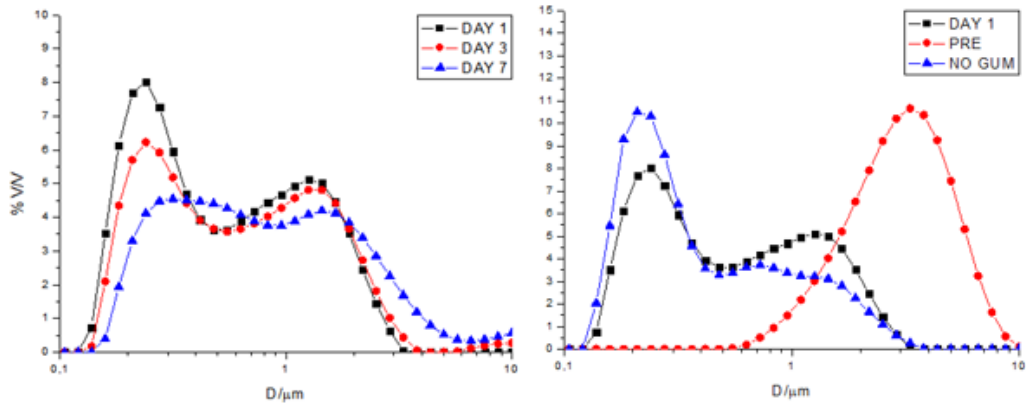


Figura 4.4: DTG de la emusión 100/0 a lo largo del tiempo y en el procesado.

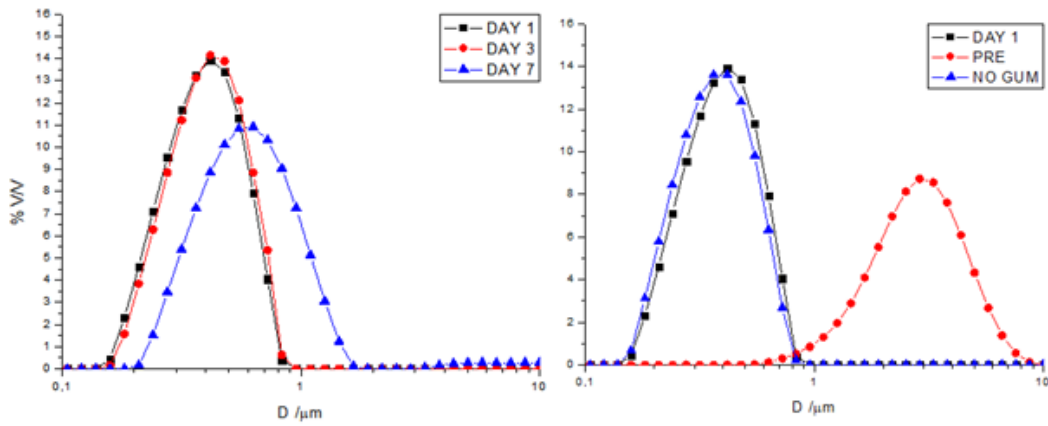


Figura 4.5: DTG de la emusión 75/25 a lo largo del tiempo y en el procesado.

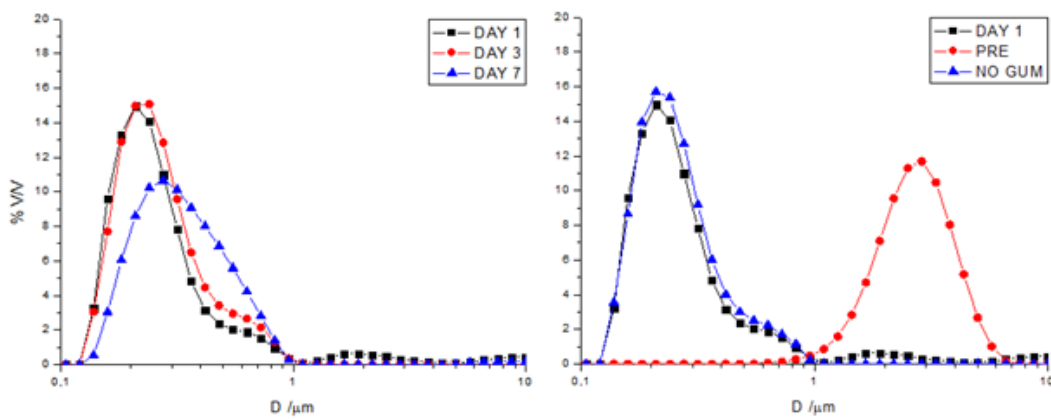


Figura 4.6: DTG de la emusión 50/50 a lo largo del tiempo y en el procesado.

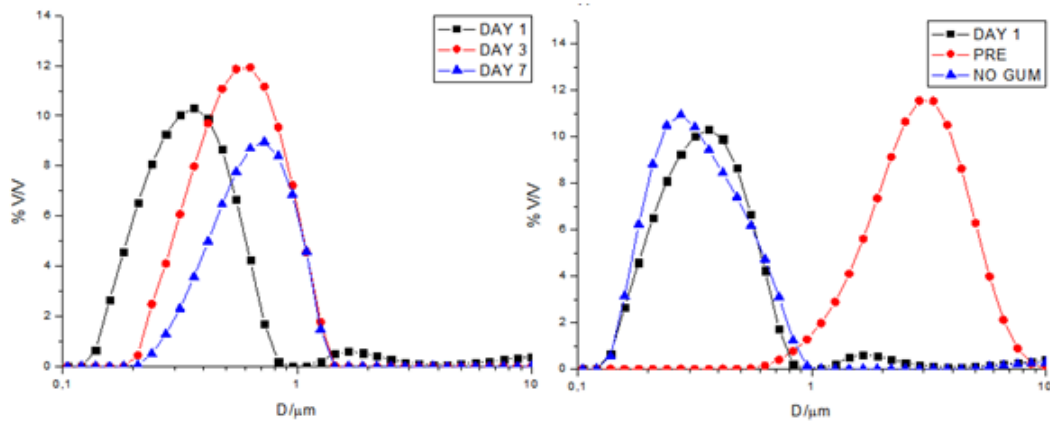


Figura 4.7: DTG de la emusión 25/75 a lo largo del tiempo y en el procesado.

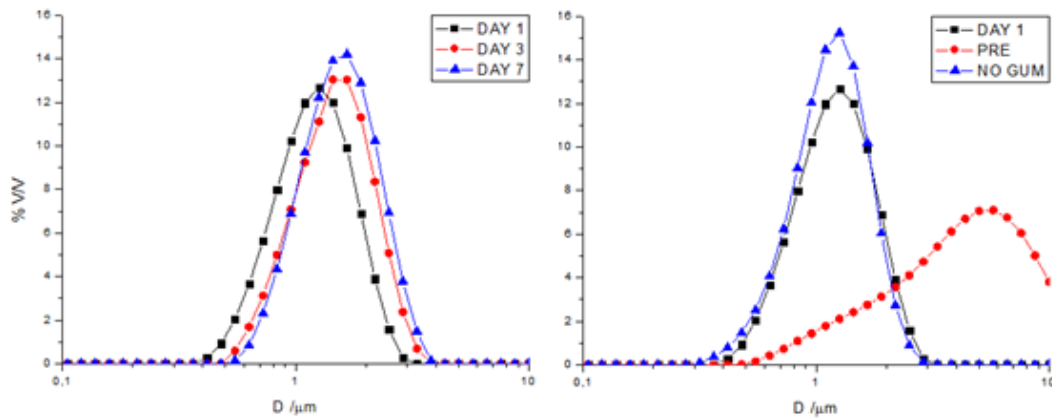


Figura 4.8: DTG de la emusión 0/100 a lo largo del tiempo y en el procesado.

nanoemulsiones es la coalescencia.

4.2. Ensayos reológicos

4.2.1. Barridos de esfuerzo. Cálculo del esfuerzo crítico

La finalidad de este ensayo es la determinación de la región lineal viscoelástica del nanoe-mulgel. Este parámetro es útil para conocer los esfuerzos a los que se puede someter un producto de estos materiales sin destrucción de microestructura. Este ensayo también proporciona otra información interesante sobre el material, en este caso, al representar los módulos de almacenamiento y pérdida, si tiene un comportamiento más próximo al de los sólidos o al de los líquidos. Un valor del módulo de pérdidas mayor que el de almacenamiento, indica una consistencia más fluida en todos los emulgeles desarrollados. Esto se explica por su alto contenido en agua,

pues la fase dispersa no es lo suficientemente concentrada para dar consistencia del sistema y la acción modificadora de la goma guar afecta principalmente a la textura en concentraciones semidiluidas. Se denomina esfuerzo crítico al valor de esfuerzo para el cual el módulo elástico G' pierde su valor constante. Este valor indica el final de la LVR, y se determinó aproximando visulamente el final de la región plana en la representación del módulo elástico (Cuadro 4.3). A partir del esfuerzo crítico, la tendencia es decreciente.

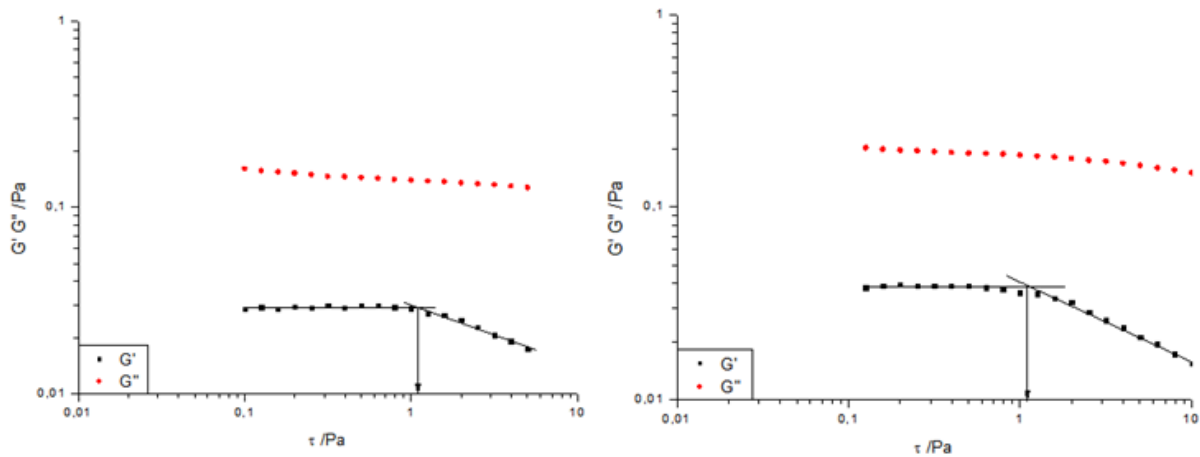


Figura 4.9: Barrido de esfuerzos para los nanoemulgeles 0/100 y 25/75 donde la flecha indica el esfuerzo crítico.

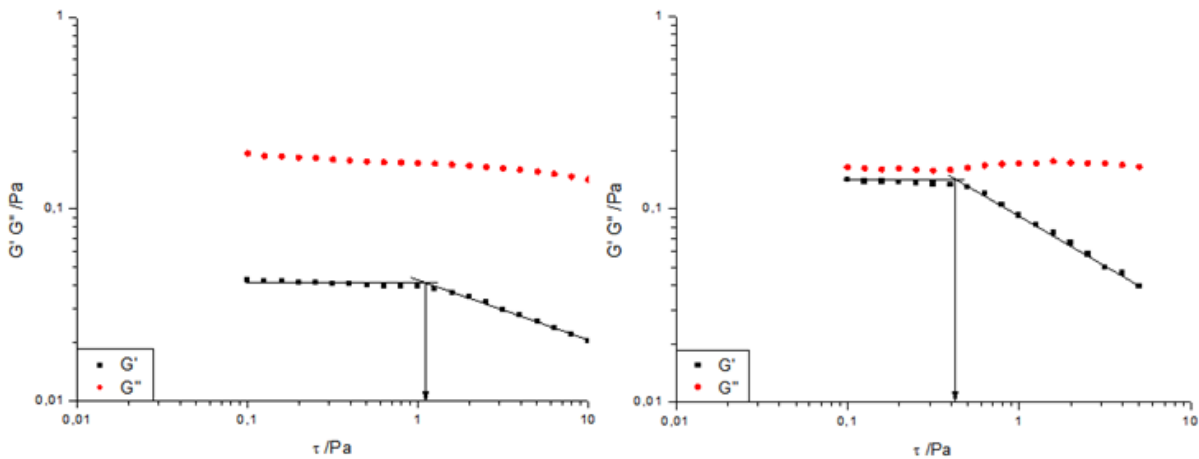


Figura 4.10: Barrido de esfuerzos para los nanoemulgeles 50/50 y 75/25 donde la flecha indica el esfuerzo crítico.

Los resultados apuntan a una reducción en el esfuerzo crítico conforme aumenta la cantidad de Tween 80. Dadas las cantidades con las que se experimenta, se destaca un comportamiento

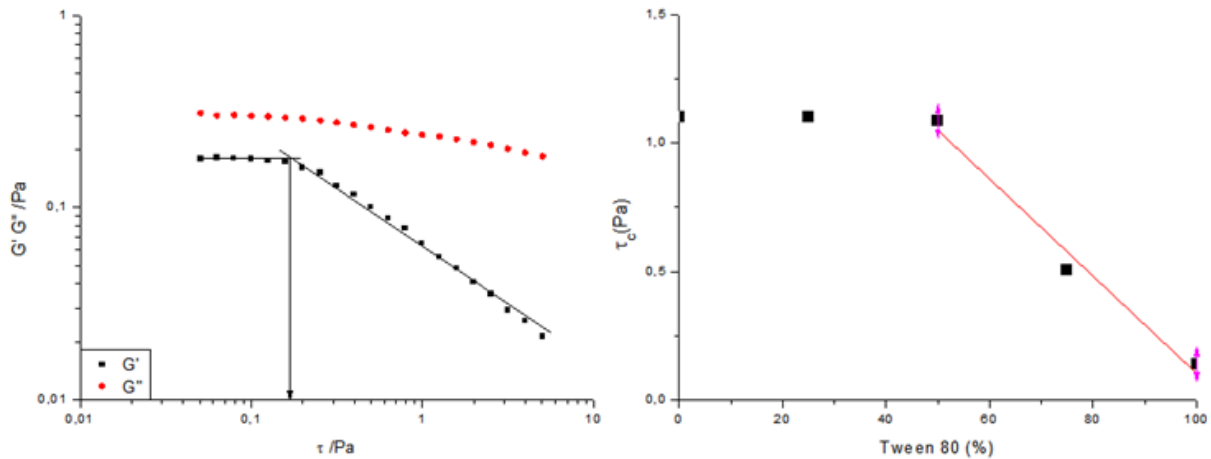


Figura 4.11: Barrido de esfuerzos para el nanoemulgel 100/0 donde la flecha indica el esfuerzo crítico, seguida de la representación de los esfuerzos críticos en función de la proporción de Tween 80.

	100/0	75/25	50/50	25/75	0/100
τ_c (Pa)	0.14	0.5	1.1	1.1	1.1

Cuadro 4.3: Valores aproximados del esfuerzo crítico para cada uno de los nanoemulgeles.

considerablemente sensible, y, por la importancia del parámetro, surge la necesidad de poder aproximarse a un valor de referencia a partir de su formulación. En una representación de los valores de críticos de esfuerzo frente al contenido en Tween 80, es posible apreciar una dependencia lineal entre ambas con la condición de que este representa al menos la mitad del tensioactivo, y dado el alto grado de correlación, se ha establecido una función que permita predecir su valor para un nanoemulgel de proporción diferente (Cuadro 4.4). A partir de la mitad en proporción, al disminuir el contenido en Tween 80, el valor aproximado del esfuerzo crítico se estanca.

	Valor	Error
M (Pa)	1.9953	0.1928
N(Pa)	-0.0189	0.0025
R ²	0.98	-

Cuadro 4.4: Resultados de la pendiente *M* y ordenada en el origen *N* de la regresión lineal que relaciona la proporción en Tween 80 y el esfuerzo crítico.

4.2.2. Barrido de frecuencias

Partiendo del ensayo anterior, se estudia el comportamiento de los emulgeles ante los esfuerzos de cizalla oscilatoria dependiendo de la frecuencia, siempre dentro de la LVR.

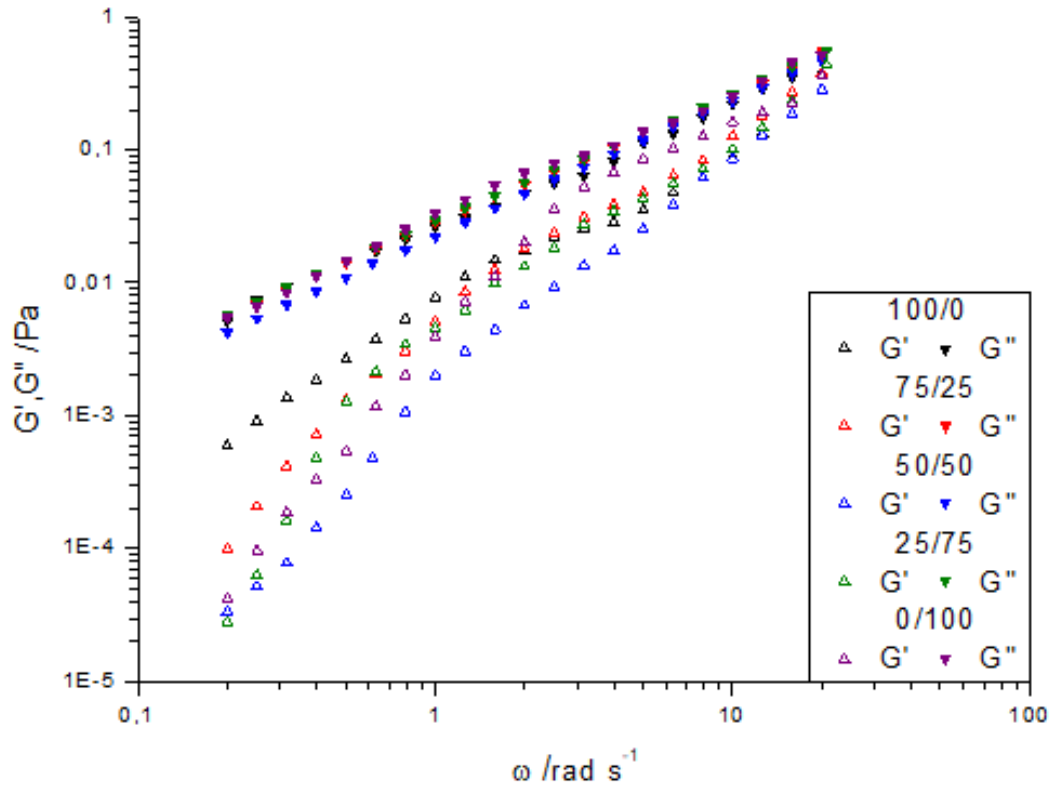


Figura 4.12: Barrido de frecuencias para los nanoemulgeles

El comportamiento de los emulgeles resulta el propio de un líquido viscoelástico (Figura 2.15). El módulo de pérdidas se encuentra por encima del módulo de almacenamiento, siendo ambos crecientes con la frecuencia. La tendencia del módulo elástico es superar al módulo viscoso, en cuyo caso abandonaría el comportamiento de líquido viscoelástico para mostrar el propio de geles (Figura 2.15). El módulo elástico apenas oscila con la variación de concentraciones de tensioactivo, y aunque si existe cierta variación en el módulo viscoso, el comportamiento general es el mismo. Se induce así, que la reología del nanoemulgel viene dada principalmente por la concentración de goma guar, invariante en este trabajo.

4.2.3. Curvas de flujo. Ajuste al modelo de Cross

Como ensayo reológico, se encargan de caracterizar la viscosidad del material en función de la velocidad de cizalla. Para los emulgeles preparados, se comprobó el cumplimiento del

modelo de Cross, asociado a materiales viscoelásticos con comportamiento pseudoplástico.

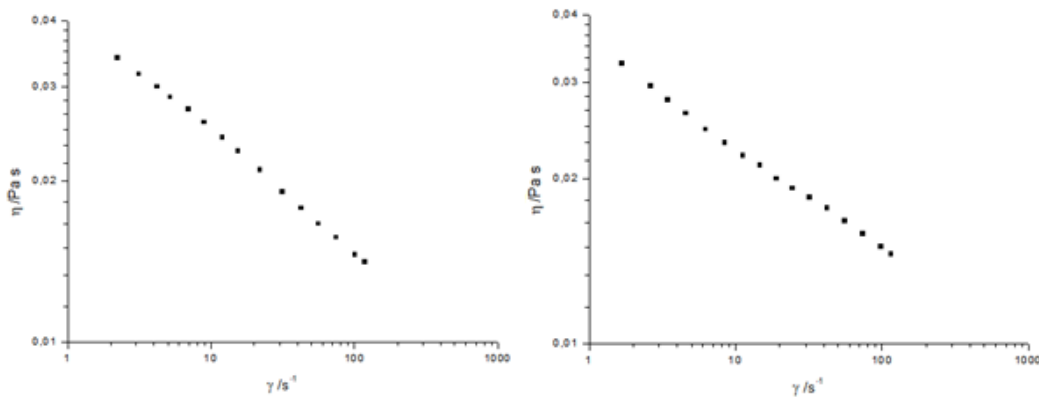


Figura 4.13: Curvas de flujo de los nanoemulgeles 0/100 y 25/75, cuyo comportamiento no coincide con el modelo de Cross.

La viscosidad de las muestras pobres en Tween 80 presentaban un comportamiento pseudo-plástico, pero el modelo de Cross no se ajusta a su tendencia. A diferencia de una viscosidad con valores límite (Figura 2.16), su viscosidad tiene una tendencia permanentemente decreciente por lo que se puede observar en el intervalo del ensayo.

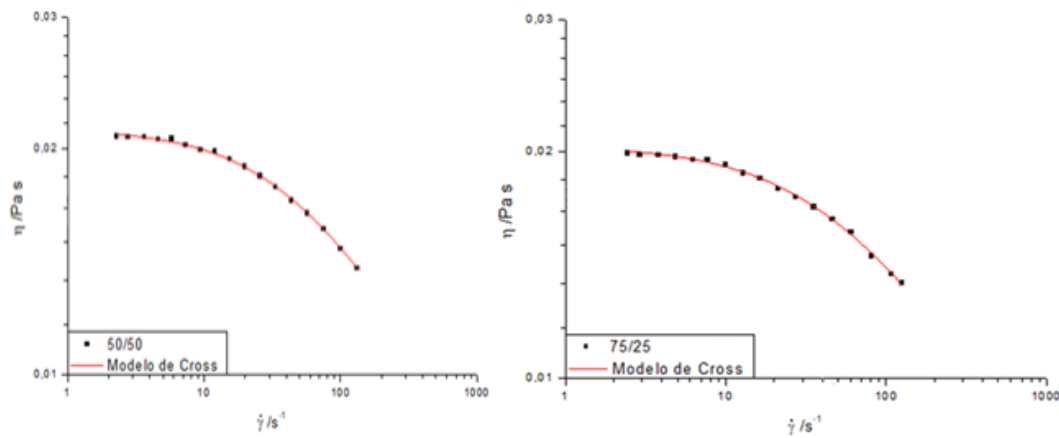


Figura 4.14: Curvas de flujo de los nanoemulgeles 50/50 y 75/25, cuyo comportamiento sí se adapta al modelo de Cross.

En cambio, en el resto de las muestras se comprobó un ajuste satisfactorio del modelo que, permite obtener información del material dado el significado físico de sus constantes (Cuadro 4.5). Además de la viscosidad inicial del sistema ante la ausencia de esfuerzos externos, se destaca el valor de la velocidad de cizalla crítica necesaria para producir el descenso de su viscosidad, de gran interés en el procesado, transporte y aplicación de posibles productos basados en los nanoemulgeles. También, se corrobora una vez más la predominancia del comportamiento líquido frente al sólido por un valor del índice de flujo más cercano a la unidad que a cero.

	50/50		75/25		100/0	
	Valor	Error	Valor	Error	Valor	Error
η_0 (Pa·s)	0.02122	$5.09492 \cdot 10^{-5}$	0,02037	$5.66179 \cdot 10^{-5}$	0.01411	$3.43844 \cdot 10^{-5}$
$\dot{\gamma}$ (s^{-1})	42.39856	3.88628	44.21342	5.05597	70.43609	7.84077
n	0.69905	0.0152	0.68379	0.02091	0.66525	0.02254
R ²	0.99879	-	0.99831	-	0.99862	-

Cuadro 4.5: Resultados del ajuste del modelo de Cross al comportamiento de los nanoemulgeles 50/50, 75/25 y 100/0 con sus errores asociados.

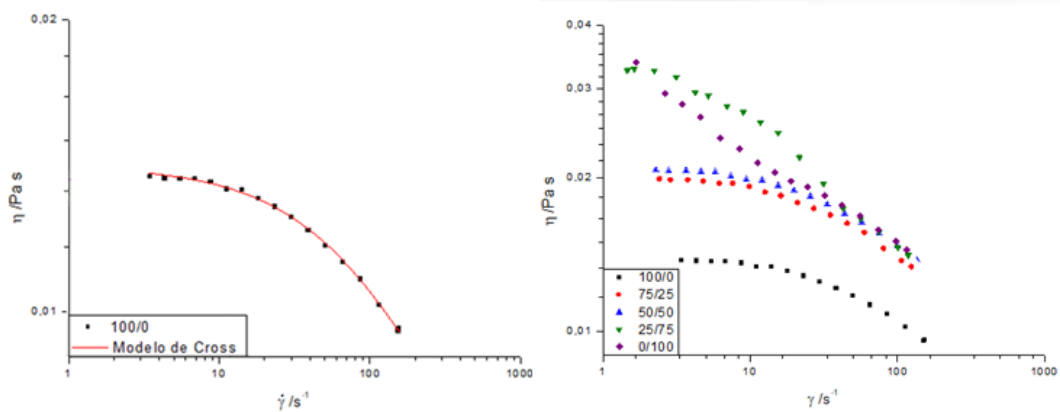


Figura 4.15: Curva de flujo del nanoemulgel 0/100 y comparativa de todas las curvas de flujo juntas.

Al representar todas las curvas de flujo juntas se observa como el comportamiento viscoso es altamente dependiente de la proporción de Tween 80. Todas las curvas que satisfacen el modelo de Cross muestran una variación similar, encontrándose la principal diferencia en la viscosidad inicial. Esto concuerda con los barridos de esfuerzo, que en mayor proporción de Tween 80, mostraban más cercanía en el valor de los módulos viscoelásticos, indicando un comportamiento menos viscoso.

4.2.4. Medidas de estabilidad

A partir del método de MLS es posible identificar los mecanismos de desestabilización de las nanoemulsiones. En cualquier proporción de los tensioactivos es posible observar es la separación gravitacional, que en este caso, se trata de cremado. Prueba de ello es la disminución en el tiempo de la intensidad de retrodispersión en la zona inferior del contenedor debido a la menor concentración de gotas de aceite esencial de mandarina. Este mecanismo se puede destacar en la desestabilización de las emulsiones unida a la coalescencia, la cual ya se apreciaba en la evolución de la DTG. Este fenómeno se observa en la disminución progresiva de la retrodispersión en la zona central, salvo para el nanoemulgel 75/25, en el que es apenas

apreciable.

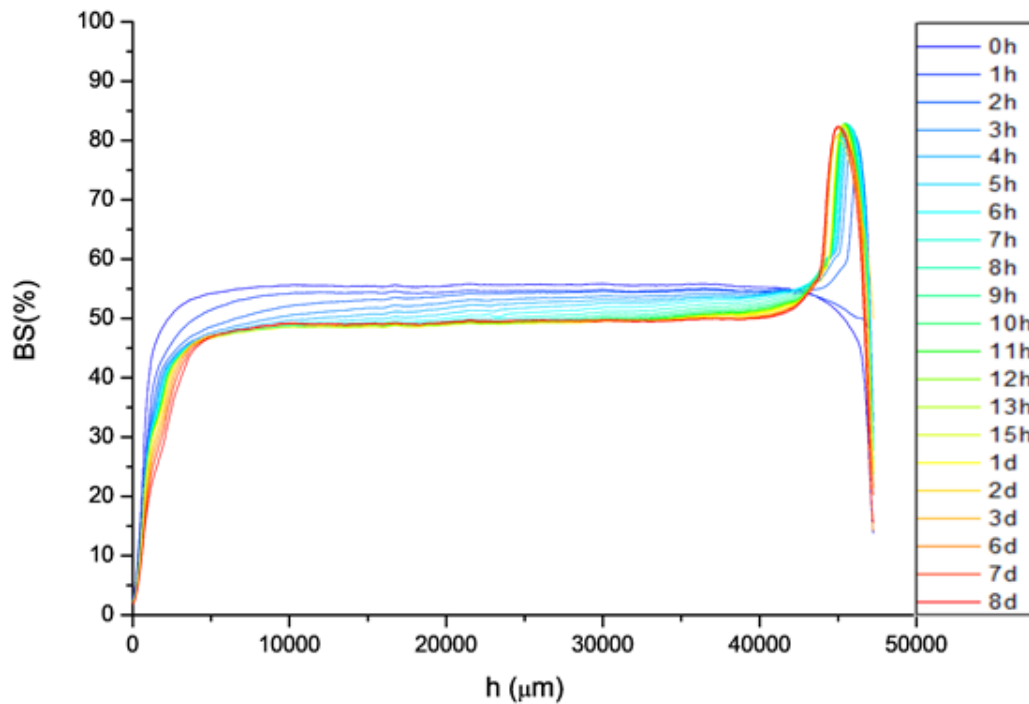


Figura 4.16: Variación del backscattering del nanoemulgel 100/0 con medidas de la altura de las celdas como función del tiempo de envejecimiento.

Para una comparación clara entre los nanoemulgeles, se recurre a la representación del TSI en función del tiempo desde la preparación de la emulsión (Figura 4.21), demostrándose que la emulsión más estable es la de proporción 75/25 en Tween 80 y Span 80 respectivamente. Cuanto mayor sea este índice, mayor es el cambio sufrido en la retrodispersión del perfil de la muestra, cuantificando todos los fenómenos de desestabilización que se dan de forma global. En los primeros días, la emulsión 50/50 posee una tendencia más lenta a la desestabilización que el resto de emulsiones, con excepción de la emulsión 75/25. Sin embargo, este comportamiento acaba superando a la emulsión 25/75 a los 5 días y a la 100/0 a los 16 días, por lo que se aprecia la dependencia de estos fenómenos con el tiempo.

Los resultados concuerdan con la regla de Bancroft en tanto que para la estabilidad de la emulsión es mejor el uso de un tensioactivo soluble en la fase continua, y lo que es más, se corresponde a la información presente en la bibliografía sobre el sistema HLB, en la que el D-limoneno, componente principal del aceite esencial de mandarina en hasta un 74% (Dosoky y Setzer, 2018), es asignado un HLB para la formación de emulsiones de 13. ((Santos y cols., 2014)).

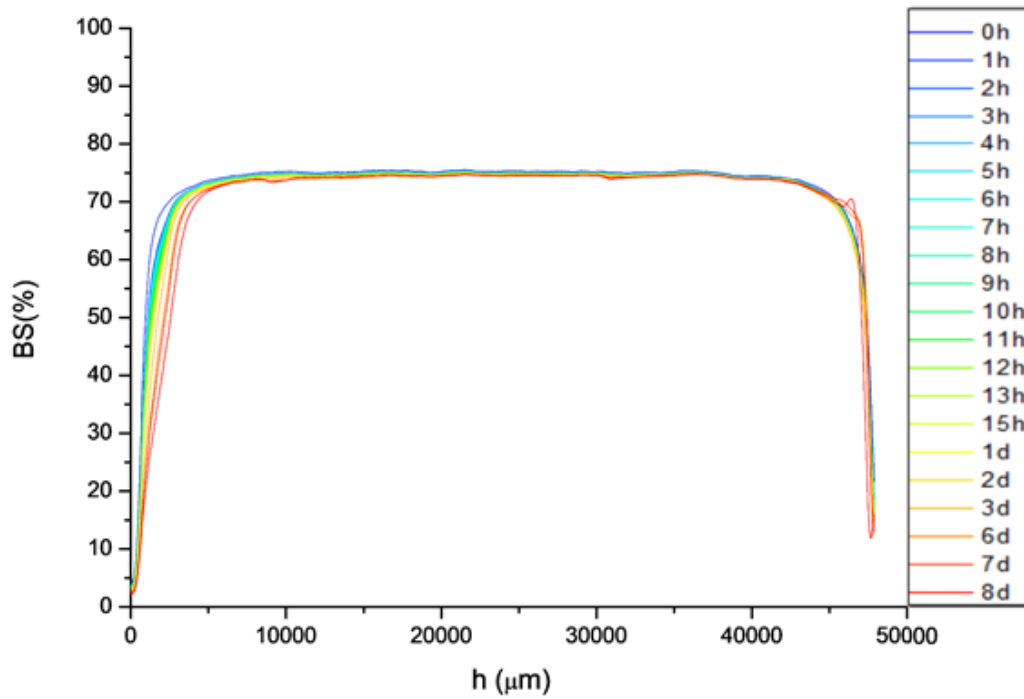


Figura 4.17: Variación del backscattering del nanoemulgel 75/25 con medidas de la altura de las celdas como función del tiempo de envejecimiento.

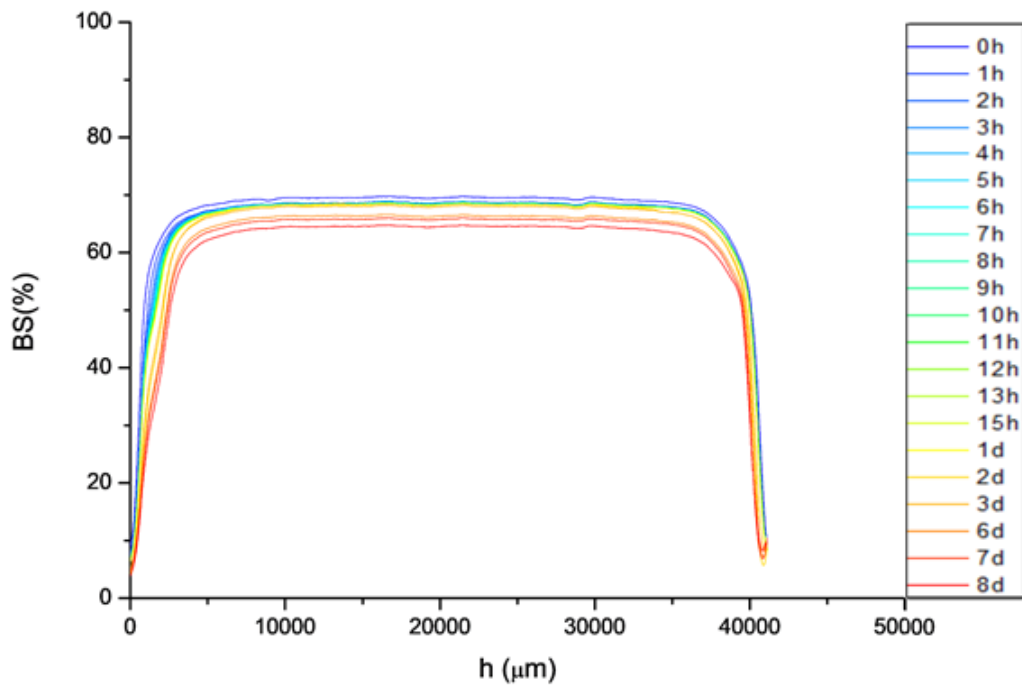


Figura 4.18: Variación del backscattering del nanoemulgel 50/50 con medidas de la altura de las celdas como función del tiempo de envejecimiento.

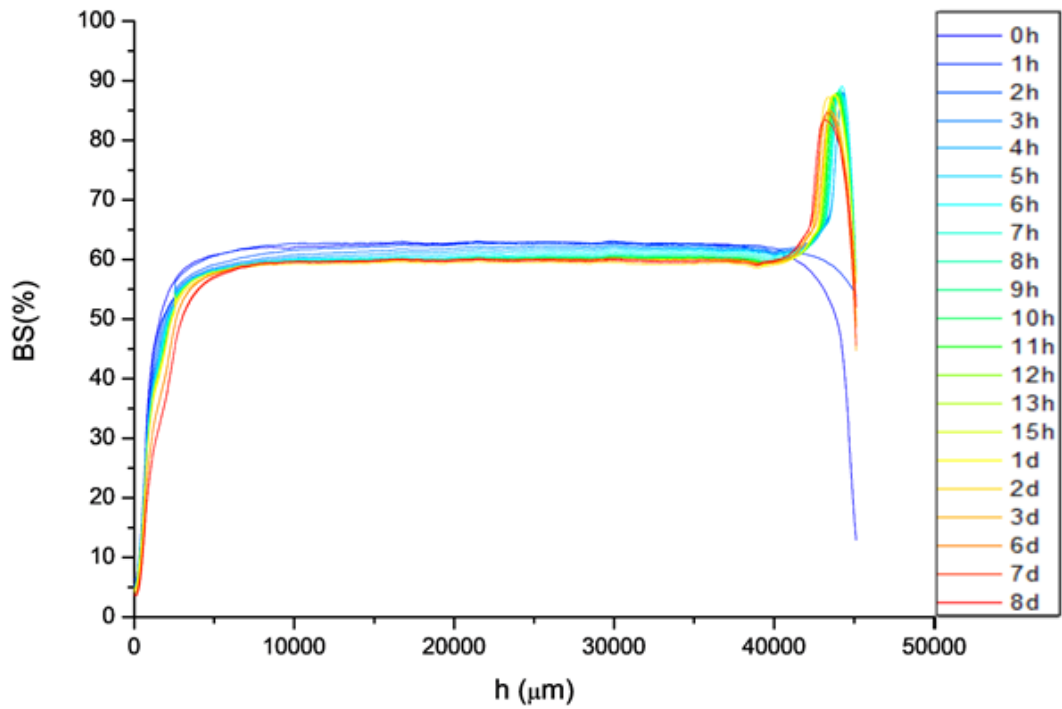


Figura 4.19: Variación del backscattering del nanoemulgel 25/75 con medidas de la altura de las celdas como función del tiempo de envejecimiento.

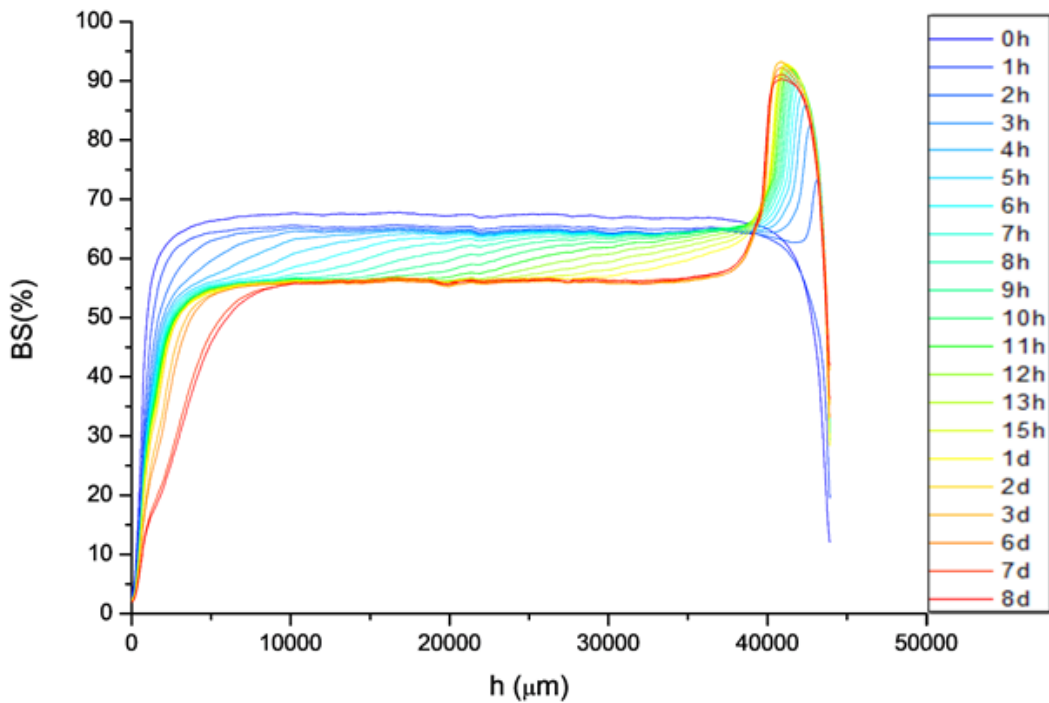


Figura 4.20: Variación del backscattering del nanoemulgel 0/100 con medidas de la altura de las celdas como función del tiempo de envejecimiento.

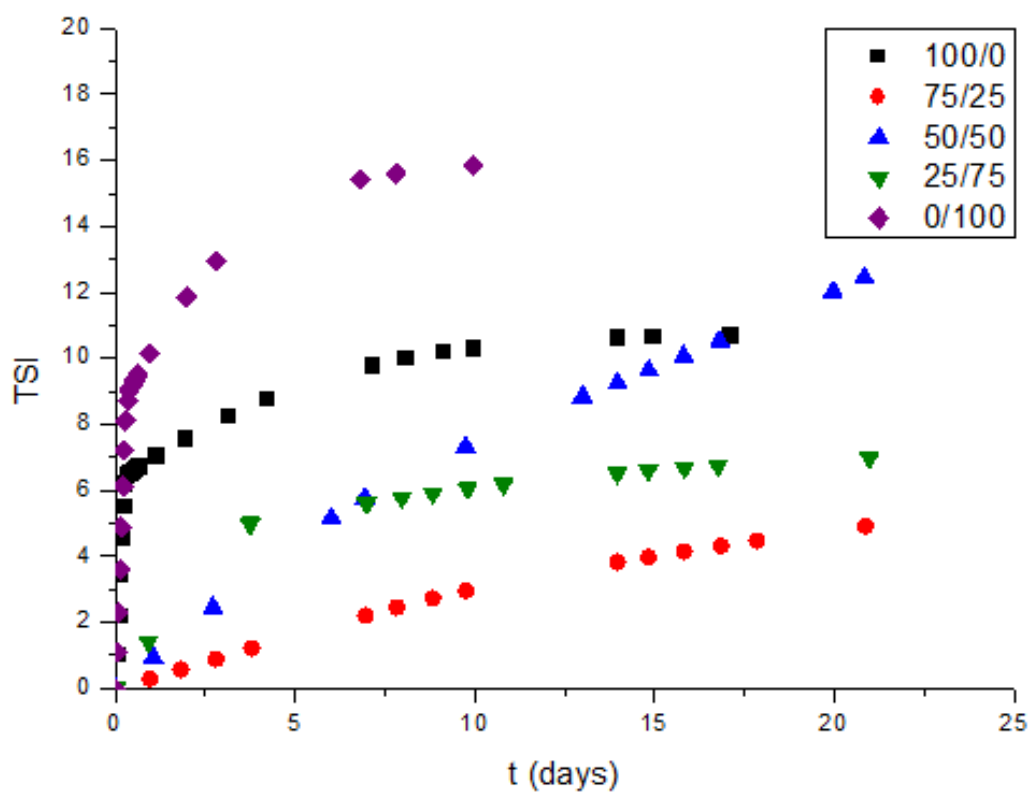


Figura 4.21: Índice de estabilidad de Turbiscan en función del tiempo transcurrido.

Sección 5

Conclusión

Se han conseguido caracterizar numerosos aspectos de importancia de los nanoemulgeles desarrollados a base de emulsiones O/W de aceite esencial de mandarina. Principalmente, se ha estudiado la influencia de la proporción de tensioactivos, Tween 80 y Span 80, en las propiedades del sistema. La caracterización ha tenido en cuenta los aspectos más importantes en el desarrollo de productos de la ingeniería química: la estructura y el tamaño de gota, las propiedades reológicas y la estabilidad del sistema, termodinámicamente inestable por definición. A través de las propiedades ópticas mediante métodos no intrusivos, se obtuvo la DTG, y el diagnóstico de los mecanismos de inestabilidad. Por la parte reológica, se han podido desarrollar relaciones de la proporción de tensioactivos con el esfuerzo crítico de la estructura y se ha logrado la descripción del comportamiento del nanoemulgel por el modelo de Cross. En los resultados, ha quedado patente la relevancia de la regla de Bancroft, pues aquellos nanoemulgeles pobres en el tensioactivo hidrosoluble han demostrado peores propiedades en la mayoría de los ámbitos. No obstante, entre los que sí poseían un alto contenido en Tween, no existe uno que presente todas las características más deseables, y la elección de uno u otro puede variar de acuerdo a la aplicación y respuesta esperada. Mientras que una proporción a partes iguales puede producir el menor tamaño idóneo para la encapsulación de sustancias, proporciones mayores consiguen la mejor estabilidad, en concordancia con el sistema HLB, y utilizando únicamente Tween 80 se logran sistemas de baja viscosidad. Por lo tanto, se trata de un formato que admite gran versatilidad y se abre así el camino para futuras investigaciones comparando diferentes combinaciones tensioactivos, ajustando su proporción con saltos más graduales y variando los agentes modificadores. Hay que destacar el hecho de todos los productos empleados en su síntesis son de Grado Alimentario, excepto la azida de sodio que es irrelevante en la formulación del sistema, consiguiendo un formato apto para su aplicación en alimentación, cosmética y medicina. Se demuestran así sus posibilidades en el desarrollo de nuevos productos más respetuosos con el medio ambiente por el camino de la química verde.

Sección 6

Nomenclatura

Símbolos	Significado	Símbolos griegos	Significado
GRAS	Generally Recognised As Safe	ϕ	Fracción volumétrica
X_1	Magnitud referida a la fase continua	ϕ_m	Fracción en masa
X_2	Magnitud referida a la fase continua	ρ	Densidad
ΔG^{emul}	Incremento de Energía Libre necesario para la formación de una emulsión	σ	Tensión superficial
ΔA	Incremento de Área de separación	η	Viscosidad
T	Temperatura	$\omega_{Ostwald}$	Velocidad de Difusión Ostwald
ΔS	Incremento de Entropía	τ	Esfuerzo/ Tensión (de cizalla)
p	Presión de Laplace	γ	Deformación
r	Radio de las gotas	$\dot{\gamma}$	Velocidad de Deformación
DTG	Distribución del Tamaño de Gota	τ_0	Amplitud de Esfuerzo/ Tensión
C^*	Concentración Crítica de Solape	γ_0	Amplitud de Deformación
C^{**}	Concentración Crítica de Agregación	ω	Frecuencia Angular
v_{stokes}	Velocidad de Cremación: velocidad límite de las gotas por acción gravitatoria	δ	Desfase entre Esfuerzo y Deformación
g	Aceleración de la gravedad	τ_c	Esfuerzo/Tensión Crítica
HLB	Índice Hidrófilo Lipófilo	$\dot{\gamma}_c$	Velocidad de Deformación Crítica para la respuesta pseudoplástica
r_c	Radio Crítico de Ostwald	η_0	Viscosidad inicial en el modelo de Cross
t	Tiempo		
D	Coefficiente de Difusión de la fase dispersa disuelta en la continua		
C_∞	Solubilidad de la fase dispersa en la continua		
V_m	Volumen molar de la fase dispersa		
R_g	Constante de los gases ideales		
LVR	Linear Viscoelastic Region		
G'	Módulo Elástico o de Almacenamiento		
G''	Módulo Viscoso o de Pérdidas		
G^*	Módulo Complejo		
n	Índice de flujo		
R^2	Coefficiente de Correlación		
M	Pendiente de la relación entre porcentaje de Tween 80 y τ_c		
N	Ordenada en el Origen de la relación entre porcentaje de Tween 80 y τ_c		
TSI	Turbiscan Stability Index		
BS	Porcentaje de Retrodispersión de una muestra a una determinada altura h		
h	Altura del contenedor de muestras del analizador Turbiscan		

Sección 7

Referencias

Referencias

- Anastas, P., y Warner, J. (1998). *Green Chemistry: Theory and Practice*. (First ed.). Oxford, Reino Unido: Oxford University.
- Barnes, H. A. (2000). *Handbook of Elementary Rheology*. Aberystwyth: University of Wales, Institute of Non-Newtonian Fluid Mechanics.
- Ciriminna R, Lomeli-Rodriguez M, Demma Carà P, Lopez-Sanchez JA, P. M. (2014). Chem-Comm. *Chem. Commun*(50), 15288–15296.
- Dosoky, N. S., y Setzer, W. N. (2018). Biological activities and safety of citrus spp. Essential oils. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(7), 1–25.
- FDA. (2017). *Sec. 182.20 Essential oils, oleoresins (solvent-free), and natural extractives (including distillates)*.
- Grumezescu, A. M. (2016). *Emulsions* (Vol. 3). Elsevier Science Ltd.
- ICI Americas Inc. (1980). The HLB SYSTEM.
- Launay, B., Cuvelier, G., y Martinez-reyes, S. (1997). Viscosity of locust bean, guar and xanthan gum solutions in the Newtonian domain. *Carbohydrate Polymers*, 34(4), 385–395.
- McClements, D. J. (1999). *Food Emulsions: Principles, Practiques and Tecniques*. Washington D.C.: CRC Press.
- Miller, R. (2016). *Emulsifiers : Types and Uses* (First ed.). Elsevier Science Ltd.
- Mudgil, D., Barak, S., y Khatkar, B. (2014, 06). Guar gum: processing, properties and food applications- a review. *Journal of Food Science and Technology -Mysore-*, 51, 409-418.
- Nikfar, S., y Behboudi, A. F. (2014). Limonene. *Encyclopedia of Toxicology: Third*, 78–82.
- Oliveira, D., Michel, R. C., Mcbride, A. J. A., Moreira, A. S., y Lomba, R. F. T. (2013). Concentration Regimes of Biopolymers Xanthan , Tara , and Clairana , Comparing Dynamic Light Scattering and Distribution of Relaxation Time. *PLoS ONE*, 8(5), 2–8. doi: 10.1371/journal.pone.0062713
- Rosano, H. L., Gandolfo, F. G., y Hidrot, J. D. P. (1998). Stability of W1/O/W2 multiple emulsions influence of ripening and interfacial interactions. *Colloids and Surfaces A:*

- Physicochemical and Engineering Aspects*, 138(1), 109–121.
- Salager, J.-I. (2016). Emulsion Phase Inversion Phenomena. En *Emulsions and emulsion stability* (Second ed., cap. Chapter 4). London, United Kingdom: CRC Press Taylor & Francis.
- Santos, J., Trujillo-cayado, L. A., y Calero, N. (2014). Physical Characterization of Eco-Friendly O / W Emulsions Developed Through a Strategy Based on Product Engineering Principles. *American Institute of Chemical Engineers*, 60(7).
- Sjöblom, J. (2006). *Emulsions and Emulsion Stability* (Second ed.). Bergen (Noruega): CRC Press.
- Stang, M., Schuchmann, H., & Schubert, H. (2001). Emulsification in High-Pressure Homogenizers. *Engineering in Life Sciences*, 1, 151–157.
- Tadros, T., Izquierdo, P., Esquena, J., y Solans, C. (2004). Formation and stability of nano-emulsions. *Advances in Colloid and Interface Science*, 108-109, 303–318.
- Tadros, T. F. (2013). Emulsion Formation , Stability , and Rheology. En *Emulsion formation and stability* (pp. 1–75). Weinheim, Germany: Wiley-VCH.
- Taylor, P. (1995). Ostwald ripening in emulsions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 99, 175–185.
- Trujillo-Cayado, L. A., Santos, J., Alfaro, M. C., Calero, N., y Muñoz, J. (2016). A further step in the development of oil-in-water emulsions formulated with a mixture of green solvents. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 55(27), 7259–7266.
- Villalobos-Castillejos, F., Granillo-Guerrero, V. G., Leyva-Daniel, D. E., Alamilla-Beltrán, L., Gutiérrez-López, G. F., Monroy-Villagrana, A., y Jafari, S. M. (2018). Fabrication of Nanoemulsions by Microfluidization. *Nanoemulsions: Formulation, Applications, and Characterization*, 207–232.
- Vitale, S. A., y Katz, J. L. (2003). Liquid Droplet Dispersions Formed by Homogeneous Liquid - Liquid Nucleation : “ The Ouzo Effect ”. *Langmuir*, 19, 4105–4110.