

## EFFECTO DE LOS PARÁMETROS DE HOMOGENEIZACIÓN MECÁNICA SOBRE EL TAMAÑO DE GOTA DE EMULSIONES AGUA EN ACEITE (W/O) DE ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO

G.A. Cardoso-Ugarte, A. López-Malo, E. Palou, M.T. Jiménez-Munguía

Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental, Universidad de las Américas Puebla. Ex hacienda Sta. Catarina Mártir S/N, San Andrés, Cholula, Puebla. C.P.72810. México.

\*mariat.jimenez@udlap.mx

### RESUMEN:

Las emulsiones se definen como la unión de dos líquidos inmiscibles mediante la acción de un emulgente y la aplicación de una fuerza externa. El empleo de emulsiones en alimentos se ha dirigido entre otras aplicaciones, a la encapsulación, protección y acarreo de ingredientes sensibles con propiedades funcionales y nutraceuticas. Para la formación de emulsiones, la homogeneización mecánica es uno de los métodos comúnmente aplicados en el cual, diversos parámetros de proceso influyen de manera directa en el resultado final. En el presente estudio se investigó el efecto de la temperatura, tiempo y velocidad de homogeneización mecánica durante la formación de emulsiones agua en aceite (W/O) de aceite esencial de orégano (AEO). El efecto fue evaluado a través de la medición de los tamaños de gota de la fase dispersa y el porcentaje de separación después de someter los sistemas a una separación inducida. Los tamaños de gotas menores, que implican una mayor estabilidad del sistema así como el menor porcentaje de separación se obtuvieron al homogeneizar a una velocidad de 11711 rpm a 0°C durante 12 minutos, siendo la velocidad y la temperatura los factores que afectaron significativamente ( $p < 0.05$ ).

### ABSTRACT:

Emulsions are defined as the union of two immiscible liquids by means of an emulsifier and external forces exerted. Among the different applications of emulsions, studies have been oriented to the encapsulation, protection and carriage of sensible ingredients with functional and nutraceutical properties. For the formation of emulsions, mechanical homogenization is widely used. During mechanical homogenization, several processing parameters directly affect the product obtained. In this study, the effect of temperature, time and stirring velocity of mechanical homogenization was investigated during the formation of water-in-oil emulsions (W/O) containing oregano essential oil (OEO). The effect was evaluated by measuring the dispersed phase droplet sizes and the separation percentage after submitting the system to an induced separation. Lower droplet sizes and separation were obtained when the system was homogenized at 11711 rpm, during 12 minutes at 0°C, being the homogenization velocity and temperatures the factors that significantly affected ( $p < 0.05$ ) the results obtained.

**Palabras clave:** aceite esencial de orégano, emulsiones, homogeneización mecánica

**Keywords:** emulsions, mechanical homogenization, oregano essential oil

**Área:** Nutrición y Nutraceuticos

### INTRODUCCIÓN

El aceite esencial de orégano (AEO) ha sido reconocido como un poderoso agente antimicrobiano en diversas investigaciones. Debido a su fuerte sabor y aroma, además de su susceptibilidad a la oxidación y alta volatilidad, algunos estudios han sido dirigidos a la búsqueda de técnicas para poder adicarlo a los alimentos y

aprovechar su capacidad antimicrobiana sin afectar las características organolépticas del producto al que se agregan (Gutierrez *et al.*, 2008); sin embargo, entre los métodos empleados a la fecha, no se ha reportado el uso de emulsiones para dicho fin.

La emulsificación es una tecnología de encapsulación ampliamente aplicada en las industrias cosmética y farmacéutica, sin embargo es poco empleada en la industria de los alimentos. Gracias a su estructura, las emulsiones tienen la capacidad de atrapar, proteger y acarrear ingredientes sensibles como son los aceites esenciales, además de permitir su liberación controlada en el medio en el que se encuentran (Benichou *et al.*, 2004). Para la formación de emulsiones, los métodos de homogenización de alta energía se caracterizan por someter al sistema a altos niveles de energía determinados previamente.

Entre estos procesos, se encuentra la agitación mecánica, la cual se basa en la utilización de equipos mecánicos que producen la fuerza disruptiva necesaria para lograr la ruptura de las gotas de la fase dispersa (Abbas *et al.* 2013; Ezhilarasi *et al.* 2013; Silva *et al.* 2011). Durante la homogenización por medio de agitación mecánica, es necesario considerar la influencia que tienen factores externos y de procesamiento como la velocidad, el tiempo y la temperatura de homogenización sobre la estabilidad de los sistemas producidos (McClements, 2007). Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue investigar el efecto de la velocidad de agitación, tiempo y temperatura de homogenización en la estabilidad y el tamaño de gota de emulsiones W/O con aceite esencial de orégano.

Se observó que la emulsión con el tamaño de gota más pequeño ( $1.10 \pm 0.01 \mu\text{m}$ ) se obtuvo al homogenizar el sistema a 11711 rpm durante 8 minutos a  $0^\circ\text{C}$ , mientras que la emulsión con el tamaño de gota más grande ( $3.27 \pm 0.13$ ) se obtuvo homogenizando el sistema a 5788 rpm durante 8 minutos a una temperatura de  $30^\circ\text{C}$ . Se encontró que la velocidad y la temperatura de homogenización fueron los parámetros del proceso que afectaron significativamente ( $p < 0.05$ ) el tamaño de gota. Además, la emulsión que obtuvo un menor porcentaje de separación inducida ( $10.46 \pm 0.46\%$ ) fue la misma en la que se obtuvo el menor tamaño de gota, de igual manera la que obtuvo el mayor porcentaje de separación ( $28.71 \pm 0.28\%$ ) fue la emulsión que mostró el mayor tamaño de gota. Se concluyó que largos tiempos y bajas temperaturas de homogenización ayudan a producir emulsiones con menores tamaños de gota y que el método de separación inducida es un método eficiente para la predicción de la estabilidad de emulsiones.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Materiales

Para la elaboración de las emulsiones se utilizó aceite de maíz (Mazola, Ciudad de México, México) y aceite esencial de orégano (Laboratorios Hersol S.A. de C.V., Estado de México, México) en la fase lipídica. Los emulgentes utilizados fueron Tween 80 y Span 20 (Sigma-Aldrich, Missouri, EUA). Las emulsiones fueron elaboradas en una proporción de 40/60 (W/O), utilizando un porcentaje de emulgente del 3% cuyo valor hidrofílico-lipofílico (HLB) calculado fue de 14.6, producto de la

mezcla de Tween 80 y Span 20 en una proporción de 94/6, respectivamente. La fase acuosa estaba conformada por agua y Tween 80, mientras que la fase lipídica estuvo compuesta de aceite de maíz, AEO y Span 20.

### Métodos

Para la homogenización, la fase lipídica se colocó en un vaso de doble pared con sistema de recirculación de agua para mantener la temperatura durante la homogenización, posteriormente se adicionó cuidadosamente la fase lipídica y se ajustó la velocidad del homogenizador mecánico (Silverston, L4R, Inglaterra).

Las emulsiones se observaron directamente al microscopio (Primo Star, Carl Zeiss, Alemania) obteniendo fotografías de las emulsiones a las cuales se le midió el diámetro de las gotas de la fase dispersa. El porcentaje de separación se determinó después de someter las emulsiones a centrifugación a 10000 rpm durante 10 minutos, usando la siguiente fórmula:

$$\%separación = (\text{Peso de la fase acuosa separada} / \text{Peso total de la emulsión}) * 100.$$

Se utilizó el software Minitab v. 16 (Minitab Inc., State College, PA, USA) para llevar a cabo un análisis de varianza para determinar el efecto de los parámetros de homogenización en el tamaño de gota y el porcentaje de separación de las emulsiones, además se empleó un diseño Box-Behnken para conocer el efecto independiente de cada uno de los parámetros del proceso y se construyeron gráficas de contorno para conocer la interacción entre estos.

### Resultados y discusión

Los sistemas realizados, así como la influencia del tiempo, temperatura y velocidad de agitación sobre el tamaño de gota de las emulsiones se muestran en la Tabla I. Como se observa, el menor tamaño de gota se obtuvo con los sistemas 2 y 6, que mostraron tamaños de gota de  $1.51 \pm 0.13$  y  $1.10 \pm 0.01$   $\mu\text{m}$ , respectivamente sin mostrar diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) entre éstos, lo que permite predecir una mayor estabilidad de las emulsiones en caso de ser analizadas durante su almacenamiento. Debido a que ambas emulsiones fueron homogenizadas a 11711 rpm, la obtención de un pequeño tamaño de gota se atribuyó a la velocidad de homogenización.

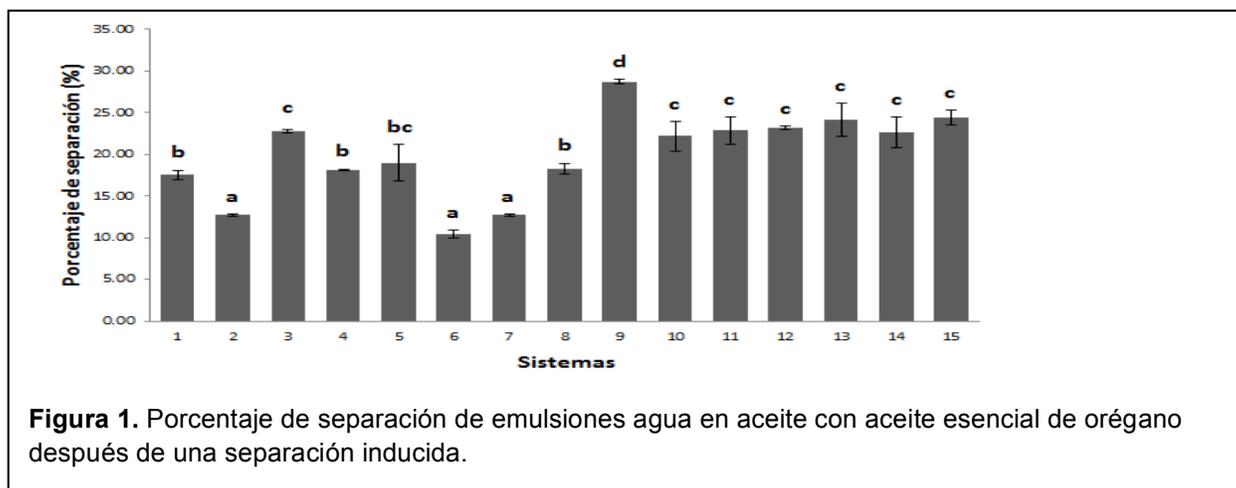
Según Tolosa *et al.* (2006), por lo general, altas velocidades de agitación provocan mayor reducción del tamaño de gota debido a la frecuencia de la acción de las fuerzas disruptivas que se ejercen. Por otro lado, el sistema 9 mostró el tamaño de gota más grande ( $3.27 \pm 0.13$   $\mu\text{m}$ ), mostrando diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) respecto al resto de los sistemas. La obtención de un tamaño de gota grande se atribuyó a la baja velocidad de agitación (5788 rpm) además de la alta temperatura de homogenización (30°C). Yuan *et al.* (2008) explican que si existe un aumento en la temperatura de homogenización, habrá disminución de viscosidad, provocando mayor velocidad en el movimiento Browniano, lo que causa que las gotas choquen de manera más rápida induciendo a la agregación y por lo tanto a la desestabilización de las emulsiones.

**Tabla I.** Parámetros de homogenización y tamaños de gota de emulsiones agua en aceite formuladas con aceite esencial de orégano.

Sistema	Velocidad de agitación (rpm)	Tiempo de homogeneización (min)	Temperatura de homogeneización (°C)	Tamaño de gota (µm)
1	5788	4	15	2.35±0.22 <sup>bc</sup>
2	11711	4	15	1.51±0.13 <sup>de</sup>
3	5788	12	15	2.30±0.05 <sup>bc</sup>
4	11711	12	15	2.02±0.01 <sup>cd</sup>
5	5788	8	0	2.25±0.04 <sup>bc</sup>
6	11711	8	0	1.10±0.01 <sup>e</sup>
7	8495	4	0	2.30±0.22 <sup>bc</sup>
8	8495	12	0	1.86±0.01 <sup>cd</sup>
9	5788	8	30	3.27±0.13 <sup>a</sup>
10	11711	8	30	2.21±0.04 <sup>bc</sup>
11	8495	4	30	2.36±0.07 <sup>bc</sup>
12	8495	12	30	2.68±0.19 <sup>b</sup>
13	8495	8	15	2.64±0.23 <sup>b</sup>
14	8495	8	15	2.56±0.15 <sup>b</sup>
15	8495	8	15	2.72±0.11 <sup>b</sup>

\*Valores con la misma letra en superíndice no mostraron diferencia significativa entre ellos ( $p>0.05$ ).

La estabilidad de las emulsiones se evaluó mediante la aplicación de un procedimiento de separación inducida. En la Figura 1 se muestran los porcentajes de separación de las emulsiones evaluadas. Los resultados muestran que los porcentajes menores de separación se obtuvieron con las emulsiones 2, 6 y 7 con  $12.71\pm 0.14$ ,  $10.46\pm 0.46$  y  $12.71\pm 0.14\%$ , respectivamente sin diferencia significativa entre ellos ( $p>0.05$ ); mientras que la emulsión 9 mostró el mayor porcentaje de separación ( $28.71\pm 0.28\%$ ). Por lo tanto, la mejor estabilidad de las emulsiones 2 y 6 que fue predicha debido a sus pequeños tamaños de gota y la baja estabilidad de la emulsión 9 que mostró el tamaño de gota más grande, fueron confirmadas por medio de la separación inducida.

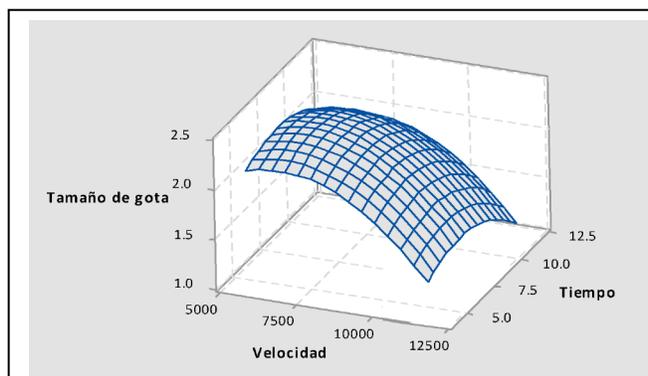


Para conocer la influencia independiente de cada uno de los parámetros del proceso sobre el tamaño de gota de las emulsiones, en la Tabla II se muestran los valores de  $p$  y los coeficientes de temperatura, tiempo y velocidad de homogenización además de sus interacciones, obtenidos mediante el diseño Box-Behnken. Los factores que afectaron el tamaño de gota de manera significativa fueron velocidad, temperatura, los cuadrados de velocidad y tiempo así como la interacción entre tiempo y temperatura, por lo que el tiempo de homogenización no afectó el tamaño de gota de las emulsiones, siempre y cuando éste se mantenga entre 4 y 12 minutos.

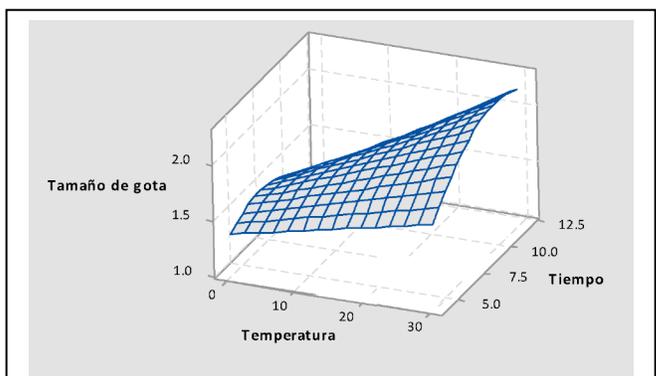
La influencia de las interacciones de los tres parámetros evaluados se muestra en las Figuras 2, 3 y 4. Se puede observar que en la interacción de velocidad y tiempo, para obtener tamaños de gota pequeños, se necesitan velocidades de 10000-12500 rpm y 10-12.5 minutos; respecto a la interacción temperatura-tiempo, se observa que tamaños de gota pequeño se pueden obtener con temperaturas cercanas a 0°C durante 10-12.5 minutos; finalmente, respecto a la interacción velocidad-temperatura, los tamaños de gota pequeños se pueden obtener con velocidades de homogenización de 11000 a 12500 a temperaturas entre 0 y 3°C.

Tabla II. Coeficientes y valores de $p$ de los parámetros temperatura, velocidad, tiempo y sus interacciones		
Factores	Coeficientes	Valor de $p$
Constante	2.6350	0.000 <sup>a</sup>
Velocidad (rpm)	-0.4150	0.000 <sup>a</sup>
Tiempo (minutos)	0.0425	0.469
Temperatura (°C)	0.3750	0.000 <sup>a</sup>
Velocidad*velocidad	-0.3425	0.001 <sup>a</sup>
Tiempo*tiempo	-0.2500	0.008 <sup>a</sup>
Tiempo*Temperatura	0.1875	0.032 <sup>a</sup>

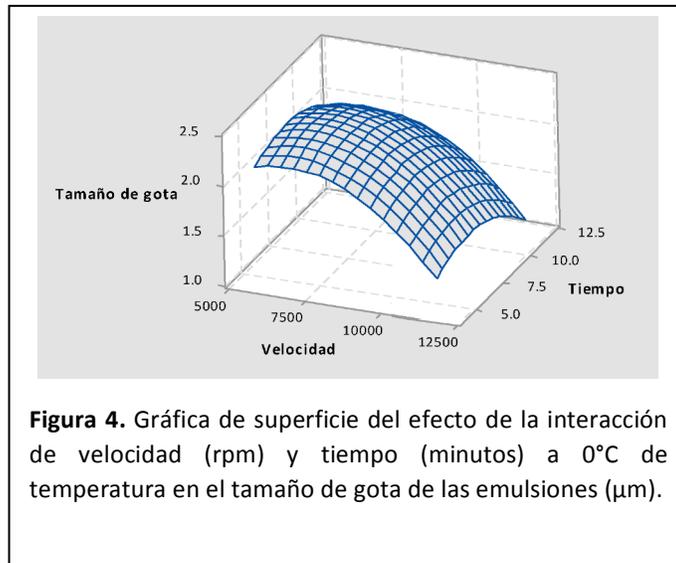
<sup>a</sup> factores significantes respecto a un nivel de confianza del 95%



**Figura 2.** Gráfica de superficie del efecto de la interacción de velocidad (rpm) y tiempo (minutos) a 0°C de temperatura en el tamaño de gota de las emulsiones ( $\mu\text{m}$ ).



**Figura 3.** Gráfica de superficie del efecto de la interacción de temperatura (°C) y tiempo (minutos) a 11711 rpm en el tamaño de gota de las emulsiones ( $\mu\text{m}$ ).



## BIBLIOGRAFÍA

- Abbas, S., Hayat, K., Karangwa, E., Bashari, M., & Zhang, X. 2013. An Overview of Ultrasound-Assisted Food-Grade Nanoemulsions. *Food Engineering Reviews*. 5(3), 139–157.
- Benichou, A., Aserin A. & Garti, N. 2004. Double emulsions stabilized with hybrids of natural polymers for entrapment and slow release of active matters. *Advances in Colloid and Interface Science*. 108-109(20), 29-41.
- Ezhilarasi, P., Karthik, P., Chhanwal, N., & Anandharamakrishnan, C. 2013. Nanoencapsulation Techniques for Food Bioactive Components: A Review. *Food and Bioprocess Technology*. 6(3): 628–647.
- Gutierrez, J., Barry-Ryan, C. & Bourke, P. 2008. The antimicrobial efficacy of plant essential oil combinations and interactions with food ingredients. *International Journal of Food Microbiology*. 124(1), 91-97.
- McClements, D., Decker, E. and Weiss, J. 2007. Emulsion-based delivery systems for lipophilic bioactive components. *Journal of Food Science*. 72(8): 109-124.
- Silva, H., Cerqueira, M. & Vicente, A. 2011. Nanoemulsions for Food Applications: Development and Characterization. *Food and Bioprocess Technology*. 5(3): 854–867.
- Tolosa, L. I., Forgiarini, A., Moreno, P., & Salager, J. L. 2006. Combined effects of formulation and stirring on emulsion drop size in the vicinity of three-phase behavior of surfactant-oil water systems. *Industrial and Engineering Chemistry Research*. 45(11), 3810–3814.
- Yuan, Y., Gao, Y., Mao, L., & Zhao, J. 2008. Optimisation of conditions for the preparation of  $\beta$ -carotene nanoemulsions using response surface methodology. *Food Chemistry*. 107(3), 1300–1306.