

ESTABILIDAD FÍSICA DE MEZCLAS DE ACEITE ESENCIAL DE TOMILLO Y UN TENSIOACTIVO NO IÓNICO

Martín, María José; García, M^a Carmen; Ramírez, Pablo; Muñoz, José; Alfaro, M^a Carmen. Reología Aplicada. Tecnología de Coloides. Escuela Politécnica Superior, Universidad de Sevilla, C/ Virgen de África, 7, 41011, Sevilla, España.

RESUMEN

El aceite esencial de tomillo es un componente natural con propiedades antioxidantes y antimicrobianas; propiedades que lo hacen muy interesante en campos como el alimentario, el cosmético o el agroalimentario. Los alquil polipentósidos son una nueva clase de tensioactivos derivados de recursos agrícolas renovables como paja de trigo. Son tensioactivos respetuosos con el medio ambiente, ya que muestran alta y rápida biodegradabilidad, así como baja toxicidad. En este trabajo se ha estudiado un alquil polipentósido comercialmente conocido como Appyclean 6548. Este tensioactivo no iónico es sólido a temperatura ambiente y soluble en disolventes orgánicos por lo que para ser usado como emulsionante de emulsiones ecológicas O/W es necesario fundirlo en la fase oleosa. Por este motivo, en esta investigación se estudia el efecto del tratamiento térmico al que es sometida una mezcla aceite esencial de tomillo/Appyclean 6548 en relación en peso 90,9/9,1, sobre su estabilidad física. Adicionalmente, se investiga la influencia de dicho tratamiento sobre la estabilidad física de emulsiones aceite esencial de tomillo/W obtenidas con una fase dispersa de concentración equivalente a la estudiada en la fase previa. Para abordar los objetivos planteados se han usado técnicas como la difracción láser y barridos de retrodispersión de luz.

Palabras clave: *aceite esencial, emulsiones, tensioactivo no iónico.*

ABSTRACT

Thyme essential oil is a natural compound with antibacterial and antioxidant activity which are really interesting to be used as functional ingredient in food, cosmetics and agrochemical industries. Alkyl polypentosides are a new class of surfactants which coming from agricultural renewable resources as wheat straw. They are non-toxic and biodegradable surfactants commercially known as Appyclean. In this case, Appyclean 6548 was studied. This non-ionic surfactant is solid and it is immiscible in water so, the emulsifier was melted and dissolved in the oil phase. For this reason, the influence of thermal treatment was studied in a 90.9/9.1 mass ratio (thyme essential oil/Appyclean 6548) on physical stability of these dispersions. Additionally, this influence was investigated on the stability and droplet size distribution of thyme essential oil/W emulsions. In order to achieve this goal laser diffraction and multiple light scattering techniques were used.

Keywords: *essential oil, emulsions, non-ionic surfactant.*

INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

En los últimos años los aceites esenciales, como el aceite esencial de tomillo, han ganado un gran interés debido a sus propiedades antioxidantes, antimicrobianas, antiviral y actividad antifúngica. Estas propiedades los hacen ser muy deseables en industrias como la cosmética, alimentaria, farmacéutica o la agricultura (Chang, McLandsborough, & McClements, 2015).

No obstante, los aceites esenciales se caracterizan por ser hidrófobos por lo que su utilización en productos de base acuosa está limitada (Rodríguez-Rojo, Varona, Núñez, & Cocero, 2012). Además, su olor intenso hace que la incorporación en altas dosis sea difícil en determinados tipos de productos. Este problema podría ser resuelto mediante la formulación de emulsiones de tipo aceite en agua (O/W). Numerosos trabajos se están desarrollando en los que la fase orgánica es un aceite esencial que procede de una planta aromática (García, Alfaro y Muñoz, 2015; Trujillo et al., 2016).

Una emulsión consiste en la dispersión de dos líquidos inmiscibles donde uno de ellos se encuentra disperso en el otro en forma de gotas. Las emulsiones son termodinámicamente inestables siendo imprescindibles para su formación la introducción de un tercer componente: el emulsionante. El agente emulsionante se localiza en la interfase de ambos líquidos, reduciendo la tensión interfacial y contribuyendo en la mayoría de los casos a una mayor estabilidad (Dickinson, 1989). En esta investigación se utiliza como emulsionante un tensioactivo no iónico del tipo alquilpolipentósido derivado de la biomasa de trigo que muestra alta y rápida biodegradabilidad y baja toxicidad. Además, está libre de polietilenglicol (PEG), no es una fuente de compuestos orgánicos volátiles (VOCs) y no contiene conservantes. Se trata, pues, de un tensioactivo respetuoso con el medio ambiente y, por lo tanto, ideal para formulaciones verdes. Ahora bien, el tensioactivo empleado en esta investigación es sólido a temperatura ambiente y soluble en la fase oleosa. Por tanto, para ser usado como emulsionante previamente es necesario fundirlo y disolverlo en el aceite esencial.

En este trabajo se estudia el efecto de la historia térmica experimentada por una mezcla de aceite esencial de tomillo y alquilpolipentósido sobre su estabilidad física así como la influencia de dicho tratamiento sobre los tamaños medios y la estabilidad física de emulsiones O/W que utilizan esa mezcla aceite/tensioactivo como fase dispersa. Se utilizan técnicas de retrodispersión de luz (multiple light scattering) y de difracción laser para detectar los mecanismos de desestabilización (cremado, floculación o coalescencia) que sufren las emulsiones.

METODOLOGÍA

Material

Se ha utilizado aceite esencial de tomillo (TO) proporcionado por Bordas Chinchurreta (938 k/m³ a 20°C) y el tensioactivo no iónico comercialmente conocido como Appyclean 6548 (APP) suministrado por Wheatoleo cuyo HLB está comprendido entre 9-9,5. Químicamente se conoce como alcohol C14/C18 de poliglucósido.

Preparación de las muestras

Preparación de las dispersiones

La mezcla aceite esencial de tomillo/tensioactivo estudiada se formuló con una relación en masa de 90,1/9,1, equivalente a la que presenta la fase dispersa en la emulsión final (10/1). Para su preparación se consideraron diferentes tratamientos térmicos: a) Por un lado, el tensioactivo se añade al aceite esencial de tomillo en la proporción adecuada y la mezcla, inicialmente a 25°C, se somete a choque térmico introduciéndola en una estufa de laboratorio a 60°C, b) Por otro lado, el tensioactivo se añade al aceite esencial de tomillo en la proporción adecuada y la mezcla, inicialmente a 25°C, se somete a una rampa de temperatura hasta un valor T (60°C o 70°C) durante 15 minutos. Adicionalmente, para cada uno de esos tratamientos se contemplan dos opciones: 1) en la que el tensioactivo se añade al aceite esencial de tomillo tal y como es suministrado y 2) otra en la que el tensioactivo antes de ser añadido al aceite se funde, se enfría y solidifica de nuevo y, posteriormente, es añadido. De aquí en adelante la nomenclatura a usar para referirnos a los diferentes tratamientos térmicos será la siguiente: XT Y-T, donde X=C o R para referirse a choque térmico o rampa de temperatura respectivamente, Y= F(fundido) o SF (sin fundir) para referirse a si el tensioactivo antes de ser añadido al disolvente y proceder con el tratamiento térmico de la mezcla, ha sido fundido o utilizado tal cual es suministrado y T= 60°C o 70°C para referirse a la temperatura aplicada en el tratamiento térmico.

Preparación de las emulsiones

Emulsiones al 30% en peso de aceite esencial de tomillo y 3% de Appyclean 6548 fueron preparadas en dos etapas. En la primera etapa, la fase dispersa (RT F-70 y RT SF-70) fue añadida lentamente a la fase acuosa haciendo uso de un sistema rotor-estator Silverson L5M, equipado con una malla especial emulsionadora, a 8000rpm durante 30s. En la segunda etapa se homogeneizó toda la muestra durante 90

s a 8000 rpm. La temperatura se mantuvo constante a 25°C. De esta forma se obtienen las emulsiones de aquí en adelante denominadas ERT SF-70 y ERT F-70.

Estabilidad Física

La estabilidad física de las muestras ha sido investigada mediante la técnica de retrodispersión múltiple de luz. Esta técnica proporciona perfiles del % de luz retrodispersada y transmitida en función de la altura de la célula de medida que contiene a la muestra a diferentes tiempos de envejecimiento. A partir del análisis de dichos perfiles es posible establecer los mecanismos de desestabilización sufridos por las muestras. Para comparar la estabilidad física de los diferentes sistemas investigados, el Índice de Estabilidad de Turbiscan (TSI) resulta de gran interés. Este tiene en cuenta todos los mecanismos de desestabilización que tienen lugar en la muestra, desde la parte inferior del recipiente que la contiene hasta la parte superior. Cuanto mayor es su valor, más inestable es el sistema (Lesaint et al., 2009).

Tamaño de gotas

La distribución de tamaños de gotas fueron determinadas mediante la técnica de difracción láser usando el equipo Malvern Mastersizer X. Los diámetros medios de gota han sido expresados como el diámetro medio de Sauter ($D_{3,2}$) y el diámetro medio volumétrico ($D_{4,3}$):

$$D_{3,2} = \frac{\sum_{i=1}^N n_i d_i^3}{\sum_{i=1}^N n_i d_i^2} \quad \text{ec. 1}$$

$$D_{4,3} = \frac{\sum_{i=1}^N n_i d_i^4}{\sum_{i=1}^N n_i d_i^3} \quad \text{ec. 2}$$

donde d_i es el diámetro de la gota, N es el número total de gotas y n_i es el número de gotas que tienen el diámetro d_i . Para determinar la anchura de las distribuciones de tamaño de gota se ha utilizado el parámetro "span" que se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$\text{span} = \frac{D(v,0.9) - D(v,0.1)}{D(v,0.5)} \quad \text{ec. 3}$$

donde $D(v,0.9)$, $D(v,0.5)$ y $D(v,0.1)$ son los diámetros acumulativos al 90%, 50% y 10% respectivamente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la figura 1, se ilustran los valores del TSI en función del tiempo de envejecimiento para las dispersiones sometidas a choque térmico a 60°C y rampa de temperatura a 60°C, ambas con el tensioactivo sin fundir previamente a la adición en el aceite y con el tensioactivo tal cual es suministrado. Esta figura revela que, independientemente de que el tensioactivo sea fundido o no previamente al tratamiento térmico con el disolvente, las dispersiones sometidas a rampa de temperatura presentan menores valores de TSI y, por tanto, una mayor estabilidad física que cuando son sometidas a choque térmico. Al mismo tiempo se ilustra que las dispersiones presentan una mayor estabilidad física cuando el tensioactivo es utilizado sin fundir previamente a su incorporación en el aceite esencial. En definitiva, a partir de la figura 1 se extrae que las dispersiones de aceite esencial de tomillo/Appyclean 6548 presentan una mayor estabilidad cuando el tensioactivo es utilizado sin fundir previamente a su incorporación en el aceite esencial y cuando la mezcla es posteriormente sometida a una rampa de temperatura hasta 60°C.

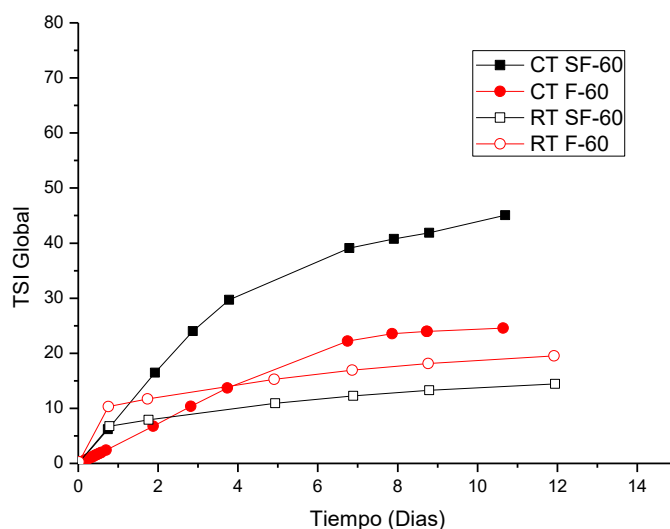


Figura 14: TSI Global en función del tiempo de envejecimiento de mezclas TO/APP sometidas a rampa de temperatura y choque térmico a 60°C con tensioactivo Appyclean 6548 fundido y sin fundir previamente.

Se plantea a continuación si un aumento de temperatura en la rampa de preparación de la mezcla supondría un incremento de la estabilidad física. En la figura 2 se representa el TSI en función del tiempo de envejecimiento para mezclas TO/APP preparadas con rampa térmica a 60°C y 70°C y con el tensioactivo sin fundir. Se observan valores más bajos de TSI y, por tanto, mayor estabilidad, para fases dispersas sometidas a rampas de temperatura más elevada. Este resultado podría explicarse considerando que la solubilización del tensioactivo en el disolvente es más eficaz a mayor temperatura.

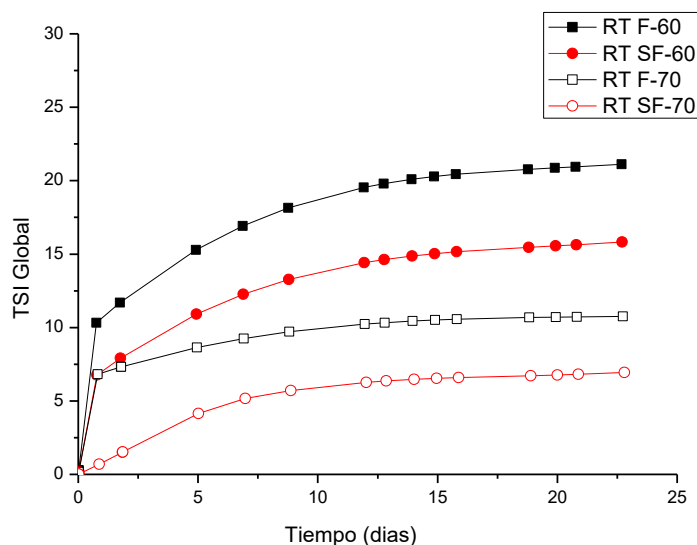


Figura 2: TSI Global en función del tiempo de envejecimiento de mezclas TO/APP sometidas a rampa de temperatura a 60°C y 70°C con tensioactivo Appyclean 6548 fundido y sin fundir previamente.

Dado que las dispersiones TO/APP más estables resultan ser las obtenidas en rampas de temperatura a 70°C, se preparan emulsiones con estas fases dispersas utilizando el tensioactivo previamente fundido y sin fundir (ERT F-70 y ERT SF-70) y se comparan. En la figura 3 se ilustran las distribuciones de tamaños de gota de ambas emulsiones a las 24 horas de su preparación. Como puede

observarse, la emulsión procesada con el tensioactivo sin fundir previamente resulta ser monomodal y, además, se encuentra desplazada hacia menores tamaños de gota. Los valores de los diámetros medios de gota (Sauter y volumétrico) y span, mostrados en la tabla 1, confirman lo que ya se anticipaba en las distribuciones, es decir, la emulsión preparada con el tensioactivo que no ha sufrido ningún tratamiento térmico previo es la que presenta los menores valores. Por lo tanto estos resultados muestran que el uso del tensioactivo tal cual es suministrado, sin recibir ningún tratamiento térmico previo a su adición al disolvente, presenta mejores tamaños de gota y menor polidispersidad. Ninguna de las emulsiones presenta un aumento de gota significativo con el tiempo de envejecimiento.

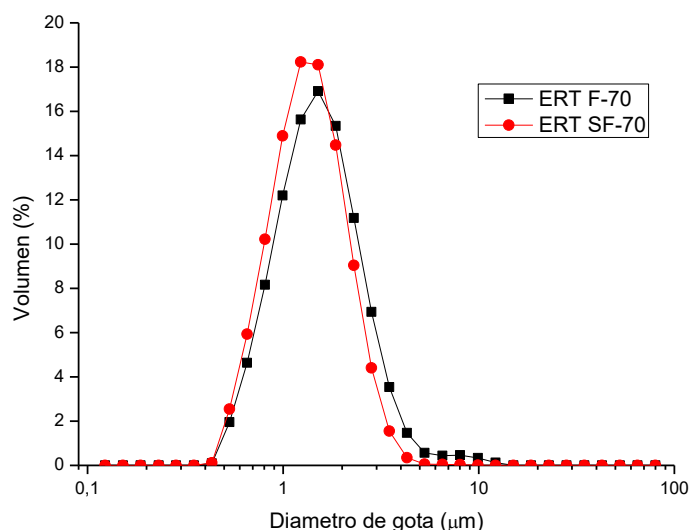


Figura 3: Distribución de tamaños de gota para emulsiones aceite esencial de tomillo/W cuyas fases dispersas fueron preparadas mediante rampa de temperatura a 70°C con el tensioactivo Appyclean 6548 fundido y sin fundir. Tiempo de envejecimiento de 24h.

Tabla 1: Diámetros medios $D_{3,2}$ y $D_{4,3}$ y span para emulsiones aceite esencial de tomillo/W cuyas fases dispersas fueron preparadas mediante rampa de temperatura a 70°C con el tensioactivo Appyclean 6548 fundido y sin fundir. Tiempo de envejecimiento de 24h.

Emulsión	$D_{3,2}$ (µm)	$D_{4,3}$ (µm)	Span
ERT SF-70 (Appyclean 6548 sin fundir)	1,09	1,32	1,167
ERT F-70 (Appyclean 6548 fundido)	1,21	1,57	1,358

Los resultados del estudio de la estabilidad física realizado mediante “multiple light scattering” hasta los 9 días de envejecimiento se presentan en la figura 4 donde a modo de ejemplo se representa el porcentaje de luz retrodispersada (“backscattering”, %BS) frente a la altura de la célula de medida para la emulsión obtenida con la fase dispersa RT SF-70. Como puede observarse, el %BS desciende en la zona baja de la célula de medida mientras que en la zona intermedia permanece prácticamente constante. La bajada del %BS observada en la zona baja indica la existencia de un proceso de desestabilización por cremado. El cremado se produce por la diferencia de densidades entre la fase continua y la fase dispersa (en forma de gotas de disolvente), lo que conlleva el ascenso de esta última desde la parte inferior del recipiente que contiene a la muestra hasta la parte superior. Los valores aproximadamente constantes del %BS en la zona intermedia indican que los mecanismos de desestabilización por coalescencia y/o floculación no son relevantes. En la zona alta de la célula de medida también se produce un descenso del %BS que puede deberse a la aparición de coalescencia como consecuencia de la ruptura de las interfases de las gotas más grandes acumuladas en la fase cremada (Trujillo-Cayado et al., 2016). Resultados similares se obtienen para la emulsión cuya fase dispersa se sometió al tratamiento térmico RT F-70. A

partir, pues, de los resultados obtenidos se puede concluir que el mecanismo de desestabilización predominante en ambas muestras es el cremado.

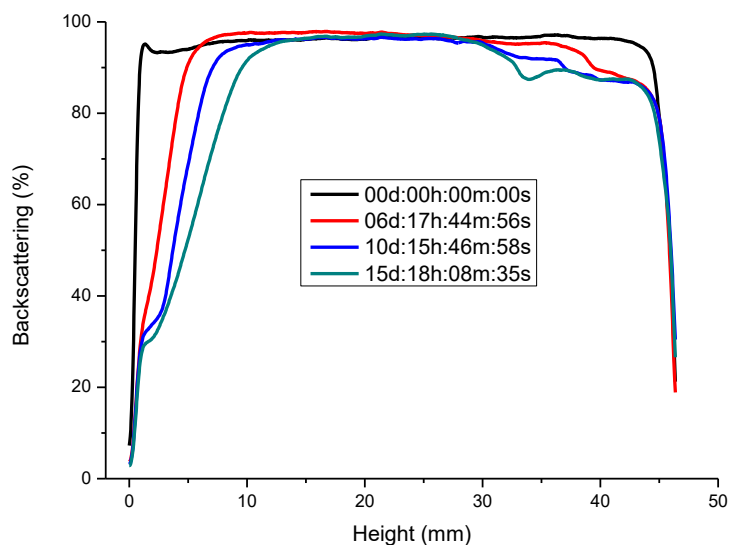


Figura 4: %Backscattering frente a la altura de la célula de medida para emulsiones aceite esencial de tomillo/W cuyas fases dispersas fueron preparadas mediante rampa de temperatura a 70°C con el tensioactivo Appyclean 6548 fundido y sin fundir.

Con el objeto de cuantificar el proceso de desestabilización que sufren las emulsiones estudiadas, en la figura 5 se compara el TSI en función del tiempo de envejecimiento para ambas. Así la emulsión procesada con la fase dispersa en la que el tensioactivo Appyclean 6548 sin fundir se añade al aceite y se someten juntos a una rampa de temperatura hasta 70°C (ERT SF-70) presenta mejor estabilidad física (TSI más bajo) que aquella otra que es procesada con la fase dispersa RT F-70. Este resultado es coherente con el obtenido por difracción láser donde la emulsión ERT SF-70 presenta valores más bajos de los diámetros medios y menor polidispersidad.

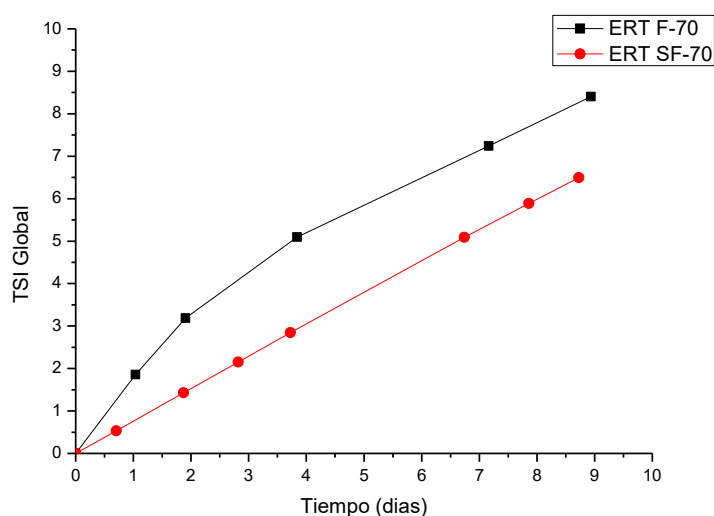


Figura 5: TSI Gobal frente al tiempo de envejecimiento para emulsiones aceite esencial de tomillo/W cuyas fases dispersas fueron preparadas mediante rampa de temperatura a 70°C con el tensioactivo Appyclean 6548 fundido y sin fundir.

CONCLUSIONES

La estabilidad física de mezclas aceite esencial de tomillo/Appyclean 6548 (futura fase dispersa de una emulsión aceite esencial de tomillo/agua) en una relación 90,1/9,1 preparadas siguiendo un protocolo de rampa de temperatura es mayor que aquellas obtenidas mediante choque térmico. En rampa de temperatura, aquellas mezclas TO/APP preparadas a mayor temperatura (70°C) presentan mayor estabilidad física. Respecto al uso del tensioactivo tal cual es suministrado o fundido previamente a su incorporación al aceite esencial de tomillo, señalar que la estabilidad física de la mezcla disolvente/tensioactivo es mayor cuando este se utiliza sin fundir.

Por otro lado, el estudio de emulsiones formuladas con aceite esencial de tomillo y Appyclean 6548 indica que sufren un mecanismo principal de desestabilización por cremado. Una mejor estabilidad física de la fase dispersa obtenida mediante rampa de temperatura hasta 70°C en la que el tensioactivo no ha sido fundido previamente repercute en una mejor estabilidad física de la emulsión final y menores valores de los diámetros medios de gota.

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

- Chang, Y., McLandsborough, L., & McClements, D. J. (2015). Fabrication, stability and efficacy of dual-component antimicrobial nanoemulsions: Essential oil (thyme oil) and cationic surfactant (lauric arginate). *Food Chemistry*, 172, 298–304. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.081>
- Dickinson, E; Woskett, C. C. (1989). *Food Colloids*, (London, U. K.): Royal Society of Chemistry
- García, M.C., Alfaro, M.C. and Muñoz, J. (2015). Influence of the ratio of amphiphilic copolymers used as emulsifiers on the microstructure, physical stability and rheology of α -pinene emulsions stabilized with gellan gum. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 135, 465–471.
- Lesaint, C., Glomm, W. R., Lundgaard, L. E., & Sjöblom, J. (2009). Dehydration efficiency of AC electrical fields on water-in-model-oil emulsions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 352(1–3), 63–69. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2009.09.051>
- Rodríguez-Rojo, S., Varona, S., Núñez, M., & Cocero, M. J. (2012). Characterization of rosemary essential oil for biodegradable emulsions. *Industrial Crops and Products*, 37(1), 137–140. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2011.11.026>
- Trujillo-Cayado, L. A., Santos, J., Alfaro, M. C., Calero, N., & 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. <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.6b01320>