

## Aplicación de Ultrasonido en el Desarrollo de Nanoemulsiones de Alginato de Sodio. Efecto en el tamaño de partícula, índice de polidispersión y potencial-Z

Pérez-Alba A. A.<sup>1\*</sup>, Carrillo-Ortiz D.<sup>1</sup>, Sáenz -Esqueda M. A.<sup>1</sup>, Becerra-Becerra K. A.<sup>1</sup>, Minjares-Fuentes R.<sup>1</sup>

[a.asenethpa@gmail.com](mailto:a.asenethpa@gmail.com)

<sup>1</sup> Universidad Juárez del Estado de Durango, Facultad de Ciencias Químicas Artículo 123 s/n. Col. Filadelfia. C.P. 35010. Gómez Palacio, Dgo. México.

### RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del ultrasonido sobre las nanoemulsiones de alginato de sodio (AS). Para esto, la emulsión gruesa constituida por 0.01% de alginato de sodio (fase acuosa), 1.0% de aceite de maíz y 1.0% Tween 80, fue pre-mezclada a 9,000 rpm por 5 min en un Ultraturrax T18 (IKA® Works, Inc., Wilmington, USA). Las mezclas fueron sometidas a tratamiento acústico usando un ultrasonido Branson Sonifier SFX-550 (Danbury, USA) operando a 550 W, 20 kHz y una amplitud del 75% a dos tiempos de sonicación (3.5 y 7 min). El tamaño de partícula, el índice de polidispersión y el potencial- z fueron evaluados. De manera interesante, el tamaño de partícula de las nanoemulsiones formadas incrementó de ~117 a ~123 nm al incrementar el tiempo de procesamiento, indicando posiblemente el sobreprocesamiento de las nanoemulsiones. Por el contrario, el índice de polidispersión y el potencial-z decreció de 0.22 a 0.20 y de -15 y -13 mV, respectivamente, al incrementar el tiempo de procesamiento de 3.5 a 7 min. Estos resultados muestran que la tecnología de ultrasonido puede ser una alternativa tecnología para el desarrollo de nanoemulsiones a base de alginato de sodio.

**Palabras clave:** Ultrasonido, nanoemulsiones, alginato de sodio, tamaño de partícula, polidispersión, potencial-z

### ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effect of ultrasound on sodium alginate (AS) nanoemulsions. For this purpose, the coarse emulsion consisting of 0.01% sodium alginate (aqueous phase), 1.0% corn oil and 1.0% Tween 80 was prepared at 9,000 rpm for 5 min using an Ultraturrax T18 (IKA® Works, Inc., Wilmington, USA). The emulsions were subjected to acoustic treatment using a Branson Sonifier SFX-550 ultrasound (Danbury, USA) operating at 550 W, 20 kHz and 75% amplitude at two times (3.5 and 7 min). The particle size, polydispersity index and zeta potential were evaluated. Interestingly, the particle size of the developed nanoemulsion increased from ~117 to ~123 nm as processing time increased, possibly indicating over-processing of the nanoemulsions. In contrast, the polydispersity index and zeta potential decreased from 0.22 to 0.20 and from -15 and -13 mV, respectively, as the processing time increased from 3.5 to 7 min. These results show that ultrasound technology can be an alternative technology for the development of sodium alginate-based nanoemulsions.

**Key words:** Ultrasound, nanoemulsions, sodium alginate, particle size, polydispersity, z-potential

## INTRODUCCIÓN

Las nanoemulsiones, se describen como dispersiones coloidales producidas a partir de agua, aceite y tensioactivos (Mc Clements, 2011). Se han utilizado ampliamente en aplicaciones biológicas, alimentarias y médicas ya que pueden actuar como vehículos o sistemas de suministro de ingredientes bioactivos (Gupta et al, 2016). De manera general, las nanoemulsiones se pueden fabricar mediante tratamientos mecánicos (alta energía) o químicos (baja energía). El método de alta energía es ampliamente utilizado en la producción de nanoemulsiones empleando homogeneizadores ultrasónicos para mejorar el proceso de emulsificación (Modarres-Gheisari, et al, 2019), ya que estos producen ondas acústicas de baja frecuencia, lo que provoca el colapso de las partículas causado por los efectos de la cavitación, reduciendo el tamaño de estas (Sivakumar, et al 2014).

Para obtener nanoemulsiones es necesario utilizar un surfactante capaz de adsorberse en la interfase aceite-agua de las gotas, reduciendo la tensión superficial (Artigas, et al 2017). Los polisorbatos, como el Tween 80, se encuentran entre los tensioactivos más utilizados para la emulsificación (Tong et al 2015). Por otra parte, la adición de polisacáridos aniónico como el alginato de sodio (AS), a la fase acuosa puede mejorar la estabilidad de las nanoemulsiones frente a la agregación, como consecuencia de la repulsión estérica y/o electrostática entre las interfaces de las partículas (Feng et al, 2012), evitando la desestabilización causada por la coalescencia o la separación gravitacional (Mc Clements, 2007).

Algunos parámetros importantes a evaluar en la preparación de nanoemulsiones incluyen el tamaño de partícula, el índice de polidispersión (PDI) y el potencial-z. ya que de ellos depende, en gran medida, la estabilidad de la emulsión. Considerando lo anteriormente mencionado, el objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto del tratamiento con ultrasonido sobre la estabilidad de la nanoemulsiones desarrolladas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Desarrollo de emulsiones de alginato de sodio

Para el desarrollo de emulsiones de alginato de sodio (AS) se siguió el método descrito por (Branco et al. 2020) con algunas modificaciones (ver figura 1). La fase acuosa fue preparada solubilizando el AS (0.01 %) en 10 mL de agua destilada. La solución permaneció en agitación durante toda la noche a 25°C. La fase oleosa compuesta por aceite de maíz (1.0%) y Tween 80 (1.0%) fueron incorporadas a la fase acuosa de AS. La mezcla fue homogenizada por 5 min a 9,000 rpm con Ultraturrax T18 (IKA® Works, Inc., Wilmington, USA). Por último, se trataron las diferentes emulsiones desarrolladas en un ultrasonido Branson Sonifier SFX-550 (Danbury, USA) operando a 550 W, 20 kHz y una amplitud del 75% a dos diferentes tiempos de sonicación (3.5 y 7 min).

## Estabilidad

El tamaño hidrodinámico, el índice de polidispersión (PDI) y el potencial-z se determinaron mediante espectroscopia de correlación de fotones utilizando un sistema de dispersión de luz dinámica (DLS) Zetasizer NanoZS (Malvern Instruments Ltd, Worcestershire, Reino Unido) con un difractor láser estableciendo la longitud de onda de 633 nm a 25 °C.



Figura 1: Diagrama de flujo para la elaboración de emulsiones de AS

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Uno de los principales objetivos dentro del desarrollo de nanoemulsiones es crear sistemas con partículas pequeñas y con estabilidad cinética duradera para posteriores aplicaciones comerciales (Mc Clements, 2011). Es por esto, que el tamaño de partícula, su distribución y el potencial-z, fueron evaluados

### Tamaño de partícula

La aplicación del tratamiento acústico en el desarrollo de la emulsión afectó significativamente el tamaño de partícula y la distribución de éste ( $p < 0.05$ ). Como se observa en la tabla 1, al incrementar el tiempo de aplicación de US de 3.5 a 7 min, el tamaño de partícula incrementa aproximadamente 4.0%. Los tratamientos prolongados (7.0 min) promueven el incremento del tamaño de partícula, lo cual podría atribuirse al efecto descrito como sobre procesamiento (Jafari et al., 2006; Jafari, Assadpoor, He, & Bhandari 2007). El aumento del tamaño de partícula es causado por el aumento en la coalescencia de las gotas de la emulsión observado cuando los tiempos de procesamiento exceden los 5 minutos (Kentish, 2008). Cabe señalar que, de acuerdo con autores como Bouchemal, 2004; Anton, 2008; y Huang 2010 todos los tamaños de partícula obtenidos en las emulsiones desarrolladas se encuentran dentro del rango de nanoemulsiones pues sus dimensiones se encuentran dentro del

intervalo comprendido entre 1000, 500 y 200 nm como se establecieron respectivamente por dichos autores.

De forma interesante, los tamaños de partícula obtenidos en este trabajo se presentan un 35.0% menores que los obtenidos por Branco et al, 2020. Esta diferencia en los tamaños de partícula puede atribuirse principalmente a la concentración de AS, al tipo de aceite utilizado y sus características (peso molecular, polaridad y conformación), así como a las propiedades de adsorción del tensioactivo empleado en cada estudio.

*Tabla 1: Tamaño de partícula, índice de polidispersión y potencial -z de nanoemulsiones*

<b>Concentración de alginato de sodio (%)</b>	<b>Tiempo (min)</b>	<b>Tamaño (nm)</b>	<b>PDI (-)</b>	<b>Potencial -z (mV)</b>
<b>0.01</b>	3.5	117.4±0.10 <sup>a</sup>	0.22±0.009 <sup>a</sup>	-15.16±0.05 <sup>a</sup>
	7	123.1±1.04 <sup>b</sup>	0.20±0.004 <sup>b</sup>	-13.46±0.25 <sup>b</sup>

### Índice de polidispersión

El índice de polidispersión (PDI por sus siglas en ingles “polydispersity index”) es un parámetro que permite identificar la distribución del tamaño de las partículas obtenidas en un proceso de emulsificación. Los resultados muestran que el tratamiento con ultrasonido ejerció un efecto positivo sobre la PDI como puede verse en la figura 2. ya que promovió la formación de partículas más pequeñas y uniformes, pues los valores obtenidos en las nanoemulsiones son menores a 0.24 (ver tabla 1). los cuales se consideran característicos de emulsiones monodispersas y homogéneas según Sahafi, 2017, quien establece 0.40 como valor de referencia para esta propiedad.

En el presente estudio, el PDI disminuye de 0.22 a 0.20 al aumentar el tiempo de US de 3.5 min a 7.0 min (ver tabla 1), sin embargo, estudios previos han informado resultados aparentemente contradictorios sobre la influencia del tratamiento ultrasónico en el PDI de las nanoemulsiones. Salvia et al, 2013. Encontraron que las nanoemulsiones de alginato de sodio- aceite esencial de limón registraron distribuciones de tamaño multimodales, así como heterogeneidad en las partículas dispersas independientemente del tiempo de ultrasonificación aplicado. Mientras que Kwasigroch et al 2016, observaron que las nanoemulsiones aceite/agua cargadas con indometacina registraron valores de PDI entre 0.05 y 0.18 que corresponden a una distribución monomodal dada por el efecto del tratamiento con ultrasonido. Dicha contradicción puede atribuirse principalmente a las diferencias en el método de síntesis de las nanoemulsiones como fue descrito por Artigas et al 2017.

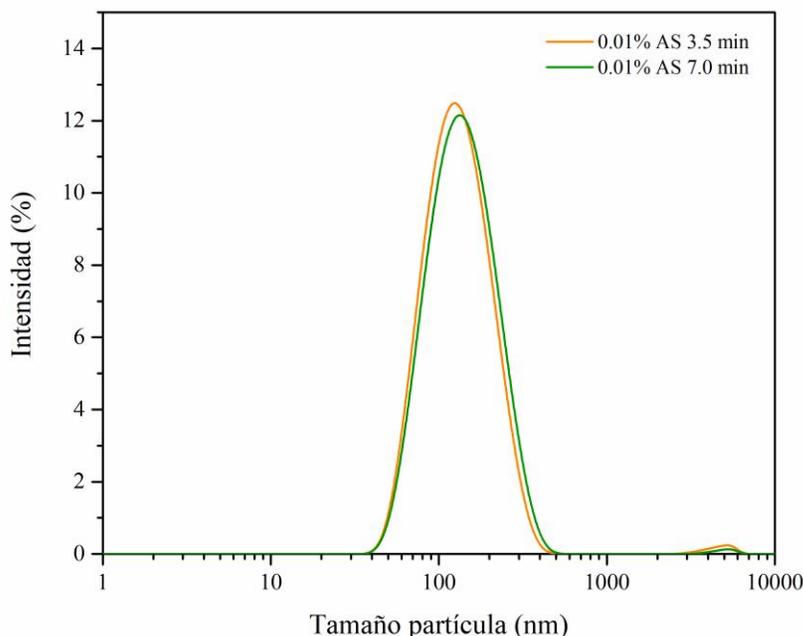


Figura 2: PDI de nanoemulsiones de AS

### Potencial-Z

Las partículas de las nanoemulsiones tienen carga eléctrica, por lo tanto, las interacciones electrostáticas juegan un papel importante en la determinación de su estabilidad y sus propiedades fisicoquímicas. La magnitud y el signo de esta carga dependen principalmente del tipo de emulsionante utilizado, su concentración y las condiciones ambientales (Mc Clements, 2016). La medida de la carga eléctrica superficial de las partículas se evalúa mediante el valor del potencial-z, dicha propiedad debe tener un valor inferior a  $-30$  mV o superior a  $+30$  mV en una nanoemulsión estabilizada electrostáticamente (Rai, 2017).

Como se observa en la tabla 1, el tratamiento ultrasónico tuvo un efecto significativo ( $P < 0.05$ ) sobre el potencial-z, ya que al incrementar el tiempo de aplicación de US de 3.5 a 7 min, disminuye la negatividad de la carga de la nanoemulsión desde  $-15$  hasta  $-13$  mV respectivamente. Estos resultados coinciden con lo que ha sido reportado por otros autores, en 2013 Hosseini y colaboradores observaron que los valores de potencial-z de nanoemulsiones de AS con  $\beta$ -lactoglobulina aumentaron de  $-59,89$  a  $-49,08$  mV después de la aplicación del tratamiento con US. Atribuyendo este fenómeno a la reducción de la reactividad del alginato y los cambios estructurales por las reacciones sonoquímicas que pueden conducir a la eliminación de algunos de sus grupos cargados negativamente.

Es importante destacar que, a pesar de que los resultados de potencial-z obtenidos ( $\sim -13,0$  a  $-15,0$  mV) podrían relacionarse con la inestabilidad del sistema, autores como Salvia et al, 2016 evaluaron la relación entre esta propiedad y la estabilidad de la nanoemulsión durante 14 días cuando la magnitud de la carga se registró entre  $-3,0$  y  $-8,0$  mV aproximadamente, encontrando que la adición de AS actúa como un antioxidante natural mejorando la estabilidad del sistema.

## CONCLUSIÓN

Se desarrollaron nanoemulsiones asistidas por ultrasonido que contenían aceite de maíz utilizando 0.01 % de AS en la fase acuosa. Las nanoemulsiones obtenidas mostraron tamaños de partícula dentro de la escalada nanométrica, así como uniformidad en la distribución de este, además, de valores de potencial-z negativos. Este estudio mostró que la aplicación de tratamientos con ultrasonido a una emulsión de aceite en agua y biopolímeros como AS puede ser un método factible para producción de nanoemulsiones con propiedades fisicoquímicas satisfactorias, con posibles aplicaciones como sistema de suministro de compuestos bioactivos, medicamentos entre otros.

## BIBLIOGRAFÍA

- Artiga-Artigas, M., Acevedo-Fani, A., & Martín-Belloso, O. 2017b. Effect of sodium alginate incorporation procedure on the physicochemical properties of nanoemulsions. *Food Hydrocolloids*, 70, 191–200.
- Bouchemal, K., Brainçon, S., Perrier, E., Fessi, H., 2004. Nano-emulsion formulation using spontaneous emulsification: solvent, oil and surfactant optimisation. *Int J Pharm* 280, 241-251.
- Anton, N., Benoit, J.P., Saulnier, P., 2008. Design and production of nanoparticles formulated from nano-emulsion templates. *J Controlled Release* 128, 185-199.
- Branco, I. G., Sen, K., & Rinaldi, C. 2020. Effect of sodium alginate and different types of oil on the physical properties of ultrasound-assisted nanoemulsions. *Chemical Engineering and Processing - Process Intensification*, 153, 107942.
- Feng, L., Cao, Y., Xu, D., Wang, S., & Zhang, J. 2017. Molecular weight distribution, rheological property and structural changes of sodium alginate induced by ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry*, 34, 609–615.
- Gupta, A., Eral, H. B., Hatton, T. A., & Doyle, P. S. 2016. Nanoemulsions: formation, properties and applications. *Soft Matter*, 12(11), 2826–2841.
- Hosseini, S. M. H., Emam-Djomeh, Z., Razavi, S. H., Moosavi-Movahedi, A. A., Saboury, A. A., Atri, M. S., & van der Meeren, P. 2013.  $\beta$ -Lactoglobulin–sodium alginate interaction as affected by polysaccharide depolymerization using high intensity ultrasound. *Food Hydrocolloids*, 32(2), 235–244.
- Huang, Q.R., Yu, H.L., Ru, Q.M., 2010. Bioavailability and delivery of nutraceuticals using nanotechnology. *J Food Sci* 75, R50-R57.
- Jafari, S. M., He, Y. H., & Bhandari, B. 2006. Nano-emulsion production by sonication and microfluidization e a comparison. *International Journal of Food Properties*, 9(3), 475e485.
- Jafari, S. M., He, Y. H., & Bhandari, B. 2007. Production of sub-micron emulsions by ultrasound and microfluidization techniques. *Journal of Food Engineering*, 82(4), 478e488.
- Kentish, S., Wooster, T., Ashokkumar, M., Balachandran, S., Mawson, R., & Simons, L. 2008. The use of ultrasonics for nanoemulsion preparation. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9(2), 170–175.
- Kwasigroch, B., Escribano, E., Morán, M. D. C., Queralt, J., Busquets, M. A., & Estelrich, J. (2016). Oil-in-water nanoemulsions are suitable for carrying hydrophobic compounds: Indomethacin as a model of anti-inflammatory drug. *International Journal of Pharmaceutics*, 515(1–2), 749–756.
- McClements, D. J. (2015b). *Food Emulsions: Principles, Practices, and Techniques*, Third Edition (3rd ed.). CRC Press, 10-20.
- McClements, D. J. 2007. Critical Review of Techniques and Methodologies for Characterization of Emulsion Stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47(7), 611–649.
- McClements, D. J. 2011. Formation of nanoemulsions stabilized by model food-grade emulsifiers using high-pressure homogenization: Factors affecting particle size. *Food Hydrocolloids*, 25(5), 1000–1008.

- McClements, D. J., & Rao, J. 2011. Food-Grade Nanoemulsions: Formulation, Fabrication, Properties, Performance, Biological Fate, and Potential Toxicity. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51(4), 285–330. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.559558>
- Rai, V. K., Mishra, N., Yadav, K. S., & Yadav, N. P. 2018. Nanoemulsion as pharmaceutical carrier for dermal and transdermal drug delivery: Formulation development, stability issues, basic considerations and applications. *Journal of Controlled Release*, 270, 203–225.
- S.M.M. Modarres-Gheisari, R. Gavagsaz-Ghoachani, M. Malaki, P. Safarpour, M. Zandi. 2019. Ultrasonic nano-emulsification – a review, *Ultrason. Sonochem.* 52. 88–105.
- Sahafi, S. M., Goli, S. A. H., Kadivar, M., & Varshosaz, J. 2017. Preparation and characterization of bioactive oils nanoemulsions: Effect of oil unsaturation degree, emulsifier type and concentration. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 39(5), 676–686.
- Salvia-Trujillo, L., Rojas-Graü, A., Soliva-Fortuny, R., & Martín-Belloso, O. 2012. Physicochemical Characterization of Lemongrass Essential Oil–Alginate Nanoemulsions: Effect of Ultrasound Processing Parameters. *Food and Bioprocess Technology*, 6(9), 2439–2446.
- Sivakumar, M., Tang, S. Y., & Tan, K. W. 2014. Cavitation technology – A greener processing technique for the generation of pharmaceutical nanoemulsions. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21(6), 2069–2083.
- Tong, K., Zhao, C., Sun, Z., & Sun, D. 2015. Formation of Concentrated Nanoemulsion by W/O Microemulsion Dilution Method: Biodiesel, Tween 80, and Water System. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 3(12), 3299–3306.