

NANO Y MICRO EMULSIONES QUE COMPRENDEN ACEITES ESENCIALES Y/O VEGETALES E HIDROCOLOIDES Y SU MÉTODO DE OBTENCIÓN

CAMPO TÉCNICO

[0001] La presente invención se encuentra relacionada con el campo técnico de las nanoemulsiones y las microemulsiones. Particularmente, se encuentra relacionada con nanoemulsiones y microemulsiones que comprenden sustancias hidrófobas (como aceites esenciales y/o vegetales) e hidrocoloides, en donde los hidrocoloides actúan como un envoltorio protector y/o vehículo de transporte de los componentes activos de las sustancias hidrófobas. Igualmente, la presente solicitud se refiere a los métodos de obtención de dichas nano y micro emulsiones.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

[0002] El documento US4835002A se refiere a una microemulsión comestible que comprende un concentrado de aceite esencial en una matriz de agua y alcohol seleccionado del grupo que consiste en etanol, propilenglicol, glicerina, azúcar, alcohol de azúcar y sus mezclas, comprendiendo dicha microemulsión aproximadamente de 1 a 25% en peso de dicho aceite esencial, aproximadamente de 1 a 30% en peso de al menos un agente tensioactivo con un valor de HLB de alrededor de 10 a 18, y aproximadamente de 0 a 25% en peso de dicho alcohol, siendo el resto agua, hasta 100% en peso.

[0003] El documento US20070178144A1 evidencia la obtención de emulsiones cosméticas que se pueden preparar en frío, de baja viscosidad y estabilidad prolongada. La emulsión de O/W donde el componente emulsionante es no iónico que consiste en una mezcla en peso de ésteres parciales de poliglicerol mayor al 25% y no superior al 100% y entre un peso no mayor al 75% de ésteres de sorbitán que contienen, una fase oleosa no mayor al 18%, y la fase acuosa entre el 80 a 99% en peso.

[0004] El documento WO2013087791A1 se refiere a una emulsión de agua en aceite, que comprende una fase hidrófoba continua en la que se dispersa la fase hidrófila, con un contenido total de agua en el intervalo de 30% a 95% (p/p); la fase hidrófoba tiene una relación de moléculas anfífilas de bajo balance hidrófilo-lipófilo a aceites en el rango de 50% a 96% (p/p); y la fase hidrófoba continua se hace de nanoestructuras cristalinos líquidos liotrópicos que incluyen 5% al 40% (p/p) de agua, y un valor HLB en el intervalo entre 4 y 11. Además, se expone la emulsión a

métodos de alta energía en un equipo de alta cizalla a 4.000 rpm, a temperatura de aproximadamente 40°C, presentando un tamaño de gota de un diámetro entre 0,1 a 50 µm.

[0005] El documento EP0433132A1 evidencia una composición cosmética para aplicación tópica que contiene aceites esenciales. Esta composición presenta tamaños de gotas entre 100 a 10.000 nm, preparadas a partir de una fase hidrófoba que comprende al menos un lípido anfifílico no iónico derivado de poliglicerol lineales o ramificados, opcionalmente en combinación con al menos un aditivo estabilizante seleccionado del grupo formado por esteroides y estabilizadores aniónicos entre los cuales se encuentran sales de monosodio, glutamatos de acilo, en donde el radical acilo es un (C₁₄-C₂₂) y ésteres de ácido fosfórico de alcoholes grasos (C₁₂-C₂₂).

[0006] El documento US20080255247A1 se refiere a una emulsión O/W (aceite en agua), que comprende gotas de aceite dispersadas que tienen un interior estructurado auto-ensamblado de tamaño nano con un diámetro de 0,5 a 200 nm, que comprende un aceite, un aditivo lipófilo (LPA), dominios hidrófilos en forma de gotitas o canales que comprenden agua o un líquido polar no acuoso, y una fase continua acuosa, que comprende un emulsionante hidrófilo.

[0007] El documento WO2010036938A2 se refiere a una nanoemulsión para la prevención de una infección respiratoria. Comprende agua, Tween 80, aceite de soya entre otros, etanol o glicerol, cloruro de benzalconio, la cantidad de la fase oleosa comprende un rango entre 10-80%. Además, la composición requiere de agente secuestrante EDTA 0.01 mM-50mM. Revelando un diámetro de gota promedio de 1000nm aproximadamente.

[0008] El artículo Study of Formulation and Stability of Co-surfactant Free Water-in-Olive Oil Nano-and Submicron Emulsions with Food Grade Non-ionic Surfactants, JOURNAL OF THE AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY, vol. 91, January 2014 (2014-01-01), se refiere a la preparación de nanoemulsiones con aceite de oliva usando tensioactivos no iónicos, Tween 20, Tween 40, Tween 60, Tween 80, Span 20 y Span 80. El aceite y el tensioactivo se mezclan usando un homogeneizador de alta velocidad (CAT Unidrive 1000, CAT la Ciencia, Ca., EE.UU.) a 12.000 rpm, y luego se añadió la cantidad necesaria de agua en forma de gotas. Así se obtiene una nanoemulsión w/o (agua en aceite) sin la adición de un co-tensioactivo.

[0009] El documento ES2365076 T3 evidencia el procedimiento de micro-encapsular un material hidrófobo por coacervación. Los materiales hidrófobos se consideran generalmente como materiales que no son miscibles en agua a 25°C y, cuando se añaden a ella, forman una fase hidrófoba, separada. Son reveladas partículas de tamaño entre 300 micrómetros a 500 micrómetros.

Y relaciones de proteína y polisacárido en peso correspondiente respectivamente a 5:1 y ajuste de pH entre 4,6 a 5,0.

[0010] El artículo Microencapsulation of sweet orange oil by complex coacervation with soybean protein isolate/gum Arabic. X. Jun-xia et al./Food Chemistry 125 (2011) 1267–1272 se refiere a la microencapsulación de aceite de naranja dulce por medio de la técnica de coacervación compleja, interacción de biopolímeros proteína/polisacárido; proteína de aislado de soja y goma arábiga en relación 1:1. La proteína se somete a sonicación por 10 min. para aumentar la solubilidad. Las soluciones se ajustaron al pH deseado con una solución de (ácido clorhídrico 1mol).

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCIÓN

[0011] De acuerdo con lo anterior, los inventores de la presente invención han identificado la necesidad en el campo técnico de emulsiones en las que se puedan encapsular aceites esenciales y vegetales que proporcionen biomoléculas de gran interés industrial, que debido a su carácter oleoso es complicado incorporarlos en productos de base acuosa. También, los inventores han identificado la necesidad de emulsiones en las que se puedan realizar esta encapsulación mediante biopolímeros naturales, tales como proteínas y polisacáridos, para crear una amplia gama de sistemas de suministro adecuados para encapsular, proteger y suministrar componentes funcionales lipófilos, para que posteriormente puedan ser incorporados en alimentos, bebidas, cremas, espumas, formulaciones cosméticas y farmacéuticas, entre otras.

[0012] Adicionalmente, los inventores han identificado en el campo técnico que existe una necesidad de que estas emulsiones puedan tener un tamaño de gota en escala nano y micro, para que sean más traslúcidas y así puedan usarse sin afectar la apariencia del producto final. Además, los inventores identificaron la necesidad de que este tipo de emulsiones puedan ser obtenidas sin la necesidad de incorporar los agentes plastificantes y agentes secuestrantes o co-tensioactivos que comprenden las emulsiones ya existentes para disolver, solubilizar, modificar o ajustar el pH de las partículas dispersas en el medio para obtener sistemas emulsionados.

[0013] De manera similar, los inventores han identificado la necesidad en el campo técnico de métodos de obtención de estas emulsiones que no requieran de la utilización de equipos de alta energía o de fuerza bruta.

[0014] Los inventores proporcionan en la presente solicitud nuevas nano y micro emulsiones y sus métodos de obtención que superan algunas las necesidades mencionadas. Estas nano y micro

emulsiones comprenden sustancias hidrófobas (como aceites esenciales y/o vegetales) e hidrocoloides (que pueden ser biopolímeros), en donde los hidrocoloides actúan como un envoltorio protector y/o vehículo de transporte de los componentes activos de las sustancias hidrófobas. Estas nano y micro emulsiones son sistemas de dispersión coloidal, formados por la interacción en medio acuoso de los hidrocoloides y la sustancia hidrófoba. Al ser nano y micro emulsiones, el tamaño de gota dispersa en el medio tiene un tamaño de entre 100nm y 10 μ m, teniendo así un aspecto visual traslúcido y de baja turbidez. Adicionalmente, los inventores proporcionan un método de baja energía para obtener dichas nano y micro emulsiones que consiste de forma general en: i) disolver un polielectrolito de carga positiva en agua; ii) verter y dispersar la sustancia hidrófoba en la solución con el polielectrolito de carga positiva previamente diluido, formando una pre-emulsión; iv) disolver a parte un polielectrolito de carga negativa en agua; y verter la solución del polielectrolito de carga negativa en la pre-emulsión obtenida en el paso iii) hasta obtener nano y micro capsulas.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

[0015] La Fig. 1 muestra en 3D (tercera dimensión), las características topográficas de un área seleccionada (3,53 μ m²), de la superficie escaneada por la sonda del AFM (microscopio de fuerza atómica), sobre un área determinada de aproximadamente 6,46 μ m², de la lámina de mica tratada con muestra de 5 μ l de emulsión. A demás esta figura evidencia las dimensiones de una nanocápsula, empleando software Nanosurf C3000.

[0016] La Fig. 2 muestra en 3D (tercera dimensión), las características topográficas de un área seleccionada (51,7 μ m²) de la superficie escaneada por la sonda del AFM (microscopio de fuerza atómica), sobre un área determinada de aproximadamente 103 μ m², de la lámina de mica tratada con muestra de 5 μ l de emulsión. A demás de evidenciar las dimensiones de una microcápsula seleccionada, empleando software Nanosurf C3000.

[0017] La Fig. 3 ilustra una comparación entre las nano y micro emulsiones de la presente solicitud (muestra del medio) y otras dos macroemulsiones (muestras del extremo derecho y extremo izquierdo). Las emulsiones de la presente invención son traslúcidas y de baja turbidez, mientras que las otras dos macroemulsiones tienen un tono amarillo y rojo.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

[0018] La presente invención se refiere a emulsiones a escala nano y micro métrica, y al proceso para obtenerlas. Se refiere a sistemas de dispersión coloidal catalogados nanoemulsiones y/o

microemulsiones, de aspecto visual traslúcido. Estos sistemas comprenden sustancias hidrófobas seleccionadas (aceites esenciales o vegetales), tales como aceite de albahaca, mandarina, lima, citronella, sachá inchi, aguacate, oliva y sus mezclas, e hidrocoloides (proteína/polisacárido), que intervienen como agentes emulsionantes del sistema. Tales sistemas tienen la facultad de comportarse como agentes proveedores de aromas, olores, sabores con propiedades funcionales que, podrán ser incorporadas en alimentos, bebidas, cremas, espumas entre otros productos de la industria, formulaciones farmacéuticas, cosméticas y del sector agrícola.

[0019] Los aceites esenciales son una mezcla compleja de sustancias, biomoléculas de un intenso y aromático olor, generalmente líquidos a temperatura ambiente que poseen componentes volátiles, agentes antimicrobianos, entre otros. Su volatilidad o capacidad de evaporación al contacto con el aire a dicha temperatura los diferencia de los aceites fijos. Dentro de los compuestos aromáticos, el peso molecular se restringe a máximo 250g/mol para que las sustancias puedan volatilizarse (Pauli, 2001). La actividad antimicrobiana de los aceites esenciales se debe a la presencia de sustancias bioactivas como flavonoides, terpenos, cumarinas y carotenos (Viuda-Martos et al., 2008). Los aceites esenciales son arrastrables por el vapor de agua, generalmente llamado destilación por arrastre de vapor caliente. Se obtienen de distintos tipos de material vegetal (plantas); las plantas aromáticas son las que concentran una mayor cantidad de esencias y, por tanto, constituyen la materia prima para su obtención, bien sea empleada toda la planta, sólo sus hojas, flores, frutos o raíces, dependiendo de la planta concreta que se trate (Ortuño, 2006). La densidad de los aceites esenciales varía de 0,84 a 1,18g/cm³; siendo la gran mayoría menos densa que el agua, poseen un índice de refracción elevado, con un promedio de 1,5 y generalmente presentan actividad óptica (Pérez, 2006). Son aceites grasos, fácilmente solubles en solventes orgánicos, como éter de petróleo, cloroformo, benzol o alcohol absoluto; y casi insolubles en agua, a la que comunican su olor (Pérez, 2006). Al ser percibidos por los receptores sensoriales, los estos aceites generan olores y sabores agradables.

[0020] Las macromoléculas de proteína-polisacárido de calidad alimentaria, poseen propiedades emulsionantes e intervienen como agentes surfactantes en el sistema de dispersión coloidal, y son capaces de formar estructuras que tienen la capacidad de actuar como un envoltorio protector y vehículo de transporte de compuestos y componentes activos.

[0021] Las nano y micro emulsiones de la presente invención se obtienen mediante el siguiente proceso: 1. Disolver un polielectrolito de carga positiva en vaso precipitado o (beaker), con determinada cantidad de agua, bajo condiciones de agitación magnética, tratamiento térmico, modificación del medio y ajuste de pH; 2. Verter y dispersar la sustancia hidrófoba en la solución con

el polielectrolito de carga positiva previamente diluido, formando una pre-emulsión (o/w), la cual se mantiene bajo tratamiento térmico y agitación magnética; 3. Disolver a parte en un beaker con determinada cantidad de agua, bajo condiciones un polielectrolito de carga negativa hasta obtención de solución; y 4. Verter la solución del polielectrolito de carga negativa en la pre-emulsión (o/w) previamente obtenida, que permanece bajo condiciones, dejando reaccionar el coacervado hasta obtención de microcapsulas.

[0022] A diferencia de las técnicas existentes para la elaboración de nano y micro emulsiones, el presente método comprende adicionar la sustancia hidrófoba en la solución del polímero de carga negativa (polisacárido), formando una pre-emulsión la cual será vertida en la solución del polímero de carga positiva (proteína). Las soluciones de proteína y polisacárido son realizadas sin la modificación de los medios y sin ajustar el pH del mismo, y son realizadas sólo a través de tratamiento térmico y agitación magnética. Estas diferencias permiten obtener emulsiones con tamaños de gota a escala nanométrica y micrométrica.

Ejemplos

[0023] La determinación del tamaño de partícula se realizó bajo la técnica de microscopía de fuerza atómica, la cual fue empleada para confirmar el tamaño de las gotas dispersas de los sistemas nanoemulsionados y/o microemulsionados que resultan de la técnica descrita, además de mostrar un panorama general en cuanto a la forma y morfología, permite caracterizar la estructura de las muestras evaluadas sobre la superficie. Dichas muestras fueron preparadas mediante la disposición de 5µl de emulsión sobre una lámina de mica fresca, y posteriormente secada a temperatura entre 35-40°C por 12 hrs aproximadamente. Fueron escaneadas a través de la sonda del AFM (microscopio de fuerza atómica). Sobre un área seleccionada de la superficie de la mica. Esta técnica sirve para demostrar que los sistemas de dispersión coloidal descritos en la presente invención pueden ser catalogados como Nanoemulsiones y/o Microemulsiones por el tamaño de gota que presentan. Esta técnica fue desarrollada empleando un microscopio EasyScan 2 Flex AFM (Nanosurf, Suiza), con software Nanosurf C3000. Para adquisición de datos.

[0024] Cabe resaltar que las muestras evaluadas fueron tomadas de dos emulsiones distintas. La imagen correspondiente a la Fig. 1, revela las características topográficas de una superficie escaneada, en un área determinada de aproximadamente 6,46 µm², de una muestra de emulsión de 5µl, tratada sobre una lámina de mica. Dicha muestra se tomó de un sistema emulsionado que se obtuvo por la interacción colágeno/alginato de sodio. La imagen correspondiente a la Fig. 2, revela las características topográficas de una superficie escaneada de un área determinada de

aproximadamente $103 \mu\text{m}^2$, de una muestra de emulsión de $5 \mu\text{l}$, que pertenece a un sistema emulsionado que se obtuvo por la interacción gelatina hidrolizada/alginato de sodio. Tanto la Fig. 1 como la Fig. 2, revelan en 3D (tercera dimensión), una imagen en detalle de las características topográficas de la superficie ya escaneada. Se seleccionó un área más pequeña para la Fig. 1 ($3,53\mu\text{m}^2$) que para la Fig. 2 ($51,7\mu\text{m}^2$). Para obtención de los datos dimensionales de las nanocápsulas y/o microcápsulas registradas tras el escaneo sobre la superficie de mica, se utilizó el software Nanosurf C3000, confirmando que los tamaños de gota de las emulsiones oscilan entre 100nm y $10\mu\text{m}$.

[0025] El, o los siguientes ejemplos de realización de la presente invención, muestran de forma clara la obtención de dichos sistemas, pero no con ello se desea limitarlos.

Ejemplo 1

[0026] Interacción proteína-polisacárido con un porcentaje entre 1 - 2% (p/p), en relación optima de 2:1 en un volumen final de 150ml de agua destilada. Determinado volumen es fraccionado volumétricamente en dos (2) partes iguales. Una primera fracción comprende un porcentaje menor al 2% (p/p) de proteína, solubilizada en 75ml de agua destilada, bajo condiciones de tratamiento térmico no superior a 50°C y agitación magnética entre 400-1500rpm. La segunda fracción comprende un porcentaje menor al 2% (p/p) del polisacárido, solubilizado en 75ml de agua destilada, que permanece bajo condiciones de temperatura y agitación magnética, para posteriormente adicionar un porcentaje no mayor al 4% (v/v) de la sustancia hidrófoba seleccionada, formando así una pre-emulsión la cual se vierte completamente en la primera solución de proteína dejando reaccionar bajo condiciones hasta obtener un sistema nano y micro emulsionado, en un tiempo aproximado que varía según las concentraciones establecidas dentro de los rangos a trabajar.

[0027] Configuración y etapas de proceso: 1. Solubilizar en un vaso precipitado o beaker un porcentaje no mayor al 2% (p/p) de proteína (gelatina hidrolizada) en 75ml de agua destilada, expuesta a temperatura constante no superior a 50°C , bajo agitación magnética constante entre 400 a 1500 rpm hasta obtener una solución homogénea translúcida, en un tiempo aproximado de entre 30 – 40 min; 2. Paralelamente en otro beaker diluir un porcentaje no mayor al 2% (p/p) de polisacárido (alginato de sodio) en 75ml de agua destilada, expuesta a temperatura constante, no superior a 50°C y bajo agitación magnética entre 400 a 1500rpm, en un tiempo aproximado de 20 min, hasta obtener una solución homogénea translúcida, que permanece bajo condiciones; 3. Adicionar en la solución de polisacárido previamente obtenida, un porcentaje no mayor a 4% (v/v), de la sustancia hidrófoba seleccionada (aceite esencial de albahaca), mezclando y dispersando

hasta obtener una pre-emulsión, que se deja reaccionar aproximadamente entre 10 – 15 min bajo agitación magnética entre 400 a 1500rpm, a temperatura no superior a 50°C; y 4. Posterior al tiempo de reacción, verter dicha pre-emulsión completamente en la solución de proteína previamente diluida y que ininterrumpidamente permanece bajo condiciones, mezclando, dejando reaccionar entre 10 – 15 min y dejar reposar obteniendo finalmente una nanoemulsión y/o microemulsion con tamaños de gota que oscilan entre 100nm y 10µm.

Ejemplo 2

[0028] Interacción proteína-polisacárido con un porcentaje entre 1 - 2% (p/p), en relación optima de 2:1 en un volumen final de 150ml de agua destilada. Determinado volumen es fraccionado volumétricamente en 3 partes iguales. Una primera fracción comprende un porcentaje menor al 3% (v/v) de proteína, solubilizada en 50ml de agua destilada, bajo condiciones de tratamiento térmico no superior a 50°C y agitación magnética entre 400-1500 rpm. La segunda fracción comprende un porcentaje menor al 3% (p/p) del polisacárido solubilizado en 50 ml de agua destilada, que permanece bajo condiciones de temperatura y agitación magnética, para posteriormente adicionar un porcentaje no mayor al 6% (v/v) de la sustancia hidrófoba seleccionada, formando así una pre-emulsión. Dicha pre-emulsión se vierte completamente en la primera solución de colágeno, obteniendo una emulsión que permanece en reacción bajo condiciones de temperatura y agitación magnética. La tercera fracción comprende un porcentaje entre el 0,5 – 2% (p/p) de un pigmento hidrófilo de origen natural, expuesto bajo condiciones a tratamiento térmico y agitación magnética en 50ml de agua destilada y filtrado, retirando partículas del material vegetal suspendidas en el medio. Posterior a la filtración se vierte en su totalidad en la emulsión que permanece en agitación bajo condiciones dejando que se mezclen todas las sustancias revelando finalmente después de unos minutos un sistema nanoemulsionado y/o microemulsionado.

[0029] Configuración y etapas de proceso: 1. Solubilizar en un vaso precipitado o beaker un porcentaje no mayor al 3% (v/v) de proteína (colágeno) en 50 ml de agua destilada, expuesta a temperatura constante no superior a 50°C, bajo agitación magnética constante entre 400 a 1500 rpm hasta obtener una solución homogénea traslucida, en un tiempo aproximado entre 30 – 40 min; 2. Paralelamente en otro beaker diluir un porcentaje no mayor al 3% (p/p) del polisacárido (alginato de sodio), en 50ml de agua destilada, expuesta a temperatura constante, no superior a 50°C y bajo agitación magnética entre 400 a 1500rpm, en un tiempo aproximado de 20 min, hasta obtener una solución homogénea traslucida, que permanece bajo condiciones; 3. Seguido, adicionar en la solución de polisacárido previamente obtenida, un porcentaje no mayor a 4% (v/v), de la sustancia hidrófoba seleccionada (aceite esencial de mandarina), mezclando y dispersando hasta obtener una

pre-emulsión, que se deja reaccionar aproximadamente entre 10 – 15 min, bajo agitación magnética entre 400 a 1500rpm, a temperatura entre 30 – 55°C; y 4. Posterior al tiempo de reacción, dicha pre-emulsión se vierte completamente en la solución de proteína previamente diluida e ininterrumpidamente permanece bajo condiciones, mezclándose y dejando reaccionar la interacción de (proteína/polisacárido) entre 10 – 15 min aproximadamente, hasta obtener emulsión, permaneciendo bajo condiciones de agitación magnética entre 400 a 1500rpm, a temperatura entre 30 – 55°C; y 5. Finalmente, se vierte en la emulsión previamente obtenida 50ml, una solución de un pigmento hidrófilo entre 0,5 – 2% (p/p), homogenizando toda la mezcla por tiempo aproximado entre 10 – 15 min. Dejar reposar, obteniendo así un sistema nanoemulsionado y/o microemulsionado, con tamaños de gota que oscilan entre 100nm y 10µm.