

Desarrollo de formulación cinéticamente estable, a partir de la mezcla de 3 aceites esenciales (*Lippia origanoides*, *Thymus vulgaris* y *Rosmarinus officinalis*) en agua

Loufrantz Jaffer Parra Méndez

Trabajo de Grado para Optar el Título de Químico

Director

Daniel Ricardo Molina Velasco

Magíster, Doctor en Química

Universidad Industrial de Santander

Facultad de Ciencias

Escuela de Química

Bucaramanga

2022

Dedicatoria

A mi abuela, madre y mis hermanas por toda su entrega, apoyo incondicional en todo momento a pesar de la dificultad de los mismos, por el coraje y fortaleza para guiarme por el camino del bien, a mis amigos y compañeros, a todos quienes día a día estuvieron a mi lado.

Agradecimientos

Mi agradecimiento va dirigido a Dios que me ha sabido guiar por el camino del bien.

A la Universidad Industrial de Santander, a la Carrera de Química por abrirme las puertas de tan prestigiosa Institución para poder alcanzar un peldaño más en mi vida profesional. En especial al Doctor en Química Daniel Ricardo Molina ya que gracias a su apoyo he podido culminar con éxito el tema de investigación.

Un reconocimiento muy especial a la empresa Promitec SAS, gracias a su apoyo económico, equipos y material de laboratorio contribuyeron significativamente en el desarrollo del trabajo de investigación.

Tabla de Contenido

	Pág.
INTRODUCCIÓN	15
1. OBJETIVOS	18
1.1 Objetivo General	18
1.2 Objetivos Específicos.....	18
2. CUERPO DEL TRABAJO	19
2.1 Marco Referencial.....	19
Aceites esenciales	19
Caracterización de aceites esenciales.....	19
Aceites esenciales de <i>Lippia organoides</i> , <i>Thymus vulgaris</i> y <i>Rosmarinus officinalis</i>	21
Aceites esenciales en alimentos	23
Emulsificación	23
Tensoactivos emulsificantes y HLB Griffin	24
Estabilidad en emulsiones.....	26
Mecanismos de inestabilidad	27
3. METODOLOGÍA	30
3.1 Materiales.....	30
3.2 Caracterización de aceites esenciales por técnicas instrumentales	31
3.2.1 Cromatografía de gases / espectrometría de masas.....	32
3.2.2 Espectroscopia Raman cualitativo	32
3.2.3 Espectroscopia Raman cuantitativo	33
3.3 Mezcla de aceites esenciales (fase oleosa).....	34

3.4 Emulsificación y estabilidad cinética.....	34
3.4.1 Agentes emulsificantes y fase oleosa.....	34
3.4.2 Preparación emulsiones o/w con único emulsificante y evaluación por el método HLB....	35
3.4.3 Preparación de emulsiones o/w con mezcla de emulsificantes y evaluación por el método HLB.....	36
3.4.4 Estabilizantes	37
3.4.5 Preparación de emulsiones o/w con estabilizantes	37
3.4.6 Comportamiento de la fase oleosa	38
4. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	39
4.1 Caracterización de aceites esenciales.....	39
4.1.1 Caracterización por GC/MS.....	39
4.1.2 Identificación por espectroscopia Raman	40
4.1.3 Cuantificación por espectroscopia Raman.....	42
4.2 Caracterización de la fase oleosa	48
4.3 Estabilidad cinética de emulsiones	50
4.3.1 Propiedades fisicoquímicas - organolépticas de emulsificantes y fase oleosa	51
4.3.2 Emulsiones - único emulsificante	52
4.3.3 Emulsiones - mezcla de emulsificantes	56
4.3.4 Propiedades fisicoquímicas - organolépticas de estabilizantes.....	59
4.3.5 Emulsiones - estabilizantes	60
4.3.6 Propiedades fisicoquímicas y organolépticas a través del tiempo.....	64
4.3.7 Propiedades de la fase oleosa.....	67
5. CONCLUSIONES	70

6. RECOMENDACIONES.....	72
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	73
APÉNDICES.....	78

Lista de Tablas

	Pág.
Tabla 1. Composición de emulsiones o/w (único emulsificante)	36
Tabla 2. Composición de emulsiones o/w (mezcla de emulsificantes)	37
Tabla 3. Concentraciones (% p/p) de principales metabolitos en aceites esenciales (GC/MS)....	39
Tabla 4. Intensidades promedio (Raman) en aceites esenciales quimiotipo timol	42
Tabla 5. Intensidades promedio (Raman) en aceites esenciales quimiotipo 1,8-cineol.....	43
Tabla 6. Concentraciones (% p/p) de principales metabolitos en aceites esenciales (Raman).....	47
Tabla 7. Concentraciones (% p/p) de los principales metabolitos por GC/MS y Raman.	48
Tabla 8. Intensidades y concentraciones (% p/p) de metabolitos mayoritarios (Raman) de la mezcla de aceites esenciales (<i>Rosmarinus o. 10%</i> - <i>Lippia o. 80%</i> - <i>Thymus v. 10%</i>).	49
Tabla 9. Concentraciones (% p/p) en la mezcla de aceites esenciales (<i>Rosmarinus o. 10%</i> - <i>Lippia o. 80%</i> - <i>Thymus v. 10%</i>) por espectroscopia Raman vs concentración teórica.	50
Tabla 10. Propiedades de emulsificantes y fase oleosa	51
Tabla 11. Composición de emulsiones con mayor estabilidad (único emulsificante)	53
Tabla 12. Emulsión F, parámetros fisicoquímicos y organolépticos	54
Tabla 13. Composición de emulsiones con mayor estabilidad (mezclas emulsificantes)	57
Tabla 14. Emulsión M, parámetros fisicoquímicos y organolépticos.....	58
Tabla 15. Propiedades de estabilizantes.....	60
Tabla 16. Composición de emulsiones con mayor estabilidad (estabilizantes).....	61
Tabla 17. Emulsión S, parámetros fisicoquímicos y organolépticos	62
Tabla 18. Metabolitos en aceites quimiotipo timol (GC/MS).....	78
Tabla 19. Metabolitos en aceites quimiotipo 1,8-cineol (GC/MS).....	78

Tabla 20. Composiciones con aceite vegetal	90
Tabla 21. Composiciones con tween 80	91
Tabla 22. Composiciones con tween 20	92
Tabla 23. Emulsión A	93
Tabla 24. Emulsión B	93
Tabla 25. Emulsión C	93
Tabla 26. Emulsión D	94
Tabla 27. Emulsión E.....	94
Tabla 28. Emulsión G	95
Tabla 29. Emulsión H	95
Tabla 30. Composiciones con aceite vegetal – tween 80.....	96
Tabla 31. Composiciones con aceite vegetal – tween 20.....	96
Tabla 32. Composiciones con tween 80 – tween 20.....	97
Tabla 33. Emulsión I.....	98
Tabla 34. Emulsión J.....	98
Tabla 35. Emulsión K.....	99
Tabla 36. Emulsión L.....	99
Tabla 37. Emulsión N	101
Tabla 38. Emulsión O	101
Tabla 39. Emulsión P	102
Tabla 40. Emulsión Q	102
Tabla 41. Emulsión R	103
Tabla 42. Emulsión T.....	103

Lista de Figuras

	Pág.
Figura 1. Moléculas principales en los aceites esenciales de <i>Lippia origanoides</i> , <i>Thymus vulgaris</i> y <i>Rosmarinus officinalis</i>	21
Figura 2. Tipos de emulsiones	24
Figura 3. Tipos de tensoactivos y escala HLB.....	26
Figura 4. Procesos gráficos de desestabilización (creaming – sedimentación y floculación).	28
Figura 5. Procesos gráficos de desestabilización (coalescencia y engrosamiento de gota).....	29
Figura 6. Espectrómetro Raman y patrones estándar.....	33
Figura 7. Muestras de aceites esenciales.....	33
Figura 8. Determinación de propiedades fisicoquímicas	35
Figura 9. Equipo de agitación	36
Figura 10. Determinación de propiedades fisicoquímicas en estabilizantes.....	37
Figura 11. Espectros Raman de patrones estándar.....	41
Figura 12. Curvas de calibración	45
Figura 13. Espectros Raman de aceites esenciales.	47
Figura 14. Espectro Raman de la mezcla de aceites esenciales.....	49
Figura 15. Emulsiones con único emulsificante	53
Figura 16. Apariencia de emulsiones con único emulsificante.....	54
Figura 17. Emulsiones con mezcla de emulsificantes	57
Figura 18. Apariencia de emulsiones con mezcla de emulsificantes.....	58
Figura 19. Emulsiones con estabilizantes	60
Figura 20. Apariencia de emulsiones con estabilizantes	61

Figura 21. Variación del pH a través del tiempo	65
Figura 22. Variación de la viscosidad a través del tiempo	66
Figura 23. Mecanismos de inestabilidad.....	67
Figura 24. Espectros Raman fase oleosa de la emulsión S	68
Figura 25. Ficha técnica del aceite vegetal	79
Figura 26. Ficha técnica del tween 20	79
Figura 27. Ficha técnica del tween 80	80
Figura 28. Ficha técnica de la CMC	81
Figura 29. Ficha técnica de la maltodextrina	81
Figura 30. Ficha técnica de la pectina.....	82
Figura 31. Procedimiento NTC 440.....	83
Figura 32. Materiales NTC 440	83
Figura 33. Composición del aceite esencial de <i>Lippia origanoides</i>	84
Figura 34. Composición del aceite esencial de <i>Thymus vulgaris</i>	84
Figura 35. Composición del aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i>	85
Figura 36. Espectros de aceites esenciales quimiotipo timol (100 Scans-1800 mseg-300 W).....	87
Figura 37. Espectros de aceites esenciales quimiotipo 1,8-cineol (100 Scans-1800 mseg-300 W)	89

Lista de Apéndices

	Pág.
Apéndice A. Concentración de metabolitos mayoritarios en aceites esenciales quimiotipo timol y 1,8-cineol	78
Apéndice B. Fichas técnicas de emulsificantes	79
Apéndice C. Fichas técnicas de estabilizantes	81
Apéndice D. Norma técnica Colombiana NTC 440 (Productos alimenticios – métodos de ensayo – 3.13 Determinación del contenido de aceite esencial).....	83
Apéndice E. Identificación presuntiva y cantidad relativa (%) de los aceites esencial por GC/MS	84
Apéndice F. Espectros Raman promedio de aceites esenciales quimiotipo timol y 1,8-cineol... 86	
Apéndice G. Composición de emulsiones o/w con único emulsificante	90
Apéndice H. Parámetros fisicoquímicos y organolépticos de emulsiones o/w con único emulsificante	93
Apéndice I. Composición de emulsiones o/w con mezcla de emulsificantes.....	96
Apéndice J. Parámetros fisicoquímicos y organolépticos de emulsiones o/w con mezcla de emulsificantes	98
Apéndice K. Parámetros fisicoquímicos y organolépticos de emulsiones o/w con estabilizantes	101

Glosario

Aceite esencial: metabolitos secundarios sintetizados por las plantas para su supervivencia y/o adaptación, estos que extraídos principalmente por destilación.

Biocompatibilidad: capacidad de una sustancia para desempeñar la función deseada sin provocar un efecto indeseable.

Biodisponibilidad: capacidad de un compuesto bioactivo para que el cuerpo lo absorba y lo use.

Compuestos bioactivos: compuestos de origen natural y sintético con actividades biológicas demostradas.

Densidad: relación entre la masa y el volumen de una sustancia.

Emulsificante: sustancia que ayuda en la mezcla de sustancias no miscibles.

Emulsión: mezcla o dispersión de líquidos inmiscibles.

Encapsulación: proceso de incorporación de ingredientes alimentarios o compuestos bioactivos a través de agentes poliméricos.

Estabilidad: sustancia que mantiene sus propiedades en una escala de tiempo y no es particularmente reactivo en el ambiente o durante su uso normal.

Estabilizante: sustancia que ayuda a mantener unidas una mezcla de sustancias.

Interfase: superficie de contacto entre las fases condensadas.

Miscibilidad: propiedades que poseen algunos líquidos para mezclarse en cualquier proporción.

Tensión interfacial: fuerzas intermoleculares que ocurren en la interfase entre ambos líquidos.

Tensoactivo: sustancias que influyen por medio la tensión superficial en la superficie de contacto entre dos fases.

Viscosidad absoluta o dinámica: medida de la resistencia a la fluencia de un fluido.

Viscosidad cinemática: relación de la viscosidad dinámica con la densidad del líquido.

Resumen

Título: Desarrollo de formulación cinéticamente estable, a partir de la mezcla de 3 aceites esenciales (*Lippia origanoides*, *Thymus vulgaris* y *Rosmarinus officinalis*) en agua*

Autor: Loufrantz Jaffer Parra Méndez**

Palabras Clave: Aceites esenciales, emulsión, estabilidad cinética, balance hidrófilo-lipófilo emulsificantes, estabilizantes, propiedades fisicoquímicas.

Descripción:

En la presente investigación se desarrolló una emulsión cinéticamente estable de la mezcla de tres aceites esenciales (*Lippia origanoides-Thymus vulgaris-Rosmarinus officinalis*) en agua, para esto se empleó un espectrómetro Raman Cora 5300 en la caracterización de la fase oleosa, también el método del balance hidrófilo-lipófilo (HLB) en la determinación de los emulsificantes y sus respectivas concentraciones, al igual que análisis fisicoquímicos para la determinación del estabilizante más apropiado; como materiales emulsificantes se evaluaron el tween 20 - tween 80 - aceite de girasol, como materiales estabilizantes la carboximetilcelulosa - pectina - maltodextrina y un vortex Reax Top para la preparación de las emulsiones. La proporción de aceites esenciales en la fase oleosa es obtenida de estudios realizados en diferentes fuentes bibliográficas, esta es caracterizada con ayuda del análisis de patrones (metabolitos) por Raman y aceites esenciales por cromatografía de gases. Con el método HLB se obtuvo el mejor balance de moléculas emulsificantes-fase oleosa y velocidad de agitación destacándose la mezcla tween20-tween80-fase oleosa 1:1:2 preparada a 2500 rpm (2 meses estable); por último se determinó el mejor estabilizante realizando pruebas fisicoquímicas a las emulsiones más estables, donde se observó la variación de propiedades como pH-viscosidad-densidad-homogeneidad-color y se obtiene una formulación con mayor estabilidad cinética (>3 meses), la cual estaba compuesta de fase oleosa 30% p/p, tween20 15% p/p, tween80 15% p/p, agua 39,75% p/p y carboximetilcelulosa 0,25% p/p preparada a 2500 rpm durante 2 minutos. La velocidad de agitación, composición y tipos de emulsificantes, composición fase oleosa y el estabilizante otorgan diferentes propiedades y características al sistema para la formación de agregados estables, estos disminuyeron las interacciones entre las diferentes moléculas y fases del sistema retrasando los mecanismos de inestabilidad propios de las emulsiones.

* Trabajo de Grado

** Facultad de Ciencias. Escuela de Química. Director: Daniel Ricardo Molina Velasco. Doctor en Química.

Abstract

Title: Development of a kinetically stable formulation from a mixture of 3 essential oils (*Lippia origanoides*, *Thymus vulgaris* y *Rosmarinus officinalis*) in water*

Author: Loufrantz Jaffer Parra Méndez**

Key Words: Essential oils, emulsion, kinetic stability, hydrophilic-lipophilic balance, emulsifiers, stabilizers, physicochemical properties.

Description:

In this research, a kinetically stable emulsion of the mixture of three essential oils (*Lippia origanoides*-*Thymus vulgaris*-*Rosmarinus officinalis*) in water was developed, for this, a Raman Cora 5300 spectrometer was used in the characterization of the oily phase, the method of the hydrophilic-lipophilic balance (HLB) in the determination of the emulsifiers and their respective concentrations, as well as physicochemical analyzes for the determination of the most appropriate stabilizer were also used; as emulsifying materials the Tween 20 - Tween 80 - sunflower oil were evaluated, as stabilizing materials, the carboxymethylcellulose – pectin – maltodextrin, and a Reax Top vortex were used for the preparation of the emulsions. The proportion of essential oils in the oily phase was obtained from studies carried out in different bibliographic sources, it was characterized with the help of the analysis of patterns (metabolites) by Raman, and essential oils by gas chromatography. With the HLB method, the best balance of emulsifying molecules- oily phase and stirring speed was obtained by highlighting the mixture tween 20 – tween 80 - oily phase 1: 1: 2 prepared at 2500 rpm (2 months stable); lastly, the best stabilizer was determined by performing physicochemical tests on the most stable emulsions, where the variation of properties such as pH-viscosity-density-homogeneity-color was observed, and a formulation with greater kinetic stability (> 3 months) was obtained, which was composed of 30% w/w oily phase, 15% w/w tween 20, 15% w/w tween 80, 39.75% w/w water, and 0.25% p/p carboxymethylcellulose prepared at 2500 rpm for 2 minutes. The stirring speed, composition and types of emulsifiers, oily phase composition, and the stabilizer give different properties and characteristics to the system for the formation of stable aggregates, these decreased the interactions between the different molecules and phases of the system, delaying the instability mechanisms of emulsions.

* Degree Work

** Science Faculty. Chemistry school. Director: Daniel Ricardo Molina Velasco. Chemistry Doctor.

Introducción

En la última década ha aumentado el uso de los aceites esenciales en la industria alimentaria y farmacológica por sus variadas características y funcionalidades, además, por ser compuestos biosintetizados, es decir, que las mismas plantas los producen. Estos compiten con compuestos químicamente sintetizados llegando a obtener mejores resultados que estos últimos por tener mayor biodisponibilidad y/o biocompatibilidad (Stashenko, 2009; Hernández, 2011).

Los aceites esenciales de *Lippia origanoides* y *Thymus vulgaris* poseen moléculas que cumplen con actividades funcionales (bioactivos) antimicrobianas contra microorganismos como *Escherichia coli*, *Salmonella cholerae*, *Bacillus cereus*; actividades antifúngicas contra *Candida albicans* y *Aspergillus*, y gran capacidad antioxidante gracias a sus metabolitos que son capaces de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas (Rojas et al., 2015; Stashenko, et al., 2014). El aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* tiene una gran capacidad antioxidante, además, posee efectos inmunoestimulantes y antibacterianos (Coy y Acosta, 2013; Boom, et al., 2018; Aricapa et al., 2018). Estos tres aceites esenciales tienen diferentes investigaciones en el sector pecuario (aves y cerdos) e incluso en humanos.

En el sector pecuario se están realizando diferentes investigaciones y desarrollos con aceites esenciales como reemplazo de productos sintéticos (Madrid et al., 2017; Roldán, 2010). Los antibióticos promotores de crecimiento se utilizan para mejorar la integridad intestinal en el animal (antimicrobianos de *E-coli*, *Salmonella*, *Clostridium*, entre otras), pero el compuesto activo del producto hace efecto hasta varios días después de ser retirado (efecto residual), esto impide su comercialización en el tiempo deseado y trae consigo pérdidas económicas. Por lo anterior, en los últimos años se han tratado los animales con aceites esenciales logrando resultados zootécnicos iguales e incluso mejores que los compuestos químicos sin dejar efectos

residuales y mejorando la seguridad alimentaria (Madrid et al., 2017; Martínez, et al., 2009; Roldán, 2010; Teneda, 2015).

La forma más fácil y rápida de suministrar cualquier tipo de compuesto (fármaco o funcional) a los animales de la industria pecuaria es por la vía oral; estos se dosifican a la concentración deseada en el agua de bebida, lo que permite una dosificación masiva, rápida, con mayor biodisponibilidad y de bajo costo (Roldán, 2010). El agua de bebida es considerada el principal nutriente en este tipo de industria, posee propiedades que interfieren en actividades metabólicas o fisiológicas y también porque muchos problemas de desempeño zootécnico se le pueden atribuir a la mala calidad del agua (Chango, 2015).

Los aceites esenciales son moléculas liposolubles y su uso en productos de base acuosa está limitada por la solubilidad; cuando este tipo de moléculas son mezclados en agua se convierten en sistemas con fases no miscibles (sistemas no homogéneos o sistemas multifase) que da lugar a emulsiones cinéticamente inestables, por lo cual la fase dispersada solo lo está durante un periodo de tiempo finito y este tiempo depende de las características de la interfaz que separa ambas fases (Aranberri et al., 2006). Los sistemas multifase presentan diferentes características y propiedades en las fases separadas, es decir, la concentración deseada de los aceites esenciales que se quiere suministrar no se puede garantizar (Aranberri et al., 2006; Fernández, 2006).

Para mezclar los aceites esenciales en el agua se requiere de agentes moleculares (tensoactivos y/o estabilizantes) que influyan en la interfaz de contacto entre ambas fases, así como de una buena homogeneización (velocidad de agitación). Las moléculas oleosas se deben dispersar homogéneamente en la fase acuosa para obtener uniformidad en toda la mezcla y disminuir las interacciones entre las distintas fases (Moreno, 2013). Con ayuda del balance

hidrófilo-lipófilo (HLB), condiciones de proceso y propiedades fisicoquímicas de la emulsión se obtienen los tipos de emulsificantes-estabilizantes más apropiados junto con sus respectivas composiciones, al igual que las composiciones ideales de la fase oleosa (mezcla de aceites esenciales) con respecto a la fase acuosa para aumentar la estabilidad cinética del sistema.

En la actualidad los consumidores prefieren productos que están compuestos principalmente de sustancias naturales; las industrias pecuarias han comenzado a disminuir el uso de sustancias sintéticas y reemplazarlas por sustancias naturales para generar beneficios en la salud humana y en algunos países ya está prohibido el uso de antibióticos para mejorar el rendimiento en la producción animal (Madrid et al., 2017; Roldán, 2010). Esto hace que en los últimos años se investiguen emulsiones y otros tipos de matriz alimentaria cuya fase orgánica está compuesta por aceites esenciales procedentes de plantas aromáticas, lo que permite diseñar productos más ecológicos y más seguros (Dávila y Jiménez, 2016; García et al., 2017).

En esta investigación se obtiene un método rápido para la caracterización de los principales metabolitos presentes en los aceites esenciales (*Lippia o.*, *Thymus v.* y *Rosmarinus o.*) por espectroscopia Raman. También se identifican los tipos de emulsificantes junto con sus concentraciones y velocidades de agitación que forman mejores agregados (balance hidrófilo – lipófilo) para disminuir las interacciones entre las fases y obtener emulsiones o/w estables; además los tipos de estabilizantes y concentraciones que aportan propiedades, las cuales aumentan la estabilidad cinética de la emulsión. Estas emulsiones se observan a través del tiempo y se miden diferentes propiedades fisicoquímicas y organolépticas (pH, viscosidad entre otras) hasta presentar inestabilidad por separación de fases o gotas de aceite en la superficie para analizar los cambios que ocurren por el aumento de sus interacciones moleculares.

1. Objetivos

1.1 Objetivo General

Desarrollar una formulación cinéticamente estable de la mezcla de tres aceites esenciales (*Lippia origanoides*, *Thymus vulgaris* y *Rosmarinus officinalis*) en agua.

1.2 Objetivos Específicos

Caracterizar y determinar el porcentaje de inclusión de los aceites esenciales.

Determinar el tipo de emulsificante y calcular la concentración necesaria para obtener una emulsión cinéticamente estable con el método HLB Griffin.

Determinar compuestos de grado alimenticio que aumenten la estabilidad de la emulsión y sus respectivas concentraciones en la formulación.

Optimizar el proceso de preparación de emulsiones o/w (aceite en agua), implicando variables de entrada como la concentración de aceites esenciales-emulsificantes, velocidad de agitación, estabilizantes y una respuesta variable dependiente (estabilidad).

2. Cuerpo del Trabajo

2.1 Marco Referencial

Aceites esenciales

Las plantas sintetizan diferentes sustancias químicas para cumplir funciones no esenciales como son sus interacciones ecológicas con el ambiente y generalmente son conocidos como aceites esenciales, estos están formados principalmente por terpenos volátiles (monoterpenos y sesquiterpenos) y pueden contener más de 20 componentes (compuestos alifáticos, no terpenos, aromáticos y cíclicos) en diferentes concentraciones dando el aroma característico a algunas flores, árboles, hierbas, especias y semillas. Los monoterpenos y sesquiterpenos son conocidos de esta manera porque constan de diferentes unidades de isopreno y se caracterizan por ser insolubles en agua, altamente volátiles, poco densos, de bajo peso molecular, solubles en alcohol, aceites vegetales o ceras y de fácil oxidación por exposición al aire y la luz (Rojas et al., 2015; Stashenko, 2009).

Los aceites esenciales se clasifican según su origen (Stashenko, 2009):

1. Aceites esenciales naturales, estos se extraen directamente de la planta utilizando diferentes métodos, dos de los principales son la destilación por arrastre de vapor y la extracción con solventes orgánicos.

2. Aceites esenciales artificiales, los cuales se obtienen a través de procesos de enriquecimiento de la misma esencia con uno o varios de sus componentes.

3. Aceites esenciales sintéticos, estos se producen por procesos de síntesis química.

Caracterización de aceites esenciales

Los aceites esenciales son mezclas complejas y la identificación de sus componentes no es un trabajo sencillo, años atrás, se realizaba por cromatografía de capa fina, cromatografía de

columna, destilación fraccionada, entre otras y su determinación estructural por métodos químicos tradicionales. Actualmente los métodos de análisis son mucho más avanzados complementados con bases de datos y sistemas informáticos que hacen que la tarea de determinar los constituyentes de los aceites esenciales sea menos difícil (Coy y Acosta, 2013). Los métodos más utilizados son las técnicas cromatográficas de alta resolución (principalmente cromatografía de gases), espectrometría de masa, espectroscopia infrarroja, espectroscopia de resonancia magnética nuclear, espectroscopia Raman y sistemas cromatográficos acoplados (cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas), este último es el método más popular para determinar la composición de aceites esenciales (Stashenko, 2009; Coy y Acosta, 2013).

La espectroscopia Raman es una técnica que proporciona en pocos segundos información sobre la composición o las características de casi cualquier material permitiendo así su identificación. Es el resultado de un proceso de dispersión de la luz (monocromática) por un material al incidir sobre él; la luz se dispersa inelásticamente y experimenta ligeros cambios de frecuencia que son característicos del material analizado e independientes de la frecuencia de la luz incidente, esto proporciona información sobre las vibraciones intramoleculares e intermoleculares (Nikolaos et al., 2005). Con esta técnica cada tipo de molécula produce diferentes espectros, donde se observan picos característicos con diferentes intensidades y permite obtener la “huella dactilar” de las muestras analizadas (Vargas et al., 2015).

Los resultados de diferentes caracterizaciones demuestran que la composición de los aceites esenciales varía de acuerdo a las diferentes partes de la planta de las cuales se extrae, también depende del tipo y ubicación geográfica de la planta; algunos aceites se caracterizan por tener principalmente dos o tres metabolitos a concentraciones relativamente altas (20 a 70%) y al

conocer los metabolitos de mayor concentración se puede asignar el quimiotipo a la planta. (Stashenko et al., 2014).

Aceites esenciales de Lippia origanoides, Thymus vulgaris y Rosmarinus officinalis

El aceite esencial de *Lippia origanoides* está compuesto principalmente por timol, carvacrol, p-cimeno y γ -terpineno en concentraciones mayores a 40%, 20%, 10% y 5% respectivamente. El aceite esencial de *Thymus vulgaris* contiene principalmente timol y p-cimeno en concentraciones mayores a 35% y 20% respectivamente (Montoya et al., 2007; Rojas et al., 2015). El aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* contiene principalmente 1,8-cineol y alcanfor en concentraciones mayores a 25% y 18% respectivamente. Debido a las diferentes composiciones los aceites poseen diferentes propiedades, características y funcionalidades, (Stashenko et al., 2014; Boom et al., 2018); en la figura 1 se observan las principales moléculas presentes en estos aceites esenciales.

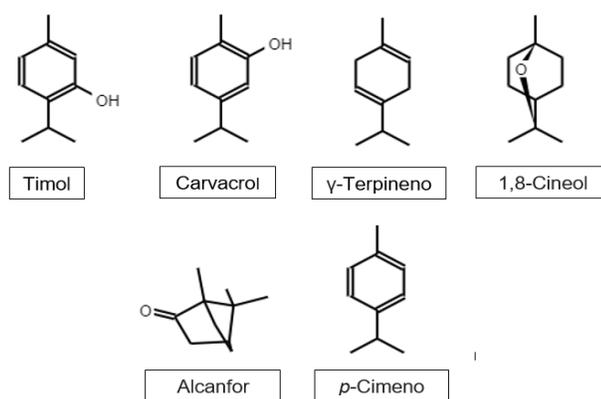


Figura 1. Moléculas principales en los aceites esenciales de *Lippia origanoides*, *Thymus vulgaris* y *Rosmarinus officinalis*.

Nota: Las moléculas de timol y carvacrol se denominan monoterpenos fenólicos, mientras que el p-cimeno es un monoterpeno aromático y estas moléculas están presentes en los aceites de *Lippia origanoides* y *Thymus vulgaris*. Las moléculas γ -terpineno, alcanfor y 1,8-cineol se

conocen como monoterpenos cíclicos y están presentes principalmente en el aceite de *Rosmarinus officinalis* (Coy y Acosta, 2013; Stashenko et al., 2014).

Los aceites de orégano y tomillo (compuestos bioactivos) enmarcan un novedoso campo de acción sobre la microbiota intestinal en aves y cerdos, estos modifican las poblaciones microbianas para proveer un mejor desempeño del animal mejorando la absorción y utilización de nutrientes por un efecto indirecto de los ácidos grasos volátiles que se generan por las poblaciones benéficas (estimuladas en su crecimiento por el uso de los aceites esenciales), también actúan sobre las paredes del intestino afectando positivamente la salud y funcionalidad de las vellosidades intestinales (Madrid et al., 2017; Martínez et al., 2009); además, presentan múltiples efectos funcionales como antimicóticos, estimulantes de enzimas digestivas, inmunoestimulantes, antivirales, antioxidantes, entre otras y atribuyendo estas funciones a la cantidad y sinergia de los compuestos que conforman los aceites esenciales (Roldán et al., 2010; Teneda, 2015).

El aceite de Romero desde la antigüedad se ha atribuido numerosas propiedades medicinales, tales como actividad antiséptica, antibacteriana, diurética y anticancerígena (Coy et al., 2013); se utiliza en la industria pecuaria (compuesto bioactivo) como antiespasmódico, alivio de trastornos respiratorios, estimulante del apetito, antiviral, antibacteriano, antioxidante, inmunoestimulante e incluso para tratar diferentes tipos de dolores (Aricapa et al., 2017; Boom et al., 2018).

Algunas de las principales características de los aceites esenciales es que son biocompatibles, biodisponibles y también se denominan como GRAS (Generalmente

Reconocidos como Seguros) por la FDA (Agencia o Administración de Medicamentos y Alimentación) de Estados Unidos de América (Da Veiga et al., 2019).

Aceites esenciales en alimentos

Incorporar aceites esenciales en los alimentos presenta un reto tecnológico que implica su adecuada dispersión en la matriz alimentaria (sólida o líquida), el control de su interacción con otros ingredientes, así como la preservación de su actividad durante el tiempo requerido. Un posible enfoque para superar tales desafíos se basa en su encapsulación, esto contribuye a mejorar la protección de los compuestos bioactivos de la degradación química y aumentar su biodisponibilidad (Dávila y Jiménez, 2016; Hernández, 2011). La encapsulación es también una estrategia empleada para prolongar la estabilidad y actividad de los aceites esenciales durante la manipulación, el procesamiento y el almacenamiento; la elección de la técnica apropiada depende de varios factores tales como el tamaño de partícula, las propiedades fisicoquímicas del núcleo y la pared, aplicación de encapsulado y costos (Briones, 2017; Favaro y Pinho, 2006; Fuchs et al., 2006).

Emulsificación

La emulsificación es una técnica que permite mezclar dos fases líquidas inmiscibles “aceite en agua” (o/w) o “agua en aceite” (w/o), una de las cuales se dispersa como gotas muy pequeñas (0,1 a 20 micrómetros) en la otra con ayuda de un tipo de moléculas denominadas tensoactivos o surfactantes (Aranberri et al., 2006). Es considerada un tipo de encapsulación y una forma especial de empaquetar materiales sólidos o líquidos, esta técnica recubre con una película de carbohidratos u otro material polimérico los compuestos bioactivos para impedir que sufran reacciones con otros ingredientes y con el ambiente (Fernández, 2006; Fuchs et al., 2006); en la figura 2 se observan las representaciones gráficas de los tipos de emulsiones más comunes.

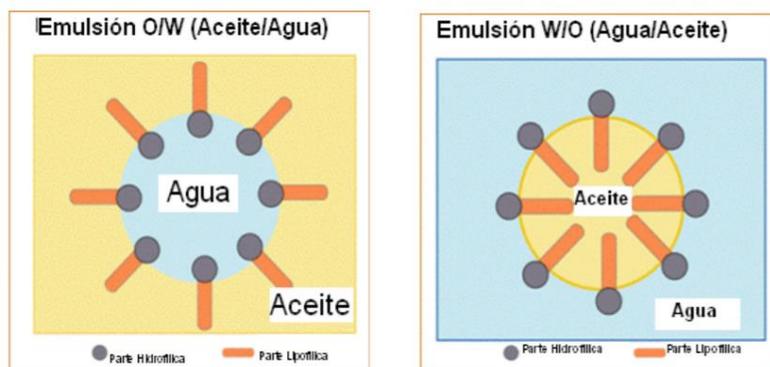


Figura 2. Tipos de emulsiones

Nota: Representación de los tipos de emulsiones, estructuras de agrupación molecular llamadas micelas o agregados alrededor de la gota. Adaptado de Repositorio UNIANDÉS. Disponible en: <https://repositorio.uniandes.edu.co/bitstream/handle/1992/23898/u346110.pdf?sequence=1>

Tensoactivos emulsificantes y HLB Griffin

Los tensoactivos son moléculas que influyen directamente en la superficie de contacto entre dos fases líquidas, estos reducen la tensión interfacial generada por las fuerzas o interacciones moleculares entre las fases. Estas moléculas se caracterizan por tener dos partes de naturaleza opuesta en su estructura: la parte polar o hidrófila puede llevar una carga positiva o negativa y es esta parte la que define al agente tensoactivo si es iónico o no iónico y la parte apolar o hidrófoba generalmente suele ser una cadena hidrocarbonada (Fernández, 2006; Murillo et al., 2013; Ramírez et al., 2019).

Existen cuatro tipos de tensoactivos:

1. Tensoactivos aniónicos, estos poseen un grupo funcional polar cargado negativamente y puede estar compuesto de carboxilato, sulfonato, sulfato o fosfato; se usan principalmente como detergentes, espumantes y humectantes.

2. Tensoactivos no iónicos, estos no poseen grupo funcional polar cargado y puede estar compuesto de alcohol, fenol, éter o amida; se usan principalmente como emulsificantes ya que en solución acuosa no se ionizan.

3. Tensoactivos catiónicos, estos poseen un grupo funcional polar cargado positivamente y puede estar compuesta de sales nitrogenadas (amonio cuaternario); se usan como desinfectantes en hospitales y en la industria alimentaria (antimicrobianos).

4. Tensoactivos anfóteros, estos actúan dependiendo del medio (ácido o básico) en que se encuentren; el grupo polar está compuesto de carboxilato-amonio cuaternario (Fernández, 2006).

En la fabricación de emulsiones se tienen en cuenta los tipos de tensoactivos, así como sus cantidades; los emulsificantes o agentes emulsionantes son un grupo de moléculas que hacen parte del gran grupo de tensoactivos, estos poseen un tipo de estructura que les habilita para interactuar en las interfases, auto asociarse en soluciones acuosas u oleosas y son los encargados de conferir la propiedad de “puente” (formación de agregados) entre ambos líquidos para mezclarse homogéneamente (Fernández, 2006; Aranberri et al., 2006).

El Balance hidrófilo-lipófilo (HLB), propuesto por Griffin en 1949, indica la naturaleza anfótera de los tensoactivos y es expresada en términos de una escala empírica. Se han establecido varias ecuaciones para calcular valores de HLB y a cada tensoactivo se le asigna un número que es característico de su polaridad relativa (componentes hidrófilos y lipófilos de la molécula), donde los tensoactivos menos hidrófilos se les asignan los valores de HLB más bajos (figura 3); existen emulsificantes muy polares que favorecen las emulsiones o/w (barrera interfacial más hidrófila), mientras que los menos polares favorecen las emulsiones w/o (barrera interfacial más lipófila) (Aranberri et al., 2006).

Nombre	Surfactante	HLB
Span 85	Trioleato de sorbitol (NI)	1,8
Span 65	Triestearato de sorbitol (NI)	2,1
Span 80	Monooleato de sorbitol (NI)	4,3
Span 60	Monoestearato de sorbitol (NI)	4,7
Span 40	Monopalmitato de sorbitol (NI)	6,7
Span 20	Monolaurato de sorbitol (NI)	8,6
Tween 81	Igual al Span 80 con poli-EO (NI)	10,0
Tween 65	Igual al Span 65 con poli-EO (NI)	10,5
Tween 21	Igual al Span 20 con poli-EO (NI)	13,3
Tween 60	Igual al Span 60 con poli-EO (NI)	14,9
Tween 80	Igual al Span 80 con poli-EO (NI)	15,0
Tween 40	Igual al Span 40 con poli-EO (NI)	15,6
Tween 20	Igual al Span 20 con poli-EO (NI)	16,7
Triton X-15	Octil-fenol-1,5 EO (NI)	3,6
Triton X-35	Octil-fenol-3,5 EO (NI)	7,8
Triton X-45	Octil-fenol-4,5 EO (NI)	10,4
Triton X-114	Octil-fenol-7,5 EO (NI)	12,4
Sipex SB	Dodecil sulfato de sodio (AI)	40,0
Sipon L-22	Dodecil sulfato de amonio (AI)	31,0
Sipon LT6	Dodecil sulfato de trietanolamina (AI)	34,0
Neodol 25-7	Alcohol primario (C12-15) poli-EO (NI)	12,0

Figura 3. Tipos de tensoactivos y escala HLB

Nota: de los tensoactivos más utilizados en las diferentes industrias; los emulsificantes para sistemas “agua en aceite” tienen valores HLB de 3 a 8 y para sistemas “aceite en agua” sus valores HLB van de 8 a 16. Adaptado de Aranberri et al., 2006.

Para el respectivo cálculo del HLB de una mezcla de emulsificantes se utiliza la fórmula dada por Griffin ($HLB = HLB_A \times f_A + HLB_B \times f_B$), donde f es la fracción molar de cada emulsificante en la emulsión (Fernández, 2006).

Estabilidad en emulsiones

Las emulsiones son sistemas inestables desde el punto de vista termodinámico, debido a la relativamente alta energía libre positiva (tensión interfacial) asociada con el contacto entre las fases de aceite y agua, pero con la adición del emulsificante se contribuye en la mayoría de los casos a una mayor estabilidad (Aranberri et al., 2006; Fernández, 2006). El balance hidrófilo-lipófilo (HLB) es muy importante en la elección del tensoactivo para lograr dispersión y estabilidad; los aditivos poliméricos también pueden poseer en ciertos casos actividad

superficial, pero más frecuentemente actúan como agentes protectores que forman una barrera física al contacto y coalescencia de las gotas. (Moreno, 2013; García et al., 2017).

Una emulsión se considera estable cuando las gotas de la fase dispersa conservan su carácter inicial y permanecen distribuidos uniformemente en la fase continua (observándose una única fase). La estabilidad depende de varios factores tales como el tamaño de las gotas dispersas, la densidad de las fases, la viscosidad de la emulsión, las fuerzas interfaciales, la naturaleza emulsificante, la cantidad de emulsificante, la cantidad de estabilizante, el proceso de elaboración y las condiciones de almacenamiento (Moreno, 2013).

Mecanismos de inestabilidad

El proceso de inestabilidad o ruptura de las emulsiones puede suceder mediante cuatro mecanismos diferentes:

1. El creaming o sedimentación son procesos que ocurren por acción de la gravedad y las fuerzas electrostáticas, estos crean un gradiente vertical de concentración de las gotas sin variar la distribución del tamaño de las mismas (depende del tamaño de la gota y la viscosidad) (Aranberri et al., 2006; Moreno, 2013).

2. La floculación es un proceso que ocurre por la adhesión de las gotas sin fusionarse, donde no existe una variación de la distribución del tamaño de la gota y está controlado por un equilibrio global entre las fuerzas de atracción electrostáticas de Van der Waals y repulsivas de tipo estéricas o de hidratación (depende mucho del tamaño promedio de la gota formada en la dispersión) (Aranberri et al., 2006; Moreno, 2013).

Estos procesos son reversibles, es decir, una simple agitación de la mezcla permite dispersión nuevamente (Fernández, 2006) y se representan en la figura 4.

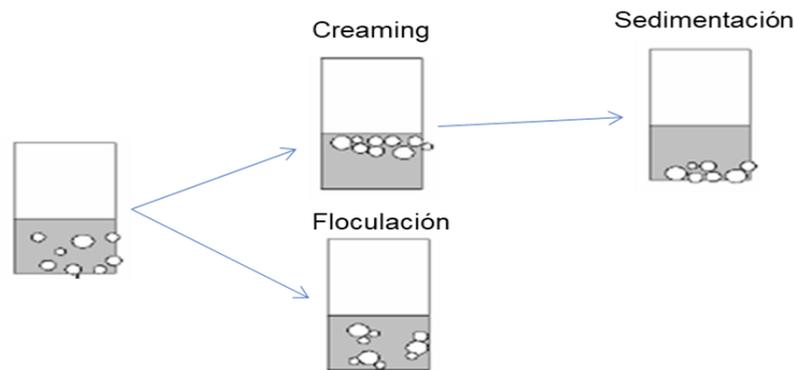


Figura 4. *Procesos gráficos de desestabilización (creaming – sedimentación y floculación).*

Nota: Procesos de desestabilización que dependen del tamaño de gota en la dispersión y de la viscosidad. Adaptado de Aranberri et al., 2006.

3. La coalescencia es otro proceso de inestabilidad que se debe a la fusión de las gotas, este mecanismo genera gotas más grandes y depende de la tensión superficial; el cambio es irreversible y necesita de un aporte extra de energía para restablecer la distribución del tamaño de la partícula original (Aranberri et al., 2006; Fernández, 2006).

4. El engrosamiento de gota se debe al crecimiento de las gotas más grandes a costa de las más pequeñas hasta que estas últimas casi desaparecen, este proceso ocurre a una velocidad en función de la solubilidad de la fase dispersa en la fase continua y se debe a la presión interna (presión de Laplace) de las gotas que es mayor en las gotas más pequeñas; el cambio es irreversible y necesita de un aporte extra de energía para restablecer la dispersión (Aranberri et al., 2006; Moreno, 2013).

En la Figura 5 se representa la coalescencia y el engrosamiento de gota.

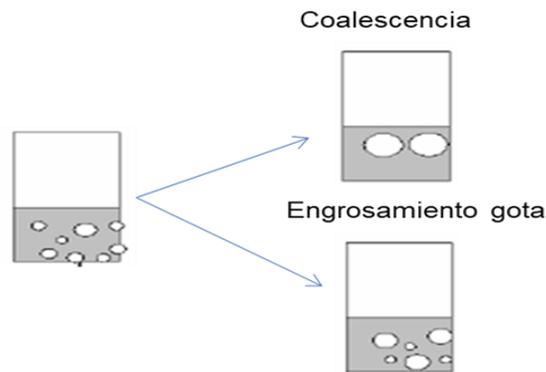


Figura 5. *Procesos gráficos de desestabilización (coalescencia y engrosamiento de gota)*

Nota: Procesos de desestabilización que dependen de la tensión superficial y de la presión interna de las gotas. Adaptado de Aranberri et al., 2006.

En general, el complejo proceso de inestabilidad en las emulsiones suele ocurrir mediante la combinación de los diferentes procesos que pueden suceder simultáneamente a diferentes velocidades y que ocurren a escala microscópica. La teoría general de la DLVO (Derjaguin, Landau, Erwey, y Overbeek) explica el efecto neto de las energías de atracción y repulsión en la estabilidad de las partículas coloidales y puede utilizarse para describir cualitativamente las interacciones entre las gotas, esto se debe a que las partículas coloidales están sometidas a fuerzas de atracción y repulsión obteniéndose un balance entre dichas fuerzas (Fernández, 2006).

3. Metodología

3.1 Materiales

Aceites esenciales:

- Aceite esencial de *Lippia origanoides*; es el de mayor uso en la industria pecuaria por sus variadas funcionalidades (promotor de crecimiento o modulador intestinal, antimicrobiano, regulador de acidez, inmunomodulador, entre otras) y se caracteriza por estar compuesto de los 2 metabolitos (timol y carvacrol) más estudiados en alimentación funcional (Madrid et al., 2017; Teneda, 2015; Martínez et al., 2009; Roldán, 2010); el aceite utilizado en este trabajo es proveniente de la India. Aceite esencial de *Rosmarinus officinalis*; posee funcionalidades antioxidantes y antivirales que los otros dos aceites no poseen (Coy & Acosta, 2013; Boom et al., 2018; Aricapa et al., 2018); el aceite utilizado en este trabajo es proveniente de la India. Aceite esencial de *Thymus vulgaris*; posee funcionalidades como antimicrobiano, antioxidante y modulador intestinal (Martínez et al., 2009; Roldán, 2010); el aceite utilizado en este trabajo es proveniente de Colombia.
- Aceites esenciales quimiotipos timol y 1,8-cineol; muestras provenientes de la India y de Colombia, estas pertenecen a la empresa Promitec SAS y fueron adquiridas desde el año 2019; las cantidades relativas de los principales metabolitos se encuentran en el [Apéndice A](#).

Emulsificantes de grado alimenticio; tween 20, tween 80 y aceite vegetal son emulsificantes muy usados en la industria alimentaria y poseen diferentes valores de HLB (Montoya, 2019; Moreno, 2013; Murillo et al., 2013; Ramírez et al., 2019):

- Aceite vegetal; fabricado por Team Foods, este emulsificante es de carácter no iónico soluble en la fase lipofílica. Tween 20; fabricado por Acofarma, conocido como polisorbato 20, es un emulsificante de carácter no iónico soluble en la fase hidrofílica. Tween 80; fabricado por Andina, conocido como polisorbato 80, es un emulsificante de carácter no iónico soluble en la fase hidrofílica.

Las fichas técnicas de los emulsificantes se muestran en el [Apéndice B](#).

Estabilizantes de grado alimenticio, poseen una estructura polimérica que interfieren en la tensión interfacial y pueden otorgar diferentes características de viscosidad (García et al., 2017; Guandique y Samayoa, 2002):

- Carboximetilcelulosa (CMC); fabricado por Protokimica, conocida como CMC sódica, es un aditivo ligante, espesante y estabilizante de emulsión. Maltodextrina; fabricada por Ingredion, es una mezcla de polímeros de glucosa resultado de la hidrólisis del almidón, también se usa como transportador y de estabilidad en diferentes soluciones. Pectina; fabricada por Protokimica, es un polímero natural formado por una mezcla moléculas ácidas y neutras, también se usa como aditivo gelificante y espesante de emulsiones.

Las fichas técnicas de los estabilizantes se muestran en el [Apéndice C](#).

3.2 Caracterización de aceites esenciales por técnicas instrumentales

Se caracterizaron los aceites esenciales de *Lippia organoides*, *Thymus vulgaris* y *Rosmarinus officinalis* usados en esta investigación con técnicas cromatográficas (gases acoplada a espectrometría de masas) y espectroscopia Raman.

3.2.1 Cromatografía de gases / espectrometría de masas

Los tres aceites esenciales se analizaron por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) en un cromatógrafo de gases AT 6890 Series Plus (*Agilent Technologies*, Palo Alto, CA, EE.UU.), acoplado a un detector selectivo de masas (*Agilent Technologies*, MSD 5975), operado en el modo de barrido completo de radiofrecuencia (full scan), la columna empleada en el análisis fue DB-5MS (*J & W Scientific*, Folsom, CA, EE.UU.), de 5%-Ph-PDMS, 60 m x 0,25 mm x 0,25 μm . La identificación presuntiva de los compuestos registrados en las muestras de aceites esenciales se basó en sus espectros de masas (EI, 70 eV) usando la base de datos de Adams, Wiley y Nist. Estos equipos están en el laboratorio de Cromatografía y Espectrometría de Masas (CROM-MASS) de la Universidad Industrial de Santander.

3.2.2 Espectroscopia Raman cualitativo

Se realizaron mediciones por espectroscopia Raman a patrones estándar ALFA chemistry (99% pureza) y sigma ALDRICH (96 a 99% pureza) de timol, carvacrol, p-cimeno, γ -terpineno, 1,8-cineol y alcanfor (figura 6). Las muestras fueron medidas por triplicado usando un espectrómetro Raman Cora 5300, equipado con un láser que emite a una longitud de onda de 1064 nm, se utilizaron viales de vidrio transparente (2 mL, 12*32 mm) y un método de medición de 100 escaneos - tiempo de exposición de 1800 mseg/escaneo - potencia del láser de 300 W; luego se identificaron los picos característicos de cada metabolito.



Figura 6. Espectrómetro Raman y patrones estándar

Nota: Espectrómetro Raman Cora 5300 (Instrument software version: 2.2.0.) y patrones estándar de timol 99%, carvacrol 98%, p-cimeno 99%, γ -terpineno 97%, alcanfor 96% y 1,8-cineol 99%.

3.2.3 Espectroscopia Raman cuantitativo

Se hicieron mediciones con espectroscopia Raman (100 Scans-1800 mseg-300 W por triplicado) a 10 muestras de aceite esencial quimiotipo 1,8-cineol y 10 muestras quimiotipo timol (figura 7) y se determinaron las intensidades de los picos característicos (principales metabolitos). Las respectivas curvas y ecuaciones de calibración para cada metabolito se obtuvieron con las intensidades obtenidas (Raman) y sus concentraciones (GC/MS) para su posterior determinación porcentual en los aceites esenciales de *Lippia origanoides*, *Thymus vulgaris* y *Rosmarinus officinalis* usados en este estudio.

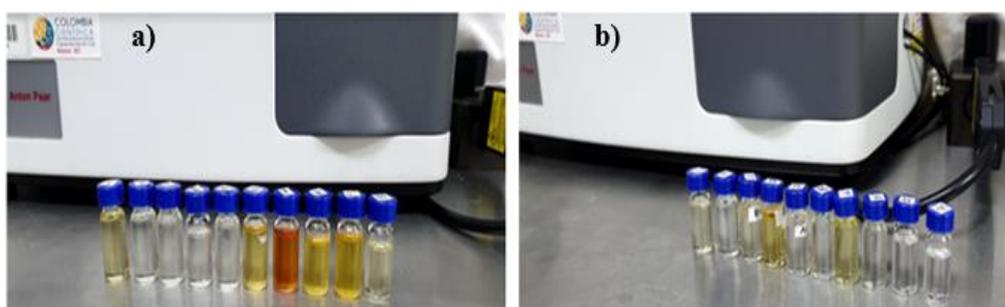


Figura 7. Muestras de aceites esenciales

Nota: Aceites esenciales; (a) quimiotipo timol y (b) quimiotipo 1,8-cineol.

3.3 Mezcla de aceites esenciales (fase oleosa)

Con base en las composiciones de los tres aceites esenciales analizados y a una revisión bibliográfica se formuló una mezcla (% p/p) compuesta por aceites esenciales de *Rosmarinus officinalis* : *Lippia origanoides* : *Thymus vulgaris* 10 : 80 : 10. A esta mezcla se le midió con espectroscopia Raman (100 Scans – 1800 mseg – 300 W por triplicado) y se identificaron los principales picos junto con sus intensidades, al igual que se resolvieron las respectivas ecuaciones para obtener información porcentual de los metabolitos mayoritarios.

3.4 Emulsificación y estabilidad cinética

Se prepararon emulsiones mezclando fase oleosa (punto 3.3) con diferentes cantidades de emulsificantes 10, 20 y 30% p/p (tween 20, tween 80 y aceite vegetal) y estabilizantes 0.25, 0.50 y 1% p/p (CMC, maltodextrina y pectina). Las que presentaron una sola fase se resaltaron de las demás ya que estas se consideran estables porque las gotas de la fase dispersa conservan su carácter inicial y permanecen distribuidos uniformemente en la fase continua (homogeneidad). La estabilidad de las emulsiones se determinó observando su apariencia cada 24 horas hasta presentar inestabilidad por separación de fases o gotas de aceite en la superficie, también a través del tiempo (cada 3 a 10 días) se midieron pH, viscosidad cinemática, densidad y organolépticas (color y apariencia) relacionadas con el incremento de las interacciones intermoleculares que conllevan a su inestabilidad.

3.4.1 Agentes emulsificantes y fase oleosa

A los tres agentes emulsificantes y a la fase oleosa se le midieron propiedades fisicoquímicas (figura 8) y organolépticas como pH, viscosidad, densidad, color y apariencia.

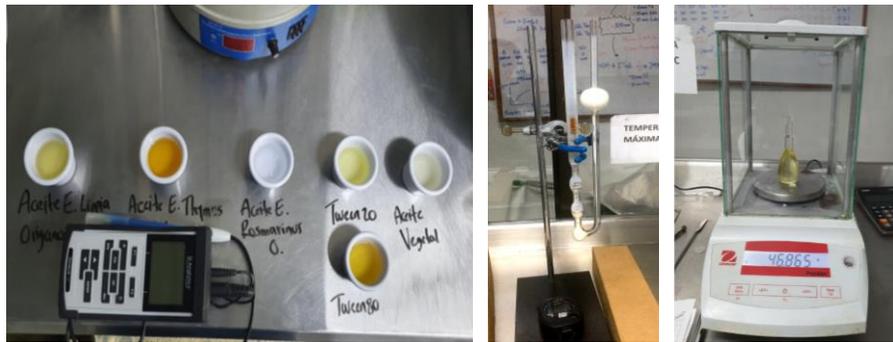


Figura 8. *Determinación de propiedades fisicoquímicas*

Nota: pH-metro (Handylab100), viscosímetro opaco Cannon-Fenske 100-377C (3 a 15 cSt) - 300-F720 (50 a 250 cSt), picnómetro 25 ml y balanza OHAUS PA323C (0,001 a 320 g).

3.4.2 Preparación emulsiones o/w con único emulsificante y evaluación por el método HLB

Se prepararon 16 emulsiones o/w para cada tipo de emulsificante en las que se varió la composición de la fase oleosa como se especifica en la Tabla 1. Se prepararon 30 g de cada formulación en un respectivo orden de adición: fase oleosa – emulsificantes – fase acuosa a condiciones ambientales ($T= 28^{\circ}\text{C}$ y $\text{Hr}= 60\%$) y agitación mecánica con Vortex durante 1 minuto (figura 9).

Las emulsiones se observaban cada 24 horas, durante 1 semana, y las que presentaron homogeneidad en todo el sistema (mayor estabilidad) fueron preparadas nuevamente (60 g cada una) a las mismas condiciones; a estas se les realizaron mediciones de pH, viscosidad, densidad, color y apariencia cada tres días, durante quince días o hasta presentar inestabilidad (separación de fases).

Tabla 1. *Composición de emulsiones o/w (único emulsificante)*

% Emulsificante	% Fase oleosa	% Agua	Agitación (rpm)
0	20 y 30	80 y 70	1250 y 2500
10	20 y 30	70 y 60	1250 y 2500
20	20 y 30	60 y 50	1250 y 2500
30	20 y 30	50 y 40	1250 y 2500

**Figura 9.** *Equipo de agitación*

Nota: Agitador Vortex Reax Top (HEIDOLPH) 100 a 2500 rpm.

3.4.3 Preparación de emulsiones o/w con mezcla de emulsificantes y evaluación por el método HLB

Se prepararon 36 formulaciones con mezclas de emulsificantes, en las que se varió la composición de la fase oleosa y se conservó la composición de emulsificantes (30% p/p - variando proporciones) como se especifica en la Tabla 2. Se prepararon 30 g de cada formulación en un respectivo orden de adición: fase oleosa – emulsificantes – fase acuosa a condiciones ambientales y agitación mecánica con Vortex durante 1 minuto.

Las emulsiones se observaban cada 24 horas, durante 1 semana, y las que presentaron homogeneidad en todo el sistema (mayor estabilidad) fueron preparadas nuevamente (60 g cada

una) a las mismas condiciones; a estas se les realizaron mediciones de pH, viscosidad, densidad, color y apariencia cada tres a cinco días, durante un mes o hasta presentar inestabilidad (separación de fases o gotas de aceite en la superficie).

Tabla 2. *Composición de emulsiones o/w (mezcla de emulsificantes)*

Tween 20	Tween 80	Aceite vegetal	Proporción emulsificantes	% Fase oleosa	% Agua	Agitación (rpm)
A	B	-	1:1 – 1:2 – 2:1	20 y 30	50 y 40	1250 y 2500
A	-	C	1:1 – 1:2 – 2:1	20 y 30	50 y 40	1250 y 2500
-	B	C	1:1 – 1:2 – 2:1	20 y 30	50 y 40	1250 y 2500

3.4.4 Estabilizantes

A los estabilizantes se le midieron propiedades fisicoquímicas (figura 10) y organolépticas como densidad, humedad, color y apariencia.



Figura 10. *Determinación de propiedades fisicoquímicas en estabilizantes*

Nota: Balanza determinadora de humedad OPTIKA-ITALY 160 g/0,001 g.

3.4.5 Preparación de emulsiones o/w con estabilizantes

Se prepararon 9 formulaciones con la mezcla de mayor estabilidad (tween 20 – tween 80 – fase oleosa 1:1:2) y el estabilizante en diferentes concentraciones (0,25 – 0,5 – 1,0% p/p). Se

prepararon 120 g de cada formulación en un respectivo orden a condiciones ambientales: fase oleosa - emulsificantes - fase acuosa y agitación con Vortex (2500 rpm) durante 1 minuto, luego se adicionó estabilizante y nuevamente agitación con Vortex (2500 rpm) durante 1 min. A estas emulsiones se les realizaron mediciones de pH, viscosidad, densidad, color y apariencia cada 10 días, durante 3 meses o hasta presentar inestabilidad (separación de fases o gotas de aceite en la superficie).

3.4.6 Comportamiento de la fase oleosa

Se determinó la concentración de aceites esenciales por la técnica NTC 440 (método de ensayo 3.13; ver [Apéndice D](#)) en las emulsiones con estabilizantes. A la emulsión más estable se le realizaron mediciones de concentración de aceites esenciales y caracterización de los principales metabolitos por espectroscopia Raman (100 Scans – 1800 mseg – 300 W, por triplicado) en diferentes días y se observaron sus variaciones a través del tiempo.

4. Resultados y análisis de resultados

4.1 Caracterización de aceites esenciales

La GC/MS es la técnica más utilizada para la caracterización de aceites esenciales (Stashenko, 2009). La espectroscopia Raman fue una alternativa rápida y confiable para identificar y cuantificar sus principales metabolitos.

4.1.1 Caracterización por GC/MS

La identificación presuntiva y cantidad relativa obtenida de los tres aceites esenciales (*Lippia o.*, *Thymus v.* y *Rosmarinus o.*) se encuentra en el [Apéndice E](#); las concentraciones de sus principales metabolitos se especifican en la tabla 3.

Tabla 3. Concentraciones (% p/p) de principales metabolitos en aceites esenciales (GC/MS)

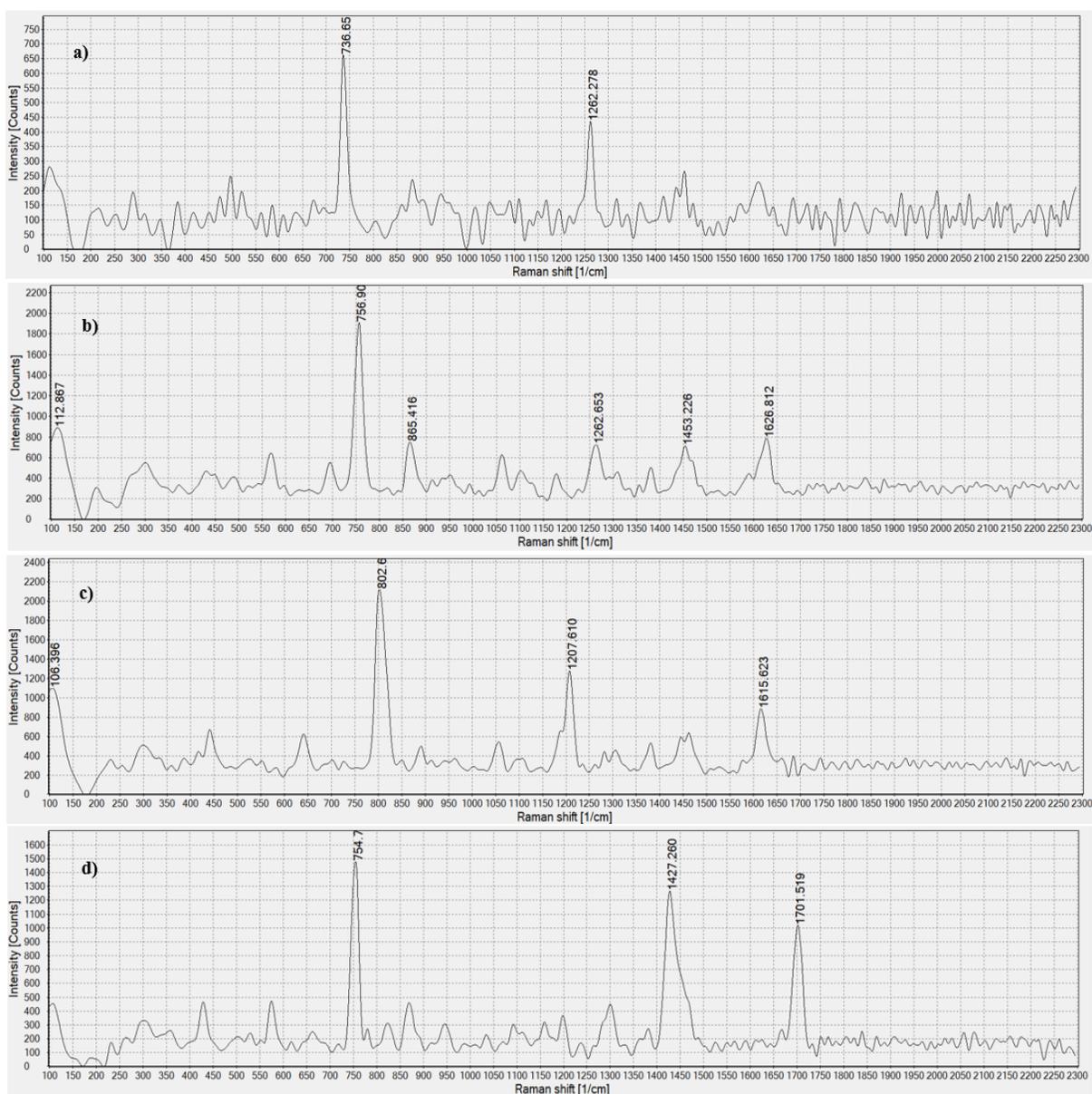
Aceite esencial	Timol (% p/p)	Carvacrol (% p/p)	p-Cimeno (% p/p)	γ -Terpineno (% p/p)	1,8-Cineol (% p/p)	Alcanfor (% p/p)
<i>Lippia origanoides</i>	46,9	27,0	11,4	10,8	Np*	Np*
<i>Thymus vulgaris</i>	35,5	2,7	22,3	9,4	1,6	0,8
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Np*	Np*	4,8	6,6	29,6	19,9

Nota: *No presencia del metabolito.

Los resultados de la Tabla 3 confirman que cada aceite esencial tenía 2 principales metabolitos que comprenden al menos el 50% de la composición total y una gran cantidad de metabolitos no menor a 20 que complementaban su composición. En resumen, el aceite esencial de *Lippia origanoides*, timol y carvacrol 64% p/p; aceite esencial de *Thymus vulgaris*, timol y p-cimeno 58% p/p y aceite esencial de *Rosmarinus officinalis*, 1,8-cineol y alcanfor 50% p/p.

4.1.2 Identificación por espectroscopia Raman

A partir de los espectros Raman (Figura 11) de los patrones estándar se identificaron los picos característicos de las vibraciones moleculares más intensas de cada metabolito: timol (736.6 y 1262.2 cm^{-1}), carvacrol (756.9, 865.4, 1262.6, 1453.2 y 1626.8 cm^{-1}), p-cimeno (802.6, 1207.6 y 1615.6 cm^{-1}), γ -terpineno (754.7, 1427.2 y 1701.5 cm^{-1}), 1,8-cineol (650.3 y 1452.1 cm^{-1}) y alcanfor (650.5 cm^{-1}).



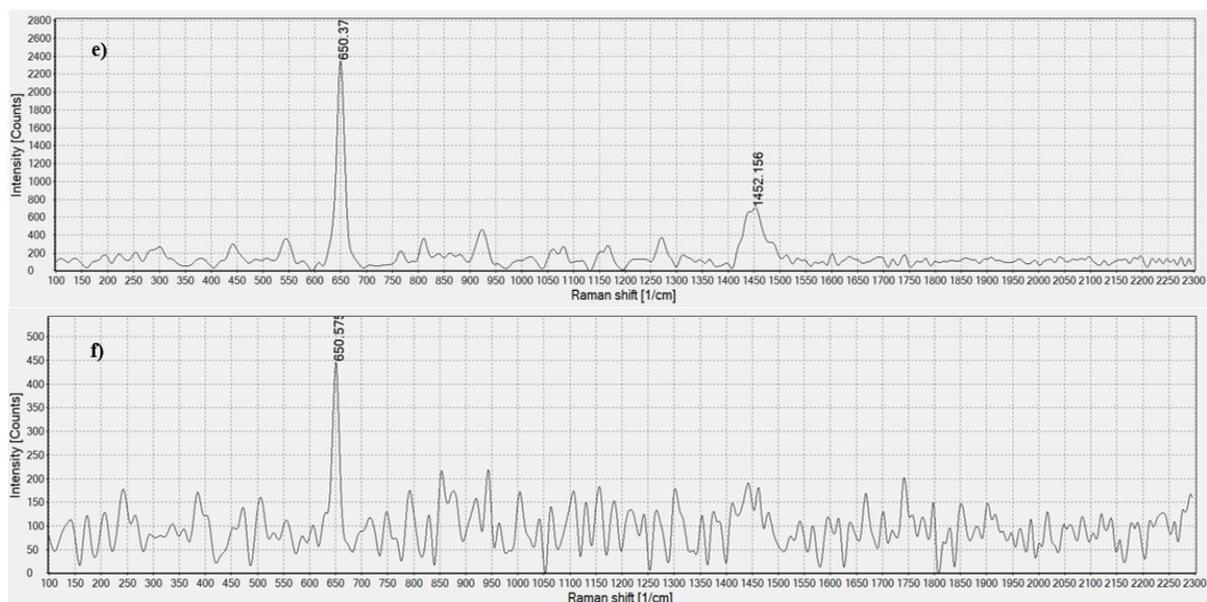


Figura 11. Espectros Raman de patrones estándar

Nota: Espectros promedio del pico más intenso (100 Scans-1800 mseg-300 W); a) timol 99%, b) carvacrol 98%, c) p-cimeno 99%, d) γ -terpineno 97%, e) 1,8-cineol 99% y f) alcanfor 96%.

Las moléculas de timol, carvacrol, p-cimeno, γ -terpineno, 1,8-cineol y alcanfor presentan picos característicos de mayor intensidad, estos son muy importantes para la identificación del metabolito y se deben al modo vibracional “breathing” o deformación del anillo en 740 cm^{-1} , 760 cm^{-1} , 804 cm^{-1} , 756 cm^{-1} , 650 cm^{-1} y 651 cm^{-1} respectivamente; la frecuencia de vibración varía por los sustitutos del anillo (Nikolaos et al., 2005; Vargas et al., 2015). En los espectros de patrones analizados (Figura 11) se identificaron los picos de mayor intensidad en 736.6 cm^{-1} (timol), 756.9 cm^{-1} (carvacrol), 802.6 cm^{-1} (p-cimeno), 754.7 cm^{-1} (γ -terpineno), 650.3 cm^{-1} (1,8-cineol) y 650.5 cm^{-1} (alcanfor).

Los metabolitos también presentan picos característicos de intensidad media por los diferentes modos vibracionales de estiramiento y flexión, estos son importantes para diferenciar

a los metabolitos que tengan solapamiento de sus picos más intensos como ocurre con carvacrol y γ -terpineno; por ejemplo, timol en 1260 cm^{-1} , carvacrol en 870 cm^{-1} - 1460 cm^{-1} - 1620 cm^{-1} , p-cimeno en 1210 cm^{-1} , γ -terpineno en 1420 cm^{-1} - 1700 cm^{-1} y 1,8-cineol en 1448 cm^{-1} (Nikolaos et al., 2005; Vargas et al., 2015). Los espectros obtenidos presentaron desplazamientos de hasta $\pm 3.4\text{ cm}^{-1}$ en sus picos más intensos y hasta $\pm 4.6\text{ cm}^{-1}$ en sus picos de intensidad media, lo cual indicaba buena precisión y reproducibilidad del método.

4.1.3 Cuantificación por espectroscopia Raman

Los análisis a muestras de aceites esenciales quimiotipos timol y 1,8-cineol arrojaron espectros característicos de sus principales metabolitos ([Apéndice F](#)), donde se lograron identificar sus picos específicos junto con las intensidades numéricas. En las tablas 4 y 5 se especifican las intensidades promedio (In. P.) de los picos más intensos del timol (737 cm^{-1}), carvacrol (757 cm^{-1}), p-cimeno (803 cm^{-1}) y 1,8-cineol junto con alcanfor (650 cm^{-1}); pero para el γ -terpineno se especifica uno de sus picos más característicos (1701 cm^{-1}) porque su pico más intenso tiene la frecuencia de vibración cercana al pico más intenso del carvacrol.

Tabla 4. Intensidades promedio (Raman) en aceites esenciales quimiotipo timol

Aceite Esencial	In. P. timol (737 cm^{-1})	In. P. carvacrol (757 cm^{-1})	In. P. p-cimeno (803 cm^{-1})	In. P. γ-terpineno (1701 cm^{-1})
1	2025 ± 23	Nd*	Nd*	Nd*
2	1645 ± 8	Nd*	436 ± 13	427 ± 36
3	1490 ± 32	1022 ± 22	320 ± 25	Nd*
4	1332 ± 3	979 ± 13	370 ± 2	336 ± 7
5	1423 ± 32	974 ± 15	418 ± 14	315 ± 21
6	1345 ± 3	946 ± 21	453 ± 6	368 ± 24
7	1306 ± 32	969 ± 25	454 ± 25	346 ± 15
8	1340 ± 32	572 ± 30	500 ± 26	300 ± 56

Aceite Esencial	In. P. timol (737 cm⁻¹)	In. P. carvacrol (757 cm⁻¹)	In. P. p-cimeno (803 cm⁻¹)	In. P. γ-terpineno (1701 cm⁻¹)
9	1066 \pm 6	522 \pm 28	646 \pm 10	321 \pm 22
10	904 \pm 3	667 \pm 31	380 \pm 10	323 \pm 20

Nota: *No detectable la presencia del metabolito.

Tabla 5. Intensidades promedio (Raman) en aceites esenciales quimiotipo 1,8-cineol

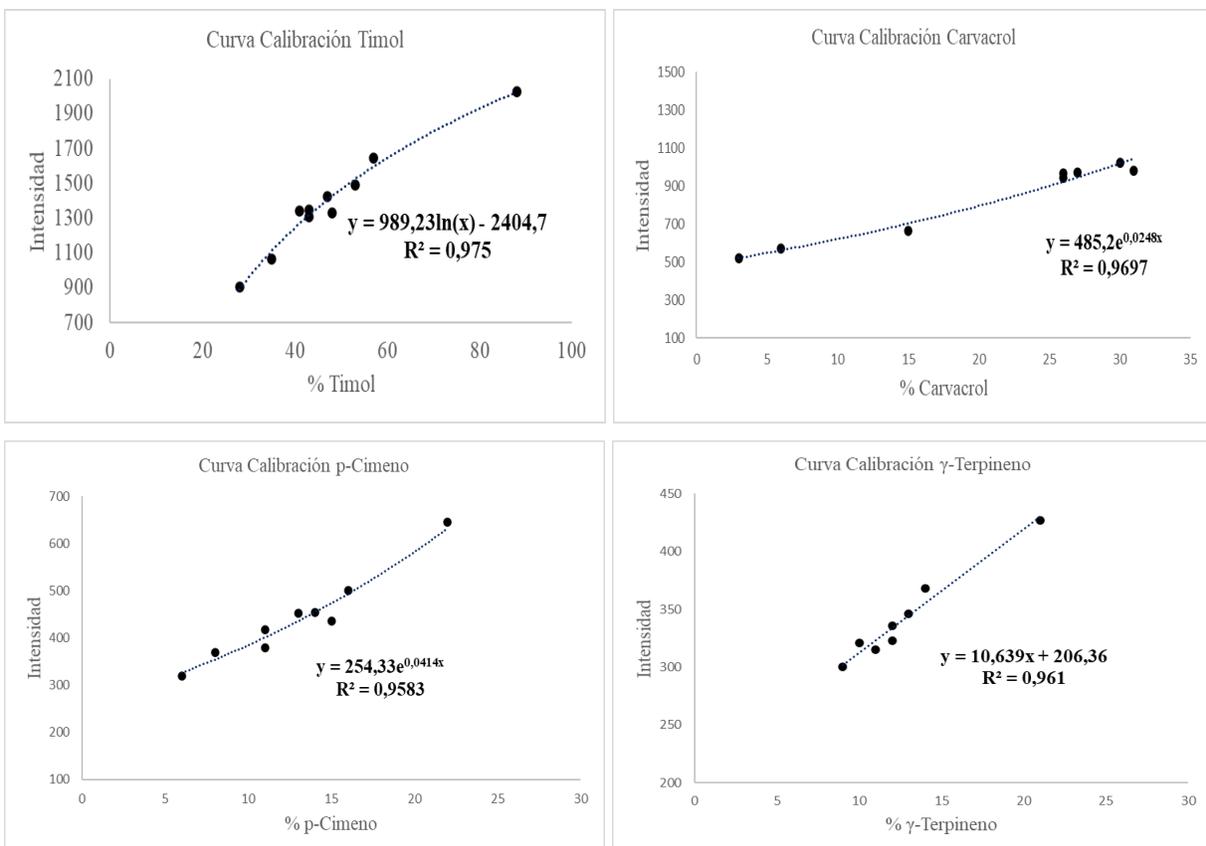
Aceite Esencial	In. P. 1,8-cineol (650 cm⁻¹)	In. P. alcanfor (650 cm⁻¹)
11	2568 \pm 24	Np*
12	2088 \pm 9	Np*
13	1940 \pm 9	Np*
14	1861 \pm 29	Np*
15	1646 \pm 25	Np*
16	1650 \pm 30	1650 \pm 30
17	1481 \pm 18	1481 \pm 18
18	918 \pm 30	918 \pm 30
19	984 \pm 22	984 \pm 22
20	949 \pm 24	949 \pm 24

Nota: *No presencia del metabolito.

En las muestras quimiotipo timol el pico del metabolito principal (737 cm⁻¹) se identificó en todos los espectros con buena resolución (Apéndice F), pero el del carvacrol (757 cm⁻¹) en algunos espectros no se observó por solapamiento con el pico del timol y esto ocurre principalmente cuando la diferencia de concentraciones entre ambos metabolitos es mayor a 12%. También se logró identificar que las muestras con concentraciones menores a 6% de carvacrol no presentaban buena resolución en el espectro. Los picos del p-cimeno (803 cm⁻¹) y γ -

terpineno (1701 cm^{-1}) también se identificaron en todos los espectros con buena resolución excepto en las muestras con concentraciones menores a 6% de p-cimeno y 9% de γ -terpineno. En las muestras quimiotipo 1,8-cineol el pico de los dos principales metabolitos (650 cm^{-1}) se identificó en todos los espectros con buena resolución.

Las curvas de calibración de la figura 12 se obtuvieron al graficar los valores de intensidad (Tablas 5 y 6) de los picos característicos de cada metabolito vs sus concentraciones ([Apéndice A](#)) en los respectivos aceites esenciales. El 1,8-cineol y alcanfor por tener frecuencias de vibración muy cercanas se totalizaron sus intensidades y concentraciones (Vargas et al., 2015).



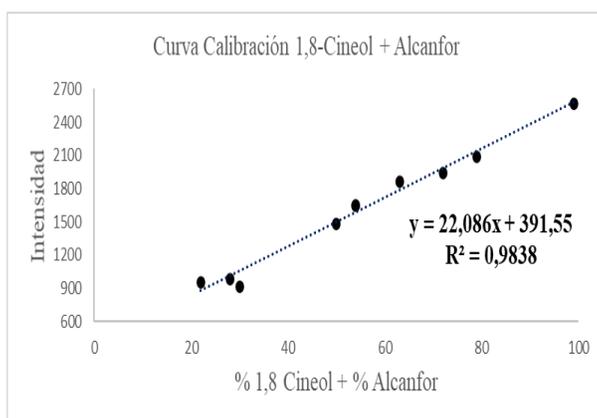


Figura 12. *Curvas de calibración*

Nota: Curvas calibración; timol (737 cm^{-1}), carvacrol (757 cm^{-1}), p-cimeno (803 cm^{-1}), γ -terpineno (1701 cm^{-1}) y 1,8-cineol + alcanfor (650 cm^{-1}).

En las curvas de calibración se observó la variación de la intensidad del pico más intenso o característico de los metabolitos en función de su concentración; el timol presentó un crecimiento logarítmico, el carvacrol y p-cimeno presentaron crecimiento exponencial, el γ -terpineno y 1,8-cineol + alcanfor presentaron un crecimiento lineal en la intensidad del pico a medida que aumentaron sus concentraciones. Las respectivas ecuaciones obtenidas para cada metabolito son las siguientes:

$$\% \textit{timol} = e^{\frac{\textit{Intensidad} + 2404,7}{989,23}}; r^2 = 0,975 \quad (1)$$

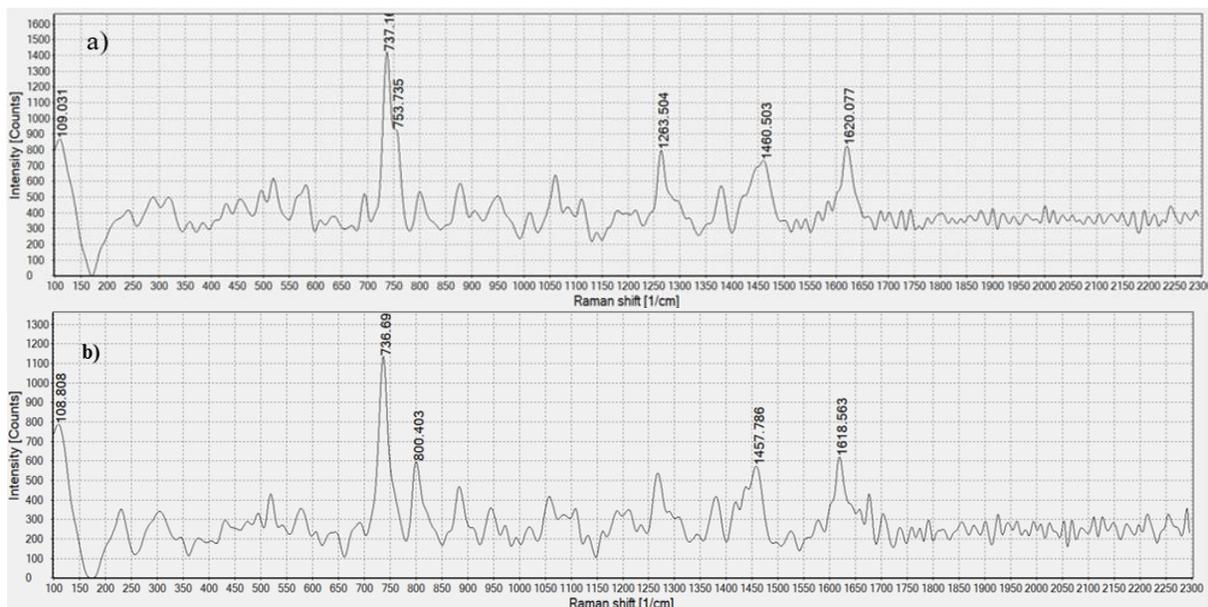
$$\% \textit{carvacrol} = \frac{\ln(\textit{Intensidad}) - \ln(485,2)}{0,0248}; r^2 = 0,970 \quad (2)$$

$$\% \textit{p - cimeno} = \frac{\ln(\textit{Intensidad}) - \ln(254,33)}{0,0414}; r^2 = 0,958 \quad (3)$$

$$\% \gamma - \text{terpineno} = \frac{\text{Intensidad} - 206,36}{10,639}; r^2 = 0,961 \quad (4)$$

$$\% 1,8 \text{ cineol} + \% \text{ alcanfor} = \frac{\text{Intensidad} - 391,55}{22,086}; r^2 = 0,984 \quad (5)$$

Los espectros obtenidos de los tres aceites esenciales (*Lippia o.*, *Thymus v* y *Rosmarinus o.*) se especifican en la figura 13. En el espectro del aceite de *Lippia origanoides* se identificó timol (737.1 cm⁻¹, In.P. 1421 ± 18), carvacrol (753.7 cm⁻¹, In.P. 932 ± 15), p-cimeno (800.5 cm⁻¹, In.P. 420 ± 13) y γ-terpineno (1701.0 cm⁻¹, In.P. 325 ± 18). En el espectro del aceite de *Thymus vulgaris* se identificó timol (736.6 cm⁻¹, In.P. 1130 ± 20), p-cimeno (800.4 cm⁻¹, In.P. 650 ± 10) y γ-terpineno (1703.0 cm⁻¹, In.P. 314 ± 20). En el espectro del aceite de *Rosmarinus officinalis* se identificó el 1,8-cineol y alcanfor (649.7 cm⁻¹, In.P. 1476 ± 19). Las concentraciones obtenidas al resolver las ecuaciones 1 a 5 se especifican en la tabla 6.



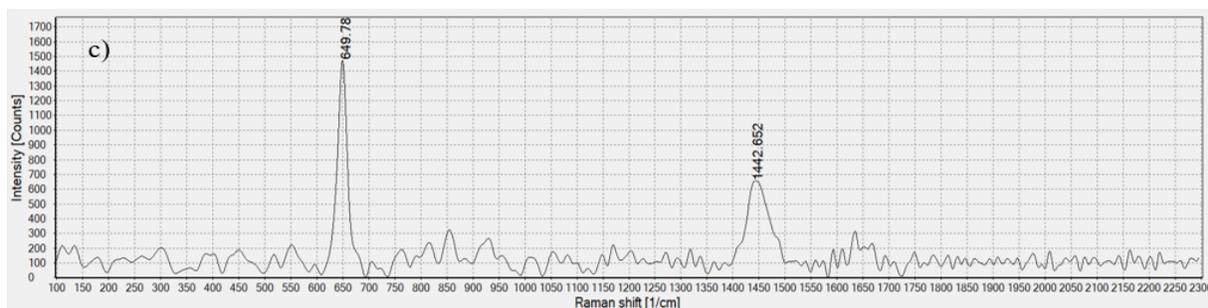


Figura 13. Espectros Raman de aceites esenciales.

Nota: Espectros promedio del pico más intenso; a) *Lippia o.*, b) *Thymus v.* y c) *Rosmarinus o.*

Tabla 6. Concentraciones (% p/p) de principales metabolitos en aceites esenciales (Raman)

Aceite esencial	Timol (% p/p)	Carvacrol (% p/p)	p-Cimeno (% p/p)	γ -Terpineno (% p/p)	1,8-Cineol (% p/p)	Alcanfor (% p/p)
<i>Lippia o.</i>	47,8	26,3	12,1	11,2	Np*	Np*
<i>Thymus v.</i>	35,6	Nd**	22,7	10,1	Nd**	Nd**
<i>Rosmarinus o.</i>	Np*	Np*	Nd**	Nd**	49,1	

Nota: * No presencia del metabolito. **No detectable el metabolito por Raman.

Las concentraciones obtenidas por Raman fueron muy similares a las obtenidas por GC/MS como se muestra en la tabla 7; el margen de error fue menor a 3% en los metabolitos de mayor concentración y en los de menor concentración el porcentaje de error fue mayor (<7,5%), por lo cual la variación era aceptable para la caracterización de metabolitos principales en los aceites esenciales. Algunos metabolitos no se detectaron por Raman por sus bajas concentraciones (carvacrol - p-cimeno - 1,8-cineol <6% y γ -terpineno <9%).

Tabla 7. Concentraciones (% p/p) de los principales metabolitos por GC/MS y Raman.

Metabolito	GC/MS (Lo ¹)	Raman (Lo ¹)	% Error	GC/MS (Tv ²)	Raman (Tv ²)	% Error	GC/MS (Ro ³)	Raman (Ro ³)	% Error
Timol (% p/p)	46,9	47,8	1,9	35,5	35,6	0,3	Nd ⁴	Nd ⁵	-
Carvacrol (% p/p)	27,0	26,3	2,6	2,7	Nd ⁵	-	Nd ⁴	Nd ⁵	-
p- Cimeno (% p/p)	11,4	12,1	6,1	22,3	22,7	1,8	4,8	Nd ⁵	-
γ-terpineno (% p/p)	10,8	11,2	3,7	9,4	10,1	7,4	6,6	Nd ⁵	-
1,8-Cineol + Alcanfor (% p/p)	Nd ⁴	Nd ⁵	-	2,4	Nd ⁵	-	49,5	49,1	0,8

Nota: ¹*Lippia origanoides*. ²*Thymus vulgaris*. ³*Rosmarinus officinalis*. ⁴No detectable por GC/MS. ⁵No detectable por Raman.

4.2 Caracterización de la fase oleosa

El análisis por espectroscopia Raman de la mezcla final de aceites esenciales (*Rosmarinus o.* 10% - *Lippia o.* 80% - *Thymus v.* 10%) dejó como resultado el espectro de la figura 14; las intensidades obtenidas en las frecuencias de vibración molecular más características de los metabolitos mayoritarios y sus respectivas concentraciones al resolver las ecuaciones 1 a 5 se especifican en la tabla 8.

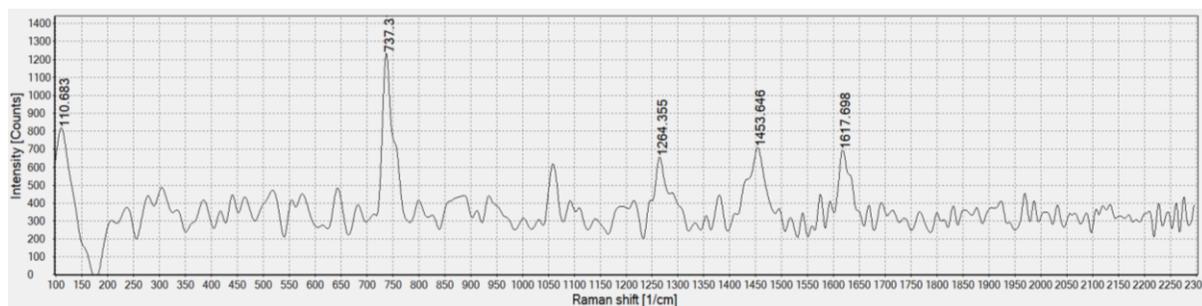


Figura 14. Espectro Raman de la mezcla de aceites esenciales.

Nota: Espectro promedio del pico más intenso (100 Scans-1800 mseg-300 W).

Tabla 8. Intensidades y concentraciones (% p/p) de metabolitos mayoritarios (Raman) de la mezcla de aceites esenciales (*Rosmarinus o.* 10% - *Lippia o.* 80% - *Thymus v.* 10%).

Metabolito	Intensidad	Intensidad	Intensidad	Intensidad	Concentración (% p/p)
	1	2	3	promedio	
Timol (737 cm⁻¹)	1239	1245	1225	1236 ± 10	39,7
Carvacrol (757 cm⁻¹)	805	781	815	775 ± 17	20,2
p-Cimeno (803 cm⁻¹)	430	398	421	416 ± 17	11,9
γ-Terpineno (1701cm⁻¹)	298	337	325	320 ± 20	10,7
1,8-Cineol (650 cm⁻¹)	495	482	465	481 ± 15	4,1
Alcanfor (650 cm⁻¹)					

La mezcla de aceites esenciales o fase oleosa mostró picos característicos del timol (737.3 y 1264.3 cm⁻¹), carvacrol (757.0 “solapado”, 1453.6 y 1617.6 cm⁻¹), p-cimeno (803 cm⁻¹), γ-terpineno (1698.9 cm⁻¹) y alcanfor + 1,8 cineol (648.5 cm⁻¹) arrojando concentraciones (Co) muy similares a los obtenidos teóricamente como se muestra en la tabla 9. El margen de error es menor a 7,5% en los metabolitos de mayor concentración y en los de menor concentración (1,8-

cineol + alcanfor) el porcentaje de error es mayor a 10%, esto se debe a que el método espectroscópico no es aceptable para cuantificar metabolitos con concentraciones <10%.

Tabla 9. Concentraciones (% p/p) en la mezcla de aceites esenciales (*Rosmarinus o.* 10% - *Lippia o.* 80% - *Thymus v.* 10%) por espectroscopia Raman vs concentración teórica.

Metabolito	Co teórico* (% p/p)	Co Raman (% p/p)	% Error
Timol (737 cm ⁻¹)	41,0	39,7	3,2
Carvacrol (757 cm ⁻¹)	21,8	20,2	7,3
p-Cimeno (803 cm ⁻¹)	11,8	11,9	0,8
γ-Terpineno (1701 cm ⁻¹)	10,2	10,7	4,9
1,8-Cineol (650 cm ⁻¹) + Alcanfor (650 cm ⁻¹)	4,9	4,1	16,3

Nota: *Concentraciones obtenidas con base en la Tabla 3 (GC/MS) y los porcentajes de inclusión de los aceites esenciales en la mezcla (fase oleosa).

4.3 Estabilidad cinética de emulsiones.

Se obtuvieron emulsiones o/w con diferentes días de estabilidad (estabilidad cinética), esta propiedad depende de las características químicas y físicas de los componentes que conforman el sistema, de sus composiciones y del proceso de elaboración y esto se debe a que cada tipo de emulsificante o estabilizante otorgan diferentes características a la emulsión. La inestabilidad se presentó con la separación de fases o presencia de gotas del aceite esencial en la superficie; se logró observar la variación de la estabilidad a través del tiempo midiendo algunas propiedades fisicoquímicas (pH, densidad, viscosidad) y organolépticas (apariencia y color), las cuales estaban relacionadas con las interacciones electrostáticas de los diferentes componentes de la emulsión.

4.3.1 Propiedades fisicoquímicas - organolépticas de emulsificantes y fase oleosa

Las propiedades fisicoquímicas y organolépticas de los aceites esenciales (fase oleosa) y los emulsificantes se reportan en la tabla 10.

Tabla 10. Propiedades de emulsificantes y fase oleosa

Compuesto	HLB*	pH	Densidad (g/ml)	Viscosidad cSt (mm ² /seg)	Color	Apariencia
Aceite vegetal	7,0	5,49 ±	0,936 ±	48,540 ± 0,048	Amarillo	Líquido
		0,01	0,000		claro	oleoso
Tween 80	15,0	9,08 ±	1,084 ±	415,353 ± 0,042	Café claro	Líquido
		0,01	0,001			viscoso
Tween 20	16,7	7,89 ±	1,113 ±	338,175 ± 0,019	Amarillo	Líquido
		0,01	0,001		pardo	oleoso
<i>Lippia origanoides</i>	-	4,52 ±	0,952 ±	6,176 ± 0,039	Amarillo	Líquido
		0,02	0,001		claro	oleoso
<i>Thymus vulgaris</i>	-	5,26 ±	0,924 ±	3,252 ± 0,041	Amarillo	Líquido
		0,05	0,001		pardo	oleoso
<i>Rosmarinus officinalis</i>	-	5,09 ±	0,920 ±	4,837 ± 0,048	Amarillo	Líquido
		0,01	0,001		traslucido	oleoso
Fase oleosa	-	4,98 ±	0,948 ±	5,867 ± 0,034	Amarillo	Líquido
		0,01	0,001		claro	oleoso
Agua	-	7,35 ±	1,005 ±	0,879 ± 0,023	Incoloro	Inodoro
		0,01	0,003			

Nota: *Valores tomados de Aranberri et al., 2006.

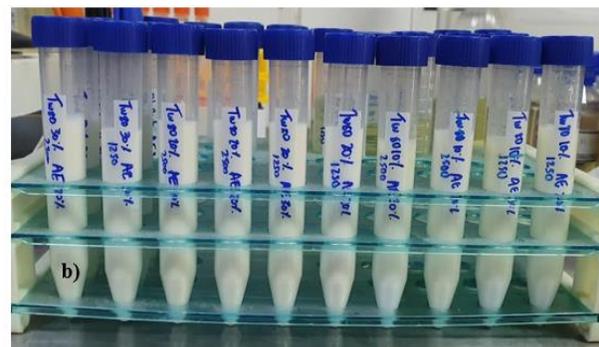
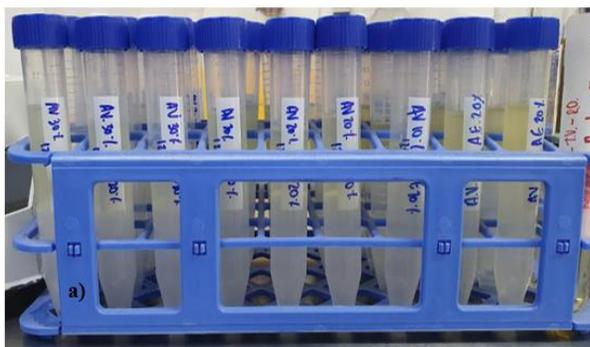
El aceite vegetal, y los tween 80 y 20 son tensoactivos de tipo emulsificante con diferentes valores de HLB, este valor representa las proporciones relativas de los componentes hidrófilos y lipófilos de la molécula y nos indica que una barrera interfacial hidrófila favorece las

emulsiones o/w, mientras que una barrera interfacial lipófila favorece las emulsiones w/o (Aramberri et al., 2006). Estos también presentan viscosidades mayores a la fase oleosa y fase acuosa aportando al sistema una barrera física al contacto y coalescencia de las gotas de aceite esencial dispersas (Moreno, 2013; García et al., 2017).

4.3.2 Emulsiones - único emulsificante

Las composiciones de la fase oleosa, fase acuosa y emulsificante de todas las formulaciones preparadas (punto 3.4.2) se especifican en el [Apéndice G](#); el valor HLB se calculó con base en la ecuación de Griffin ($HLB = HLB_A \times f_A + HLB_B \times f_B$).

Las emulsiones preparadas con aceite vegetal tuvieron los menores tiempos de estabilidad, estas presentaron separación de fases al cabo de 1 y 10 minutos; mientras que las emulsiones con tween 80 y tween 20 presentaron separación de fases después de 30 minutos en las menos estables y entre 1 a 20 días en las de mayor estabilidad (Figura 15). En la tabla 11 se especifican las formulaciones que se destacaron por su estabilidad.



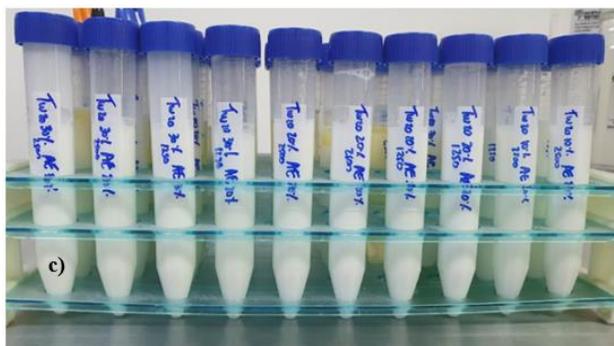


Figura 15. Emulsiones con único emulsificante

Nota: Fotos tomadas 1 hora después de la elaboración de las respectivas emulsiones; a) aceite vegetal, (b) tween 80 y (c) tween 20.

Tabla 11. Composición de emulsiones con mayor estabilidad (único emulsificante)

Emulsión	Tween 80 (% p/p)	Tween 20 (% p/p)	Fase oleosa (% p/p)	Agua (% p/p)	Agitación (rpm)	HLB	Estabilidad (días)
A	20	0	20	60	1250	15,0	4
B	20	0	20	60	2500	15,0	12
C	30	0	30	40	1250	15,0	1
D	30	0	30	40	2500	15,0	6
E	0	20	20	60	1250	16,7	9
F	0	20	20	60	2500	16,7	20
G	0	20	30	50	1250	16,7	0
H	0	20	30	50	2500	16,7	1

La emulsión F fue la única estable durante los 15 días evaluados y sus parámetros se resumen en la tabla 12, su inestabilidad se presentó con la aparición de gotas en la superficie. Las emulsiones G, C y H son las menos estables y la separación de fases se observó en menos de 24 horas; en el caso de las emulsiones A, D, E y B la separación de fases se observó en 4, 6, 9 y 12

días, respectivamente. Los resultados obtenidos de los parámetros fisicoquímicos y organolépticos de las emulsiones a través del tiempo se encuentran en el [Apéndice H](#). En la figura 16 se observa la apariencia de las emulsiones (G, B, D y F) recién preparadas y al presentar inestabilidad.

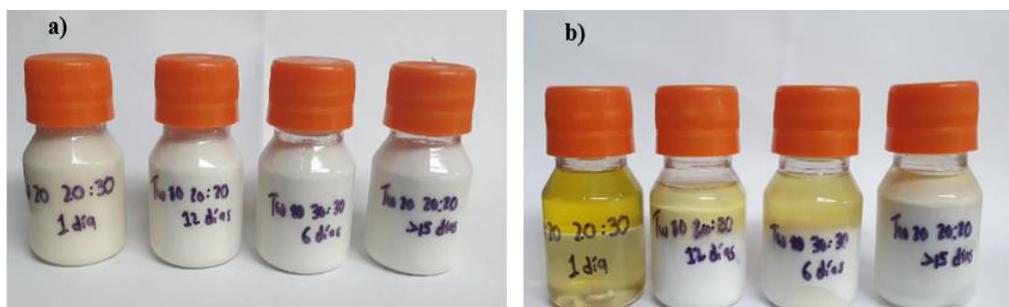


Figura 16. Apariencia de emulsiones con único emulsificante

Nota: a) emulsiones G-B-D-F estables, b) pérdida de estabilidad en emulsiones G-B-D-F.

Tabla 12. Emulsión F, parámetros fisicoquímicos y organolépticos

Parámetro	Día 1	Día 3	Día 6	Día 9
Color	Blanco	Blanco	Blanco	Blanco
Apariencia	1 fase	1 fase	1 fase	1 fase
pH	5,87 ± 0,07	4,70 ± 0,05	4,13 ± 0,02	3,95 ± 0,01
Viscosidad cSt (mm²/seg)	7,722 ± 0,036	6,174 ± 0,045	5,054 ± 0,084	4,783 ± 0,012
Densidad (g/mL)	1,008 ± 0,001	1,011 ± 0,001	1,012 ± 0,001	1,014 ± 0,001

Parámetro	Día 12	Día 15	Día 20*
Color	Blanco	Blanco	Blanco
Apariencia	1 fase	1 fase	1 fase
pH	3,80 ± 0,01	3,74 ± 0,01	3,65 ± 0,02
Viscosidad cSt (mm²/seg)	4,593 ± 0,016	4,448 ± 0,049	4,435 ± 0,034
Densidad (g/mL)	1,016 ± 0,001	1,016 ± 0,000	1,017 ± 0,001

Nota: *Estable durante 20 días y separación de fases después de 30 días.

En estas emulsiones (Tabla 11) se identificó que la velocidad de agitación, el HLB del emulsificante, la proporción emulsificante - fase oleosa y la concentración de la fase acuosa fueron características muy importantes para lograr estabilidad cinética.

Las emulsiones preparadas con agitación a 1250 rpm presentaron mayor inestabilidad que las emulsiones con agitación a 2500 rpm, esto se debe a que el sistema debe superar la tensión interfacial que existe entre la fase acuosa y los aceites esenciales para poder formar la emulsión; cuanto mayor es la tensión interfacial, mayor es la energía requerida para dispersar la fase oleosa en la acuosa (Fernández, 2006). También una mayor agitación disminuye el tamaño de partícula y aumenta su distribución, esto contribuye a que los aceites esenciales se dispersen de forma más homogénea en la fase acuosa (Aranberri et al., 2006).

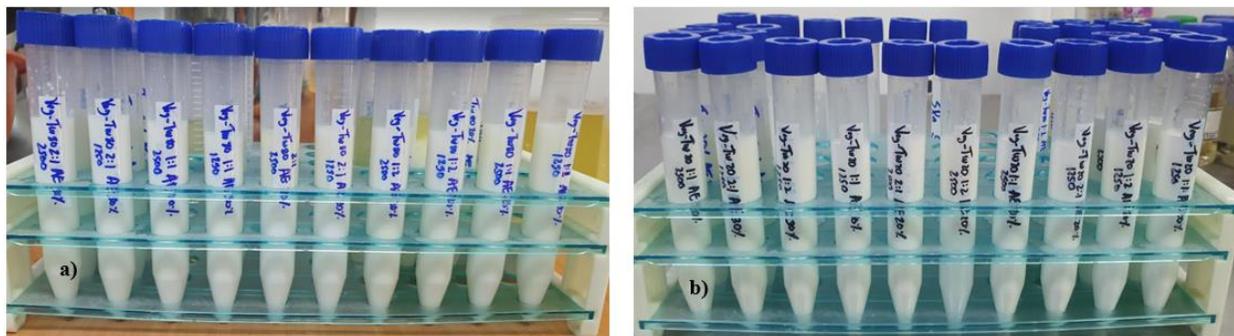
La inestabilidad que presentaron las emulsiones preparadas con aceite vegetal se relaciona con el HLB lipófilo ($HLB < 8,0$) que posee este emulsificante, mientras que las emulsiones preparadas con tween 20 o tween 80 que poseen un HLB hidrófilo ($HLB > 8,0$) tuvieron una mejor estabilidad. Los emulsificantes hidrófilos contribuyen a disminuir la tensión interfacial entre las dos fases actuando directamente en la superficie de contacto entre el agua y el aceite esencial; el grupo hidrófilo del emulsificante se direcciona hacia el agua y su cadena lipófila es orientada hacia el aceite esencial, donde se forman micelas o agregados alrededor de las gotas para lograr una mayor dispersión del aceite esencial y una reducción en las interacciones electrostáticas entre las gotas (Fernández, 2006; Murillo et al., 2013). La mejor proporción de emulsificante - aceites esenciales fue 1:1; en emulsiones con la composición de aceites esenciales mayor o menor que la de los emulsificantes ocurrió un desbalance de moléculas hidrófilas o lipófilas, esto hace que las interacciones electrostáticas se incrementen en la interfase desestabilizando el sistema (Ramírez et al., 2019).

En este tipo de emulsiones (o/w) la fase acuosa se encontraba en mayor concentración que la fase oleosa para lograr una mejor dispersión de la gota, lo que conllevó a una mayor estabilidad en la emulsión.

4.3.3 Emulsiones - mezcla de emulsificantes

Las composiciones de la fase oleosa, fase acuosa y mezcla de emulsificantes de todas las formulaciones preparadas (punto 3.4.3) se especifican en el [Apéndice I](#); el valor HLB se calculó con base en la ecuación de Griffin ($HLB = HLB_A \times f_A + HLB \times f_B$).

Las emulsiones preparadas con aceite vegetal junto con otro emulsificante (tween 80 o 20) tuvieron diferentes tiempos de estabilidad, estas presentaron inestabilidad después de 1 día en las menos estables y entre 30 a 40 días en las de mayor estabilidad; mientras que las emulsiones preparadas con mezclas de tween 80 y tween 20 tuvieron los menores tiempos de estabilidad, estas presentaron separación de fases después de 2 horas, pero se destacó una con más de 60 días de estabilidad (Figura 17). En la tabla 13 se especifican 5 formulaciones que se destacaron por su estabilidad.



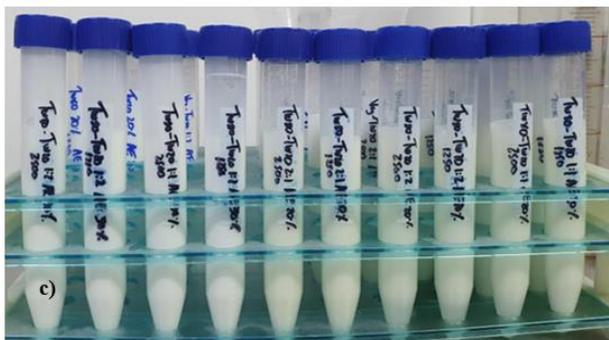


Figura 17. Emulsiones con mezcla de emulsificantes

Nota: Fotos tomadas 1 hora después de la elaboración de las respectivas emulsiones; aceite vegetal-tween80 (a), aceite vegetal-tween 20 (b) y tween 20-tween80 (c).

Tabla 13. Composición de emulsiones con mayor estabilidad (mezclas emulsificantes)

Emulsión	Aceite vegetal (% p/p)	Tween 80 (% p/p)	Tween 20 (% p/p)	Fase oleosa (% p/p)	Agua (% p/p)	HLB	Estabilidad (días)
I	10	20	0	20	50	12,21	20
J	10	0	20	30	40	13,33	30
K	10	0	20	20	50	13,33	9
L	15	0	15	20	50	11,85	40
M	0	15	15	30	40	15,85	62

Nota: Agitación mecánica con vórtex a 2500 rpm.

La inestabilidad de estas emulsiones (Tabla 13) se presentó con la aparición de gotas en la superficie. Las emulsiones J, L y M fueron estables durante los 30 días evaluados, pero la emulsión M se resaltó de las demás porque permaneció estable durante más de 60 días y sus parámetros se resumen en la tabla 14; las emulsiones J y L fueron estables por 30 y 40 días, mientras que las emulsiones I y K fueron estables durante 20 y 9 días respectivamente. Los resultados obtenidos de los parámetros fisicoquímicos y organolépticos de las emulsiones a

través del tiempo se encuentran en el [Apéndice J](#). En la figura 18 se observa la apariencia de las emulsiones (I, J, K, L y M) recién preparadas y al presentar inestabilidad.

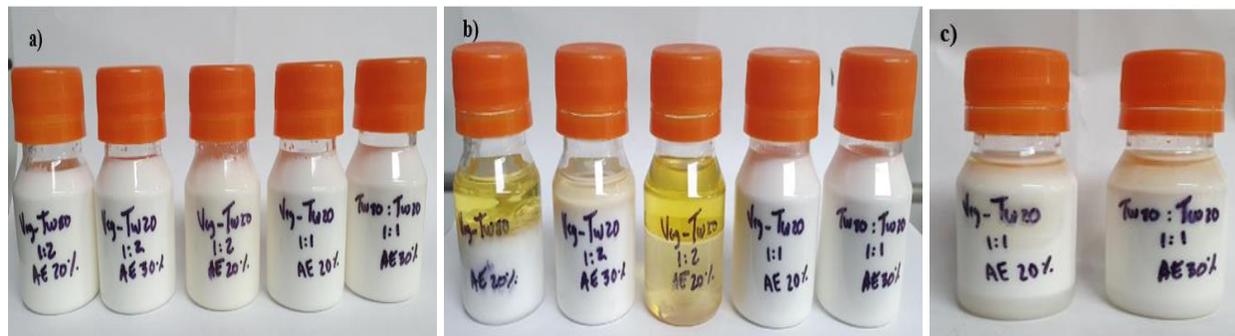


Figura 18. Apariencia de emulsiones con mezcla de emulsificantes

Nota: a) emulsiones I-J-K-L-M estables, b) pérdida de estabilidad en emulsiones I-J-K, c) pérdida de estabilidad en emulsiones L-M.

Tabla 14. Emulsión M, parámetros fisicoquímicos y organolépticos

Parámetro	Día 1	Día 3	Día 6	Día 9	Día 12	Día 15	Día 20	Día 25
Color	Blanco							
Apariencia	1 fase							
pH	5,74 ±	4,86 ±	4,20 ±	4,04 ±	3,97 ±	3,76 ±	3,69 ±	3,57 ±
	0,06	0,02	0,05	0,01	0,00	0,01	0,01	0,01
Viscosidad	73,514	63,577	56,654	53,181	50,107	49,643	46,843	43,901
cSt (mm²/seg)	± 0,018	± 0,023	± 0,034	± 0,019	± 0,007	± 0,035	± 0,041	± 0,027
Densidad (g/mL)	0,985 ±	0,986 ±	0,987 ±	0,988 ±	0,990 ±	0,991 ±	0,992 ±	0,993 ±
	0,001	0,001	0,000	0,000	0,001	0,001	0,001	0,001

Parámetro	Día 30	Día 35*	Día 40*	Día 45*	Día 50*	Día 55*	Día 60*
Color	Blanco						
Apariencia	1 fase						
pH	3,50 ±	3,44 ±	3,43 ±	3,42 ±	3,40 ±	3,41 ±	3,40 ±
	0,00	0,01	0,01	0,00	0,01	0,02	0,02
Viscosidad cSt	42,674	42,412	42,101	41,435	41,462	41,225	41,101
(mm²/seg)	± 0,022	± 0,023	± 0,016	± 0,026	± 0,026	± 0,023	± 0,025
Densidad	0,994 ±	0,995 ±	0,996 ±	0,997 ±	0,998 ±	0,998 ±	0,998 ±
(g/mL)	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,000

Nota: *Estable durante 62 días y separación de fases después de 80 días.

Estas emulsiones (Tabla 13) fueron preparadas con una mayor concentración de emulsificante para lograr dispersar una mayor cantidad de aceites esenciales y esto se reflejó en una mayor estabilidad cinética, también el sistema necesitó de un HLB=15,85 (tween 20 – tween 80) para formar agregados más estables. Se ratificó que la velocidad de agitación a 2500 rpm, la proporción emulsificante - fase oleosa 1:1 y un HLB más hidrófilo conllevaron a una mayor estabilidad cinética. Las emulsiones que presentaron una proporción de emulsificantes - fase oleosa 1.5:1 la estabilidad dependía de la mezcla de emulsificantes; un menor HLB conllevó a una mayor estabilidad cinética (42 días), mientras que un HLB mayor proporcionó menor estabilidad (9 días), esto se puede interpretar en que a mayor composición de emulsificantes el sistema necesitaba una barrera interfacial menos hidrófila para la formación de agregados más estables alrededor de la gota.

4.3.4 Propiedades fisicoquímicas - organolépticas de estabilizantes

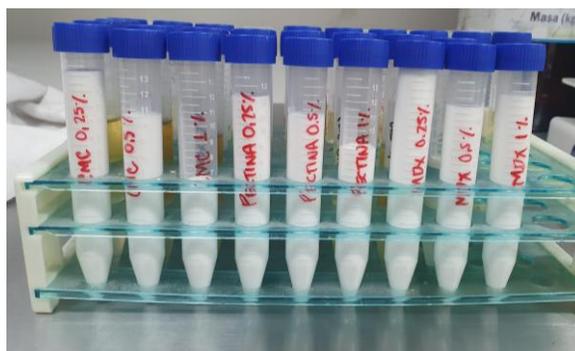
Las propiedades fisicoquímicas y organolépticas de los estabilizantes se reportan en la tabla 15.

Tabla 15. *Propiedades de estabilizantes*

Estabilizante	Densidad (g/ml)	Humedad (% p/p)	Color	Apariencia
CMC	0,710 ± 0,011	11,98 ± 0,05	Blanco	Polvo
Maltodextrina	0,586 ± 0,023	9,31 ± 0,03	Blanco	Polvo
Pectina	0,959 ± 0,005	9,97 ± 0,03	Beige	Polvo

4.3.5 Emulsiones - estabilizantes

Las emulsiones preparadas con carboximetilcelulosa (CMC) (punto 3.4.5) fueron las más difíciles de mezclar; con la CMC al 1% se presentó separación de fases después de 3 días, pero al 0,25 y 0,5% presentaron inestabilidad con aparición de gotas en la superficie después de 80 días (emulsiones con mayor estabilidad). Las emulsiones preparadas con pectina y maltodextrina presentaron inestabilidad al cabo de 2 a 70 días; la emulsión con pectina 1% fue la menos estable (2 días – separación de fases), mientras que los sistemas con maltodextrina presentaron inestabilidad después de 50 días (gotas de aceite en la superficie). En la figura 19 se observan las emulsiones preparadas con los diferentes estabilizantes y en la tabla 16 se especifican las formulaciones que se destacaron por presentar una estabilidad mayor a 40 días.

**Figura 19.** *Emulsiones con estabilizantes*

Nota: Fotos tomadas 1 día después de la elaboración de las respectivas emulsiones.

Tabla 16. *Composición de emulsiones con mayor estabilidad (estabilizantes)*

Emulsión	CMC (% p/p)	Maltodextrina (% p/p)	Pectina (% p/p)	Estabilidad (días)
N	0	0	0,25	43
O	0	0	0,5	51
P	0	0,25	0	56
Q	0	0,5	0	77
R	0	1,0	0	65
S	0,25	0	0	104
T	0,5	0	0	82

Nota: CMC 1% - 3 días estable, pectina 1% - 2 días estable.

La emulsión S fue la única estable durante los 90 días evaluados y sus parámetros fisicoquímicos y organolépticos obtenidos a través del tiempo se resumen en la tabla 17; los resultados de los parámetros de las demás emulsiones se encuentran en el [Apéndice K](#). En la figura 20 se observa la apariencia de las emulsiones (N, O, P, Q, R, S y T) recién preparadas y al presentar inestabilidad.

**Figura 20.** *Apariencia de emulsiones con estabilizantes*

Nota: a) emulsiones estables - día 10), b) emulsiones estables Q, R, S y T - día 60, c) emulsión estable S - día 90.

Tabla 17. Emulsión S, parámetros fisicoquímicos y organolépticos

Parámetro	Día 1	Día 10	Día 20	Día 30	Día 40	Día 50	Día 60
Color	Blanco						
Apariencia	1 fase						
pH	5,91 ±	5,78 ±	5,45 ±	5,37 ±	5,19 ±	5,07 ±	4,98 ±
	0,05	0,01	0,03	0,02	0,03	0,02	0,02
Viscosidad	984,652	836,947	778,366	747,245	732,214	721,278	685,248
cSt (mm²/seg)	± 0,027	± 0,030	± 0,028	± 0,024	± 0,061	± 0,024	± 0,023
Densidad (g/mL)	0,975 ±	0,976 ±	0,976 ±	0,977 ±	0,977 ±	0,978 ±	0,978 ±
	0,001	0,000	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001

Parámetro	Día 70	Día 80	Día 90	Día 100*
Color	Blanco	Blanco	Blanco	Blanco
Apariencia	1 fase	1 fase	1 fase	1 fase
pH	4,81 ± 0,02	4,81 ± 0,02	4,79 ± 0,01	4,80 ± 0,01
Viscosidad cSt (mm²/seg)	659,165 ±	638,745 ±	623,182 ±	614,857 ±
	0,021	0,022	0,031	0,033
Densidad (g/mL)	0,978 ± 0,001	0,979 ± 0,001	0,979 ± 0,001	0,979 ± 0,001

Nota: *Estable durante 104 días y separación de fases después de 130 días.

Los aditivos fueron de gran aporte en algunos casos para aumentar la estabilidad cinética, estos ocasionaron un incremento en algunas propiedades como la viscosidad y el pH. La carboximetilcelulosa (CMC) incrementó la viscosidad entre 13 a 25 veces, mientras que no se observó un incremento significativo en el pH (<0,35 unidades); la maltodextrina y la pectina incrementaron la viscosidad entre 1,0 a 1,6 y 2,2 a 3,4 veces, respectivamente. También se observó un incremento significativo en el pH de por lo menos 1 unidad en ambos sistemas. El aumento de la viscosidad restringe la movilidad de las gotas de la fase dispersa y las colisiones

entre ellas (menor interacciones intermoleculares), esto dificulta o retrasa la coalescencia de las gotas (Moreno, 2013; Amado, 2016). El pH también influye en las interacciones que se generan entre todos los componentes del sistema, un pH a valores bajos la tendencia es a formar emulsiones o/w, por el contrario, a valores altos la tendencia es a formar emulsiones w/o (Guzmán, 2018).

La CMC fue el aditivo que aportó mejor estabilidad cinética y la elaboración de estas emulsiones se realizó por pasos para mejorar la dispersión, debido a que la agitación necesitaba más fuerza con mayor concentración de CMC por el aumento significativo de la viscosidad; la emulsión al 1% no se homogeneizó de la mejor forma y esto se reflejó en una menor estabilidad. El pH también influye en la estabilidad de este viscosante; un rango de pH entre 4 y 10 es apropiado y valores mayores o menores a este intervalo pueden ocasionar menor estabilidad (Fula y Prieto, 2008). Este aditivo posee dos indicadores que caracterizan su calidad:

1. Grado de sustitución (DS); se refiere a las conexiones que presenta cada unidad de celulosa (el número promedio de grupos), donde un $DS > 0,8$ tiene buena resistencia al ácido y a las sales (no se precipitan), lo que otorga mayor estabilidad en emulsiones o/w (Fula y Prieto, 2008).

2. El grado de polimerización se relaciona con la longitud de la cadena de celulosa; una cadena larga de celulosas posee una mayor viscosidad (Fula y Prieto, 2008).

La mejor concentración de maltodextrina (MDX) como aditivo estabilizante fue al 0,5%, con la que se obtuvo 77 días de estabilidad. Una concentración menor (0,25%) no aportó un incremento significativo en la viscosidad y disminuyó la estabilidad de la emulsión original (56 días), esto puede ser por interacciones electrostáticas (incremento significativo del pH)

producidas por la MDX con los componentes de la emulsión; mientras que una concentración mayor de MDX (1%) aumentó significativamente la viscosidad otorgando una mejor estabilidad (65 días).

Las emulsiones preparadas con pectina presentaron la menor estabilidad (2 a 51 días), esto se debe a que las pectinas a pH por encima de 4,0 se inestabilizan por su interacción con las cargas de los agregados, pueden perder grupos metoxilo e hidrolizarse afectando negativamente su viscosidad y estabilidad; el grado de esterificación y las propiedades reológicas en función del pH influyen en la estabilización de emulsiones o/w (Torres et al., 2014).

4.3.6 Propiedades fisicoquímicas y organolépticas a través del tiempo

Se observó (Apéndice H, Apéndice J y Apéndice K) la variación de algunas propiedades a través del tiempo; por ejemplo, la densidad tuvo un pequeño incremento, mientras que el pH y la viscosidad disminuyeron hasta presentar inestabilidad el sistema; también se observaron cambios en la apariencia (homogeneidad) y el color. Las variaciones ocurrieron en todas las emulsiones y se identificaron mejor en las emulsiones F, M y S (Tablas 12, 14 y 17) por ser las de mayor estabilidad cinética en sus respectivos grupos.

Las emulsiones F, M y S tuvieron valores de pH inicialmente de 5.87, 5.74 y 5.91 respectivamente, las cuales son ideales para la elaboración de emulsiones o/w (Guzmán, 2018), también cabe resaltar que las emulsiones más homogéneas (A hasta T) presentaron valores de pH entre 5,0 a 7,5. La reducción del pH a través del tiempo se puede atribuir a un incremento de las interacciones electrostáticas entre las diferentes moléculas; en la figura 21 se puede observar que al aumentar la estabilidad de la emulsión se redujo el grado de variación del pH, por consiguiente se disminuyeron las interacciones electrostáticas.

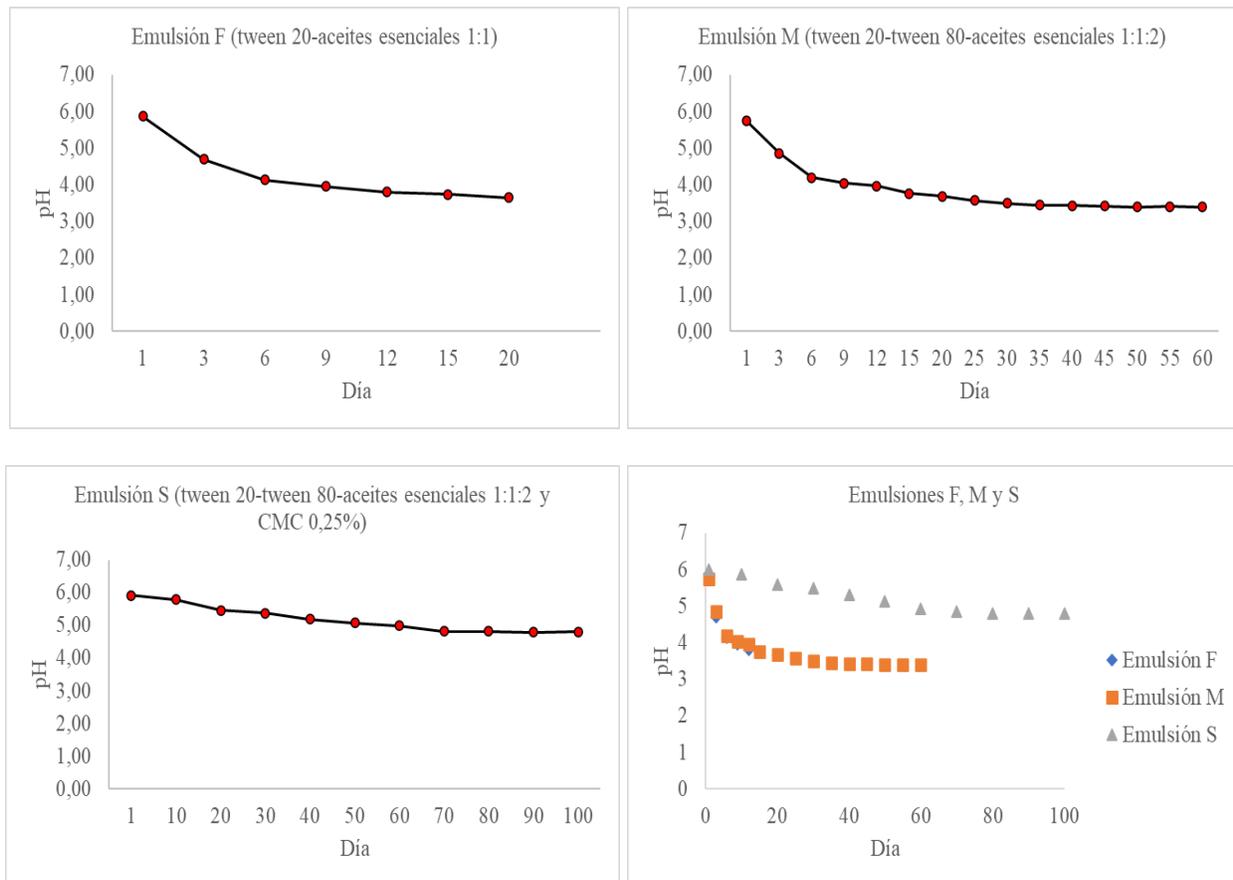


Figura 21. Variación del pH a través del tiempo

Nota: Variación de pH en las emulsiones más estables de cada grupo.

La viscosidad es una de las propiedades más relevantes en la estabilidad de emulsiones (Moreno, 2013; Amado, 2016). La viscosidad cinemática en las emulsiones F, M y S fueron inicialmente de 7,722, 73,514 y 984,652 cSt, respectivamente. También cabe resaltar que las emulsiones más homogéneas (A hasta T) presentaron valores de viscosidad entre 7,600 y 1900 cSt; esta propiedad dependía del tipo y composición de emulsificante, pero principalmente del tipo y composición del estabilizante. La disminución de la viscosidad a través del tiempo como se observa en la figura 22 se relaciona con el incremento de las interacciones entre las gotas

dispersas porque estas aumentaron su movilidad, también se puede observar que al aumentar la estabilidad de la emulsión se redujo el grado de variación de esta propiedad. Las interacciones también influyeron en el pequeño incremento que se observó en la densidad, debido al aumento de la presión interna en el sistema por el aumento de las colisiones entre las gotas.

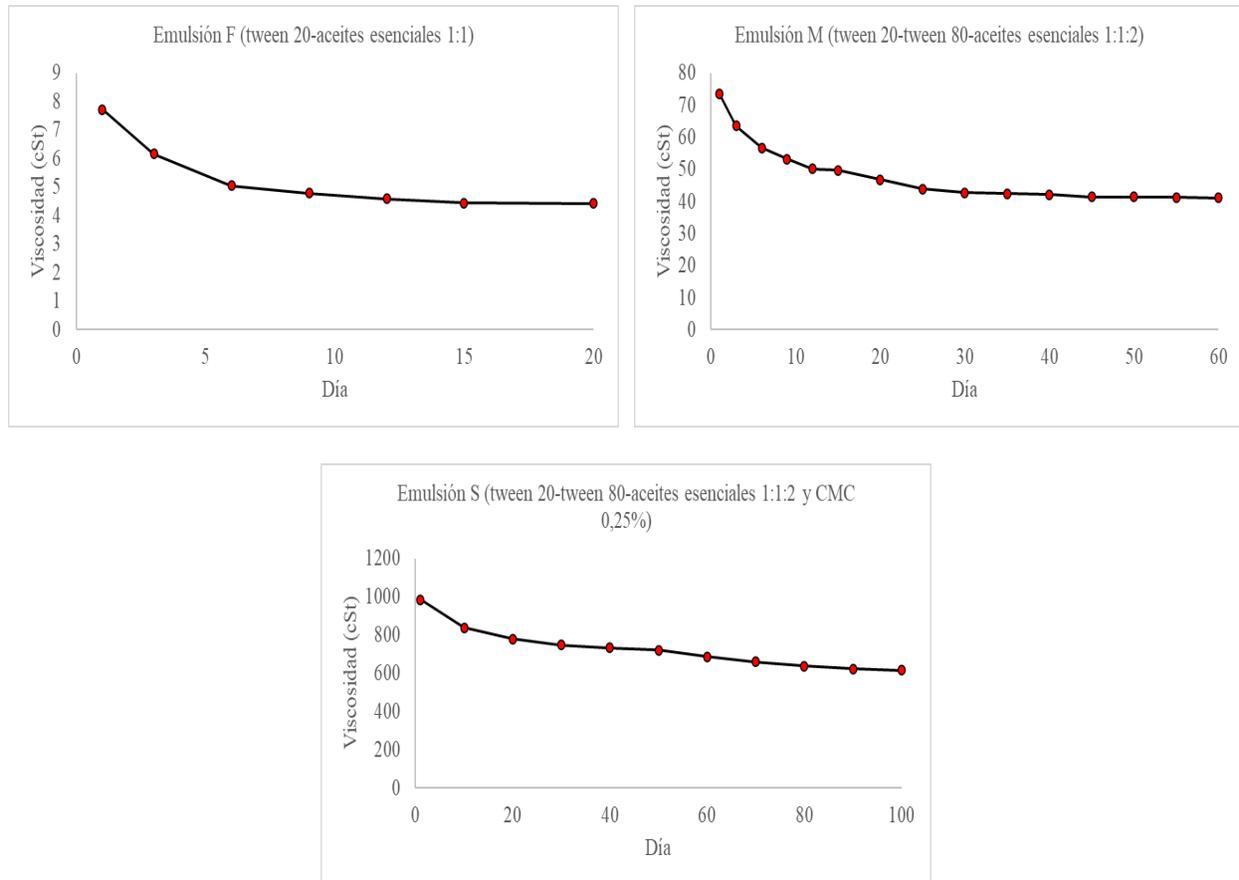


Figura 22. Variación de la viscosidad a través del tiempo

Nota: Variación de viscosidad cinética en las emulsiones más estables de cada grupo.

La homogeneidad y el color fueron parámetros importantes para observar la inestabilidad, por ejemplo, en las emulsiones menos estables se observó la separación de fases (Figura 23-b), este es un mecanismo de inestabilidad desencadenado de la coalescencia o fusión de las gotas del

aceite esencial por el incremento de la tensión interfacial; la coalescencia es considerada un mecanismo irreversible (Aranberri et al., 2006). En las emulsiones más estables se observó que las gotas del aceite esencial se empezaron a concentrar en la superficie (Figura 23-a) por tener menor densidad que la de la fase acuosa, este es un mecanismo de inestabilidad reversible denominado cremado que depende de la viscosidad y de las interacciones electrostáticas (Fernández, 2006). Las emulsiones A hasta T fueron agitadas manualmente durante 10 segundos después de presentar inestabilidad, donde se observó que las emulsiones con mecanismo de inestabilidad “cremado” presentaron tiempos de estabilidad mayores que las emulsiones con separación de fases; por ejemplo, la emulsión S fue estable por 20 días más (gotas de aceite en la superficie) después de agitación manual, mientras que la emulsión B fue estable por menos de 12 horas (separación de fases).

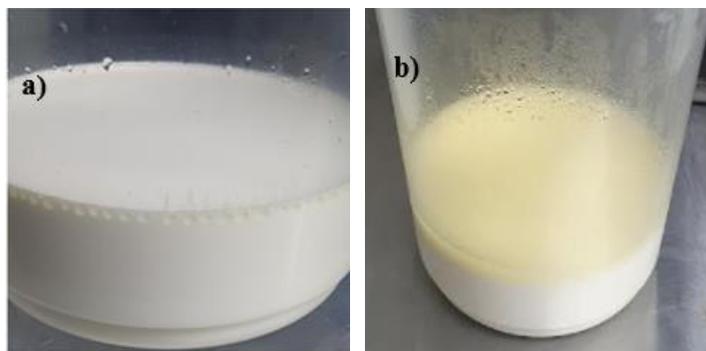


Figura 23. Mecanismos de inestabilidad

Nota: a) gotas de aceite en la superficie “cremado” y b) separación de fases.

4.3.7 Propiedades de la fase oleosa

A todas las emulsiones con estabilizantes (Tabla 16) se les realizó hidrodestilación en el día 1 y se obtuvieron resultados entre 29 a 30% en concentraciones de aceite esencial. La determinación de la concentración de aceites esenciales presentes en la emulsión S arrojó los

siguientes resultados: Día 1; $29,3 \pm 0,6\%$ p/p - Día 104; $29,1 \pm 0,2\%$ p/p - Día 130; $28,3 \pm 0,6\%$ p/p - Día 150; $25,1 \pm 0,5\%$ p/p. En la figura 24 se especifican los espectros obtenidos de las respectivas extracciones, donde se observa la disminución del pico más característico del timol (737 cm^{-1}) y carvacrol (757 cm^{-1}) a través del tiempo.

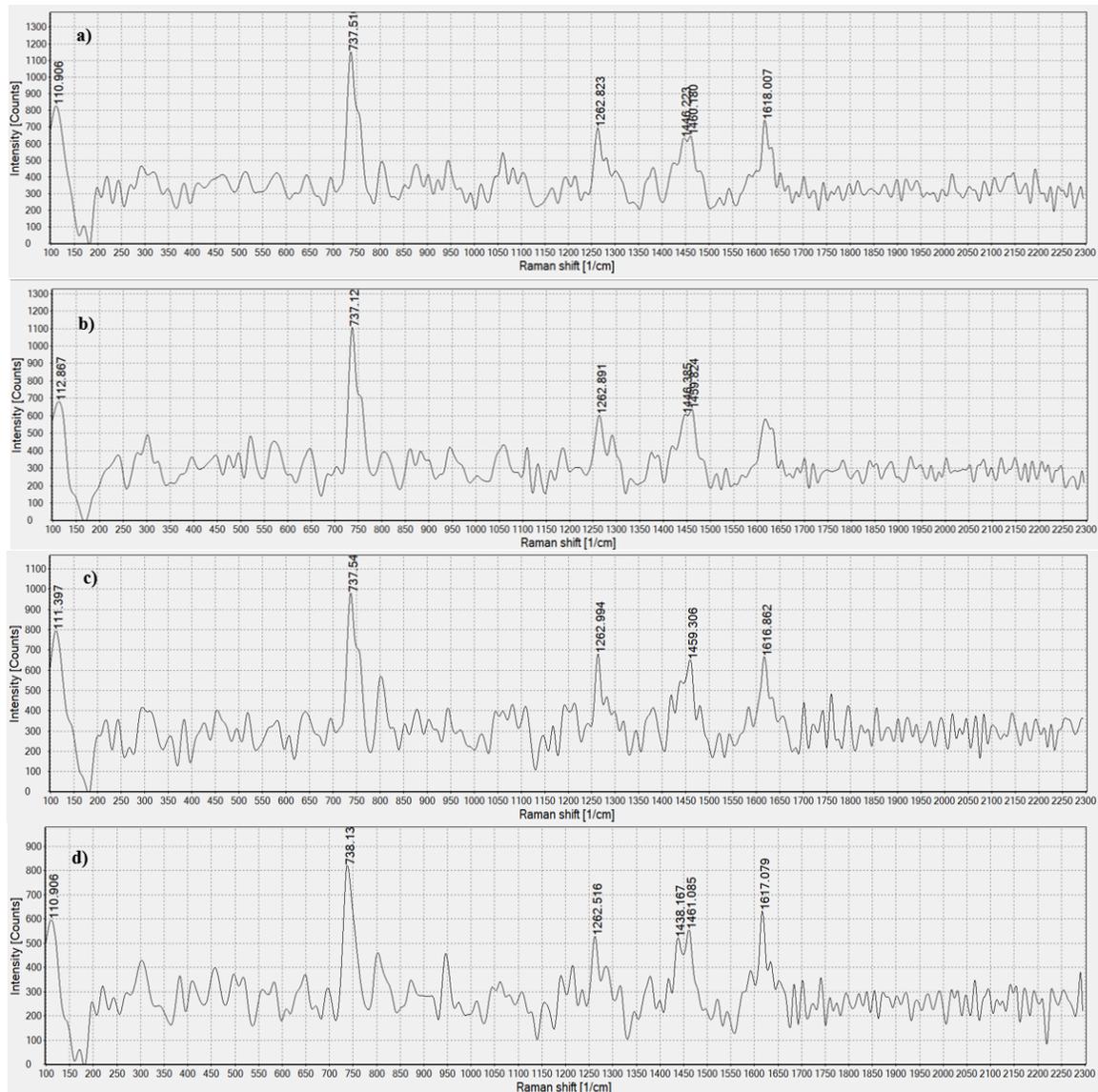


Figura 24. Espectros Raman fase oleosa de la emulsión S

Nota: a) día 1 - intensidad 1150, b) día 104 - intensidad 1106, c) día 130 - intensidad 980 y d) día 150 – intensidad 822.

Los aceites esenciales se caracterizan por estar compuestos de metabolitos de bajo peso molecular y altamente volátiles, es por esto que se evaporan con mayor facilidad a condiciones ambientales (Stashenko, 2009). Se logró identificar que la hidrodestilación (Norma NTC 440) es una técnica sencilla y rápida para conocer la cantidad de aceite esencial en una emulsión o/w. La concentración de aceites esenciales en la emulsión S durante estabilidad (día 1 a 104) no presentó una variación significativa, luego de la aparición de gotas en la superficie y hasta separación de fases (día 104 a 130) hubo una disminución de 3,41% p/p, pero la mayor disminución se presentó luego de la separación de fases (día 130 a 150) con un 14,33% p/p de pérdida; estos resultados se deben a que las emulsiones estables protegieron a los aceites esenciales manteniéndolos dispersos homogéneamente y evitando que se volatilizaran. Las emulsiones cinéticamente estables son un tipo de encapsulación que prolonga la cantidad y actividad de los aceites esenciales, también los protegen de las diferentes condiciones ambientales (Briones, 2017; Favaro y Pinho, 2006).

La concentración de los principales metabolitos (timol y carvacrol) en la emulsión S durante estabilidad (día 1 a 104) tuvieron una reducción en la intensidad de pico de 3,83%, una reducción del 11,39% cuando presentó inestabilidad (día 104 a 130) y una reducción de 28,52% entre el día 130 a 150. Estos resultados ratifican el hecho de que las emulsiones protegieron en gran medida al aceite esencial de cualquier tipo de degradación; la disminución en la intensidad del pico se pudo presentar por oxidación debido a las condiciones ambientales.

5. Conclusiones

Se desarrolló una metodología para la fabricación de emulsiones o/w (aceite esencial en agua) con una estabilidad cinética mayor a 3 meses. La formulación implica una mezcla de aceites esenciales (*Lippia o.* - *Thymus v.* - *Rosmarinus o.* 8:1:1) 30% p/p, mezcla de emulsificantes (tween 20 - tween 80 1:1) 30% p/p y agua 39,75% p/p con agitación Vortex durante 1 minuto a 2500 rpm; al final se adiciona la carboximetilcelulosa 0,25% p/p y nuevamente agitación con Vortex durante 1 minuto a 2500 rpm.

La espectroscopia Raman es un método rápido para la identificación de los principales metabolitos que componen a los aceites esenciales; pero la composición porcentual de los metabolitos debe ser mayor a 10% p/p para ser caracterizados por el método espectroscópico con resultados aceptables.

De las emulsiones preparadas, la fase oleosa está compuesta principalmente de timol, carvacrol, p-cimeno, γ -terpineno, alcanfor y 1,8-cineol; la mezcla posee propiedades fisicoquímicas y organolépticas que depende de las concentraciones de cada metabolito en los respectivos aceites esenciales.

El balance hidrófilo-lipófilo es un método que ayuda a estimar el tipo y la concentración óptima de emulsificantes, con el fin de obtener una barrera interfacial que favorezca la dispersión de la fase oleosa (formación de agregados) y otorgue estabilidad cinética en la emulsión.

Los emulsificantes tween 20 y tween 80 poseen propiedades fisicoquímicas que aportan una barrera interfacial hidrófila y logran disminuir las interacciones entre las diferentes fases de la emulsión o/w. La mezcla tween 20-tween 80 1:1 30% p/p en la emulsión aporta la mejor estabilidad (HLB= 15,85).

La proporción emulsificantes-aceites esenciales 1:1 presenta el mejor balance de moléculas hidrófilas-lipófilas en emulsiones o/w para la formación de agregados, esto hace que las interacciones electrostáticas se disminuyan en la interfase y estabilicen el sistema.

La velocidad de agitación es un factor importante en el proceso de fabricación de emulsiones; el tamaño y distribución de los agregados dependen de la intensidad de agitación suministrada, con mayor agitación se disminuye el tamaño de los agregados y aumenta su distribución contribuyendo a una mayor estabilidad.

Los compuestos estabilizantes aumentan la viscosidad de la emulsión restringiendo la movilidad de la fase oleosa y reduciendo las interacciones entre ellas; la viscosidad y estabilidad de las emulsiones depende de las características y concentraciones de los estabilizantes.

El pH influye en la estabilidad y reactividad de las moléculas estabilizantes; la carboximetilcelulosa es un aditivo con un amplio rango de trabajo (pH 4 – 10) para ser utilizada en sistemas o/w.

Los mecanismos de inestabilidad en este tipo de emulsiones dependen de los agentes emulsificantes, estabilizantes y condiciones de preparación; las emulsiones con mayor estabilidad presentan inestabilidad “creaming” (proceso reversible) y las menos estables presentan inestabilidad por coalescencia o agregación de gotas (procesos irreversibles).

Las propiedades pH, viscosidad, homogeneidad y color se pueden utilizar para identificar y evaluar la estabilidad cinética en una emulsión o/w; las variaciones de estas propiedades ayudan a identificar el grado de interacción entre las diferentes moléculas del sistema.

6. Recomendaciones

Emulsiones cinéticamente estables de aceites esenciales en agua se pueden seguir estudiando con diferentes tipos y velocidades de agitación; la finalidad es reducir el tamaño de la partícula para poder dispersarla en la fase continua, este tamaño debe ser lo más pequeño posible para disminuir las interacciones entre las fases y así evitar la unión de partículas oleosas y rompimiento de la emulsión. Se pueden realizar estudios del tamaño y morfología de partículas o agregados con ayuda de instrumentos más avanzados como el microscopio electrónico de barrido (SEM).

Realizar estudios o ensayos (in vitro e in vivo) de la emulsión estable compuesta por la mezcla de *Lippia origanoides*, *Thymus vulgaris* y *Rosmarinus officinalis*, donde se puedan determinar las diferentes dosificaciones según la funcionalidad que se quiera comprobar y así poder competir con productos sintéticos en las diferentes áreas de la industria pecuaria e incluso en alimentación funcional para humanos.

Referencias bibliográficas

- Amador, E., y Mora, L. (2006). Análisis de la variación de la viscosidad cinemática de un aceite vegetal en función de la temperatura. *Revista de la facultad de Ciencias Básicas, BISTUA*. 4 (3), 54-56. <https://www.redalyc.org/pdf/903/90340207.pdf>
- Aranberri, I., Binks, B. P., Clint, J.H., y Fletcher, P. D. (2006). Elaboración y caracterización de emulsiones estabilizadas por polímeros y agentes tensoactivos. *Revista iberoamericana de polímeros emulsiones estabilizadas*, 7(3), 211-231. <https://reviberpol.files.wordpress.com/2019/08/2006-aranberri.pdf>
- Aricapa, H. J., Salazar, D., Uribe, S., y Ángel, J. (2017). Inhibición del virus de Bronquitis Infecciosa Aviar mediante el uso de aceites esenciales. *Revista electrónica de veterinaria*. 18 (10). <https://www.redalyc.org/pdf/636/63653470010.pdf>
- Boom, E., Orozco, J., Alean, J., y Rojano, B. (2018). Evaluación de la actividad antioxidante de aceites esenciales de eucaliptos cultivados en Colombia. *Scielo Analytics, Información tecnológica*, 29(6), 57-66.
- Briones, J. A. (2017). *Diseño y funcionalidad en sistemas in vivo de nano-cápsulas líquidas de aceite de romero (Rosmarinus officinalis)* (Tesis de Posgrado, Maestría). Universidad Veracruzana, Instituto de Ciencias Básicas, Veracruz.
- Coy, C. A., y Acosta, G. E. (2013). Actividad antibacteriana y determinación de la composición química de los aceites esenciales de romero (*Rosmarinus officinalis*), tomillo (*Thymus vulgaris*) y cúrcuma (*Cúrcuma longa*) de Colombia, *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 18(2), 237-246. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962013000200007

- Chango, M. (2015, octubre). Agua de bebida: principal nutriente. *Engormix*.
<https://www.engormix.com/avicultura/articulos/agua-bebida-principal-nutriente-t32634.htm>
- Da Veiga, R. D. S., Da Silva-Buzanello, R. A., Corso, M. P., y Canan, C. (2019). Essential oils microencapsulated obtained by spray drying: a review. *Journal of Essential Oil Research*, 31, 457-473. <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10412905.2019.1612788>.
- Dávila, M., y Jiménez, M. T. (2016). Aceites esenciales encapsulados: métodos de formación, eficiencia y estabilidad. *UDLAP, Temas selectos de ingeniería de alimentos*. Ingeniería Química y Alimentos, Universidad de las Américas Puebla, México, 10, 17-27.
- Favaro-Trindade, C. S., y Pinho, Revisão, S. C. (2008). Microencapsulação de ingredientes alimentícios. *Brazilian Journal of Food Technology*, 11 (2), 103–112.
- Fernández, A. A. (2006). *Preparación, Caracterización y Estabilidad de Emulsiones y Micro emulsiones o/w* (Tesis de Posgrado, Doctorado). Universidad de Granada. Facultad de Ciencias, España.
- Fuchs, M., Turchiuli, C., Bohin, M., Cuvelier, M. E., Ordonnaud, C., Peyrat-Maillard, M. N. et al. (2006). Encapsulation of oil in powder using spray drying and fluidized bed agglomeration. *Journal of Food Engineering*, 75 (1), 27–35.
- Fula, N., y Prieto, N. (2008). *Evaluación del carboximetil celulosa como agente viscosante y estabilizador de espuma en formulaciones detergentes* (Tesis de Pregrado) Universidad de los Andes. Facultad de Ingeniería; Bogotá, Colombia.
- García, M. C., Portillo, C., Martín, M. J., Alfaro, M. C. y Muñoz, J. (2017). Influencia de la formulación y de las variables de procesado sobre la estabilidad física de emulsiones de

- aceite esencial de tomillo. *Reología aplicada, Tecnología de coloides*, 7, 97-102.
<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6571305>
- Guandique, A., y Samayoa, M. (2002). *Recopilación de los agentes mucilaginosos más utilizados en la industria farmacéutica y alimentaria. Presentación de algunas técnicas para su uso.* (Tesis de Pregrado) Universidad de El Salvador. Facultad de química y farmacia, El Salvador.
- Guzmán, D. (2018). *Análisis del comportamiento de las emulsiones y su influencia en la cadena de producción de hidrocarburos* (Tesis de Posgrado, Maestría). Universidad Industrial de Santander, Escuela de Ingeniería de Petróleos, Santander, Colombia.
- Hernández, P. (2011). *Encapsulación de aceite esencial de clavo para su aplicación en la industria alimentaria* (Tesis de Posgrado, Doctorado). Universidad Católica de San Antonio, España.
- Madrid, T. A., Parra, J. E., y López, A. (2017). La inclusión de aceite esencial de orégano (*Lippia origanoides*) mejora parámetros inmunológicos en pollos de engorde. *Bioteología en el sector Agropecuario y Agroindustrial*, 15 (2), 75-83.
- Martín, M. J., García, M. C., Ramírez, P. (2017). Estabilidad física de mezclas de aceite esencial de tomillo y un tensioactivo no iónico. *Reología aplicada, Tecnología de coloides*, 7, 89-95.
- Martínez, A., Meuter, C., y Paulus, C. (2009). Aceites esenciales y ácidos orgánicos: Beneficios productivos y sanitario en las aves. *Selecciones avícolas-DSM Nutricional Products*, 35-38. <https://seleccionesavicolas.com/pdf-files/2009/11/4973-aceites-esenciales-y-acidos-organicos-beneficios-productivos-y-sanitario-en-las-aves.pdf>

- Montoya, A. (2019). *Formulación de emulsiones naturales de aceites y ceras en agua* (Tesis de Pregrado). Universidad Politécnica de Cartagena, Escuela Técnica Superior de Ingeniería Industrial, Cartagena, Colombia.
- Montoya, G., Londoño, J., Yassin, L., Vásquez, G., Rojas, M., y Ramirez R. (2007). Monoterpenos aromáticos Timol y Carvacrol: aproximaciones de su posible papel en procesos claves de la patología cardiovascular. *Scientia et technica*. Universidad tecnológica de Pereira, 1 (33).
- Moreno, M. (2013). *Desarrollo de nano emulsiones de aceites esenciales cítricos estabilizadas con gomas de origen natural* (Tesis de Posgrado, Maestría). Centro de investigación en materiales avanzados, Monterrey, México.
- Murillo, W., Araque, P., Henao, B., y Peláez, C., (2013). Actividad insecticida de una emulsión aceite/agua del aceite esencial de *Eucalyptus tereticornis*. *Revista Cubana de plantas medicinales*, 18(1). http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962013000100013
- Nikolaos, S., Athanasios, K., Christos, P., Petros, T., Dimitra, J., y Moschos, P. (2005). Rapid Method for Simultaneous Quantitative Determination of Four Major Essential Oil Components from Oregano (*Oreganum* sp.) and Thyme (*Thymus* sp.) Using FT-Raman Spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 202–206.
- Ramírez, N., Baena, Y., y Osorio, C. (2019). Caracterización fisicoquímica de emulsiones aceite/agua a partir de uchuva (*Physalis peruviana*) como ingrediente para la industria alimenticia. *Scielo Analytics, Información tecnológica*, 30(3). https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0718-07642019000300147&Ing=pt&nrm=iso

- Rojas, J., Ortiz, J., Maldonado, J., Ruiz, J., y Almonacid, R. (2015). Aceite esencial de *Thymus Vulgaris*, su combinación con EDTA contra *Cándida albicans* y formulación de una crema. *Scielo Analytics, Anales de la Facultad de Medicina*, 76(3).
http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832015000400002
- Roldán, L. P. (2010). *Evaluación del uso de los aceites esenciales como alternativa al uso de los antibióticos promotores de crecimiento en pollos de engorde* (Tesis de Posgrado, Maestría) Universidad Nacional de Colombia. Facultad de medicina veterinaria y zootecnia; Bogotá, Colombia.
- Stashenko, E. (2009). *Aceites Esenciales*. Universidad Industrial de Santander División de publicaciones, Edición 1. Bucaramanga, Colombia.
- Stashenko, E. E., Martínez, J. R., Durán, D. C., Córdoba, Y., y Caballero, D. (2014). Estudio comparativo de la composición química y la actividad antioxidante de los aceites esenciales de algunas plantas del género *Lippia* (Verbenaceae) cultivadas en Colombia. *Revista De La Academia Colombiana De Ciencias Exactas, Físicas Y Naturales*, 38, 89-105.
- Teneda, A. C. (2015). *Efectos del aceite esencial de orégano (oreganum vulgare) como promotor de crecimiento en cerdos* (Tesis de Pregrado) Universidad Católica del Ecuador, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Escuela de Ciencias Biológicas, Ecuador.
- Torres, B. C., García, M., y Espinoza, H. (2014). *Propiedades de pectina cítrica como agente emulsionante de aceite de uva*. Encuentro Nacional de la AMIDQ, Jálisco, México.
- Vargas, P., Ramos, L., y Ciobota, V. (2015). Handheld Raman Spectroscopy for the Distinction of Essential Oils Used in the Cosmetics Industry. *Journal cosmetics mdpi*, 2, 162–176.

Apéndices

Apéndice A

Concentración de metabolitos mayoritarios en aceites esenciales quimiotipos timol y 1,8-cineol

Tabla 18. *Metabolitos en aceites quimiotipo timol (GC/MS)*

Aceite Esencial	Timol (% p/p)	Carvacrol (% p/p)	p-Cimeno (% p/p)	γ -Terpineno (% p/p)
1	88	1	1	1
2	57	1	15	21
3	53	30	6	1
4	48	31	8	12
5	47	27	11	11
6	43	26	13	14
7	43	26	14	13
8	41	6	16	9
9	35	3	22	10
10	28	15	11	12

Tabla 19. *Metabolitos en aceites quimiotipo 1,8-cineol (GC/MS)*

Aceite Esencial	1,8-Cineol (% p/p)	Alcanfor (% p/p)	α -Pineno (% p/p)
11	99	0	0
12	79	0	1
13	72	0	18
14	63	0	3
15	54	0	3
16	32	22	7
17	30	20	11
18	24	6	29
19	21	7	15
20	20	2	20

Apéndice B

Fichas técnicas de emulsificantes



FICHA TÉCNICA
Aceite Vegetal

1. DESCRIPCIÓN GENERAL

Nombre: Aceite Girasoli.

Otros nombres: Aceite de girasol.

Formula Química o componentes: Extracto del prensado de semillas de girasol.

Calidad: Alimenticia.

Descripción: Girasoli® es un aceite 100% de girasol, filtrado tres veces para eliminar incluso las impurezas que no se ven, conservando lo bueno y natural. Esto hace de Girasoli® buena fuente de vitamina E. Además, contiene Omega 6, tiene cero colesterol y es libre de grasas Trans, para que las familias colombianas puedan llevar a su mesa todo el poder natural del girasol.

2. APLICACIONES GENERALES

Ideal como condimento para ensaladas y otros platillos, para cocinar y freír, mayonesas, bases para margarina, mantecas vegetales para diferentes usos en panadería y repostería.

3. PROPIEDADES FISICOQUIMICAS

Estado Físico: Líquido Aceitoso y viscoso.

Apariencia: Amarillo pálido.

Olor: Característico.

Concentración: >99%

Punto de Inflamación: >280°C.

Temperatura de autoignición: >440°C.

Densidad: 0.02 g/mL.

Solubilidad en agua: Insoluble.

Figura 25. Ficha técnica del aceite vegetal



FICHAS DE INFORMACIÓN TÉCNICA

TWEEN

Descripción: Los Tween® o polisorbatos son ésteres del polioxietilén sorbitano (sorbitol y sus anhídridos copolimerizados con 4, 5, o 20 moles de óxido de etileno) parcialmente esterificados con ácidos grasos superiores.

Datos Físico-Químicos: **Tween-20:**

Sinónimos: Polisorbato 20. Polioxietilén 20 sorbitan monolaurato. Sorbimacrogol laurato 300. E-432.

INCI: Polysorbate - 20.

Descripción: Líquido oleoso, amarillo o amarillo pardusco, límpido o ligeramente opalescente. Soluble en agua etanol anhidro, acetato de etilo y metanol. Prácticamente insoluble en aceites grasos y en parafina líquida. Densidad: aprox. 1,10 g/ml. HLB: 16,7.

Fórmula Molecular: $C_{58}H_{114}O_{26}$
Peso Molecular: 1227,5

Tween-60:

Sinónimos: Polisorbato 60. Polioxietilén 20 sorbitan monoestearato. Sorbimacrogol estearato 300. E-435.

INCI: Polysorbate - 60.

Figura 26. Ficha técnica del tween 20

POLISORBATO 80
IDENTIFICACIÓN

Producto:	Polisorbato 80
Nombre comercial:	Tween 80, Monebat 80
Nombre IUPAC:	Monooleato de Polioxietilen (20)sorbitano
Fórmula química:	$C_{54}H_{124}O_{26}$
CAS:	9005-65-6
EINECS:	500-019-9
FEMA:	2917
Aditivo alimentario:	E 433



Descripción: Es un compuesto derivado de la etoxilación del sorbitano y su posterior monoesterificación con ácido oleico. Los grupos hidrófilos de este tensoactivo no iónico son los poliéteres, con un total de 20 óxidos de etileno por molécula. Además es un emulsificante, tiene acción protectora y emoliente, permitiendo que sea usado en diferentes aplicaciones.

Aplicaciones: Utilizado como aditivo alimenticio con acción detergente: Emulsiona y disuelve las grasas. También es dispersante, solubilizante, lubricante, detergente, antiestático, humectante para cosméticos y productos farmacéuticos, pulidores, insecticidas, desengrasantes de cuero y productos veterinarios.

PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS

Apariencia	Líquido viscoso aceitoso claro
Color	Amarillo a café claro
Olor	Suave
Peso molecular	1311.7 g/mol
Índice de acidez	2.0 máx. mg KOH/g
Índice de Saponificación	45 – 55 mg KOH/g
Índice de Hidroxilo	65 – 80 mg KOH/g

Figura 27. Ficha técnica del tween 80

Apéndice C

Fichas técnicas de estabilizantes

 FICHA TÉCNICA CMC ESPESANTE GRADO ALIMENTICIO		Código: GT-F-40 Fecha: 01/08/2011 Página: 1 de 1																																	
Versión: 01																																			
1. DESCRIPCIÓN GENERAL																																			
Nombre químico: Carboximetilcelulosa Sódica. Otros nombres: Carboximetilcelulosa, CMC, Glicolato de celulosa. Formula Química o Componentes: $C_6H_7OCH_2COONa$ UN: N.A. Calidad: FG CAS: 9004-32-4																																			
Descripción: polvo de blanco a amarillento, inodoro. Vencimiento: 2 años.																																			
2. APLICACIONES GENERALES																																			
Se utiliza en fabricación de: Detergentes, jabones, productos alimenticios (principalmente alimentos dietéticos y helados) donde actúa como ligante, espesante, agente de suspensión y estabilizante de emulsión; manufactura textil; revestimiento de papel y papel cartón para disminuir la porosidad; barras de perforación; pinturas de emulsión; coloides protectores; productos farmacéuticos y cosméticos.																																			
3. PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS																																			
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Parámetro</th> <th>Unidad</th> <th>Especificación</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Apariencia</td> <td>---</td> <td>Color blanco a crema, polvo suelto</td> </tr> <tr> <td>Viscosidad (1%, 25°C)</td> <td>mPa.s</td> <td>5000 - 6000</td> </tr> <tr> <td>Grado de sustitución</td> <td>---</td> <td>0,75 - 0,90</td> </tr> <tr> <td>Humedad</td> <td>%</td> <td>8,0 Máx.</td> </tr> <tr> <td>Pureza</td> <td>%</td> <td>99,5 Mín.</td> </tr> <tr> <td>pH (1%, 25°C)</td> <td>---</td> <td>6,5 - 7,5</td> </tr> <tr> <td>Sodio</td> <td>%</td> <td>9,5 Mín.</td> </tr> <tr> <td>Tamaño de partícula (malla 60)</td> <td>%</td> <td>95 Mín.</td> </tr> <tr> <td>Arsénico</td> <td>ppm</td> <td>3 Máx.</td> </tr> <tr> <td>Metales pesados (As, Pb)</td> <td>ppm</td> <td>40 Máx.</td> </tr> </tbody> </table>			Parámetro	Unidad	Especificación	Apariencia	---	Color blanco a crema, polvo suelto	Viscosidad (1%, 25°C)	mPa.s	5000 - 6000	Grado de sustitución	---	0,75 - 0,90	Humedad	%	8,0 Máx.	Pureza	%	99,5 Mín.	pH (1%, 25°C)	---	6,5 - 7,5	Sodio	%	9,5 Mín.	Tamaño de partícula (malla 60)	%	95 Mín.	Arsénico	ppm	3 Máx.	Metales pesados (As, Pb)	ppm	40 Máx.
Parámetro	Unidad	Especificación																																	
Apariencia	---	Color blanco a crema, polvo suelto																																	
Viscosidad (1%, 25°C)	mPa.s	5000 - 6000																																	
Grado de sustitución	---	0,75 - 0,90																																	
Humedad	%	8,0 Máx.																																	
Pureza	%	99,5 Mín.																																	
pH (1%, 25°C)	---	6,5 - 7,5																																	
Sodio	%	9,5 Mín.																																	
Tamaño de partícula (malla 60)	%	95 Mín.																																	
Arsénico	ppm	3 Máx.																																	
Metales pesados (As, Pb)	ppm	40 Máx.																																	

Figura 28. Ficha técnica de la CMC

 FICHA TECNICA DE MATERIA PRIMA FTEC-CC-15-2					
NOMBRE DEL PRODUCTO	Maltodextrina				
DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO	Es una mezcla de polímeros de glucosa que aparecen como resultado de la hidrólisis del almidón. Normalmente se presenta comercialmente como un polvo blanco formado por una mezcla de varios oligómeros de glucosa, los cuales contienen de 5 a 10 unidades.				
LUGAR DE ELABORACION	Calle 60 No.16-28 Bodega 9 La Esmeralda - Girón				
COMPOSICION NUTRICIONAL	99 % de pureza				
PRESENTACION Y EMPAQUES COMERCIALES	Bulto de 25 Kg de papel kraf				
CARACTERÍSTICAS ORGANOLEPTICAS	 Color: blanco Olor: inodoro Sabor: Dulce Textura: polvo voluminoso				
	FÍSICOQUÍMICO				
	<table border="1"> <tr> <td>HUEMDAD (%)</td> <td>MAX. 6 %</td> </tr> <tr> <td>Equivalente de dextrosa</td> <td>15 - 22</td> </tr> </table>	HUEMDAD (%)	MAX. 6 %	Equivalente de dextrosa	15 - 22
HUEMDAD (%)	MAX. 6 %				
Equivalente de dextrosa	15 - 22				
MICROBIOLÓGICO					
Mesófilos aerobios UFC/ gr	10x10 ⁵				
Escherichia coli Ausencia/ Presencia	Ausencia				
Coliformes totales UFC/ gr	10x10 ⁴				
Mohos y Levaduras UFC/ gr	10x10 ⁴				
A/P Salmonella spp Ausencia/Presencia	Ausencia				
REQUISITOS MÍNIMOS Y NORMATIVIDAD	*Los valores de referencia se basan en la NTC 2107 alimento completo para aves y NTC 1839 alimento completo para cerdos.g				
CONSIDERACIONES PARA EL ALMACENAMIENTO	En ambiente seco, recipiente cerrado o lacrado y protegido de luz.				
VIDA UTIL ESTIMADA	24 meses				

Figura 29. Ficha técnica de la maltodextrina

 TECNICA DE PRODUCTO			
NOMBRE DEL PRODUCTO	Pectina		
DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO	Polvo fino, de color amarillento a café claro, prácticamente inodoro, de sabor dulce agradable. gSe obtiene a partir del mesocarpio (porción blanca de la corteza) Otras fuentes de pectina son la guayaba, el plátano, la pera, el durazno y en las zanahorias; utilizando como absorbente intestinal		
LUGAR DE ELABORACION	Glorieta aeropuerto Jose Maria Cordova 300 mts autopista Medellin – Bogotá, Centro Ciudad Karga Fase II, Bodega 120		
COMPOSICION NUTRICIONAL			
PRESENTACION Y EMPAQUES COMERCIALES	Bulto de 25 Kg de papel Kraf		
CARACTERISTICAS ORGANOLEPTICAS			
Color: blanco, café claro Olor: característico Sabor: Característico Textura: polvo fino			
	FISICOQUIMICO		
	<table border="1"> <tr> <td>HUEMDAD (%)</td> <td>MAX. 12 %</td> </tr> </table>	HUEMDAD (%)	MAX. 12 %
HUEMDAD (%)	MAX. 12 %		
MICROBIOLOGICO			
Mesófilos aerobios UFC/ gr	10x10 ⁷		
Escherichia coli Ausencia/ Presencia	Ausencia		
Coliformes totales UFC/ gr	10x10 ⁶		
Mohos y Levaduras UFC/ gr	10x10 ⁴		
A/P Salmonella spp Ausencia/ Presencia	Ausencia		
REQUISITOS MINIMOS Y NORMATIVIDAD	*Los valores de referencia se basan en la NTC 2107 alimento completo para aves y NTC 1839 alimento completo para cerdos.g		
CONSIDERACIONES PARA EL ALMACENAMIENTO	Guarde en un envase cerrado herméticamente, almacene en un área Fresca, seca y bien ventilada.		

Figura 30. *Ficha técnica de la pectina*

Apéndice D

Norma técnica Colombiana NTC 440 (Productos alimenticios - métodos de ensayo - 3.13

Determinación del contenido de aceite esencial)

2.12 DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE ACEITE ESENCIAL

2.12.1 Aparatos

Se emplea una trampa de aceite modificada, conectada a un balón de fondo redondo de 2 000 ml, con una conexión apropiada y equipada con un condensador de reflujo enfriado por agua (véase la Figura 2).



Figura 2

19

NORMA TÉCNICA COLOMBIANA NTC 440

2.12.2 Procedimiento

Se coloca 1 l de muestra en el matraz y se agregan perlas de vidrio para regular la ebullición. Se llena con agua la trampa separadora de aceite, se conecta con el matraz y el condensador y se hierve durante 1 h. Se retira la fuente calorífica y se deja en reposo durante varios minutos. Se escurre suficientemente el agua del condensador y de la trampa para permitir que la capa de aceite llegue a la porción graduada de la trampa; se deja por lo menos durante 5 min para completar el escurrido y se mide la cantidad de aceite desde el fondo del menisco inferior hasta la parte más alta del menisco superior.

2.12.3 Cálculos

El contenido de aceite esencial se calcula de la siguiente manera:

$$\text{Aceite esencial, mL/L} = \frac{V_1}{V} \times 100$$

Donde:

V_1 = volumen de aceite esencial según la lectura, en mililitros

V = volumen de la muestra, en mililitros

Figura 31. Procedimiento NTC 440

Nota: Se requieren 5g de emulsión y 100 g de agua; medición por triplicado.



Figura 32. Materiales NTC 440

Nota: Técnica de hidrodestilación para la extracción de aceites esenciales.

Apéndice E

Identificación presuntiva y cantidad relativa (%) de los aceites esenciales por GC/MS

	LABORATORIO DE CROMATOGRAFÍA Y ESPECTROMETRÍA DE MASAS UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER	CÓDIGO: CH-FSE-12
	INFORME DE RESULTADOS Código: 990881-AI	VERSIÓN: 04 Página 4 de 12

Tabla 2. Identificación presuntiva, tiempos de retención (t_R) y cantidad relativa (%) de los componentes presentes en el aceite esencial enviado por el cliente **PROMOTORA DE INNOVACIÓN EN BIOTECNOLOGÍA S.A.S – PROMITEC** y analizado por GC/MS (*full scan*).

t_R , min	Identificación tentativa	Cantidad relativa, %	
		990881-02-AI	ACEITE ESENCIAL <i>Lippia origanoides</i> (GA/LOE/139)
15,93	α -Tujeno		0,1
16,30	α -Pinoeno		0,4
16,74	Tuja-2,4(10)-dieno		tr
16,97	α -Fencheno		tr
17,06	Canfeno		tr
18,32	β -Pinoeno		1,4
18,69	β -Mirceeno		0,3
19,52	α -Felandreno		tr
19,62	Δ^3 -Careno		tr
19,98	α -Terpinoeno		0,3
20,43	p-Climeno		11,4
20,55	Limoneno		0,2
20,64	β -Felandreno		0,2
21,86	γ-Terpinoeno		10,8
22,87	Terpinoleno		tr
23,07	p -Climeno		tr
27,00	Mentol		0,1
27,53	<i>trans</i> -4-Caranona		tr
29,88	Carvona		tr
30,24	$C_{10}H_{16}O$, monoterpene oxigenado		0,1
30,38	$C_{10}H_{16}O$, monoterpene oxigenado		0,5
30,96	Timol		46,9
31,33	Carvacrol		27,0
31,54	$C_{10}H_{16}O$, monoterpene oxigenado		0,1

Figura 33. Composición del aceite esencial de *Lippia origanoides*.

	LABORATORIO DE CROMATOGRAFÍA Y ESPECTROMETRÍA DE MASAS UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER	CÓDIGO: CH-FSE-12
	INFORME DE RESULTADOS Código: 991689-AI	VERSIÓN: 04 Página 3 de 7

Tabla 1. Identificación presuntiva, tiempos de retención (t_R) y cantidad relativa (%) de los componentes presentes en el aceite esencial enviado por el cliente **PROMOTORA DE INNOVACIÓN EN BIOTECNOLOGÍA S.A.S – PROMITEC** y analizado por GC/MS (*full scan*).

t_R , min	Identificación tentativa	Cantidad relativa, %	
		991689-01-AI	ACEITE ESENCIAL Tomillo TI-2
8,3	2-Metilbutanoato de metilo		0,1
14,6	α -Tujeno		1,0
14,9	α -Pinoeno		1,1
15,6	Canfeno		0,8
16,9	β -Pinoeno		0,3
17,1	Oct-1-en-3-ol		0,8
17,3	β -Mirceeno		1,3
17,8	Octan-3-ol		0,1
18,1	α -Felandreno		0,2
18,2	Δ^3 -Careno		0,1
18,6	α -Terpinoeno		1,7
19,1	p-Climeno		22,3
19,2	Limoneno		0,5
19,3	1,8-Cineol		1,6
20,4	γ -Terpinoeno		9,4
20,9	Hidrato de sabineno		1,5
21,5	Terpinoleno		0,1
22,1	Linalol		3,4
24,1	Alcanfor		0,8
25,1	Borneol		2,1
25,3	Terpinen-4-ol		0,8
26,1	α -Terpineol		0,2

	LABORATORIO DE CROMATOGRAFÍA Y ESPECTROMETRÍA DE MASAS UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER	CÓDIGO: CH-FSE-12
	INFORME DE RESULTADOS Código: 991689-AI	VERSIÓN: 04 Página 4 de 7

Tabla 1. Continuación.

t_R , min	Identificación tentativa	Cantidad relativa, %	
		991689-01-AI	ACEITE ESENCIAL Tomillo TI-2
27,0	Timil metil éter		1,6
27,4	Carvacril metil éter		1,4
28,2	Geraniol		0,3
29,6	Timol		35,5
29,9	Carvacrol		2,7
31,1	Acetato de timilo		0,2
32,7	β -Bourbuneno		0,2
34,1	<i>trans</i> - β -Cariofileno		4,7
35,0	No identificado		0,3
35,5	Propanoato de geraniol		0,3
36,0	γ -Muuroloeno		0,4
37,3	γ -Cadineno		0,5
37,4	δ -Cadineno		0,5
39,58	Óxido de cariofileno		1,2

Figura 34. Composición del aceite esencial de *Thymus vulgaris*.

Tabla 4. Identificación presuntiva, tiempos de retención (t_R) y cantidad relativa (%) de los componentes presentes en el aceite esencial enviado por el cliente PROMOTORA DE INNOVACIÓN EN BIOTECNOLOGÍA S.A.S – PROMITEC y analizado por GC/MS (full scan).

t_R min	Identificación tentativa	Cantidad relativa, %	
		990881-04-AI	ACEITE ESENCIAL ROMERO (GA/RSPC/0018)
15,80	Tricideno		0,1
15,93	α -Tujeno		0,1
16,37	α -Pinoeno		11,0
17,06	Canfeno		0,2
18,05	Sabineno		tr
18,40	β -Pinoeno		10,5
18,69	β -Miraceno		0,2
19,52	α -Felandreno		tr
19,62	Δ^3 -Careno		tr
19,98	α -Terpinoeno		tr
20,43	p -Cimeno		4,8
20,87	β -Cineol		29,6
21,80	γ -Terpinoeno		6,6
23,77	$C_{10}H_{16}O_2$, monoterpino oxigenado		0,7

	LABORATORIO DE CROMATOGRFÍA Y ESPECTROMETRÍA DE MASAS UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER	CÓDIGO: CM-FSE-12
	INFORME DE RESULTADOS	VERSIÓN: 04
	Código: 990881-AI	Página 7 de 12

Tabla 4. Continuación.

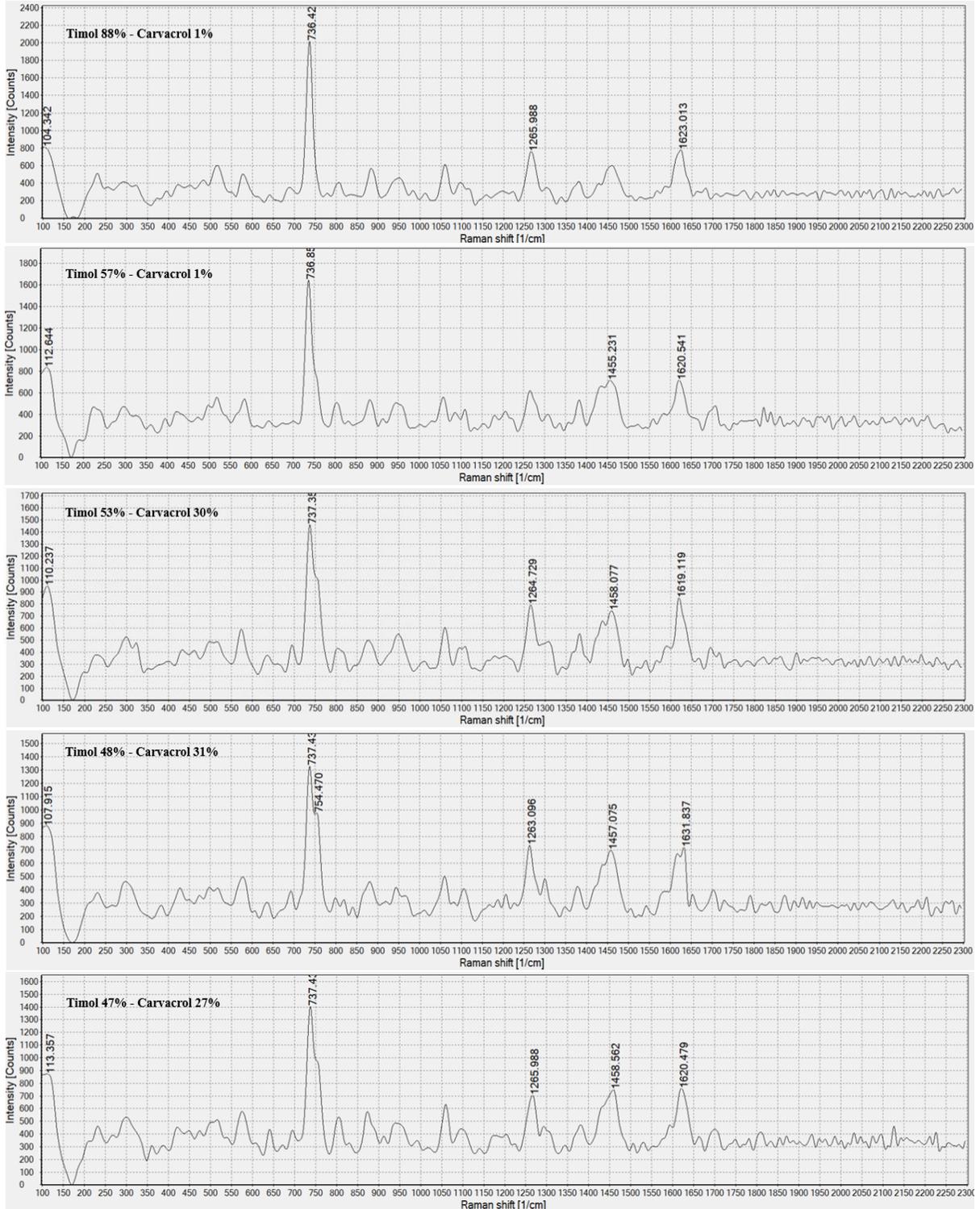
t_R min	Identificación tentativa	Cantidad relativa, %	
		990881-04-AI	ACEITE ESENCIAL ROMERO (GA/RSPC/0018)
25,67	Alcanfor		19,9
26,11	Isoborneol		0,1
26,42	endo-Borneol		0,2
27,27	α -Terpinoeno		2,2
27,40	γ -Terpinoeno		0,4
35,70	trans- β -Cariofileno		0,1
36,72	4,11,11-Trimetil-8-metileno-biciclo[7,2,0]undec-3-eno		0,3
37,03	α -Humuleno		5,0
41,12	Óxido de cariofileno		7,5
45,85	N.I.		0,3
46,00	N.I.		0,1

N.I. → No identificado

Figura 35. Composición del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis*.

Apéndice F

Espectros Raman promedio de aceites esenciales quimiotipo timol y 1,8-cineol



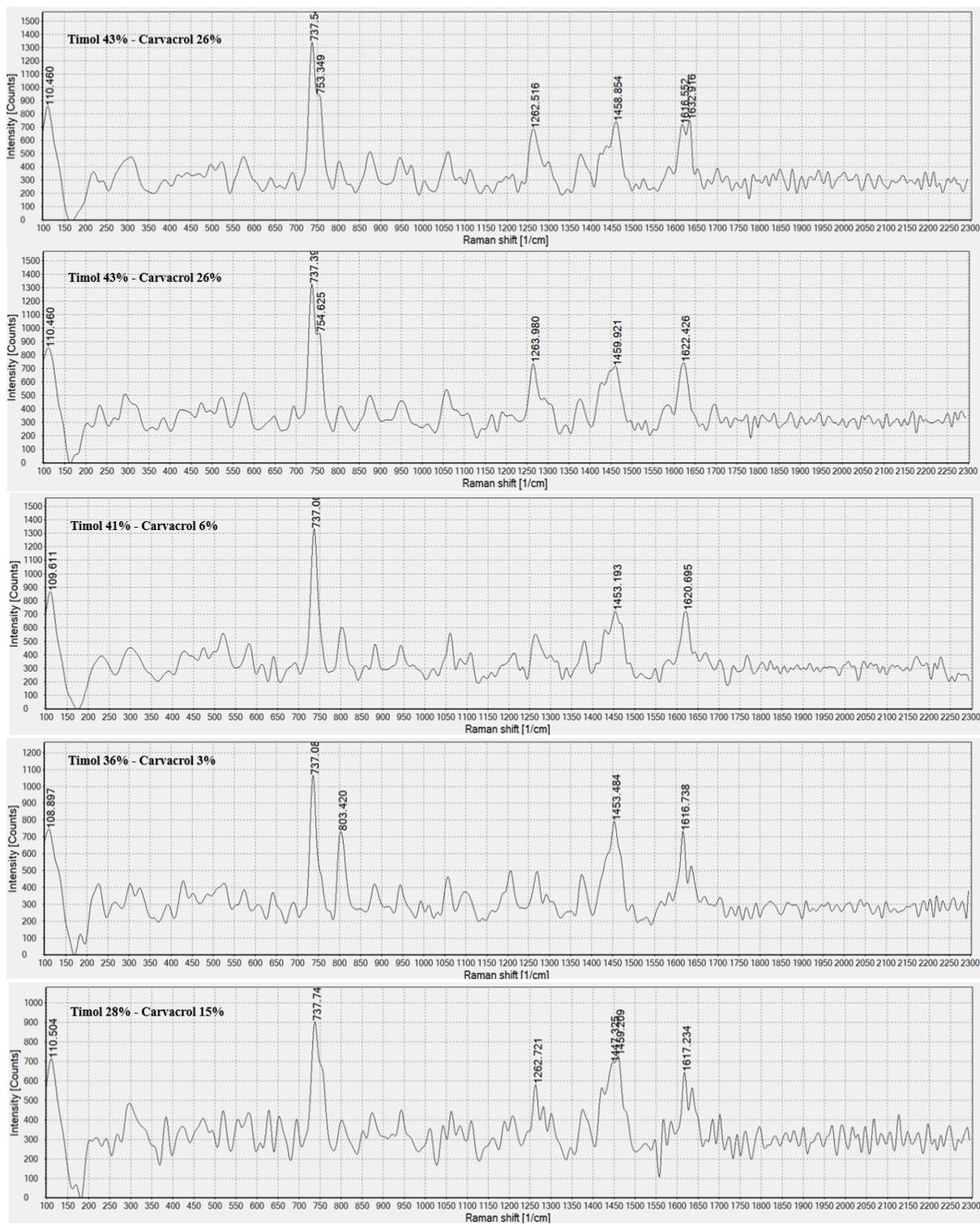
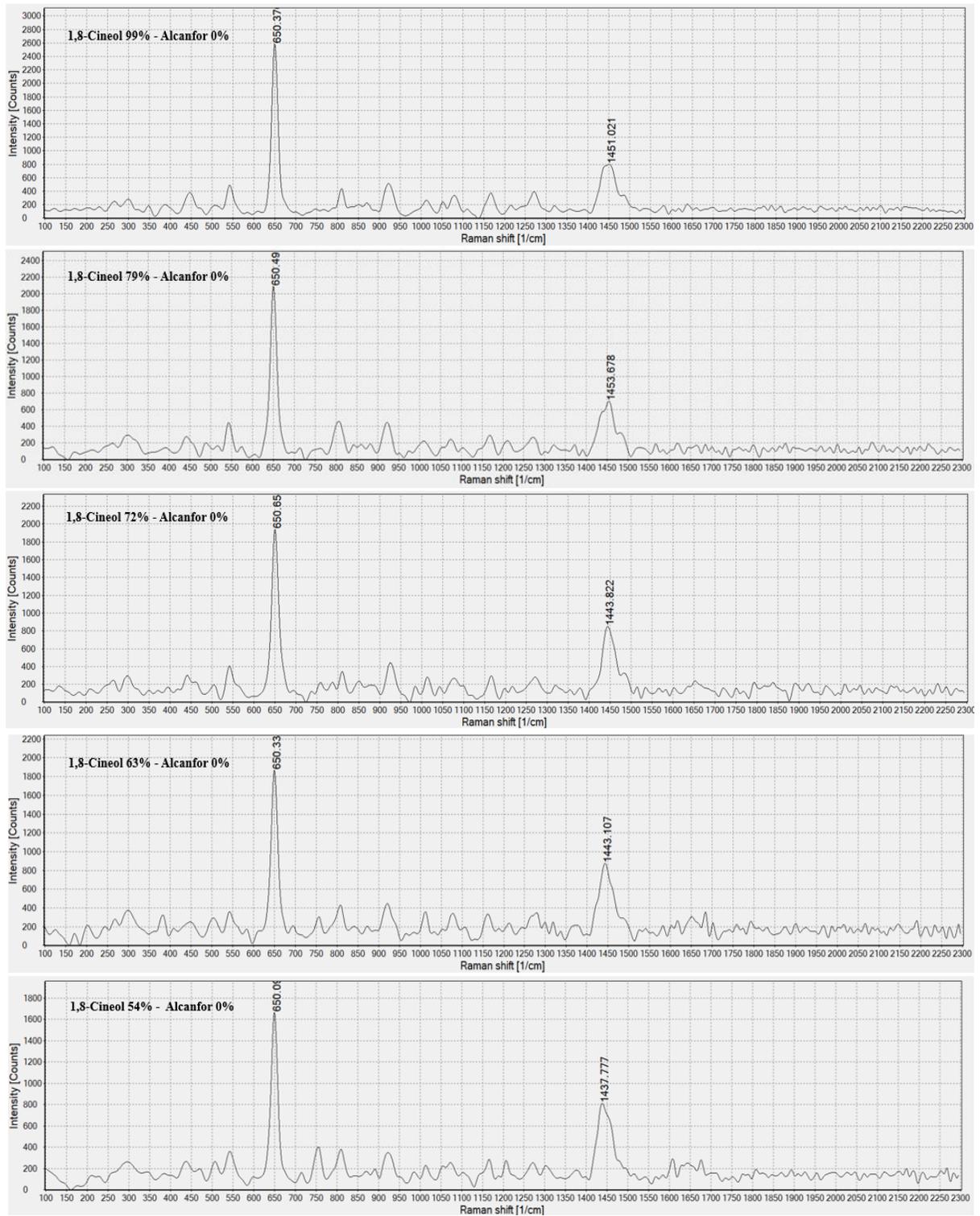


Figura 36. Espectros de aceites esenciales quimiotipo timol (100 Scans-1800 msec-300 W)



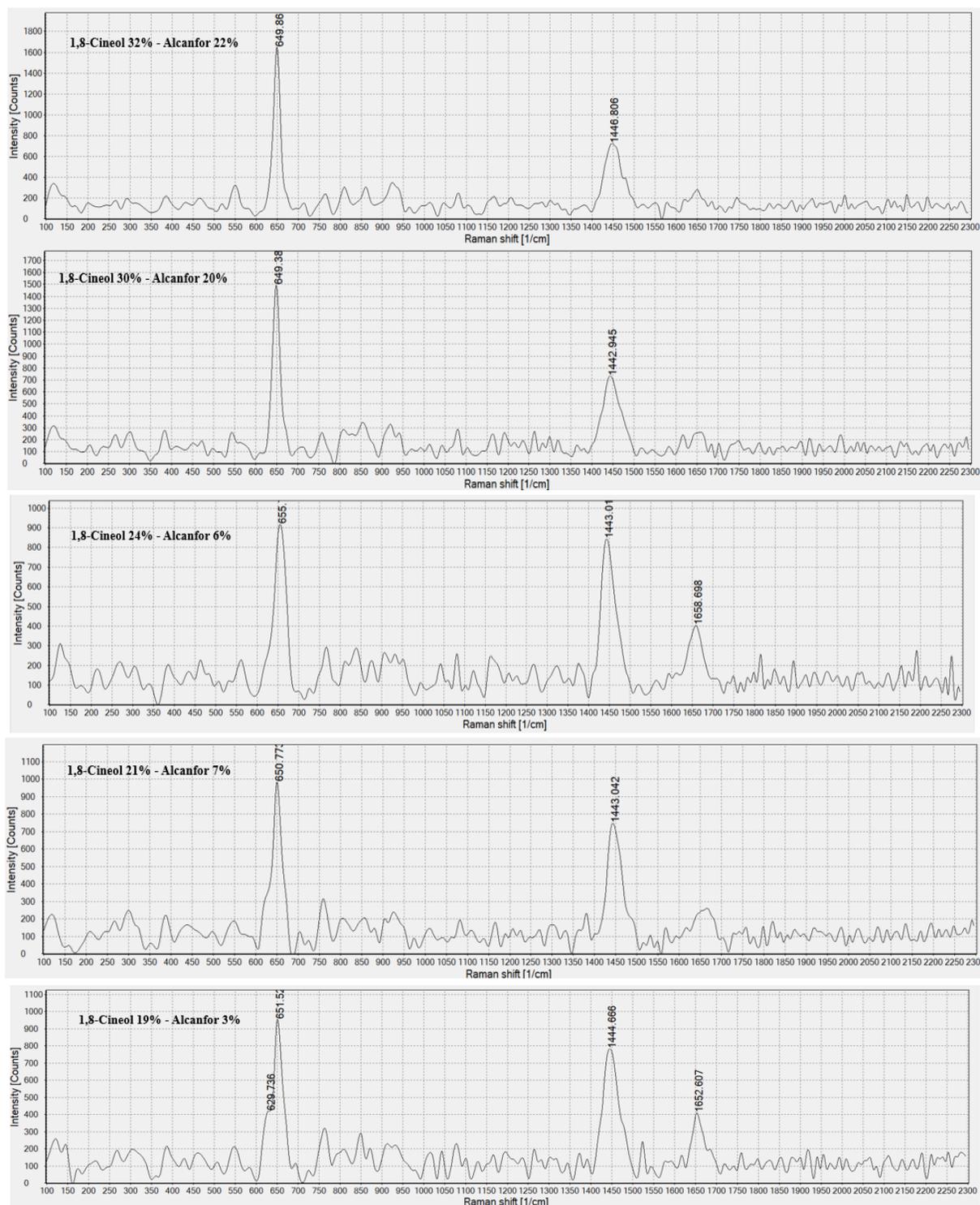


Figura 37. Espectros de aceites esenciales quimiotipo 1,8-cineol (100 Scans-1800 msec-300 W)

Apéndice G

Composición de emulsiones o/w con único emulsificante

Tabla 20. *Composiciones con aceite vegetal*

Fase oleosa (% p/p)	Aceite Vegetal (% p/p)	Agua (% p/p)	Velocidad de agitación (rpm)	HLB
20	0	80	1250	7,00
20	0	80	2500	
30	0	70	1250	7,00
30	0	70	2500	
20	10	70	1250	7,00
20	10	70	2500	
30	10	60	1250	7,00
30	10	60	2500	
20	20	60	1250	7,00
20	20	60	2500	
30	20	50	1250	7,00
30	20	50	2500	
20	30	50	1250	7,00
20	30	50	2500*	
30	30	40	1250	7,00
30	30	40	2500	

Nota: *Emulsión con mayor tiempo de estabilidad (10 minutos).

Tabla 21. *Composiciones con tween 80*

Fase oleosa (% p/p)	Tween 80 (% p/p)	Agua (% p/p)	Velocidad de agitación (rpm)	HLB
20	0	80	1250	
20	0	80	2500	0,00
30	0	70	1250	
30	0	70	2500	
20	10	70	1250	15,00
20	10	70	2500	
30	10	60	1250	15,00
30	10	60	2500	
20	20	60	1250*	15,00
20	20	60	2500*	
30	20	50	1250	15,00
30	20	50	2500	
20	30	50	1250	15,00
20	30	50	2500	
30	30	40	1250*	15,00
30	30	40	2500*	

Nota: *Emulsiones con mayor tiempo de estabilidad (1 a 12 días).

Tabla 22. *Composiciones con tween 20*

Fase oleosa (% p/p)	Tween 20 (% p/p)	Agua (% p/p)	Velocidad de agitación (rpm)	HLB
20	0	80	1250	0,00
20	0	80	2500	
30	0	70	1250	
30	0	70	2500	
20	10	70	1250	16,70
20	10	70	2500	
30	10	60	1250	16,70
30	10	60	2500	
20	20	60	1250*	16,70
20	20	60	2500*	
30	20	50	1250	16,70
30	20	50	2500*	
20	30	50	1250	16,70
20	30	50	2500	
30	30	40	1250	16,70
30	30	40	2500	

Nota: *Emulsiones con mayor tiempo de estabilidad (1 a 20 días).

Apéndice H

Parámetros fisicoquímicos y organolépticos de emulsiones o/w con único emulsificante

Tabla 23. *Emulsión A*

Parámetro	Día 1	Día 3	Días 6 - 9 - 12 - 15
Color	Blanco	Blanco	Amarillo-Blanco
Apariencia	1 fase	1 fase	2 fases
pH	7,45 ± 0,03	6,74 ± 0,02	-
Viscosidad (cSt)	14,140 ± 0,039	13,736 ± 0,016	-
Densidad (g/mL)	1,010 ± 0,001	1,012 ± 0,001	-

Nota: Estable durante 4 días (separación de fases).

Tabla 24. *Emulsión B*

Parámetro	Día 1	Día 3	Día 6	Día 9	Día 12	Día 15
Color	Blanco	Blanco	Blanco	Blanco	Blanco	Amarillo-Blanco
Apariencia	1 fase	1 fase	1 fase	1 fase	1 fase	2 fases
pH	7,42 ± 0,02	6,90 ± 0,09	6,42 ± 0,02	6,13 ± 0,08	5,44 ± 0,02	-
Viscosidad (cSt)	14,284 ± 0,083	9,266 ± 0,039	7,863 ± 0,047	7,704 ± 0,015	7,667 ± 0,029	-
Densidad (g/mL)	1,006 ± 0,002	1,006 ± 0,001	1,007 ± 0,001	1,009 ± 0,001	1,012 ± 0,001	-

Nota: Estable durante 12 días (separación de fases).

Tabla 25. *Emulsión C*

Parámetro	Día 1	Días 3 - 6 - 9	Días 12 - 15
Color	Blanco	Amarillo-Blanco	2 tonos amarillo
Apariencia	1 fase	2 fases	2 fases

Parámetro	Día 1	Días 3 - 6 - 9	Días 12 - 15
pH	7,05 ± 0,04	-	-
Viscosidad (cSt)	25,348 ± 0,040	-	-
Densidad (g/mL)	1,011 ± 0,001	-	-

Nota: Estable durante 1 día (separación de fases).

Tabla 26. *Emulsión D*

Parámetro	Día 1	Día 3	Día 6	Días 9 - 12 - 15
Color	Blanco	Blanco	Blanco	Amarillo-Blanco
Apariencia	1 fase	1 fase	1 fase	2 fases
pH	6,949 ± 0,03	5,821 ± 0,06	5,123 ± 0,02	-
Viscosidad (cSt)	25,564 ± 0,042	15,328 ± 0,024	15,552 ± 0,035	-
Densidad (g/mL)	1,010 ± 0,001	1,012 ± 0,000	1,014 ± 0,001	-

Nota: Estable durante 6 días (separación de fases).

Tabla 27. *Emulsión E*

Parámetro	Día 1	Día 3	Día 6	Día 9	Días 12 - 15
Color	Blanco	Blanco	Blanco	Blanco	Amarillo-Blanco
Apariencia	1 fase	1 fase	1 fase	1 fase	2 fases
pH	5,95 ± 0,05	4,74 ± 0,02	3,98 ± 0,01	3,62 ± 0,02	-
Viscosidad (cSt)	7,698 ± 0,022	5,518 ± 0,029	4,778 ± 0,022	4,669 ± 0,030	-
Densidad (g/mL)	1,009 ± 0,000	1,011 ± 0,001	1,012 ± 0,001	1,016 ± 0,001	-

Nota: Estable durante 9 días (separación de fases).

Tabla 28. *Emulsión G*

Parámetro	Día 1 - 3	Días 6 - 9	Días 12 - 15
Color	Amarillo-Beige	2 tonos amarillo	Amarillo-Incoloro
Apariencia	2 fases	2 fases	2 fases

Nota: pH, viscosidad y densidad no se realizaron por su inestabilidad. Estable por 1 hora (separación de fases).

Tabla 29. *Emulsión H*

Parámetro	Día 1	Días 3 - 6	Días 9 - 12	Día 15
Color	Amarillo-Beige	Amarillo-Beige	2 tonos amarillo	Amarillo-Incoloro
Apariencia	2 fases	2 fases	2 fases	2 fases
pH	5,43 ± 0,02	-	-	-
Viscosidad (cSt)	22,380 ± 0,031	-	-	-
Densidad (g/mL)	1,027 ± 0,001	-	-	-

Nota: Estable durante 1 día (separación de fases).

Apéndice I

Composición de emulsiones o/w con mezcla de emulsificantes

Tabla 30. *Composiciones con aceite vegetal – tween 80*

Fase oleosa (% p/p)	Aceite Vegetal (% p/p)	Tween 80 (% p/p)	Agua (% p/p)	Velocidad de agitación (rpm)	HLB
20	15	15	50	1250	11,00
20	15	15	50	2500*	
30	15	15	40	1250	11,00
30	15	15	40	2500*	
20	10	20	50	1250	12,21
20	10	20	50	2500*	
30	10	20	40	1250	12,21
30	10	20	40	2500*	
20	20	10	50	1250	9,57
20	20	10	50	2500	
30	20	10	40	1250	9,57
30	20	10	40	2500	

Nota: *Emulsiones con mayor tiempo de estabilidad (1 a 20 días).

Tabla 31. *Composiciones con aceite vegetal – tween 20*

Fase oleosa (% p/p)	Aceite Vegetal (% p/p)	Tween 20 (% p/p)	Agua (% p/p)	Velocidad de agitación (rpm)	HLB
20	15	15	50	1250	11,85
20	15	15	50	2500*	
30	15	15	40	1250	11,85
30	15	15	40	2500	
20	10	20	50	1250	13,33
20	10	20	50	2500*	

Fase oleosa (% p/p)	Aceite Vegetal (% p/p)	Tween 20 (% p/p)	Agua (% p/p)	Velocidad de agitación (rpm)	HLB
30	10	20	40	1250	13,33
30	10	20	40	2500*	
20	20	10	50	1250	10,13
20	20	10	50	2500	
30	20	10	40	1250	10,13
30	20	10	40	2500	

Nota: *Emulsiones con mayor tiempo de estabilidad (9 a 40 días).

Tabla 32. *Composiciones con tween 80 – tween 20*

Fase oleosa (% p/p)	Tween 80 (% p/p)	Tween 20 (% p/p)	Agua (% p/p)	Velocidad de agitación (rpm)	HLB
20	15	15	50	1250	15,85
20	15	15	50	2500*	
30	15	15	40	1250	15,85
30	15	15	40	2500	
20	10	20	50	1250	15,97
20	10	20	50	2500	
30	10	20	40	1250	15,97
30	10	20	40	2500	
20	20	10	50	1250	15,41
20	20	10	50	2500	
30	20	10	40	1250	15,41
30	20	10	40	2500	

Nota: *Emulsiones con mayor tiempo de estabilidad (hasta 60 días).

Apéndice J

Parámetros fisicoquímicos y organolépticos de emulsiones o/w con mezcla de emulsificantes

Tabla 33. Emulsión I

Parámetro	Día 1	Día 3	Día 6	Día 9	Día 12	Día 15	Día 20
Color	Blanco	Blanco	Blanco	Blanco	Blanco	Blanco	Blanco
Apariencia	1 fase	1 fase	1 fase	1 fase	1 fase	1 fase	1 fase
pH	6,38 ±	5,63 ±	5,22 ±	4,86 ±	4,73 ±	4,38 ±	4,22 ±
	0,01	0,01	0,11	0,05	0,03	0,02	0,01
Viscosidad	56,686 ±	43,632 ±	36,872 ±	29,473	26,561 ±	22,873	22,646
(cSt)	0,035	0,019	0,026	± 0,023	0,031	± 0,028	± 0,024
Densidad	1,000 ±	1,001 ±	1,002 ±	1,003 ±	1,004 ±	1,005 ±	1,005 ±
(g/mL)	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,000

Nota: Estable 20 días (gotas de aceite en la superficie) y separación de fases después de 23 días.

Tabla 34. Emulsión J

Parámetro	Día 1	Día 3	Día 6	Día 9	Día 12	Día 15	Día 20	Día 25
Color	Blanco							
Apariencia	1 fase							
pH	5,67 ±	4,85 ±	4,28 ±	4,10 ±	4,06 ±	3,82 ±	3,72 ±	3,64 ±
	0,06	0,03	0,05	0,02	0,02	0,01	0,01	0,00
Viscosidad	48,694	39,539	33,270	28,259	25,727	23,173	21,336	19,876
(cSt)	± 0,033	± 0,022	± 0,040	± 0,047	± 0,013	± 0,020	± 0,015	± 0,030
Densidad	0,997 ±	0,997 ±	0,998 ±	0,999 ±	0,999 ±	1,000 ±	1,002 ±	1,003 ±
(g/mL)	0,010	0,000	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001

Nota: Día 30 estable (pH= 3,58 ± 0,01 – viscosidad= 19,275 ± 0,018 – densidad= 1,004 ± 0,001

g/ml), estable durante 30 días (gotas de aceite en la superficie) y separación de fases después de 35 días.

Tabla 35. *Emulsión K*

Parámetro	Día 1	Día 3	Día 6	Día 9	Día 12	Día 15
Color	Blanco	Blanco	Blanco	Blanco	Amarillo claro-Blanco	Amarillo -Blanco
Apariencia	1 fase	1 fase	1 fase	1 fase	2 fases	2 fases
pH	5,89 ± 0,05	5,24 ± 0,01	4,65 ± 0,01	4,39 ± 0,02	-	-
Viscosidad (cSt)	42,365 ± 0,024	30,541 ± 0,039	29,744 ± 0,041	29,684 ± 0,010	-	-
Densidad (g/mL)	1,001 ± 0,001	1,002 ± 0,001	1,002 ± 0,001	1,004 ± 0,000	-	-

Nota: Estable durante 9 días (gotas de aceite en la superficie) y separación de fases después de 10 días.

Tabla 36. *Emulsión L*

Parámetro	Día 1	Día 3	Día 6	Día 9	Día 12	Día 15
Color	Blanco	Blanco	Blanco	Blanco	Blanco	Blanco
Apariencia	1 fase					
pH	6,12 ± 0,04	5,29 ± 0,01	4,42 ± 0,05	4,20 ± 0,01	4,10 ± 0,01	3,86 ± 0,03
Viscosidad (cSt)	39,290 ± 0,035	33,123 ± 0,021	28,849 ± 0,042	25,953 ± 0,026	24,146 ± 0,032	22,936 ± 0,022
Densidad (g/mL)	0,992 ± 0,001	0,993 ± 0,001	0,994 ± 0,000	0,995 ± 0,001	0,996 ± 0,001	0,997 ± 0,001

Parámetro	Día 20	Día 25	Día 30	Día 35*	Día 40*
Color	Blanco	Blanco	Blanco	Blanco	Blanco
Apariencia	1 fase	1 fase	1 fase	1 fase	1 fase
pH	3,75 ±	3,65 ±	3,58 ±	3,49 ±	3,50 ±
	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Viscosidad (cSt)	20,666	18,829	17,852	17,340	42,101
	± 0,022	± 0,025	± 0,032	± 0,022	± 0,030
Densidad (g/mL)	0,997 ±	0,997 ±	0,998 ±	0,999 ±	1,001 ±
	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001

Nota: *Se miden los parámetros hasta inestabilidad (gotas de aceite en la superficie), estable durante 42 días y separación de fases después de 60 días.

Apéndice K

Parámetros fisicoquímicos y organolépticos de emulsiones o/w con estabilizantes

Tabla 37. Emulsión N

Parámetro	Día 1	Día 10	Día 20	Día 30	Día 40
Color	Blanco	Blanco	Blanco	Blanco	Blanco
Apariencia	1 fase				
pH	7,03 ±	6,41 ±	5,62 ±	5,41 ±	5,08 ±
	0,01	0,01	0,02	0,03	0,02
Viscosidad (cSt)	167,366	102,646	87,249	82,855	81,223
	± 0,030	± 0,044	± 0,035	± 0,034	± 0,032
Densidad (g/mL)	0,964 ±	0,966 ±	0,969 ±	0,971 ±	0,974 ±
	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001

Nota: Estable durante 43 días (separación de fases).

Tabla 38. Emulsión O

Parámetro	Día 1	Día 10	Día 20	Día 30	Día 40	Día 50
Color	Blanco	Blanco	Blanco	Blanco	Blanco	Blanco
Apariencia	1 fase					
pH	7,25 ±	6,57 ±	5,85 ±	5,60 ±	5,43 ±	5,21 ±
	0,04	0,02	0,06	0,04	0,03	0,02
Viscosidad (cSt)	251,383	163,657	139,742	125,764	118,559	113,789
	± 0,035	± 0,047	± 0,036	± 0,034	± 0,044	± 0,036
Densidad (g/mL)	0,957 ±	0,961 ±	0,963 ±	0,965 ±	0,967 ±	0,970 ±
	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001

Nota: Estable durante 51 días (separación de fases).

Tabla 39. *Emulsión P*

Parámetro	Día 1	Día 10	Día 20	Día 30	Día 40	Día 50
Color	Blanco	Blanco	Blanco	Blanco	Blanco	Blanco
Apariencia	1 fase	1 fase	1 fase	1 fase	1 fase	1 fase
pH	6,83 ±	6,04 ±	5,99 ±	5,87 ±	5,54 ±	5,38 ±
	0,04	0,03	0,04	0,04	0,02	0,02
Viscosidad (cSt)	76,047	51,765	45,721	42,153	39,844	37,550
	± 0,043	± 0,038	± 0,023	± 0,037	± 0,022	± 0,036
Densidad (g/mL)	0,987 ±	0,988 ±	0,988 ±	0,989 ±	0,990 ±	0,991 ±
	0,001	0,000	0,001	0,000	0,001	0,001

Nota: Estable durante 56 días (gotas de aceite en la superficie) y separación de fases después de 58 días.

Tabla 40. *Emulsión Q*

Parámetro	Día 1	Día 10	Día 20	Día 30	Día 40	Día 50	Día 60	Día 70
Color	Blanco	Blanco	Blanco	Blanco	Blanco	Blanco	Blanco	Blanco
Apariencia	1 fase	1 fase	1 fase	1 fase	1 fase	1 fase	1 fase	1 fase
pH	7,41 ±	7,30 ±	7,19 ±	7,02 ±	6,93 ±	6,68 ±	6,31 ±	6,12 ±
	0,01	0,04	0,03	0,02	0,02	0,02	0,01	0,02
Viscosidad (cSt)	86,634	65,271	56,656	53,243	50,161	49,466	47,252	46,570
	± 0,034	± 0,033	± 0,025	± 0,041	± 0,035	± 0,032	± 0,032	± 0,023
Densidad (g/mL)	0,982 ±	0,982 ±	0,983 ±	0,983 ±	0,983 ±	0,984 ±	0,984 ±	0,985 ±
	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001

Nota: Estable durante 77 días (gotas de aceite en la superficie) y separación de fases después de 100 días.

Tabla 41. *Emulsión R*

Parámetro	Día 1	Día 10	Día 20	Día 30	Día 40	Día 50	Día 60
Color	Blanco	Blanco	Blanco	Blanco	Blanco	Blanco	Blanco
Apariencia	1 fase	1 fase	1 fase	1 fase	1 fase	1 fase	1 fase
pH	7,45 ±	7,37 ±	7,22 ±	7,08 ±	6,91 ±	6,73 ±	6,37 ±
	0,03	0,02	0,02	0,03	0,01	0,02	0,03
Viscosidad (cSt)	118,927	81,509	71,879	65,150	61,387	60,038	58,249
	± 0,026	± 0,017	± 0,023	± 0,046	± 0,035	± 0,044	± 0,032
Densidad (g/mL)	0,981 ±	0,981 ±	0,982 ±	0,982 ±	0,983 ±	0,983 ±	0,984 ±
	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001

Nota: Estable durante 65 días (gotas de aceite en la superficie) y separación de fases después de 82 días.

Tabla 42. *Emulsión T*

Parámetro	Día 1	Día 10	Día 20	Día 30	Día 40	Día 50	Día 60	Día 70
Color	Blanco	Blanco	Blanco	Blanco	Blanco	Blanco	Blanco	Blanco
Apariencia	1 fase	1 fase	1 fase	1 fase	1 fase	1 fase	1 fase	1 fase
pH	5,99 ±	5,88 ±	5,59 ±	5,50 ±	5,32 ±	5,13 ±	4,92 ±	4,85 ±
	0,03	0,02	0,03	0,02	0,02	0,03	0,02	0,03
Viscosidad (cSt)	1812,657	1450,148	1290,545	1161,540	1104,923	1051,134	1010,333	961,068
	± 0,055	± 0,065	± 0,079	± 0,075	± 0,061	± 0,106	± 0,075	± 0,075
Densidad (g/mL)	0,966 ±	0,967 ±	0,967 ±	0,968 ±	0,969 ±	0,969 ±	0,970 ±	0,971 ±
	0,001	0,001	0,000	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001

Nota: Día 80 estable (pH=4,83 ± 0,03 – viscosidad= 920,233 ± 0,068 – densidad=0,972 ± 0,001 g/ml), estable durante 82 días (gotas de aceite en la superficie) y separación de fases después de 85 días.