

## C10

### INFLUENCIA DE LA FORMULACIÓN Y DE LAS VARIABLES DE PROCESADO SOBRE LA ESTABILIDAD FÍSICA DE EMULSIONES DE ACEITE ESENCIAL DE TOMILLO

García, M<sup>a</sup> Carmen, Portillo, Celia, Martín M<sup>a</sup> José, Alfaro, M<sup>a</sup> Carmen, Muñoz, José. TEP-943: Reología Aplicada. Tecnología de Coloides. Departamento de Ingeniería Química. Escuela Politécnica Superior. Universidad de Sevilla.

#### RESUMEN

En la actualidad, los consumidores tienden a preferir productos que contengan compuestos naturales en lugar de aditivos sintéticos. Este hecho hace que en los últimos tiempos se haya realizado un gran esfuerzo en el estudio de formulaciones de emulsiones cuya fase orgánica está compuesta por aceites esenciales procedentes de plantas aromáticas. Estos aceites, como por ejemplo, el aceite esencial de tomillo (*Thymus Vulgaris*), constituido principalmente por timol, permiten diseñar productos más ecológicos y más seguros.

En este estudio, se ha evaluado la estabilidad física de emulsiones concentradas de aceite de tomillo en función de la concentración de un tensioactivo de baja toxicidad y rápida biodegradación, Appyclean 6548. Dicho tensioactivo es no iónico del tipo alquil polipentósido, cuyo HLB está entre 9.0 y 9.5. En primer lugar, se obtuvo una emulsión primaria mediante el uso de un homogeneizador de alta velocidad rotor-stator, Silverson L5M. Posteriormente, se hizo pasar esta emulsión por un homogeneizador de alta presión por microcanales, Microfluidizer M110P. Finalmente, se estudió la estabilidad de las emulsiones resultantes mediante la combinación de técnicas como la difracción láser y la retrodispersión de luz en toda la longitud del recipiente que contenía la muestra.

**Palabras clave:** *Emulsiones, disolvente verde, aceite esencial, tensioactivo ecológico, emulsificación.*

#### ABSTRACT

Nowadays, the consumers tend to prefer product containing natural components instead of synthetic additives. For this reason, recently the researchers have made a great effort to study formulation of emulsions whose organic phase containing essential oils from aromatic plants. These oils, such as, thyme essential oil (*Thymus Vulgaris*), consisting mainly of thymol, make possible to design more ecological and safer products.

In this study, the physical stability of concentrated emulsions has been assessed as a function of a surfactant with low toxicity and rapid biodegradation, Appyclean 6548. This is a non-ionic surfactant, alkylpolypentoside, with HLB of 9.0-9.5. Firstly, a coarse emulsion was obtained by means of a rotor-stator homogenizer. Then, this emulsion was submitted at high pressure by a microchannel homogenizer. Finally, the stability of the resulting emulsions using multiple light scattering and laser diffraction.

**Keywords:** *Emulsions, green solvent, essential oils, ecological surfactant, emulsification.*

#### INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

Como consecuencia de las propiedades que poseen los aceites esenciales, se ha producido un gran interés por ellos recientemente. Propiedades como la actividad antiviral, actividad antibiótica o antifúngica (Burt, 2004) o propiedades contra patógenos que se transmiten a través de los alimentos, hacen a estos aceites muy atractivos para su aplicación en la industria alimentaria, cosmética, farmacéutica y agroquímica.

En el caso particular de la industria alimentaria, la tendencia actual de los consumidores a adquirir productos que contienen conservantes de origen natural en lugar de aditivos sintéticos (Chang, 2012)

favorece el empleo de los aceites esenciales como aditivos antimicrobianos naturales para alargar la vida útil de los alimentos y bebidas.

A pesar de las numerosas ventajas que posee la incorporación de aceites esenciales con actividad antimicrobiana, presentan una serie de inconvenientes, como su baja solubilidad en agua y su fuerte sabor e intenso aroma que condicionan su utilización en altas dosis ya que puede generar cambios organolépticos en ciertos productos alimenticios (Salvia-Trujillo, 2015). Una alternativa prometedora, sería el diseño de formulaciones de emulsiones de aceite en agua (O/W) cuya fase dispersa esté constituida por aceites esenciales. De esta forma, los componentes antimicrobianos serían incorporados con mayor facilidad al mejorarse su capacidad de dispersión en un medio acuoso. En los productos agroquímicos, el aceite esencial se encuentra en forma de gota dispersa en medio continuo (García, M.C. et al., 2016). Se caracterizan, además, porque poseen una buena eficacia y son respetuosos con el medio ambiente por su mayor biodegradabilidad y menor toxicidad.

Una emulsión es una dispersión termodinámicamente inestable de dos fases inmiscibles en las cuales, en este caso una emulsión aceite en agua (O/W), una fase oleosa está dispersa en forma de gota en una fase continua acuosa. Para mejorar la estabilidad de la emulsión, es necesario un tercer componente, el tensioactivo. Este se sitúa en la interfase entre los dos medios, reduciendo la tensión interfacial y contribuyendo en la mayoría de los casos a una mayor estabilidad (Dickinson, 1989). En este trabajo, se ha usado como tensioactivo, Appyclean 6548, un tensioactivo no iónico del tipo alquil polipentósido (APP). Este tensioactivo es respetuoso con el medioambiente ya que muestra una alta y rápida biodegradación, así como, una baja ecotoxicidad lo cual lo hace ideal para su empleo en formulaciones verdes.

El objetivo principal de este estudio ha sido evaluar la estabilidad física de emulsiones O/W de aceite esencial de tomillo como fase dispersa en función de la concentración de surfactante presente en la formulación y del método de emulsificación utilizado, comparando una emulsión obtenida por homogenización primaria llevada a cabo con un sistema rotor-estátor Silverson L5M y una emulsión procesada con una homogenización secundaria adicional llevada a cabo con un homogenizador Microfluidizer M-110P.

## METODOLOGÍA

### *Materiales*

Aceite esencial de tomillo, suministrado por Destilaciones Bordas Chinchurreta, al 40% en peso, fue utilizado como fase dispersa de las emulsiones O/W investigadas. Las propiedades físicas de este aceite esencial se muestran en la Tabla 1. Como agente emulsionante se ha empleado un alcohol C14/C18 de poliglucósido suministrado por Wheatoleo cuyo nombre comercial es Appyclean 6548. Las concentraciones estudiadas fueron 4%, 6%, 8% y 10% en peso. Además, como conservante se utilizó un 0.1% en peso de azida sódica. Finalmente, se utilizó la cantidad de agua Mili-Q necesaria para completar la formulación.

Propiedades físicas	Valor
Color	Pardo
Densidad (kg/m <sup>3</sup> )	938
Índice de refracción	1.505
Rotación óptica	1.1
Solubilidad en etanol 70°C/25°C	3

**Tabla 2:** Propiedades físicas del aceite esencial de tomillo proporcionado por Destilaciones Bordas Chinchurreta.

### *Preparación de las emulsiones*

Las fases dispersa y continua se prepararon por separado. Por un lado, se preparó la fase dispersa disolviendo la cantidad necesaria de tensioactivo en el aceite de tomillo, donde es soluble, mediante una rampa de temperatura hasta 70°C. Por otro lado, se preparó la fase acuosa diluyendo la azida sódica en la cantidad de agua Mili-Q necesaria para completar la formulación. Una vez preparada las fases continua y dispersa se procedió a preparar la emulsión primaria en un homogeneizador rotor-estator Silverson L5M a 2000 rpm durante 210 s. Posteriormente, la emulsión primaria se hizo pasar una vez por un homogeneizador de alta presión, Microfluidizer M110P, a una presión de 2500 psi (17.2 MPa). Esta es denominada en el texto como emulsión final.

### *Distribución de tamaños de gota*

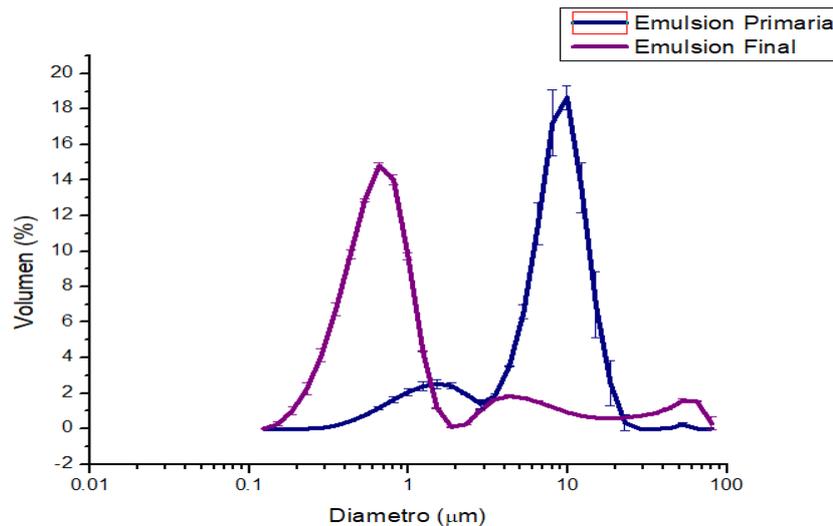
Para la determinación de la distribución de tamaños de gota y diámetros medios de las emulsiones se ha empleado la técnica de difracción láser usando un equipo Malvern Mastersizer X con una lente de 45 mm. El índice de refracción utilizado fue 1.464 y de absorción de 1. La primera medida de control se realizó a las 24 horas después de la preparación de la muestra y posteriormente se hicieron medidas, a la semana, a las dos semanas, etc., de envejecimiento.

### *Estabilidad física*

El estudio de la estabilidad física de las emulsiones se hizo mediante múltiple light scattering usando un Turbiscan Lab Expert capaz de medir la intensidad de luz retrodispersada en toda la longitud del recipiente que contenía la muestra.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

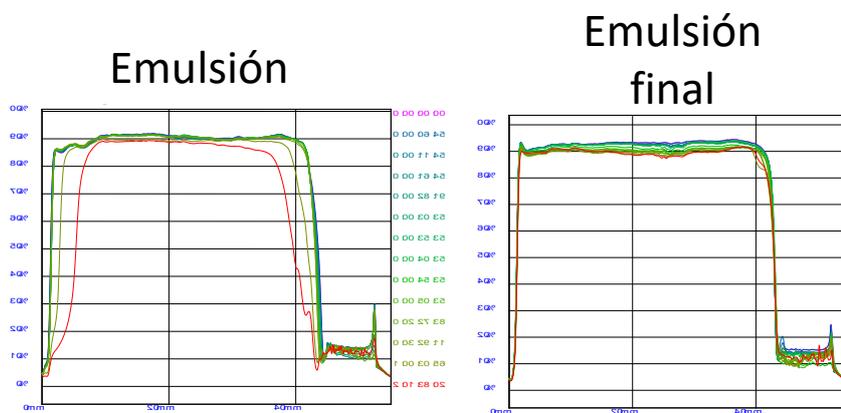
La Figura 1 muestra, a título de ejemplo, la distribución del tamaño de gota para la emulsión primaria y la emulsión final para el sistema que contenía un 2% en peso de Appyclean 6548. El resto de emulsiones presentó el mismo comportamiento. Como puede observarse, se produce un desplazamiento de la distribución hacia tamaños de gotas más pequeños cuando se hace pasar la emulsión por el homogeneizador de alta presión. Esta figura muestra que mientras la emulsión primaria es bimodal, para el caso de la emulsión final es trimodal. En la emulsión final, el primer máximo que corresponde a menores tamaños representa a un mayor porcentaje en volumen de gotas y el segundo máximo correspondiente a tamaños entre 2 y 20  $\mu\text{m}$  es mayor en la emulsión primaria. Sin embargo, se puede observar un tercer máximo entre 60 y 70  $\mu\text{m}$  en la distribución de tamaños de gotas de la emulsión final. Este fenómeno podría estar relacionado con un proceso de recalescencia como consecuencia de un exceso de energía (Jarafi, et al., 2008). Estos efectos están avalados por los valores medios del diámetro de Sauter y volumétrico y el valor del Span presentados en la Tabla 2. Como puede observarse, se produce una disminución tanto del diámetro medio de Sauter como del diámetro medio volumétrico, disminución que implica una reducción importante del tamaño de gota. Además, se observa un aumento en el valor del Span, indicando que la muestra que pasa por el homogeneizador de alta presión es más polidispersa.



**Figura 1:** Distribución de tamaños de gota de la emulsión primaria y final correspondiente al sistema que contenía 40 % en peso de aceite esencial de tomillo y 2% en peso de Appyclean 6548. Temperatura ambiente.

	D [3,2] $\mu\text{m}$	E <sub>D</sub> [3,2] $\mu\text{m}$	D [4,3] $\mu\text{m}$	E <sub>D</sub> [4,3] $\mu\text{m}$	Span	E <sub>span</sub>
Emulsión primaria	3.57	2.2E-01	7.32	5.9E-01	1.46E+00	5.67E-02
Emulsión Final	0.58	1.10E-01	4.1	1.17E+00	1.35E+01	7.20E+00

**Tabla 2:** Diámetros medios de Sauter y volumétrico y Span para la emulsión primaria y final del sistema que contenía 40% en peso de aceite esencial de tomillo y 2% en peso de Appyclean 6548. Temperatura ambiente.

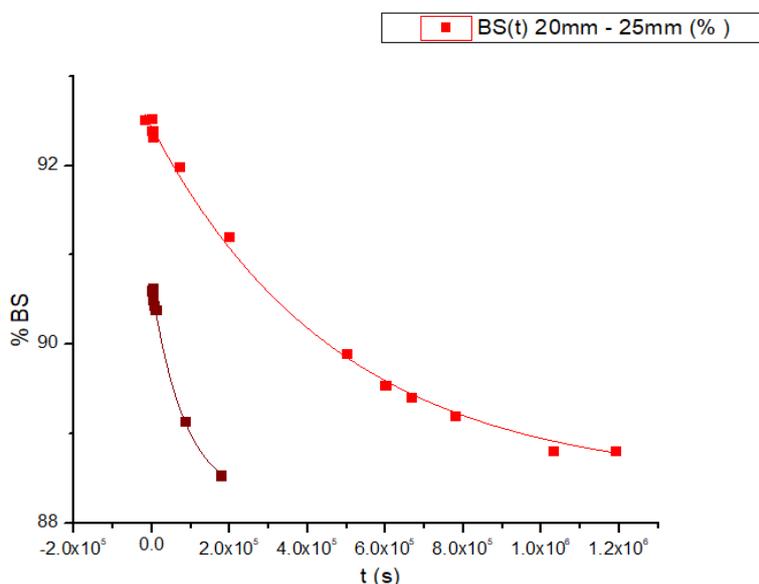


**Figura 2:** Efecto de la microfluidización sobre los resultados de múltiple light scattering para emulsiones que contenían 40% en peso de aceite esencial de tomillo y 8% de Appyclean 6548. Temperatura ambiente.

La Figura 2 muestra los valores del porcentaje de backscattering en toda la longitud de la célula de medida que contenía a la muestra en función del tiempo de envejecimiento para el sistema que contiene 40% en peso de aceite y 8% en peso de tensioactivo antes y después de la microfluidización. Los resultados correspondientes a la emulsión primaria muestran un descenso del backscattering en la zona más baja de la muestra indicando un proceso de clarificación como consecuencia de una migración de las gotas hacia la parte alta del recipiente (cremado). Además, también se observa una disminución del backscattering en la parte alta del recipiente que contiene la muestra debido a un fenómeno de separación de muestra (oiling-off) probablemente resultante de un mecanismo de desestabilización por coalescencia. En el caso de la emulsión final, se observa que la reducción del tamaño de gota debido al paso de la emulsión por el homogeneizador de alta presión, evita el proceso de cremado. Además presenta una disminución del

backscattering en la parte alta de la muestra menor que la emulsión primaria y este descenso se produce a tiempos de envejecimiento mayores.

La cinética de desestabilización se muestra en la Figura 3 donde se representan los valores medios de backscattering, a una altura de la muestra comprendida entre 20 mm y 25 mm, en función del tiempo de envejecimiento.



**Figura 3:** Valores medios de backscattering a una altura de la muestra comprendida entre 20 mm y 25 mm en función del tiempo para las emulsiones primaria y final correspondientes al sistema con 40% en peso de aceite esencial de tomillo y 8% en peso de Appyclean 6548

Estos resultados fueron ajustados a una ecuación cinética de primer orden (1):

$$BS = BS_e + (BS_0 - BS_e) \exp(-kt) \quad (1)$$

Donde BS es el backscattering en función del tiempo de envejecimiento,  $BS_0$  es el valor del backscattering inicial,  $BS_e$  es el valor de backscattering alcanzado en el equilibrio y k es la constante cinética de primer orden. En la Tabla 3, se muestran los valores obtenidos para estos parámetros de ajustes.

	$BS_0$	$E_{BS_0}$	$BS_e$	$E_{BS_e}$	$k \text{ (s}^{-1}\text{)}$	$Ek$	$R^2$
<b>Emulsión Primaria</b>	90.63	1.77E-02	88.25	-	1.17E-05	4.75E-07	0.99
<b>Emulsión Final</b>	92.43	3.42E-02	88.45	-	2.06E-06	5.56E-08	0.99

**Tabla 3:** Parámetros de ajuste a la ecuación cinética de las emulsiones primaria y final correspondientes al sistema con 40% en peso de aceite esencial de tomillo y 8% en peso de Appyclean 6548.

El paso de la emulsión por el homogeneizador de alta presión, microfluidizer M110P, provoca una disminución de la constante cinética (Tabla 3) indicando que los mecanismos de desestabilización son más lentos en la emulsión final.

El resto de formulaciones estudiadas presentaron los mismos mecanismos de desestabilización pero a tiempos de envejecimiento diferentes. De todas ellas, la emulsión con 40% en peso de aceite esencial de tomillo y 6% de Appyclean 6548 fue la más estable de todas.

## CONCLUSIONES

Este estudio demuestra que el paso de las emulsiones primarias por un homogeneizador de alta presión por microcanales produce un aumento en la estabilidad física de la emulsión, como consecuencia de una reducción del tamaño de gotas. Además, este hecho fue avalado por el valor del coeficiente

cinético de primer orden, que fue menor para las emulsiones finales, indicando una desestabilización más lenta. Destacar que los menores tamaños de gota obtenidos en las emulsiones finales, es decir, emulsiones que pasaron a través del homogeneizador M110P, no presentaron la desestabilización por cremado que sufrían las emulsiones primarias. Adicionalmente se puede decir que los resultados de distribución de tamaños de gota y múltiple light scattering indicaron que la emulsión más estable fue aquella formulada con 40% en peso de aceite esencial de tomillo y 6% de Appyclean 6548.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo forma parte de los resultados obtenidos en el proyecto CTQ2015-70700-P, financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad del Gobierno de España y por la Comisión Europea (Programa FEDER).

## BIBLIOGRAFÍA

- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International journal of food microbiology*, 94 (3), 223-253.
- Chang, Y., McLandsborough, L., McClements, D. J. (2012). Physical properties and antimicrobial efficacy of thyme oil nanoemulsions: influence of ripening inhibitors. *Journal of agricultural and food chemistry*, 60 (48), 12056-12063.
- Dickinson, E., Woskett, C. C. (1989). *Food Colloids*, (London, U. K.): Royal Society of Chemistry.
- García, M.C., Alfaro, M.C., Muñoz, J. (2015). Influence of the ratio of amphiphilic copolymers used as emulsifiers on the microstructure, physical stability and rheology of  $\alpha$ -pinene emulsions stabilized with gellan gum. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 135, 465-471.
- Jafari, S.M., Assadpoor, He. E., Bhandari, B. Y. (2008). Re-coalescence of emulsion droplets during high-energy emulsification. *Food Hydrocolloids* 22, 1191-1202.
- Salvia-Trujillo, L., Rojas-Graü, A., Soliva-Fortuny, R., Martín-Belloso, O. (2015). Physicochemical characterization and antimicrobial activity of food-grade emulsions and nanoemulsions incorporating essential oils. *Food Hydrocolloids*, 43, 547-556.