

**EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA PROPORCIÓN DE FASE OLEOSA SOBRE  
LA ESTABILIDAD FÍSICA DE EMULSIONES TIPO O/W A BASE DE ACEITE DE  
SACHA INCHI Y AGUA**

Diana Marcela Parra Barona

Universidad ICESI

Facultad de Ciencias Naturales

Programa de Química Farmacéutica

Santiago de Cali

2018

EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA PROPORCIÓN DE FASE OLEOSA SOBRE  
LA ESTABILIDAD FÍSICA DE EMULSIONES TIPO O/W A BASE DE ACEITE DE  
SACHA INCHI Y AGUA

Diana Marcela Parra Barona

Trabajo de grado para optar al título de pregrado en Química Farmacéutica

Tutor

Constain H. Salamanca Ph.D

Universidad ICESI

Facultad de Ciencias Naturales, Programa de Química Farmacéutica

Santiago de Cali

2018



**APROBADO POR:**

---

Director(a) del Proyecto.

---

Evaluador (a)

## TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN.....	7
ABSTRACT.....	8
1. INTRODUCCIÓN.....	9
2. DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO.....	12
2.1. OBJETIVOS.....	12
2.1.1. Objetivo general.....	12
2.1.2. Objetivos específicos.....	12
2.2. MATERIALES Y METODOLOGÍA UTILIZADA.....	12
2.2.1. Materiales.....	12
2.2.2. Metodología.....	12
2.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	15
2.3.1. Determinación del HLB requerido para el aceite de sachá inchi.....	15
2.3.2. Homogenización de los sistemas emulsificados por la técnica HUAP 16	
2.3.3. Caracterización fisicoquímica de los sistemas emulsificados.....	17
2.3.4. Estudio de estabilidad a condiciones de shock térmico.....	21
2.4. CONCLUSIONES.....	22
2.5. REFERENCIAS.....	23
3. ANEXOS.....	28
3.1. Marco Teórico.....	28
3.1.1. Sistemas heterodispersos: Emulsiones.....	28
3.1.2. Sistema HLB.....	30
3.1.3. Tensión superficial e interfacial.....	32
3.1.4. Homogenización por ultra alta presión (HUAP).....	34
3.2. Resultados.....	35

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Valores de tensión interfacial respecto a la proporción y valor de HLB empleado en cada uno de los sistemas emulsificados .....	16
<b>Figura 2.</b> Aspecto físico (en tiempo inicial) de las emulsiones o/w de aceite de sachá inchi en agua, correspondiente a la proporción 10:90 y HLB 14.....	17
<b>Figura 3.</b> Resultados de potencial zeta para las emulsiones de sachá inchi homogenizadas con proporciones 10:90 y 20:80, en tiempo inicial ( $t_0$ ) y al cabo de un mes ( $t_r$ ) después del estudio de choque térmico .....	18
<b>Figura 4.</b> Resultados de tamaño de gotícula para los sistemas emulsificados aceite de sachá inchi en agua (a) tamaño en tiempo inicial para los sistemas 10:90 homogenizados y sin homogenizar; (b) y (c) tamaños para los sistemas homogenizados antes y después del estudio de choque térmico. *Los datos de tamaño de gotícula para $\blacktriangle$ fueron definidos de acuerdo con el tamaño $D[4,3]$ . ...	19
<b>Figura 5.</b> Resultados de índice de polidispersidad para el tamaño de fase dispersa de las emulsiones homogenizadas, antes y después del estudio de choque térmico .....	20
<b>Figura 6.</b> Resultados de (a) pH y (b) viscosidad para las emulsiones de sachá inchi homogenizadas, antes y después del estudio de choque térmico .....	21
<b>Figura 7.</b> Resultados del índice de cremado obtenidos para las macroemulsiones y las emulsiones homogenizadas de aceite de sachá inchi en agua, después del estudio de choque térmico .....	22
<b>Figura 8.</b> Estabilidad de una emulsión o/w en función del HLB de la mezcla de surfactantes utilizada (Salager & Antón, 1998) .....	31
<b>Figura 9.</b> Fuerzas atractivas presentes entre las moléculas de un líquido (Salager & Antón, 2005) .....	32
<b>Figura 10.</b> Esquema del método de pendant drop para determinar tensión interfacial .....	33
<b>Figura 11.</b> Formas de la gota, de acuerdo a los distintos valores de tensión interfacial .....	33
<b>Figura 12.</b> Esquema del funcionamiento de un equipo de HUAP (Sejin Chembio, 2007).....	34

## LISTA DE TABLAS Y ANEXOS

<b>Tabla 1.</b> Esquema de formulación para las emulsiones con 2 proporciones correspondientes a 10:90 y 20:80.....	12
<b>Anexo 1.</b> Valores de tensión interfacial para las emulsiones de sachá inchi en agua con proporciones correspondientes a 10:90 y 20:80 .....	35
<b>Anexo 2.</b> Valores de potencial zeta para las emulsiones homogenizadas, antes y después del estudio de choque térmico.....	35
<b>Anexo 3.</b> Tamaño de gotícula y polidispersidad de las emulsiones homogenizadas, antes y después del estudio de choque térmico .....	36
<b>Anexo 4.</b> Valores de pH y viscosidad correspondientes a las emulsiones homogenizadas, antes y después del estudio de choque térmico .....	36

## RESUMEN

Una de las estrategias para el desarrollo del sector cosmético y alimenticio colombiano, es la fabricación de productos innovadores, que incorporen en su formulación ingredientes naturales autóctonos de la región. El aceite de sachá inchi, que se extrae de una planta endémica del Amazonas, cuenta con un alto contenido de ácidos grasos insaturados, lo cual le concede grandes atributos antioxidantes, que son de gran valor para el sector cosmético. Por tanto, en este trabajo se evaluó la estabilidad física de emulsiones o/w, a base de aceite de sachá inchi y agua. Inicialmente, se determinó el valor de HLB requerido para el aceite de sachá inchi por medio de estudios de choque térmico (60 °C/2 días y 4 °C/2 días), donde se evaluó el cambio en el índice de cremado de las emulsiones. Estos sistemas emulsificados también se homogenizaron, por medio de la técnica de homogenización de ultra alta presión (HUAP), y fueron expuestos a condiciones de choque térmico (60 °C/semana y 4 °C/semana). Para estos sistemas homogenizados, se evaluaron los cambios de los parámetros de estabilidad (potencial Zeta, pH, viscosidad, tamaño de partícula y polidispersidad), respecto a la técnica de preparación y el valor de HLB. Estos resultados mostraron que los sistemas homogenizados presentan una gran estabilidad, indiferente del valor de HLB del sistema.

**Palabras claves:** aceite sachá inchi, emulsiones tipo o/w, HUAP

## ABSTRACT

One of the strategies for the development of the cosmetic and food sector in Colombia, is the manufacture of innovative products that incorporated natural ingredients own of the region. The oil of sachá inchi, that is extracted from an endemic plant of the Amazon, has a high content of unsaturated fatty acids, which gives to this oil antioxidants attributes that are highly valuable in the cosmetic sector. Therefore, in this study, the physical stability of emulsions oil-in-water that incorporated sachá inchi's oil, was determined. Initially, the HLB required value for this oil was determined by the changes obtained in the creaming index after the emulsions were disposed at thermal shock conditions (60 °C/2 days and 4 °C/2 days) for one week. These emulsified systems were also homogenized by the UHPH technique, and disposed at thermal shock conditions (60 °C/week and 4 °C/week) for one month. For these emulsions, the changes in the stability parameters (zeta potential, pH, viscosity, size and size polydispersity) were evaluated. The results in this study showed minimal changes in the stability for the homogenized emulsions, regardless of the HLB value for these systems.

**Keywords:** Sachá inchi, oil-in-water emulsions, UHPH

## 1. INTRODUCCIÓN

Los sistemas emulsificados consisten en dos fases de líquidos inmiscibles, donde uno se encuentra disperso en el otro en forma de gotículas, cuyo tamaño se encuentra entre 0,1-100  $\mu\text{m}$  (Kowalska, Ziomek, & Zbikowska, 2015). El proceso de formación de una emulsión no es favorable termodinámicamente, debido a que este conlleva a un aumento de la fuerza de tensión interfacial a nivel global (Khan et al., 2011). Es por ello que para ser estables cinéticamente, este tipo de sistemas debe contar con un sistema emulsificante o estabilizante que permita reducir la tensión interfacial por unidad de área, por medio del proceso de emulsificación (Gupta, Eral, Hatton, & Doyle, 2016). A pesar de esto, las emulsiones siguen siendo sistemas termodinámicamente inestables, por lo que suelen presentarse varios procesos de desestabilización en estos, como: la coalescencia, el cremado, la floculación, la separación de fases y la difusión de Ostwald, los cuales dependen en general del tamaño de partícula y la distribución de la misma (Tadros, 2014) (Kowalska et al., 2015).

Para lograr estabilizar una emulsión, por medio de un sistema emulsificante, se debe considerar el valor de balance hidrofílico-lipofílico (HLB) que requiere la fase oleosa que se encuentra en el sistema (Gadhawe, 2014). Este HLB requerido da cuenta de la máxima estabilización que se puede alcanzar para el sistema emulsificado, de ahí la importancia de determinar experimentalmente este valor para cada fase oleosa en específico (Salager & Antón, 1998). Por otro lado, una mayor estabilización de estos sistemas heterodispersos se logra mediante el empleo de procesos de alta energía (Gupta et al., 2016), como la homogenización por ultra alta presión (HUAP), la cual permite una alta homogenización y reducción del tamaño de gotícula de la fase dispersa hasta una escala nanométrica (Georget et al., 2014). Lo anterior, disminuye la velocidad con la que ocurren los procesos de desestabilización (Tadros, 2014).

Para el caso de los cosméticos, como las cremas y lociones, usualmente suele emplearse agua como medio dispersante, y aceites vegetales como fase dispersa. Muchos de estos productos buscan incorporar en su formulación aceites con propiedades humectantes y antioxidantes. El aceite de sacha inchi es un aceite que cuenta con altos contenidos de ácidos grasos esenciales, como Omega-3 (44%) y Omega-6 (32%), los cuales no suelen encontrarse en otros aceites vegetales. Igualmente, posee un alto contenido de antioxidantes, como la vitamina A y E (Natural Sourcing, 2015), lo cual hace que esta materia prima tenga alto valor para la industria cosmética. El interés por este aceite empezó hace un par de años, por lo que se han llevado a cabo estudios donde se determina la composición química y los porcentajes de estos compuestos presentes en el aceite. Igualmente, se ha evaluado la actividad antioxidante de éste (Q. Liu et al., 2014), donde los ensayos de DPPH (2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo) y ABTS (2,2-azinobis-[3 etilbenzotiazolin-6-sulfónico]) han detectado la alta capacidad de captación y eliminación de radicales

que posee. En este mismo tipo de estudios, también se ha valorado el tipo y la cantidad de tocoferol presente en el mismo (Fanali et al., 2011), encontrándose que el mayor contenido corresponde al  $\gamma$ -tocoferol. Teniendo en cuenta que la actividad antioxidante de los tocoferoles disminuye en el orden  $\gamma > \delta > \beta > \alpha$  (Fanali et al., 2011), la gran cantidad de  $\gamma$ -tocoferol que posee este aceite, le concede una gran capacidad antioxidante, en comparación de con otro tipo de aceites vegetales, como el aceite de oliva (el cual tiene mayor contenido de  $\alpha$ -tocoferol).

Actualmente, se presentan pocos estudios donde se evalúe el desempeño y estabilidad de emulsiones, tipo crema, que incorporen en su fase oleosa el aceite de sachá inchi. Pese a que ya se presenta un trabajo en el cual se busca determinar el HLB requerido de este aceite en particular (Saengsorn & Jimtaisong, 2017); dicho estudio se limita a evaluar la estabilidad de las emulsiones, basado en parámetros físicos como: la separación de fases (índice de cremado), cambio de pH y apariencia.

Por otro lado, en los últimos años se han venido desarrollando nuevas tecnologías que permiten obtener una mayor estabilidad física de los sistemas heterodispersos, como las emulsiones. Una de estas técnicas es la homogenización por ultra alta presión, la cual permite una reducción de la contaminación microbiana y del tamaño de gotícula de la fase dispersa (Georget et al., 2014), confiriéndole a estos sistemas una estabilidad física inherente, que en muchos casos, es independiente del tipo y proporción del sistema estabilizante empleado en la formulación de la emulsión (Fernandez-Avila & Trujillo, 2016).

En cuanto al impacto que tiene el empleo de esta nueva tecnología en la fabricación de productos cosméticos, no se cuenta con mucha información al respecto, puesto que se encuentra más aplicada en la industria alimenticia. En dicho sector se han llevado a cabo numerosas investigaciones, donde se ha evaluado el efecto fisicoquímico y fisiológico de leches vegetales desarrolladas por medio de HUAP; al igual que la reducción de la carga microbiológica inicial de estos productos, una vez han sido sometidos a las altas presiones que se manejan en este tipo de equipos (Poliseli-Scopel et al., 2013), (Briviba et al., 2016), (Codina-Torrella et al., 2018). Por medio de dicha técnica, se ha buscado obtener un mejor desarrollo y liberación de compuestos bioactivos en productos alimenticios (Fernandez-Avila & Trujillo, 2017), además de diversos estudios sobre la estabilidad química, física y microbiológica de la leche procesada, por medio de HUAP (Zamora et al., 2016), (Liu et al., 2018), (Rodarte et al., 2018), (D'Incecco et al., 2018).

Por lo anterior, éste proyecto se desarrolló con el propósito de determinar la máxima estabilidad física de emulsiones o/w, a base de aceite de sachá inchi y agua, con dos proporciones de fase dispersa, correspondientes a 10:90 y 20:80. Dichos sistemas se prepararon por medio de la técnica de HUAP, y a partir de métodos convencionales de fabricación, empleando distintas proporciones de Tween 80 y Span 80 (sistema estabilizante), con el fin de obtener diferentes valores de HLB. A

partir de estos sistemas emulsificados, se evaluó como variaban los parámetros de estabilidad, con respecto a la técnica de preparación y el valor de HLB de cada sistema. Para el caso de las emulsiones gruesas, se llevó a cabo un estudio de choque térmico (60 °C/2 días y 4 °C/2 días) durante una semana, donde se determinaron los cambios en el índice de cremado.

Por otro lado, el estudio a condiciones de choque térmico de las emulsiones homogenizadas (60 °C/semana y 4 °C/semana) se realizó durante un mes, llevándose a cabo una caracterización fisicoquímica de cada sistema, por medio de la medición de los parámetros de estabilidad (potencial zeta, viscosidad, tamaño de gotícula y polidispersidad). Igualmente, se determinó el HLB requerido para el aceite de sachá inchi, a partir de las medidas de tensión interfacial, por la técnica de *pendant drop*. Con la información obtenida en este proyecto, se busca proporcionar a la industria cosmética de la región del Valle del Cauca las herramientas necesarias para el desarrollo de nuevos productos que incorporen en su formulación el aceite de sachá inchi, el cual cuenta con grandes propiedades humectantes y antioxidantes.

## 2. DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO

### 2.1. OBJETIVOS

#### 2.1.1. Objetivo general

Evaluar el efecto de la proporción de fase oleosa 10:90 y 20:80 sobre la estabilidad de emulsiones del tipo o/w, a base de aceite de sachá inchi y agua.

#### 2.1.2. Objetivos específicos

- Determinar el HLB requerido para el aceite de sachá inchi, por medio de medidas de tensión interfacial.
- Comparar entre la elaboración de sistemas emulsificados del tipo o/w, por medio de un método convencional y la técnica de homogenización por ultra alta presión (HUAP).
- Caracterizar fisicoquímicamente los sistemas emulsificados por medio de la medición de los parámetros de estabilidad (potencial zeta, viscosidad, tamaño de partícula y polidispersidad).
- Determinar la estabilidad física de las emulsiones a partir de un estudio de estabilidad a condiciones de shock térmico, por un tiempo de un mes.

### 2.2. MATERIALES Y METODOLOGÍA UTILIZADA

#### 2.2.1. Materiales

Para la realización de este proyecto se empleó: aceite de sachá inchi, el cual fue suministrado por la empresa Nutresacha (Santander de Quilichao, Colombia); Tween 80 (Merck Millipore®) y Span 80 (Sigma-Aldrich®); y agua USP tipo 2, obtenida por un sistema de purificación de agua Millipore Elix Essential (Merck KGaA, Darmstadt, Alemania).

#### 2.2.2. Metodología

##### 2.2.2.1. *Determinación del HLB requerido para el aceite de sachá inchi*

###### 2.2.2.1.1 Preparación de las fases

Para este caso se prepararon las fases acuosa y oleosa por separado de los sistemas descritos en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Esquema de formulación para las emulsiones con 2 proporciones correspondientes a 10:90 y 20:80

Proporción o/w (p/p)	No. de muestra	Valor de HLB	98% (p/p)		2% (p/p) Sistema estabilizante	
			% Fase oleosa	% Fase acuosa	Tween 80	Span 80
10:90	1.1	6	9,80	88,20	0,32	1,68
	1.2	8			0,70	1,30
	1.3	10			1,08	0,92
	1.4	12			1,46	0,54
	1.5	14			1,84	0,16
20:80	2.1	6	19,60	78,40	0,32	1,68
	2.2	8			0,70	1,30
	2.3	10			1,08	0,92
	2.4	12			1,46	0,54
	2.5	14			1,84	0,16

Para la elaboración de la fase oleosa y acuosa de cada uno de estos 10 sistemas, se disolvieron los surfactantes Tween 80 y Span 80, en agua y aceite de sacha inchi, respectivamente en diferentes proporciones, para obtener distintos valores de HLB. Tanto el agua como el aceite se calentaron a una temperatura de 60 °C, con el fin de llevar a cabo la mezcla de los surfactantes con su respectiva fase.

#### 2.2.2.1.2 Medicion de la tensión interfacial

La determinación de la tensión interfacial de cada uno de los sistemas, se llevó a cabo por el método de *pendant drop*, para lo cual se empleó el equipo medidor de ángulo de contacto OCA15EC de Dataphysics (el software SCA20 versión 4.5.14), junto con una aguja SNP 165/119. La captura de los datos se grabó usando una videocámara IDS, y la información que se obtuvo contó con un rango de 400-800 fotogramas como punto de referencia.

#### **2.2.2.2. Homogenización de los sistemas emulsificados por la técnica HUAP**

En primer lugar, las emulsiones se prepararon siguiendo métodos convencionales de fabricación, que fueron previamente estandarizados en el laboratorio del Grupo de Investigación de Físicoquímica Farmacéutica (*Proyecto de Grado - Pamela Agredo, 2017*). Para ello, el agua tipo 2 y el aceite de sacha inchi se calentaron hasta una temperatura de 62 °C y 60 °C, respectivamente; adicionando la mezcla de Tween 80 y Span 80 en la fase oleosa. Las emulsiones se formaron por medio de la adición de la fase acuosa sobre la oleosa, empleando agitación con un Ultra

Turrax a 5000 rpm por 10 minutos. Para cada uno de los 10 sistemas emulsificados, mostrados en la Tabla 1, se prepararon 750 mL.

La homogenización de estas emulsiones, se realizó en un homogenizador de UAP Nano DeBEE, el cual contó con los siguientes parámetros operativos: un nozzle Z8 (diámetro de 0,20 mm), 11 reactores de mayor tamaño, una presión de 40,000 psi y una configuración de flujo reverso. En este caso, se homogenizaron 375 mL de cada uno de los sistemas emulsificados, con un total de 4 recirculaciones.

Finalmente, las emulsiones gruesas y las emulsiones homogenizadas, obtenidas se envasaron en recipientes de material PET (polietileno tereftalato), con aproximadamente 90 mL de muestra en cada uno.

### **2.2.2.3. Caracterización fisicoquímica de los sistemas emulsificados**

Una vez preparados los sistemas emulsificados, se procedió a realizar las mediciones de los parámetros de estabilidad, tanto de las emulsiones gruesas como de las homogenizadas.

#### Potencial Zeta

Para determinar el potencial zeta, fue necesario llevar a cabo una dilución de 160 mg de cada emulsión, en 25 mL de agua tipo 2. Posteriormente, una alícuota de 200  $\mu$ L de esta dilución fue llevada a 4 mL de agua tipo 2. Para esta medición, se empleó el equipo Zetasizer Nano ZSP de Malvern, a una temperatura de  $25 \pm 2$  °C, con tiempos de equilibrio de temperatura de 120 s, en una celda tipo Dip, donde la posición e intensidad del atenuador se establecieron automáticamente.

#### Tamaño de partícula y polidispersidad

Para la determinación del tamaño de gotícula de las emulsiones gruesas y homogenizadas, también se realizó una dilución con 600 mg de cada muestra, diluidos en 10 mL de agua tipo 2. La distribución del tamaño de gotícula de las emulsiones gruesas se determinó con el uso del equipo Mastersizer 3000 de Malvern, equipado con un láser de helio/neón, con una longitud de onda de 632,8 nm. En este caso, los datos de tamaño de gotícula fueron definidos de acuerdo con el tamaño D[4,3] (Rawle, 2010). Para determinar el tamaño de gotícula y polidispersidad de las emulsiones homogenizadas, se empleó el Zetasizer Nano ZSP, por medio de la técnica de dispersión de luz dinámica (DLS).

## pH y viscosidad

La medición del pH se llevó a cabo con un pH-metro Starter-2100 de OHAUS. Para la medida de la viscosidad se empleó un viscosímetro DV-I prime de Brookfield, con una aguja No. 0,1 a una velocidad de 100 rpm.

### **2.2.2.4. Estudio de estabilidad a condiciones de shock térmico**

Para el estudio de estabilidad de choque térmico de las emulsiones gruesas, se llevaron todas las muestras ya envasadas en recipientes PET a una cámara de estabilidad, donde se dejaron las muestras a 60 °C (HR de 75 ± 5 %) y 4 °C, por 2 días respectivamente, durante un tiempo de una semana. Las emulsiones homogenizadas fueron llevadas a estas mismas condiciones, alternando cada semana, por un total de un mes. Para las condiciones a alta temperatura (60 °C) , se empleó la cámara de estabilidad CAMS de Gae Ltda; y para las condiciones a baja temperatura (4 °C), se empleó una nevera convencional.

## Prueba de sedimentación

En este caso se llevó a cabo la medición de la separación de fases de cada uno de los sistemas, para lo cual se emplearon tubos Falcon de 15 mL con 13 mL de cada muestra, que fueron llevados a una centrifuga Wincom 80-2, a 3000 rpm por un total de 90 minutos. Los resultados fueron expresados en términos del índice de cremado (Varka et al., 2012) (Klinkesorn et al., 2004), de acuerdo a la siguiente ecuación:

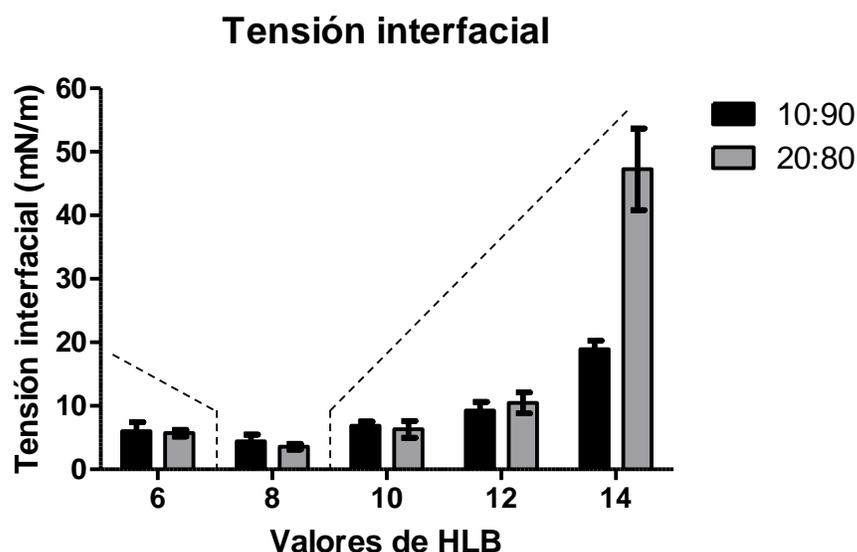
$$IC = \frac{H_{oil}}{H_{tot}} \times 100 \text{ (Ec. 1)}$$

donde  $H_{oil}$  corresponde a la altura de la fase oleosa separada y  $H_{tot}$  a la altura total de la emulsión.

## **2.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **2.3.1. Determinación del HLB requerido para el aceite de sachá inchi**

Los resultados de la determinación del HLB requerido para los sistemas emulsificados de aceite de sachá inchi en agua, en proporciones de 10:90 y 20:80, se muestran en la Figura 1.



**Figura 1.** Valores de tensión interfacial respecto a la proporción y valor de HLB empleado en cada uno de los sistemas emulsificados

En la Figura 1 se muestra de forma general como los valores de tensión interfacial varían, respecto al valor de HLB de cada sistema. En este caso, para las emulsiones 10:90 y 20:80, se obtuvo un menor valor de tensión interfacial con un valor de HLB 8, indicando que con esta proporción de Tween 80 y Span 80 se obtiene una mejor efectividad del sistema surfactante (Burlatsky et al., 2013). Este resultado del HLB requerido para el aceite de sacha inchi, que se obtuvo por medio de la técnica de *pendant drop*, es consistente con el valor reportado en otros estudios (Saengsorn & Jimtaisong, 2017), donde se determina este valor de HLB, a partir de los cambios en el índice de cremado.

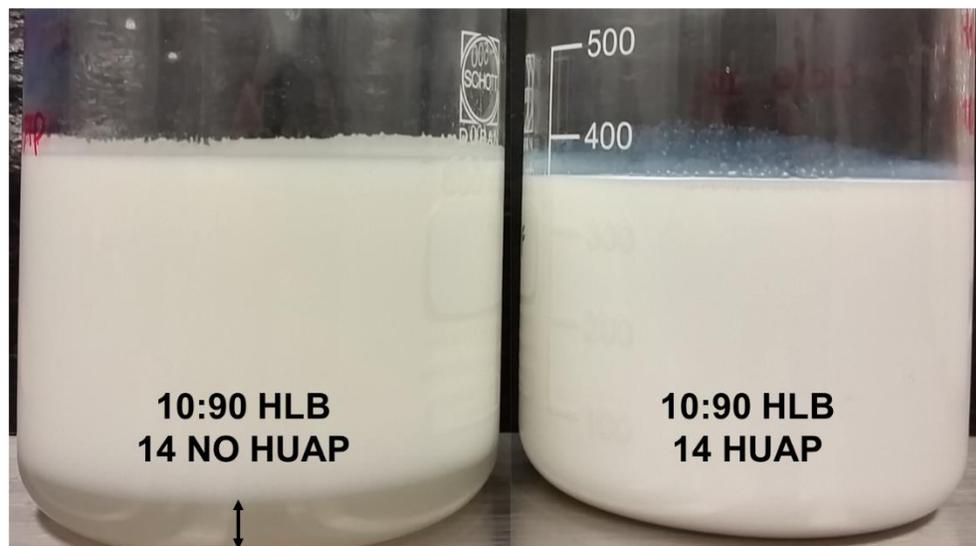
La tensión interfacial se encuentra relacionada con la fuerza neta hacia el seno del líquido a la que se encuentran sometidas las moléculas de las dos fases que forman la zona interfacial (Salager & Antón, 2005). El uso de surfactantes permite la reducción de esta tensión interfacial, debido a que las moléculas de éste tienden a posicionarse en la zona de la interfaz, generando nuevos vectores que reducen la magnitud de la fuerza neta hacia el seno del líquido que genera la tensión interfacial (Burlatsky et al., 2013) (Rodríguez-Ruiz, Meza-Fuentes, & Azevedo, 2013).

Durante el desarrollo de este proyecto, como sistema estabilizante se emplearon mezclas en diferentes proporciones de dos surfactantes, Tween 80 y Span 80, los cuales poseen un diferente carácter lipofílico-hidrofílico (14,9 y 4,3, respectivamente). Esto favorece que la película monomolecular de surfactante que se forma en el área de interfase sea más estable y tienda a migrar menos a la

superficie, debido a que el Tween 80, al ser un surfactante con mayor carácter polar, permite disminuir considerablemente la tensión interfacial en emulsiones del tipo o/w; mientras que el Span 80, al ser un surfactante con una cabeza polar más pequeña, facilita la formación de una película compacta (Vila, 1999) (Tadros, 2014).

### 2.3.2. Homogenización de los sistemas emulsificados por la técnica HUAP

Para las emulsiones gruesas y las homogeneizadas, obtenidas por medio de metodologías convencionales y HUAP, respectivamente, además de las diferencias en los tamaños de fase dispersa (descritos más adelante), se observaron también diferencias significativas en cuanto a las propiedades organolépticas de estas emulsiones, como se observa en la Figura 2.



**Figura 2.** Aspecto físico (en tiempo inicial) de las emulsiones o/w de aceite de sacha inchi en agua, correspondiente a la proporción 10:90 y HLB 14

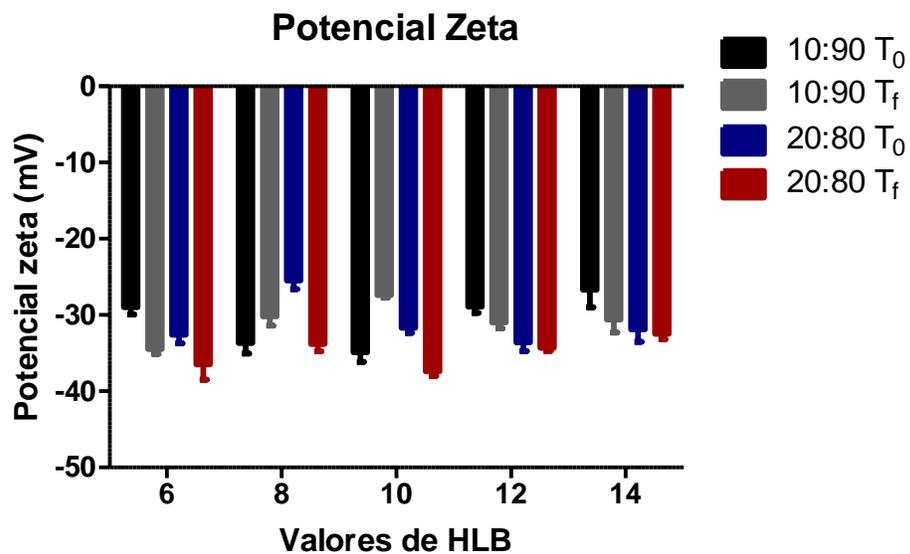
De acuerdo con la figura anterior, para las emulsiones que no fueron homogenizadas por ultra alta presión y tenían un alto valor de HLB, ocurrió un proceso inmediato de precipitación. Igualmente, se observó que en general las emulsiones gruesas presentaron un color más amarillento, en comparación con las emulsiones homogenizadas, para las cuales se observó un color blanco, muy similar al de la leche. Esta rápida separación de fases que se observa en la Figura 2, se ve favorecida por la distribución poco homogénea del tamaño de la fase dispersa, como se muestra más adelante (Tadros, 2014).

### 2.3.3. Caracterización fisicoquímica de los sistemas emulsificados

Los resultados correspondientes a la caracterización fisicoquímica de las emulsiones homogenizadas, se muestran a continuación:

#### 2.3.3.1. Potencial Zeta

Los resultados de potencial zeta para los sistemas emulsificados en tiempo cero, y al cabo de un mes de ser sometidos a un ensayo de estabilidad a condiciones de choque térmico, se resumen a continuación en la Figura 3.



**Figura 3.** Resultados de potencial zeta para las emulsiones de sachá inchi homogenizadas con proporciones 10:90 y 20:80, en tiempo inicial ( $t_0$ ) y al cabo de un mes ( $t_f$ ) después del estudio de choque térmico

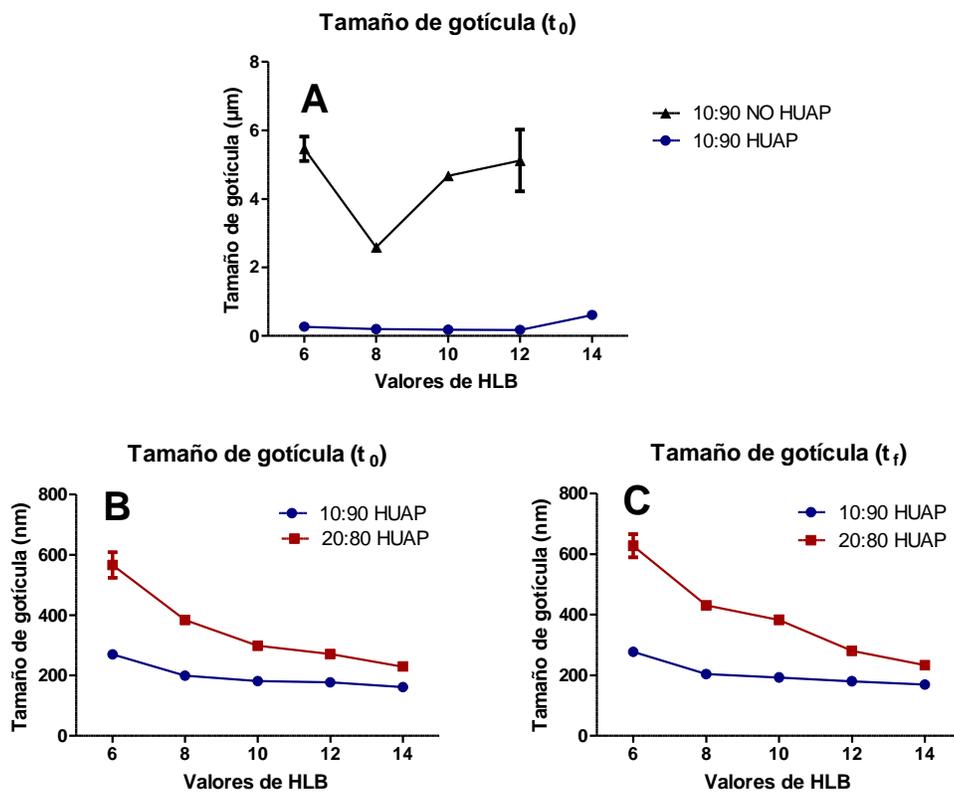
La figura anterior, muestra cómo los valores de potencial zeta para las emulsiones homogenizadas se encuentran en el rango de -25 a -35 mV, presentando pocas variaciones después de finalizado el estudio de choque térmico. Estos valores de potencial zeta indican que estos sistemas coloidales poseen cierta estabilidad termodinámica (Bhatt, Prasad, Singh, & Panpalia, 2010). Igualmente, la poca variación de estos valores con el transcurso del tiempo, sugiere que el pequeño tamaño de partícula y la alta homogenización de estas emulsiones obtenida por medio de la HUAP, le confiere a estos sistemas una estabilidad indiferente al valor de HLB que posee cada muestra.

Para este caso, se emplearon surfactantes del tipo no iónico, por lo que estos valores negativos de potencial zeta obtenidos para todos los sistemas, pueden

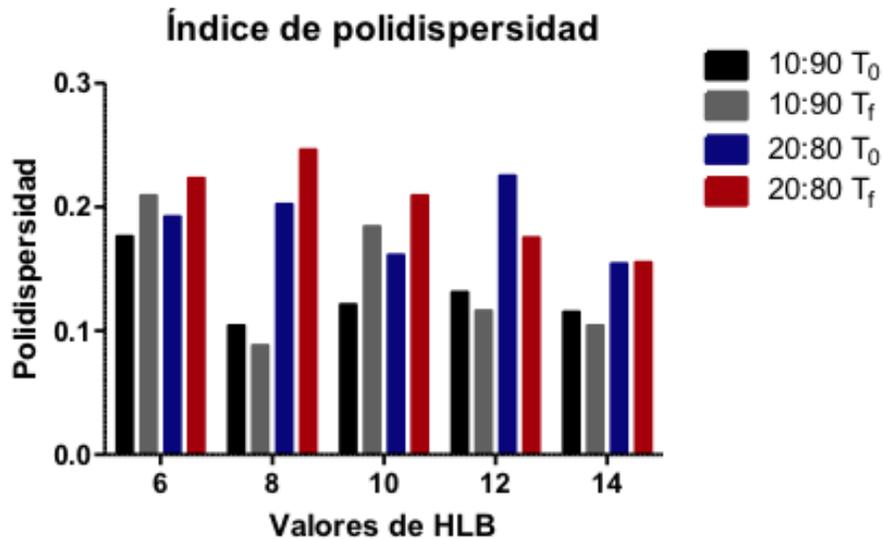
atribuirse a la adsorción de los iones OH<sup>-</sup> (formados por la autoionización del agua) en la zona interfacial (Leunissen et al., 2007) (Beattie & Djerdjev, 2004). De esta forma, se explica la razón por la cual las gotículas de fase dispersa adquieren una carga negativa, la cual se ve reflejada en los resultados negativos de potencial zeta (Leunissen et al., 2007).

### 2.3.3.2. *Tamaño de partícula y polidispersidad*

Los resultados correspondientes al tamaño de gotícula y polidispersidad de los sistemas emulsificados se presentan a continuación en las Figuras 4 y 5.



**Figura 4.** Resultados de tamaño de gotícula para los sistemas emulsificados aceite de sacha inchi en agua (a) tamaño en tiempo inicial para los sistemas 10:90 homogenizados y sin homogenizar; (b) y (c) tamaños para los sistemas homogenizados antes y después del estudio de choque térmico. \*Los datos de tamaño de gotícula para  $\blacktriangle$  fueron definidos de acuerdo con el tamaño D[4,3].

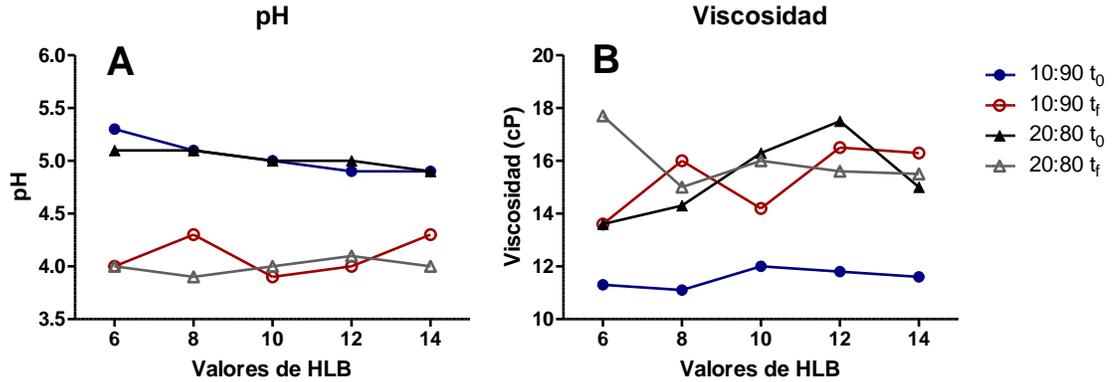


**Figura 5.** Resultados de índice de polidispersidad para el tamaño de fase dispersa de las emulsiones homogenizadas, antes y después del estudio de choque térmico

La Figura 4a muestra una diferencia de tamaños significativa entre las emulsiones gruesas y las emulsiones homogenizadas por HUAP. Para el caso de las primeras, se obtuvo un menor tamaño de gotícula con un valor de HLB correspondiente a 8, siendo este resultado coherente con el valor de HLB requerido, hallado por medio de la medida de tensión interfacial (Figura 1) y el reportado en otros estudios (Saengsorn & Jimtaisong, 2017). Por el contrario, en las Figuras 4b y 4c se muestra que, independientemente del valor de HLB, el tamaño de fase dispersa es mayor en los sistemas emulsificados con proporción 20:80. Para el caso de las emulsiones homogenizadas, se observa que no ocurren grandes variaciones en los valores de tamaño de partícula y polidispersidad después de culminarse el estudio de choque térmico, indicando que el proceso de homogenización por ultra alta presión, permite que estos sistemas tengan una buena estabilidad cinética (Kowalska et al., 2015). Como se observa en la Figura 5, la polidispersidad de las emulsiones homogenizadas se encuentra por debajo de 0,25, indicando una distribución homogénea del tamaño de gotícula. Esta homogenización que se logra por medio de la técnica HUAP favorece en menor medida procesos de desestabilización, como la difusión de Ostwald y el cremado (Tadros, 2014), razón por la cual los valores de estos parámetros fisicoquímicos permanecen relativamente constantes con el paso del tiempo.

### 2.3.3.3. pH y viscosidad

Las medidas de pH y viscosidad obtenidas para cada una de las emulsiones homogenizadas, se resumen a continuación en la Figura 6.



**Figura 6.** Resultados de (a) pH y (b) viscosidad para las emulsiones de sacha inchi homogenizadas, antes y después del estudio de choque térmico

Respecto a los valores de pH obtenidos, la Figura 6a muestra que el pH de los sistemas emulsificados suele mantenerse constante, independiente de la proporción de fase dispersa o valor de HLB. Por otro lado, este pH disminuye en todos los sistemas alrededor de una unidad con el transcurso del tiempo. La Figura 6b muestra que inicialmente la viscosidad es mayor para los sistemas 20:80, donde la proporción de aceite es mayor. En este caso, la viscosidad aumenta con la fracción volumétrica de aceite en dispersión, lo cual es consistente con la teoría, la cual explica que a mayor proporción de fase dispersa, mayor es la cantidad de interacciones hidrodinámicas que se presentan entre las partículas en suspensión (ULA, 2006) (Mason, 1999). Para las emulsiones 10:90, que se encuentran más diluidas respecto a las 20:80, las gotículas de aceite en suspensión se encuentran más dispersas entre sí, razón por la cual no se presentan tantas interacciones entre estas, siendo el valor de viscosidad del medio externo menor en estos casos (Derkach, 2009) (Mason, 1999).

#### 2.3.3.4. Estudio de estabilidad a condiciones de shock térmico

Los valores del índice de cremado, obtenidos para las emulsiones gruesas y las emulsiones homogenizadas se muestran a continuación en la Figura 7.



**Figura 7.** Resultados del índice de cremado obtenidos para las macroemulsiones y las emulsiones homogenizadas de aceite de sachá inchi en agua, después del estudio de choque térmico

De acuerdo a los resultados resumidos en la Figura 6, se observa que indiferente del HLB de los sistemas emulsificados, el proceso de homogenización por ultra alta presión conlleva a una alta estabilización física de las emulsiones. Para el caso de las emulsiones que no fueron homogenizadas, se obtuvo una separación de fases considerable, independiente del valor de HLB, siendo la emulsión gruesa con HLB de 8 la única que no presentó índice de cremado. La separación de fases en estas emulsiones ocurrió una semana después de haber estado sometidas a condiciones de choque térmico, sin necesidad de que estos sistemas fuesen llevados a centrifugación. Para las emulsiones con proporción 20:80, se presentó un mayor índice de cremado, indicando que estos sistemas son más difíciles de estabilizar. Por otro lado, en el caso de las emulsiones homogenizadas, no se observó ninguna separación hasta después de haber transcurrido un mes en condiciones de choque térmico. En general, los resultados de la Figura 6 para estas emulsiones homogenizadas, concuerdan con los valores de tamaño de gotícula (Figura 4), obtenidos para estos sistemas, ya que los tamaños y polidispersidades (Anexo 3) menores a 600 nm y 0,3 respectivamente, indican una alta estabilidad cinética de estos sistemas heterodispersos (Kowalska et al., 2015).

## 2.4. CONCLUSIONES

Los resultados de HLB requerido, obtenidos por medio de la medición de tensión interfacial y los estudios de choque térmico, concuerdan entre sí, siendo la emulsión gruesa con HLB 8 la que presentó un menor valor de tensión interfacial una ausencia de separación de fases. Este valor de HLB requerido para el aceite de sacha inchi, es coherente con los resultados presentados en otros estudios (Saengsorn & Jimtaisong, 2017). Por otro lado, los resultados de la caracterización fisicoquímica de las emulsiones homogenizadas por HUAP, mostraron que estos sistemas presentaron una gran estabilidad, indiferente del valor de HLB de cada sistema. Para este caso, se observó que los valores de potencial zeta, pH, viscosidad, tamaño y polidispersidad, permanecieron constantes con el tiempo.

## 2.5. REFERENCIAS

- Antón, S. &. (2005). *Tensión interfacial*. Mérida-Venezuela. Retrieved from [http://www.firp.ula.ve/archivos/cuadernos/S203\\_Tension.pdf](http://www.firp.ula.ve/archivos/cuadernos/S203_Tension.pdf)
- Arashiro, E. Y., & Demarquette, N. R. (1999). *Use of the Pendant Drop Method to Measure Interfacial Tension between Molten Polymers*. Retrieved from <http://www.scielo.br/pdf/mr/v2n1/0004.pdf>
- Beattie, J. K., & Djerdjev, A. M. (2004). The Pristine Oil/Water Interface: Surfactant-Free Hydroxide-Charged Emulsions. *Angewandte Chemie International Edition*, 43(27), 3568–3571. <https://doi.org/10.1002/anie.200453916>
- Becher, P. (1988). *ENCYCLOPEDIA OF EMULSION TECHNOLOGY VOLUME 3 Basic Theory Measurement Applications*. (P. Becher, Ed.) (Vol. 3). Wilmington, Delaware: Marcel Dekker, Inc New York and Basel. Retrieved from [http://www.firp.ula.ve/archivos/historicos/88\\_Chap\\_Salager.pdf](http://www.firp.ula.ve/archivos/historicos/88_Chap_Salager.pdf)
- Bee International. (2007). *Bee International. Next Generation Homogenizers*. Obtenido de <http://www.beei.com/high-pressure-homogenizer-applications/particle-size-reduction>
- Berry, J. D., Neeson, M. J., Dagastine, R. R., Chan, D. Y. C., & Tabor, R. F. (2015). Measurement of surface and interfacial tension using pendant drop tensiometry. *JOURNAL OF COLLOID AND INTERFACE SCIENCE*, 454, 226–237. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2015.05.012>
- Bhatt, N., Prasad, R. K., Singh, K., & Panpalia, G. M. (2010). Stability study of O/W emulsions using zeta potential. *J. Chem. Pharm. Res. J. Chem. Pharm. Res*, 2(21), 512–527. Retrieved from [www.jocpr.com](http://www.jocpr.com)

- Briviba, K., Gräf, V., Walz, E., Guamis, B., & Butz, P. (2016). Ultra high pressure homogenization of almond milk: Physico-chemical and physiological effects. *Food Chemistry*, 192, 82–89. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2015.06.063>
- Burlatsky, S. F., Atrazhev, V. V, Dmitriev, D. V, Sultanov, V. I., Timokhina, E. N., Ugolkova, E. A., ... Vincitore, A. (2013). *Surface tension model for surfactant solutions at the critical micelle concentration*. Moscow, Russia. Retrieved from <https://arxiv.org/ftp/arxiv/papers/1306/1306.4566.pdf>
- Chemmunique. (1980). *The HLB system- a time saving guide to emulsifier selection*. (CHEMMUNIQUE, Ed.), ICI Americas Inc (Vol. 1). Wilmington, Delaware: ICI Americas INC. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6444>
- Codina-Torrella, I., Guamis, B., Zamora, A., Quevedo, J. M., & Trujillo, A. J. (2018). Microbiological stabilization of tiger nuts' milk beverage using ultra-high pressure homogenization. A preliminary study on microbial shelf-life extension. *Food Microbiology*, 69, 143–150. <https://doi.org/10.1016/J.FM.2017.08.002>
- D'Incecco, P., Rosi, V., Cabassi, G., Hogenboom, J. A., & Pellegrino, L. (2018). Microfiltration and ultra-high-pressure homogenization for extending the shelf-storage stability of UHT milk. *Food Research International*, 107, 477–485. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2018.02.068>
- Derkach, S. R. (2009). Rheology of emulsions. *Advances in Colloid and Interface Science*, 151(1–2), 1–23. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2009.07.001>
- Fanali, C., Dugo, L., Cacciola, F., Beccaria, M., Grasso, S., Dachà, M., ... Mondello, L. (2011). Chemical Characterization of Sacha Inchi ( *Plukenetia volubilis* L.) Oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(24), 13043–13049. <https://doi.org/10.1021/jf203184y>
- Fernandez-Avila, C., & Trujillo, A. J. (2016). Ultra-High Pressure Homogenization improves oxidative stability and interfacial properties of soy protein isolate-stabilized emulsions. *Food Chemistry*, 209, 104–113. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.019>
- Fernandez-Avila, C., & Trujillo, A. J. (2017). Enhanced stability of emulsions treated by Ultra-High Pressure Homogenization for delivering conjugated linoleic acid in Caco-2 cells. *Food Hydrocolloids*, 71, 271–281. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.09.017>
- Gadhve, A. (2014). Determination of Hydrophilic-Lipophilic Balance Value. *International Journal of Science and Research*, 3(4). Retrieved from [www.ijsr.net](http://www.ijsr.net)

- Georget, E., Miller, B., Aganovic, K., Callanan, M., Heinz, V., & Mathys, A. (2014). Bacterial spore inactivation by ultra-high pressure homogenization. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 26, 116–123. <https://doi.org/10.1016/J.IFSET.2014.08.004>
- Gupta, A., Eral, H. B., Hatton, T. A., & Doyle, P. S. (2016). Nanoemulsions: Formation, properties and applications. *Soft Matter*, 12(11), 2826–2841. <https://doi.org/10.1039/c5sm02958a>
- Juan, B., Zamora, A., Quevedo, J. M., & Trujillo, A.-J. (2016). Proteolysis of cheese made from goat milk treated by ultra high pressure homogenisation. *LWT - Food Science and Technology*, 69, 17–23. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2015.12.013>
- Khan, B. A., Akhtar, N., Khan, H. M. S., Waseem, K., Mahmood, T., Rasul, A., ... Haroon Khan. (2011). Basics of pharmaceutical emulsions: A review. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, Vol. 5, 2715–2725.
- Klinkesorn, U., Sophanodora, P., Chinachoti, P., & McClements, D. J. (2004). Stability and rheology of corn oil-in-water emulsions containing maltodextrin. *Food Research International*, 37, 851–859. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2004.05.001>
- Kowalska, M., Ziomek, M., & Zbikowska, A. (2015). Stability of cosmetic emulsion containing different amount of hemp oil. *International Journal of Cosmetic Science*, 37(4), 408–416. <https://doi.org/10.1111/ics.12211>
- Leunissen, M. E., van Blaaderen, A., Hollingsworth, A. D., Sullivan, M. T., & Chaikin, P. M. (2007). Electrostatics at the oil-water interface, stability, and order in emulsions and colloids. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(8), 2585–90. <https://doi.org/10.1073/pnas.0610589104>
- Liu, J., Zamora, A., Castillo, M., & Saldo, J. (2018). Modeling of the changes in bovine milk caused by ultra-high pressure homogenization using front-face fluorescence spectroscopy. *Journal of Food Engineering*, 233, 88–97. <https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2018.04.010>
- Liu, Q., Xu, Y., Zhang, P., Na, Z., Tang, T., Shi, Y., & citar este artículo, C. (2014). Chemical composition and oxidative evolution of Sacha Inchi (*Plukentia volubilis* L.) oil from Xishuangbanna (China) ; Composición química y evolución oxidativa del aceite de Sacha Inchi (*Plukentia volubilis* L.) de Xishuangbanna (China). *Grasas Aceites*, 65(651), 17–3495. <https://doi.org/10.3989/gya.075713>
- Mason, T. G. (1999). New fundamental concepts in emulsion theology. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 4(3), 231–238.

[https://doi.org/10.1016/S1359-0294\(99\)00035-7](https://doi.org/10.1016/S1359-0294(99)00035-7)

Mathys, A. (2018). Perspective of Micro Process Engineering for Thermal Food Treatment. *Frontiers in Nutrition*, 5(March). <https://doi.org/10.3389/fnut.2018.00024>

Natural Sourcing. (2015). *Organic sacha inchi oil: raw and filtered*. Oxford . Retrieved from [https://www.naturalsourcing.com/product-literature/NS\\_info\\_sacha\\_inchi\\_oil\\_organic.pdf](https://www.naturalsourcing.com/product-literature/NS_info_sacha_inchi_oil_organic.pdf)

Orafidiya, L. O., & Oladimeji, F. A. (2002). Determination of the required HLB values of some essential oils. *International Journal of Pharmaceutics*, 237(1–2), 241–249. [https://doi.org/10.1016/S0378-5173\(02\)00051-0](https://doi.org/10.1016/S0378-5173(02)00051-0)

Pereda, J. (2008). *Utilización de la Ultra Alta Presión por Homogenización como alternativa al tratamiento de pasteurización para la obtención de leche de consumo*. Retrieved from <https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/5704/jp1de1.pdf?sequence=1>

Peredo-Luna, H. A., & Jiménez-Munguía, M. T. (2012). Mecanismos de inestabilidad y métodos de estabilización de emulsiones múltiples. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 6, 122–130. Retrieved from <http://web.udlap.mx/tsia/files/2013/12/TSIA-62Peredo-Luna-et-al-2012.pdf>

Poliseli-Scopel, F. H., Gallardo-Chacón, J.-J., Juan, B., Guamis, B., & Ferragut, V. (2013). Characterisation of volatile profile in soymilk treated by ultra high pressure homogenisation. *Food Chemistry*, 141(3), 2541–2548. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2013.05.067>

*Proyecto de Grado - Pamela Agredo (10-dic-17)*. (2017). Cali.

Rawle, A. (2010). *BASIC PRINCIPLES OF PARTICLE* (Vol. 44). Worcestershire, UK.

Robbers, J. E., & Bhatia, V. N. (1961). Technique for the Rapid Determination of HLB and Required-HLB Values. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 50(8), 708–709. <https://doi.org/10.1002/jps.2600500821>

Rodarte, D., Zamora, A., Trujillo, A.-J., & Juan, B. (2018). Effect of ultra-high pressure homogenization on cream: Shelf life and physicochemical characteristics. *LWT*, 92, 108–115. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2018.02.020>

Rodríguez-Ruiz, J., Meza-Fuentes, E., & Azevedo, M. C. (2013). PROPIEDADES INTERFACIALES DEL SURFACTANTE PDMS-PEGANHÍDRIDO MALÉICO-ÁCIDO FUMÁRICO (PDMS-PEG-AM-AF) EN SOLUCIÓN ACUOSA. *Revista Colombiana de Química*, 41, 61–74.

- Saengsorn, K., & Jimtaisong, A. (2017). Determination of hydrophilic-lipophilic balance value and emulsion properties of sacha inchi oil. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 7(12), 1092–1096. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2017.10.011>
- Salager, J. L., & Antón, R. (1998). *FORMULACIÓN HLB, PIT y R de Winsor*. (Laboratorio FIRP, Ed.) (2nd ed.). Mérida, Venezuela: Laboratorio FIRP, Escuela de Ingeniería Química, Universidad de los Andes Mérida. Retrieved from <https://www.firp.ula.ve/archivos/cuadernos/S210A.pdf>
- Sinko, P. J. (2006). *Martin's Physical Pharmacy and Pharmaceutical Sciences: Physical Chemical and Biopharmaceutical Principles in the Pharmaceutical Sciences*. (D. Troy, Ed.) (Sixth Edit). Philadelphia: Wolters Kluwer. <https://doi.org/10.1201/9780203644478.ch8>
- Tadros, T. F. (2014). Emulsion Formation, Stability, and Rheology. In T. F. Tadros (Ed.), *Emulsion Stability and Interfacial Properties - Application to Complex Emulsions of Industrial Interest* (1st ed., pp. 1–76). Wiley. Retrieved from [https://application.wiley-vch.de/books/sample/3527319913\\_c01.pdf](https://application.wiley-vch.de/books/sample/3527319913_c01.pdf)
- ULA. (2006). *REOLOGIA DE SISTEMAS DISPERSOS*. Mérida-Venezuela. Retrieved from <http://webdelprofesor.ula.ve/ingenieria/mabel/materias/sistemdispersos/ReologiaDispersos.pdf>
- Varka, E.-M., Tsatsaroni, E., Kristoforidou, N., & Darda, A.-M. (2012). Stability Study of O/W Cosmetic Emulsions Using Rosmarinus officinalis and Calendula officinalis Extracts. *Open Journal of Applied Sciences*, 2, 139–145. <https://doi.org/10.4236/ojapps.2012.23020>
- Vaughan, C. D., & Rice, D. A. (2007). Predicting O/W Emulsion Stability by the "Required HLB Equation." *Journal of Dispersion Science and Technology*, 11(1), 83–91. <https://doi.org/10.1080/01932699008943238>
- Vila, J. L. (1999). *Tecnología Farmacéutica. Volumen I: Aspectos fundamentales de los sistemas farmacéuticos y operaciones básicas*. (J. L. Vila, Ed.). Madrid: Síntesis Editorial.

## 3. ANEXOS

### 3.1. Marco Teórico

#### 3.1.1. Sistemas heterodispersos: Emulsiones

Las emulsiones consisten en la dispersión de un líquido (fase dispersa) en otro (fase dispersante) con el que no presenta miscibilidad, donde la fase dispersa suele encontrarse en gotículas de un tamaño entre 0,1 y 5  $\mu\text{m}$  (Sinko, 2006). Para ser estables, este tipo de sistemas deben presentar dentro de sus componentes un agente emulsificante o estabilizante, que permita reducir la tensión interfacial, mediante un proceso de emulsificación (Khan et al., 2011).

Debido a que el proceso de formación de una emulsión no es favorable termodinámicamente, estos sistemas suelen presentar varios procesos de desestabilización, los cuales dependen de la distribución del tamaño de partícula y la diferencia de densidades entre el medio dispersante y disperso (Tadros, 2014).

##### 3.1.1.1. *Procesos de desestabilización*

A continuación se describen los procesos de desestabilización que se pueden presentar en las emulsiones (Tadros, 2014)

- Cremado y precipitación

Este proceso suele ser el resultado de fuerzas externas, como la gravitacional. En este se presenta una sedimentación de las gotículas, por lo que si la densidad de estas es menor a la del medio dispersante, se forma una capa de fase dispersa en la parte de arriba (cremado); mientras que si las gotículas presentan mayor densidad que la fase dispersante, se forma una precipitación en la zona baja del sistema.

- Floculación

En este proceso se da una agregación de las gotículas, sin que haya un cambio en la estructura y tamaño de estas. Esta agregación depende de la magnitud de las fuerzas de atracción y repulsión generadas por la carga en la superficie de las gotículas.

- Difusión de Ostwald

Este proceso se ve favorecido en las emulsiones donde la distribución del tamaño de gotícula es poco homogéneo, debido a que, por una diferencia de potencial

químico, las gotículas pequeñas suelen migrar y difundir hacia las gotículas de mayor tamaño.

- **Coalescencia**

A diferencia de la floculación, en la coalescencia se da una disrupción de la película interfacial de las gotículas, presentándose una fusión entre estas, lo cual es un proceso irreversible. Es por ello que este proceso está determinado por la estabilidad y fuerza de la película interfacial.

- **Inversión de fases**

La inversión de fases suele presentarse en aquellas emulsiones con proporciones de volumen similares de fase dispersa y dispersante (entre 40 y 60%).

### **3.1.1.2. Agentes estabilizantes en una emulsión**

Para formular una emulsión estable se debe evitar el acercamiento de las gotículas entre sí, además de impedir que se dé la ruptura de la película interfacial. Los emulsificantes actúan por uno o varios de los siguientes mecanismos (Peredo-Luna & Jiménez-Munguía, 2012).

- **Estabilización termodinámica, por reducción de la tensión interfacial**

La adsorción de los agentes estabilizantes en la interfaz de la fase acuosa-oleosa causa una disminución de la tensión interfacial.

- **Formación de una película interfacial fuerte y elástica**

Es importante que las moléculas de agente estabilizante no se vean desplazadas de la interfaz como consecuencia de la repulsión entre dos gotículas, lo cual suele ocurrir cuando se emplean solo surfactantes del tipo iónico, como agente emulsificante.

- **Estabilización electroestática**

La presencia de surfactantes iónicos u otro tipo de agente estabilizante en la interfaz, contribuye a la modificación de la carga superficial de las gotículas, con lo que aumentan las fuerzas de repulsión y con ello la estabilidad del sistema.

- **Estabilización estérica**

La repulsión estérica se presenta en presencia de surfactantes neutros o polímeros en la interfaz.

### **3.1.2. Sistema HLB**

Los agentes emulsificantes, dentro de los cuales se encuentran los surfactantes, son moléculas que cuentan con una cabeza hidrofílica y una cadena lipofílica constituida por un ácido o alcohol graso, es decir que poseen un carácter anfipático. La proporción entre los porcentajes de peso de estos dos grupos en una molécula de surfactante es una indicación del carácter lipofílico-hidrofílico que este compuesto puede llegar a tener.

De esta forma es que se introduce el término de balance hidrofílico lipofílico (HLB) por William Griffin en 1940, donde el valor de HLB designado empíricamente para los distintos surfactantes, permite la clasificación de estos de acuerdo al tipo de sistemas que pueden lograr estabilizar mejor (Gadhavé, 2014).

Los surfactantes que forman y estabilizan emulsiones tipo w/o suelen tener un valor de HLB bajo (menor a 9,0), mientras que aquellos que tienen un HLB alto (por encima de 11,0) suelen formar emulsiones o/w (Chemmunique, 1980).

#### **3.1.2.1. HLB requerido**

Para lograr la estabilización de un sistema emulsificado, teniendo en cuenta el tipo de fase oleosa y el signo de la emulsión que se quiera obtener (o/w o w/o), se requiere que el sistema estabilizante cuente con cierto valor de HLB (Becher, 1988). Dicho valor corresponde al HLB requerido, el cual hace referencia a un valor experimental que da cuenta de la máxima estabilización que se puede alcanzar para un sistema emulsificado, basado en la naturaleza de la fase oleosa. Por lo anterior, se dice que el HLB requerido es una propiedad de la fase oleosa, por lo que se supone independiente del surfactante utilizado en la mezcla, en cuanto este cuente con el valor de HLB necesario (Salager & Antón, 1998).

A pesar de la importancia de conocer y determinar este valor de HLB requerido para una fase oleosa en específico, la determinación experimental de este valor rara vez es llevado a cabo por las empresas. Para estos casos, el ajuste del HLB del sistema estabilizante se obtiene por medio de “ensayo-error”, o a partir del ajuste de una formulación ya establecida (Vaughan & Rice, 2007).

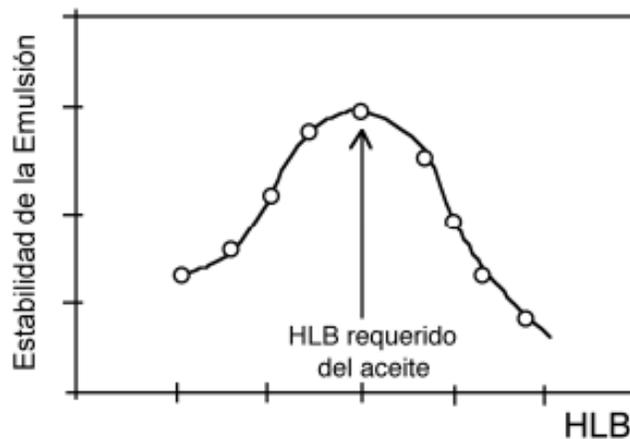
#### **3.1.2.2. Determinación experimental del HLB requerido**

Por todo lo anterior, para la obtención de sistemas emulsificados, es importante que se conozca el valor de HLB, de acuerdo al tipo de emulsión que se desea elaborar y la fase oleosa que se está empleando, ya que esto permite la obtención de una máxima estabilidad del sistema. Debido a que los valores de HLB publicados en la literatura por ICI (Imperial Chemical Industries) no cubren todas las fases oleosas que se emplean actualmente en la industria cosmética, se requiere, para estos casos, determinar experimentalmente el valor de HLB requerido por un aceite en

específico o por una fase oleosa compuesta por varias sustancias (Chemmunique, 1980).

Uno de los métodos más empleados para este fin, es el que plantea el Sistema HLB. Este consiste en la preparación de varias emulsiones que contengan la fase oleosa a evaluar, utilizando una mezcla de surfactantes, con diferentes proporciones para cada emulsión preparada, con el fin de obtener distintos valores de HLB. Para ello se emplean dos surfactantes, uno liposoluble con un HLB menor al esperado, y un surfactante hidrosoluble con un HLB mayor al que se espera requiriera la fase oleosa (Robbers & Bhatia, 1961). A partir de este punto, en el que las emulsiones ya se encuentran preparadas, se procede a aplicar un método apropiado que permita evaluar y comparar la estabilidad de estos sistemas emulsificados. Para esto se miden parámetros indicativos de la estabilidad, como la separación de fases, distribución y tamaño de fase dispersa, después de que las muestras han sido sometidas a cambios de temperatura y centrifugación (Orafidiya & Oladimeji, 2002).

La medición periódica de estos parámetros de estabilidad, durante un tiempo definido para el ensayo, permite determinar el punto en el que se obtiene la máxima estabilidad del sistema, como se muestra en la siguiente figura:

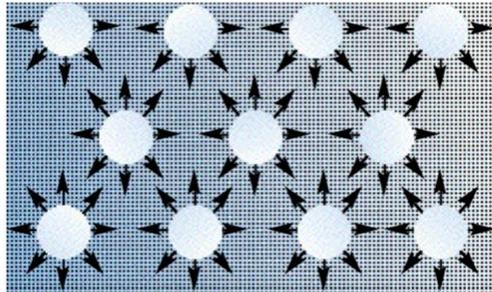


**Figura 8.** Estabilidad de una emulsión o/w en función del HLB de la mezcla de surfactantes utilizada (Salager & Antón, 1998).

### 3.1.3. Tensión superficial e interfacial

#### 3.1.3.1. *Tensión superficial*

La tensión superficial se encuentra relacionada con la fuerza neta que existe entre las moléculas de la superficie libre de un líquido hacia el seno del líquido (Salager & Antón, 2005), tal como se ilustra en la Figura 8.



**Figura 9.** Fuerzas atractivas presentes entre las moléculas de un líquido (Salager & Antón, 2005)

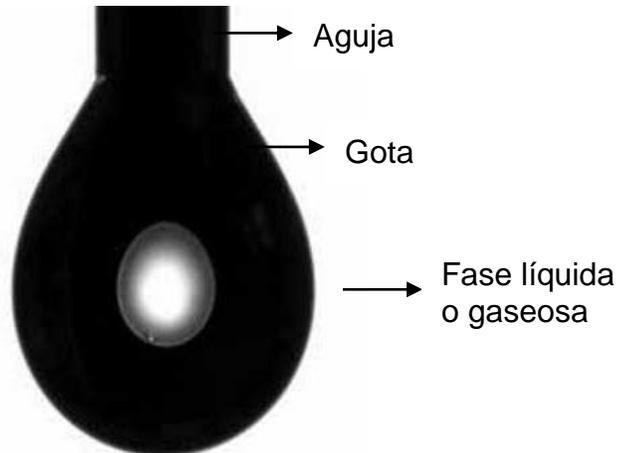
Por lo anterior, se explica que entre menor sea el área superficial de un líquido, menor será la energía libre de superficie (Rodríguez-Ruiz et al., 2013), por lo que en busca de encontrar este mínimo de energía, la superficie de un líquido va a tender a contraerse, siendo estas fuerzas resultantes de la contracción lo que da origen a la tensión superficial (Salager & Antón, 2005).

#### 3.1.3.2. *Tensión interfacial*

Cuando dos líquidos inmiscibles se encuentran en contacto, la magnitud de la fuerza a la que son sometidas las moléculas de la superficie de cada fase hacia el seno del líquido es distinta para cada uno. Igualmente, en la zona de interfase, se presentan interacciones de tipo Van der Waals entre las moléculas de ambos líquidos, lo cual contrarresta en parte las fuerzas que generan la tensión superficial de cada líquido por separado. Es por ello que la tensión interfacial entre dos líquidos inmiscibles suele ser un valor intermedio que se encuentra entre las tensiones superficiales de los dos líquidos (Salager & Antón, 2005).

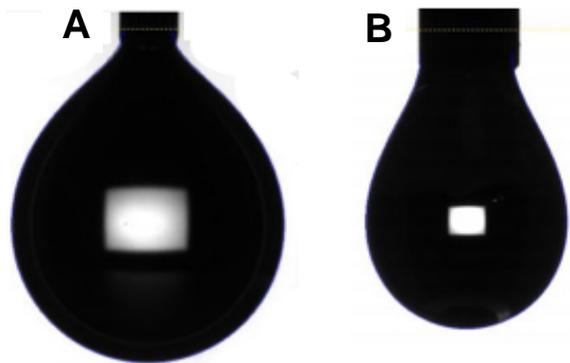
Debido a que los líquidos siempre tienden a contraerse de tal forma que se reduzca su superficie, cuando se llevan a cabo sistemas heterodispersos en los que un líquido inmiscible se encuentra disperso en otro, debido a que hay un aumento del área de interfase, se requiere de la realización de un trabajo (Salager & Antón, 2005) (Berry et al., 2015).

Uno de los métodos empleados para calcular el valor de tensión interfacial entre dos líquidos, es el de *pendant drop*, el cual consiste en dejar caer una gota desde una aguja hacia una fase líquida o gaseosa, como se ilustra en la Figura 9.



**Figura 10.** Esquema del método de pendant drop para determinar tensión interfacial

El cálculo de este valor de tensión interfacial o superficial se encuentra relacionado con la forma que adquiere la gota al caer y el efecto que tiene la fuerza de gravedad sobre esta (Arashiro & Demarquette, 1999), y se calcula por medio de un software que tiene en cuenta las dimensiones de la gota y la diferencia de densidades entre las dos fases. Para este método, se puede observar que entre mayor es la tensión interfacial entre dos líquidos, la forma de la gota tiende a ser más esférica y contraída (Figura 10a), mientras que con un menor valor de tensión interfacial, la gota tiende a tener una forma más alargada, similar a la de una pera (Figura 10b) (Arashiro & Demarquette, 1999) (Berry et al., 2015).

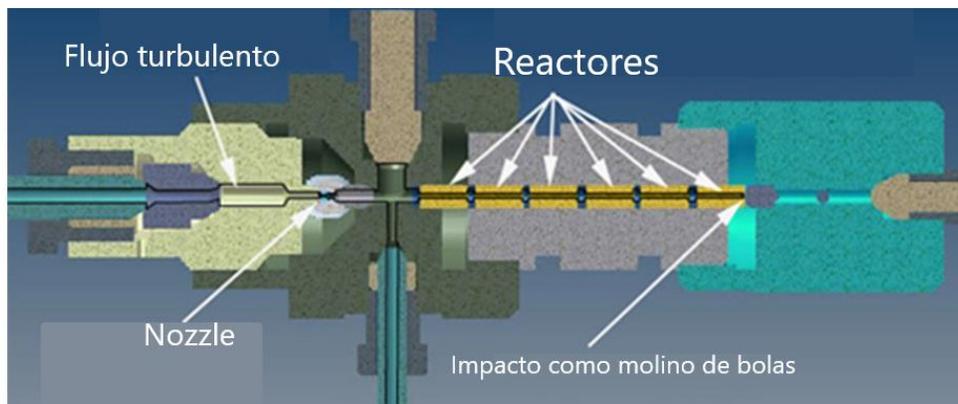


**Figura 11.** Formas de la gota, de acuerdo a los distintos valores de tensión interfacial

### 3.1.4. Homogenización por ultra alta presión (HUAP)

La tecnología HUAP se basa en los mismos principios que la homogenización convencional. Con la diferencia de que en esta nueva tecnología se pueden alcanzar presiones superiores a 200 Mpa, gracias al diseño de las válvulas y a la utilización de materiales más resistentes a estas altas presiones (Pereda, 2008). Este proceso permite obtener sistemas mucho más homogéneos, debido a que las altas presiones que maneja este tipo de equipos garantiza la reducción del tamaño de las partículas en suspensión, además de permitir una reducción de la contaminación microbiana (Fernandez-Avila & Trujillo, 2017).

La reducción del tamaño de partícula se da por medio de la alta turbulencia, cavitación y estrés por cizalla, lo cual se puede potenciar si se modifican algunos parámetros operacionales del equipo, como el tipo de configuración, ya sea paralela o contraflujo. Esta última maximiza el impacto de la muestra, lo que genera una mayor probabilidad de la reducción del tamaño de partícula. Además, se puede intensificar el efecto de cavitación por medio de la variación del tamaño de la boquilla (o nozzle) del equipo. En estos equipos también se puede variar el número y tamaño de los reactores, en los cuales ocurre el proceso de cavitación, por lo que estas variaciones pueden conllevar a diferentes resultados en cuanto al tamaño de partícula obtenido (Mathys, 2018).



**Figura 12.** Esquema del funcionamiento de un equipo de HUAP (Sejin Chembio, 2007)

El proceso por el cual se da la reducción de tamaño de partícula por medio de HUAP, inicia cuando la muestra a tratar es sometida a una alta presión al pasar por el pequeño orificio del nozzle, donde la fase dispersa o partículas en suspensión chocan con una punta, que puede ser de diamante o circonio, con lo cual se da el primer paso en la reducción del tamaño de partícula. Posteriormente, el sistema se hace pasar por unos reactores, que consisten en cámaras de tamaños iguales o distintos, donde el sistema sufre cambios de presión, generando los fenómenos de implosión y explosión, que causan la reducción del tamaño de partícula o gotícula

(Bee International, 2007). Gracias a todas estas numerosas fuerzas mecánicas a las que es sometido el sistema, se da también un mecanismo de inactivación de los microorganismos que puedan encontrarse en la muestra. Se cree que estos procesos descritos anteriormente, que involucran altas presiones y velocidades, conllevan a una disrupción mecánica o alteración de las membranas celulares, permitiendo que los productos que sean fabricados por medio de estos equipos posean además una menor carga microbiana (Fernandez-Avila & Trujillo, 2017).

### 3.2. Resultados

Valor de HLB	Proporción			
	10:90		20:80	
	Promedio tensión interfacial (mN/m)	SD	Promedio tensión interfacial (mN/m)	SD
6	6,04	1,37	5,71	0,52
8	4,41	1,06	3,57	0,46
10	6,88	0,63	6,3	1,34
12	9,29	1,31	10,48	1,67
14	18,91	1,34	47,26	6,42
Valor de tensión interfacial de aceite de sacha inchi en agua: 49,5 mN/m				

**Anexo 1.** Valores de tensión interfacial para las emulsiones de sacha inchi en agua con proporciones correspondientes a 10:90 y 20:80

Proporción	Tiempo cero				Tiempo de un mes			
	Valor de HLB	Promedio potencial Z (mV)	Desviación estándar	Quality result	Valor de HLB	Promedio potencial Z (mV)	Desviación estándar	Quality result
10:90	6	-29	0,95	Good*	6	-34,5	0,61	Good*
	8	-33,7	1,37	Good*	8	-30,2	1,2	No quality
	10	-34,9	1,23	Good	10	-27,4	0,35	Good*
	12	-28,9	0,85	Good	12	-31	0,76	No quality
	14	-26,7	2,26	Good*	14	-30,6	1,71	Good*
20:80	6	-32,6	1,13	Good	6	-36,5	2,0	No quality
	8	-25,5	1,1	Good	8	-33,8	0,97	Good*
	10	-31,7	0,64	Good*	10	-37,4	0,57	Good*
	12	-33,6	1,12	No quality	12	-34,3	0,42	Good*
	14	-31,9	1,61	Good*	14	-32,5	0,7	Good*

**Anexo 2.** Valores de potencial zeta para las emulsiones homogenizadas, antes y después del estudio de choque térmico

Proporción	Tiempo cero					Tiempo de un mes				
	Valor de HLB	Promedio tamaño (nm)	Desviación estándar	Pdl	Quality result	Valor de HLB	Promedio tamaño (nm)	Desviación estándar	Pdl	Quality result
10:90	6	270,3	1,12	0,176	Good	6	277,4	7,12	0,209	Good
	8	199,7	1,01	0,104	Good	8	204	0,40	0,088	Good
	10	181,6	1,37	0,121	Good	10	193	1,57	0,184	Good
	12	177,8	0,98	0,131	Good	12	180,1	0,31	0,116	Good
	14	161,5	0,45	0,115	Good	14	169,5	0,55	0,104	Good
20:80	6	566,5	42,39	0,192	Good	6	627,7	38,67	0,223	Good
	8	384	5,43	0,202	Good	8	430,9	3,45	0,246	Good
	10	299,3	3,74	0,161	Good	10	383,1	0,52	0,209	Good
	12	270,9	1,32	0,225	Good	12	280,4	2,11	0,175	Good
	14	229,4	3,06	0,154	Good	14	233,4	0,74	0,155	Good

**Anexo 3.** Tamaño de gotícula y polidispersidad de las emulsiones homogenizadas, antes y después del estudio de choque térmico

Proporción	Tiempo cero			Tiempo de un mes		
	Valor de HLB	pH	Viscosidad (cP)	Valor de HLB	pH	Viscosidad (cP)
10:90	6	5,3	11,3	6	4,0	13,6
	8	5,1	11,1	8	4,3	16,0
	10	5,0	12,0	10	3,9	14,2
	12	4,9	11,8	12	4,0	16,5
	14	4,9	11,6	14	4,3	26,3
20:80	6	5,1	13,6	6	4,0	17,7
	8	5,1	14,3	8	3,9	15,0
	10	5,0	16,3	10	4,0	16,0
	12	5,0	17,5	12	4,1	15,6
	14	4,9	15,0	14	4,0	15,5

**Anexo 4.** Valores de pH y viscosidad correspondientes a las emulsiones homogenizadas, antes y después del estudio de choque térmico