

**Universidad Nacional Autónoma de México**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN**

**COMPENDIO BIBLIOGRÁFICO DE EMULSIONES  
MÚLTIPLES EN LA INDUSTRIA DE LOS  
ALIMENTOS**

**T E S I S**  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
**INGENIERA EN ALIMENTOS**  
P R E S E N T A  
**ALICIA AIDA ANGULO DE LA ROSA**

**ASESORA: DRA. MARÍA GUADALUPE SOSA HERRERA**

MÉXICO, CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO 2013



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

U.N.A.M.  
FACULTAD DE ESTUDIOS  
SUPERIORES CUAUTITLÁN  
ASUNTO: VOTO APROBATORIO

DRA. SUEMI RODRÍGUEZ ROMO  
DIRECTORA DE LA FES CUAUTITLÁN  
PRESENTE

ATN: L.A. ARACELI HERRERA HERNÁNDEZ  
Jefa del Departamento de Exámenes  
Profesionales de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos a comunicar a usted que revisamos la: Tesis

Compendio Bibliográfico de Emulsiones múltiples en la Industria de los alimentos

Que presenta la pasante: Alicia Aida Angulo de la Rosa  
Con número de cuenta: 081364130 para obtener el Título de: Ingeniera en Alimentos

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE  
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"  
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 16 de abril de 2013.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dra. Carolina Moreno Ramos	
VOCAL	IA. Patricia Muñoz Aguilar	
SECRETARIO	Dra. María Guadalupe Sosa Herrera	
1er. SUPLENTE	IA. Miriam Edith Fuentes Romero	
2do. SUPLENTE	Dr. Omar Reyes Martínez	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

HHA/pm

## DEDICATORIAS

Doy pleno agradecimiento a la máxima Casa de Estudios UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO por apoyarme a mi y a todos los estudiantes que hemos tenido la oportunidad de pertenecer a una Institución que cuenta con el mayor reconocimiento a nivel nacional debido a que imparte conocimientos de alta calidad.

Agradezco a mi Creador Jehová Dios por darme la vida y la oportunidad de usar la capacidad de estudio y entendimiento para poder comprender la sabiduría que conlleva una pequeña parte su creación: la ciencia de los alimentos, los cuales nos llenan de alegría y satisfacción al consumirlos; puesto que abre su mano para satisfacer las necesidades toda cosa viviente.

Dedico este trabajo a mi papá Reyes quien se preocupó y ocupó por darme educación académica, pues fué una persona muy trabajadora que no le gustaba estancarse sino lograr algo más en la vida. Aunque fué un hombre de pocas palabras, siempre me demostró su amor, por eso lo sigo amando y recordando con profundo respeto.

También agradezco profundamente a mi mamá Delia a quien amo porque ha sido en mi mayor apoyo moral y emocional, que usando su sabiduría me ha dado consejos, guía y corrección apropiados; además de ser muy accesible y contar siempre con su ayuda incondicional; aparte de ser divertida y muy buena compañera.

Agradezco a Jehová Dios por darme como padres a dos excelentes personas: Reyes y Delia.

# Í N D I C E.

	Pág.
PORTADA	I
VOTOS APROBATORIOS	II
DEDICATORIAS	III
ÍNDICE	IV
RESUMEN	VIII
ÍNDICE DE FIGURAS	X
ÍNDICE DE CUADROS	XI

## CONTENIDO

	Pág.
1.0 ASPECTOS GENERALES DE EMULSIONES	1
1.1 SISTEMAS DISPERSOS	1
1.2 EMULSIONES	3
1.2.1 Definición y tipos de emulsión simple	3
1.2.2 Propiedades físicas y químicas	4
1.2.2.1 <i>Tamaño de partícula</i>	4
1.2.2.2 <i>Apariencia</i>	5
1.2.2.3 <i>Preservación</i>	6
1.2.2.4 <i>Conductividad</i>	6
1.2.2.5 <i>Viscosidad</i>	6
1.3 EMULSIONANTES	7
1.3.1 Clasificación de agentes tensoactivos	8
1.3.2 Características de los emulsionantes	10
	IV

1.3.2.1	<i>Balance HLB</i>	11
1.3.2.2	<i>Cálculo del número</i>	14
<b>1.4</b>	<b>ESTABILIDAD DE EMULSIONES</b>	<b>15</b>
1.4.1	<b>Películas de interfase</b>	<b>15</b>
1.4.2	<b>Mecanismos de estabilidad</b>	<b>20</b>
1.4.2.1	<i>Reducción de la tensión de interfase</i>	20
1.4.2.2	<i>Formación de película rígida de interfase</i>	21
1.4.2.3	<i>Cargas eléctricas</i>	21
1.4.3	<b>Fenómenos de inestabilidad</b>	<b>21</b>
1.4.3.1	<i>Cremado de partícula</i>	24
1.4.3.2	<i>Floculación de partícula</i>	26
1.4.3.3	<i>Coalescencia de partícula</i>	28
1.4.3.4	<i>Inversión de fase</i>	29
<b>2.0</b>	<b>EMULSIONES MÚLTIPLES</b>	<b>30</b>
<b>2.1</b>	<b>DEFINICIÓN DE EMULSIONES MÚLTIPLES</b>	<b>30</b>
2.1.1	<b>Clasificación y tipos</b>	<b>30</b>
2.2.2	<b>Nomenclatura</b>	<b>31</b>
<b>2.2</b>	<b>COMPOSICIÓN DE SISTEMAS DE EMULSIONES MÚLTIPLES</b>	<b>32</b>
2.2.1	<b>Fase acuosa y fase oleosa</b>	<b>33</b>
2.2.2	<b>Emulsionantes en emulsiones múltiples</b>	<b>34</b>
<b>2.3</b>	<b>ESTABILIDAD DE EMULSIONES MÚLTIPLES</b>	<b>37</b>
2.3.1	<b>Factores que controlan la estabilidad en emulsiones múltiples</b>	<b>38</b>
2.3.1.1	<i>Presión de Laplace</i>	38
2.3.1.2	<i>Presión osmótica</i>	39
2.3.1.3	<i>Balance entre presión de Laplace y presión osmótica</i>	40

<b>2.4 INESTABILIDAD DE EMULSIONES MÚLTIPLES</b>	<b>41</b>
<b>2.4.1 Coalescencia en emulsiones múltiples</b>	<b>42</b>
<b>2.4.2 Floculación en emulsiones múltiples</b>	<b>43</b>
<b>2.4.3 Mecanismos de paso de materiales cruzando la fase membrana</b>	<b>45</b>
<i>2.4.3.1 Mecanismo de transporte por difusión</i>	<b>45</b>
<i>2.4.3.2 Mecanismo de transporte micelar reversible</i>	<b>46</b>
<i>2.4.3.3 Mecanismo de transporte de acarreo del medio</i>	<b>46</b>
<i>2.4.3.4 Mecanismo de transporte por emulsificación espontánea</i>	<b>48</b>
<b>2.5 INFLUENCIA DE ALGUNOS COMPONENTES SOBRE LA ESTABILIDAD DE EMULSIONES MÚLTIPLES</b>	<b>48</b>
<b>2.5.1 Efecto de biopolímeros</b>	<b>51</b>
<b>2.5.2 Emulsionantes y fase oleosa</b>	<b>54</b>
<b>2.5.3 Contenido de azúcar en la fase acuosa</b>	<b>55</b>
<b>2.6 ENCAPSULACIÓN</b>	<b>56</b>
<b>2.6.1 Tamaño de gota oleosa y grosor de interfase</b>	<b>59</b>
<b>3.0 FORMULACIÓN, MANUFACTURA Y TECNOLOGÍA DE EMULSIONES MÚLTIPLES</b>	<b>61</b>
<b>3.1 PREPARACIÓN DE EMULSIONES MÚLTIPLES</b>	<b>61</b>
<b>3.1.1 Etapas de emulsificación</b>	<b>62</b>
<b>3.1.2 Condiciones</b>	<b>65</b>
<b>3.1.3 Controles de proceso</b>	<b>67</b>
<i>3.1.3.1 Parámetros críticos</i>	<b>67</b>
<i>3.1.3.2 Parámetros no esenciales</i>	<b>68</b>
<i>3.1.3.3 Parámetros esenciales</i>	<b>69</b>

<b>3.2 TÉCNICAS DE PREPARACIÓN DE EMULSIONES MÚLTIPLES</b>	<b>70</b>
3.2.1 Técnica de inversión de fase	71
3.2.2 Técnica de agitación mecánica	73
3.2.3 Técnica de homogeneización	73
3.2.4 Técnica de membrana de emulsificación	74
3.2.5 Técnicas de microcanales de emulsificación	79
3.2.5.1 <i>Simulación de membrana de emulsificación</i>	79
3.2.5.2 <i>Técnica de microcanal</i>	80
3.2.5.3 <i>Microcanales con flujo cruzado</i>	81
3.2.5.4 <i>Microcanales sin flujo transversal o cruzado</i>	81
3.2.6 Técnica con instrumento coaxial microcapilar fluídico	83
3.2.7 Técnica de membrana líquida	83
3.2.8 Técnica de microemulsiones emulsificadas	84
3.2.9 Técnica con una etapa de emulsificación	84
3.2.10 Otras técnicas de emulsificación para agua/aceite/agua	85
3.2.11 Técnica de emulsificación por membranas rotatorias	85
3.2.12 Técnica de reactor coaxial	85
<b>3.3 APLICACIÓN Y USO DE EMULSIONES MÚLTIPLES EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA</b>	<b>86</b>
<b>4.0 DISCUSIÓN</b>	<b>90</b>
<b>5.0 CONCLUSIONES</b>	<b>93</b>
<b>6.0 RECOMENDACIONES</b>	<b>95</b>
<b>7.0 REFERENCIAS</b>	<b>97</b>

## RESUMEN

Muchos alimentos naturales y procesados consisten en forma parcial o total como emulsiones o han estado como un sistema emulsificado en algún momento durante su producción. Las emulsiones alimenticias son de los productos industrializados que han incrementado su volumen de producción en los últimos años, estos sistemas son ampliamente usados en diversas industrias. Las emulsiones basadas en productos alimenticios presentan una gran variedad de diferencias fisicoquímicas y características organolépticas, tales como: apariencia, textura, sabor y vida útil. Sin embargo, las emulsiones múltiples han destacado en los últimos años por su potencial aplicación, aunque son sistemas complejos, de ahí la importancia de ampliar la comprensión de los mecanismos, características, formulaciones, formación, estabilidad, aplicación de emulsionantes y propiedades fisicoquímicas que sirvan para entender su comportamiento y posibles progresos futuros en esta materia, con respecto a los métodos y técnicas para conseguir emulsiones múltiples estables.

EL objetivo de esta tesis es elaborar un compendio de emulsiones múltiples en la industria de los alimentos, mediante la revisión, análisis y síntesis de material bibliográfico y hemerográfico relevante reciente para conformar un documento que proporcione un enfoque general sobre la obtención, propiedades y aplicación de emulsiones múltiples en la industria de los alimentos.

Es importante contar con referencias bibliográficas y hemerográficas recientes que permitan visualizar las aplicaciones actuales de las emulsiones múltiples, así como los avances en el área experimental y uso potencial de emulsionantes que permitan una mayor estabilidad de estos sistemas. La búsqueda, selección y recopilación de material bibliográfico y hemerográfico en este tema específico se considera útil, ya que permitirá a los estudiantes de la carrera de Ingeniería en Alimentos interesados en esta área, incursionar en un tema actual e importante en el ámbito industrial y científico. Aunque ya existe un libro de emulsiones múltiples en idioma inglés y muchos otros también hacen referencia de este tema, un compendio bibliográfico con información reciente en español será una herramienta útil y más sencilla para la consulta, estudio y comprensión de este tema. También servirá como material de referencia para los alumnos de la carrera de Ingeniería en Alimentos que cursan las materias de Fisicoquímica de Coloides, Química de Alimentos y de Laboratorio Experimental Multidisciplinario I.

Se pretende conformar un marco teórico conceptual, exponiendo enfoques teóricos, investigaciones previas y antecedentes generales de las emulsiones múltiples utilizando preferentemente información que aporte soporte teórico con respecto a la obtención y propiedades que ayudan a ampliar el estudio, comprensión y utilización de estos sistemas en alimentos.

En este trabajo se hace referencia a los sistemas dispersos y sus diferencias, enfocando la atención a las emulsiones simples, junto con sus propiedades físicas y químicas; además de la importante relación con los surfactantes y emulsionantes. Las características de los emulsionantes son de suma importancia en la actuación de un sistema disperso, por eso se requiere conocer el cálculo del HLB, para hacer una buena elección que beneficie a la emulsión que se pretende formular.

El tema de mayor importancia de este trabajo es el conocimiento de las emulsiones múltiples, por lo cual se definen y presenta su nomenclatura, composición y relación con mezclas de emulsionante.

También se abordarán los factores que controlan la estabilidad de emulsiones múltiples, entre ellos, la presión osmótica, presión de Laplace, el balance entre presión de Laplace y presión osmótica. Debido a que las emulsiones son sistemas inestables, también se explicarán los mecanismos que la provocan, entre ellos están: coalescencia, floculación y el paso de materiales a través de la fase oleosa que actúa como fase membrana. El efecto de biopolímeros es primordial en las interacciones que afectan la estabilidad de emulsiones múltiples, además de las interacciones que forman con polisacáridos.

La encapsulación es un tema relevante en emulsiones múltiples, ya que los compuestos hidrofílicos tienen una alta capacidad de atrapamiento, ésta es una habilidad para introducir sustancias incompatibles dentro del sistema para protección de probióticos o sustitución de grasa.

Se incluye información referente a las condiciones, controles de proceso en la preparación de emulsiones múltiples y también de las dos etapas de emulsificación requeridas para su manufactura. Se presentará la recopilación de información referente a las diversas técnicas de preparación de emulsiones múltiples y del uso que han tenido en la Industria de Alimentos. Debido a que es un tema sumamente extenso, sólo se presentarán los aportes más significativos de las emulsiones múltiples.

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Pág.
1 Emulsión simple a) emulsión de gota oleosa dispersa en medio acuoso y b) emulsión de gota acuosa dispersa en medio oleoso.	4
2 Fuerzas de atracción entre las moléculas en la superficie, en la interfase y en el interior de las fases líquidas.	16
3 Orientación del agente emulsionante en una emulsión aceite en agua.	18
4 Estructura de una micela en solución acuosa.	19
5 Formación e una emulsión termodinámicamente favorable por el incremento en el área de superficie entre la fase oleosa y acuosa.	21
6 Emulsiones termodinámicamente inestables, donde puede existir un estado metaestable y entonces serán cinéticamente estables .	24
7 Emulsiones alimenticias propensas al cremado por diferencia de densidad entre la fase oleosa y acuosa; fuerzas que actúan sobre las gotas de una emulsión.	25
8 Floculación (gotas intactas, agregadas una con la otra). Coalescencia (película líquida entre gotas revienta y forma una gota grande.	27
9 Emulsiones alimenticias inestables através de varios mecanismos físicos (cremado, sedimentación, floculación, coalescencia externa, inversión de fase).	29
10 Emulsión múltiple, tipo agua/aceite/agua y aceite/agua/aceite.	31
11 Materiales de superficie activa (surfactante y proteína) estabilizando emulsiones.	36
12 Mecanismo de estabilidad para surfactantes y proteínas.	36
13 Mecanismos de inestabilidad para surfactantes y proteínas.	42
14 Coalescencia interna en glóbulos agua/aceite/agua.	42
15 Coalescencia externa en emulsiones agua/aceite/agua.	43
16 Posibles mecanismos de rompimiento de emulsiones múltiples.	44
17 Modelo de transporte de difusión controlada de materiales sin ionizar de la fase acuosa externa a las gotas acuosas internas en una emulsión agua/aceite/agua.	45
18 Mecanismos de transporte micelar reversible de emulsiones múltiples.	46
19 Mecanismo de transporte de adelgazamiento lamelar desde la fase acuosa interna a la fase acuosa continua.	47
20 Cambio del desarrollo de la solución de emulsionante con el balance hidrofílico-hidrofóbico en la mezcla de agua y aceite.	62

21	Dos etapas de preparación para una emulsión aceite/agua/aceite.	63
22	Glóbulos simples y glóbulos múltiples en la preparación de emulsiones agua/aceite/agua y aceite/agua/aceite conforme a las dos etapas de emulsificación.	64
23	Rompimiento de gotas múltiples debido al exceso de mezclado.	65
24	Posible secuencia de eventos seguidos a la formación de una emulsión aceite/agua, vía una emulsión transitoria (agua/aceite)/agua, cuando la fase oleosa contiene inicialmente un surfactante hidrofílico.	72
25	Sistema de homogeneización por preparación en a) una emulsión fina agua/aceite con orificio combinado con válvula de bola, y en b) la preparación de una emulsión por homogeneización de una premezcla agua/aceite/agua utilizando una combinación de orificios.	75
26	Preparación de una emulsión múltiple por membrana de emulsificación.	76
27	Preparación de una emulsión múltiple agua/aceite/agua mediante la técnica de membrana de emulsificación.	77
28	Proceso de membrana de emulsificación en aparatos experimentales.	77
29	Emulsificación de microcanal.	80
30	Aparato para la formación de una emulsión múltiple aceite/agua/aceite por el proceso de emulsificación por microcanal, b) Módulo individual (izquierda) y módulo doble (derecha). El agua representa la fase acuosa intermedia; el aceite <sub>1</sub> representa la fase oleosa interna; el aceite <sub>2</sub> representa la fase oleosa externa.	82
31	Mecanismo de formación de gotas internas oleosas en emulsión múltiple aceite/agua/aceite preparadas por un proceso de emulsificación en una sola etapa.	84

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Pág.	
1	Efecto del tamaño de las gotitas sobre el aspecto de la emulsión.	5
2	Clasificación de surfactantes de bajo peso molecular.	9
3	Emulsionantes y sus valores de HLB, (emulsionantes alimentarios y no iónicos).	13
4	Estimación de HLB por solubilidad en agua.	14

# 1.0 ASPECTOS GENERALES DE EMULSIONES

## 1.1 SISTEMAS DISPERSOS

Un sistema disperso es el resultado del rompimiento de una superficie en muchas partículas de diferentes dimensiones, que quedan dispersas en el medio que rodeaba la superficie (Schramm, 2005). Las partículas constituyen la fase dispersa y el medio recibe el nombre de medio de dispersión. Estas partículas se encuentran en estado coloidal, que es el estado que toda clase de materia puede tomar cuando está finamente dividida (al tamaño coloidal) y dispersa en un medio en el cual conserva su entidad como partícula. Una clase de dispersión coloidal se presenta cuando un número de moléculas de tamaño normal se asocian juntas para formar un agregado, se pueden formar micelas; estas partículas pueden ser agregados de moléculas o simplemente moléculas grandes y pueden encontrarse en diversos estados físicos: partículas cristalinas o amorfas, gotas de líquido o burbujas de gas (Hunter, 1986).

Una dispersión alimenticia es un sistema formado por una o más fases dispersas o discontinuas en una fase continua. Las dispersiones se clasifican en función del tamaño o del estado físico de la partícula. Las dispersiones coloidales comprenden una colección de partículas pequeñas, gotas o burbujas en una fase, por lo menos, (teniendo dimensiones o tamaños específicos entre un nanómetro = nm y un micrómetro =  $\mu\text{m}$ ) y entre  $1 \mu\text{m}$  o  $0.5 \mu\text{m}$  dispersas en una segunda fase, así cualquiera o ambas fases pueden ser un gas, líquido o sólido. Una solución (dispersión molecular) es un sistema de fase única con moléculas de tamaño inferior a  $1 \mu\text{m}$ . En cambio, las dispersiones coloidales y groseras constan de dos o más fases (Schramm, 2005). Los coloides son un tipo de organización molecular al que pertenece la mayoría de los alimentos sin una estructura celular establecida, por lo cual se presentan diferentes sistemas dispersos. Los componentes de los alimentos interactúan a través de sus diferentes grupos reactivos, resultando la formación de una estructura tridimensional estable que se refleja en el estado físico, la apariencia y la textura global de cada producto. Todos los componentes de los alimentos se encuentran en uno o varios de los siguientes estados de dispersión:

- a) Dispersión molecular o solución verdadera
- b) Dispersión coloidal
- c) Dispersión gruesa

La diferencia entre ellos se basa fundamentalmente en el tamaño de partículas que tengan las moléculas. La solución verdadera está formada por una sola fase constituida por moléculas de bajo peso molecular; mientras que los biopolímeros, por ejemplo: polímeros sintéticos, proteínas, almidón o polisacáridos en general no se disuelven sino que forman

un estado de dispersión heterogéneo llamado coloide, compuesto por dos fases distintas; ya que son macromoléculas (moléculas que individualmente son mayores en tamaño a 1nm), que pueden dispersarse uniformemente a través de un medio fluido. En la dispersión gruesa las partículas son de mayor tamaño y tienden a sedimentarse (Hunter, 1986).

La transparencia, presión osmótica, propiedades de difusión y características reológicas de las soluciones de fase única como: soluciones de sacarosa, son muy distintas de aquellas dispersiones de dos o más fases. Los sistemas con dos fases (bifásicos) permiten ocho combinaciones distintas de fases (sólida, líquida, gaseosa) pero los sistemas alimenticios bifásicos más comunes son soles (sólido/líquido), emulsiones (líquido/líquido) y espumas (gas/líquido) (Trados, 2007). La suspensión es una mezcla heterogénea formada por un sólido en polvo y/o pequeñas partículas no solubles (fase dispersa) que se dispersan en un medio líquido (fase dispersante), se diferencian de los sistemas coloidales principalmente por el tamaño de las partículas de la fase dispersa (mayor a 1 $\mu$ m), al reposar las fases de una suspensión se separan, y en un coloide no; además la suspensión es filtrable y el coloide no. Sin embargo, los coloides se caracterizan por estar formados por dos o más fases, una discontinua llamada fase dispersa o externa y la otra continua, llamada fase dispersante o interna que normalmente es agua o un aceite. Las partículas de mayor tamaño forman la fase dispersa y se encuentran distribuidas entre las moléculas de bajo peso molecular de la fase dispersante (Schramm, 2005). Una propiedad importante de los coloides es el alto grado de subdivisión de la materia de la fase dispersa, lo que hace que adquieran una enorme superficie específica (área/volumen), o sea una gran área de contacto entre la fase dispersa y la dispersante que genera una elevada energía de interfase sobre la superficie que la separa. La naturaleza de las interacciones que ocurren en la superficie de contacto entre las dos fases son las responsables de la estabilidad coloidal y de sus propiedades. Por lo tanto, la estabilidad de una dispersión alimenticia depende de las características de interfase, distribución del tamaño de partícula, viscosidad de la fase continua, relación fase/volumen y diferencia de densidad entre las fases (Schramm, 2005), donde además se involucran fuerzas de interacción tales como atracción de Van der Waals, combinada con la repulsión de la doble capa y con la distancia de la curva de energía; además de la presencia de capas de polímeros injertados (Trados, 2007).

Por otro lado, partículas sólidas de dimensiones coloidales nm -  $\mu$ m se adsorben en las interfases, ya sea líquido-vapor o líquido-líquido, en muchos productos y procesos, como ejemplo: cristales grasos alrededor de burbujas de aire en ciertos alimentos, las propiedades de estos sistemas son debidas en parte a la naturaleza reversible de la adsorción de la partícula, y semejantes partículas se comportan como moléculas de surfactantes (Binks y Horozov, 2006). Es preciso señalar que en muchos casos los alimentos no se pueden considerar de manera aislada como emulsiones, soles o espumas, ya que estas tres formas de dispersión se presentan simultáneamente cuando se tiene lípidos, proteínas y gases como fase dispersa y agua como fase dispersante. Las partículas coloidales, al igual que las

moléculas de surfactante, pueden espontáneamente acumularse en la interfase entre dos fluidos inmiscibles (líquido-gas o líquido-líquido); ellas actúan como superficies activas, lo cual no necesariamente se debe a su naturaleza anfifílica (Fenema, 1985).

## 1.2 EMULSIONES

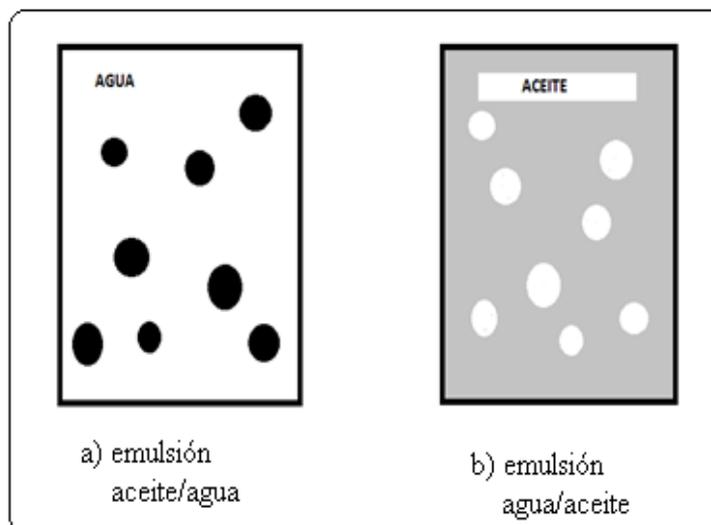
Las emulsiones alimenticias sirven como un mecanismo para obtener alimentos particularmente aceptables (mayor vida de anaquel, mejora en la textura y sabor) y además saludables (entrampado de vitaminas y reducción de grasas). Las emulsiones son apreciadas como productos útiles en el proceso de alimentos, sin embargo, las emulsiones clásicas más importantes son sistemas naturales que contienen muchos nutrientes esenciales como: grasas, carbohidratos, proteínas, vitaminas, rastros de minerales y agua. Se ha determinado que la emulsión no solo hace ciertos alimentos más sabrosos, sino que el mecanismo de emulsión se usa biológicamente como un sistema de transporte para la utilización de grasas, como vehículos de liberación de compuestos bioactivos, encapsulación, que junto con otras funciones las hacen de vital importancia (Kim *et al.*, 2006 ).

### 1.2.1 Definición y tipos de emulsión simple

Las emulsiones alimenticias son sistemas de dos fases, es decir, son dispersiones de dos líquidos inmiscibles. Constan de un líquido y un lípido (aceites grasas, ceras o aceites esenciales). Esto es, un líquido es dispersado como finos glóbulos en otro líquido y se le conoce como la fase dispersa, discontinua o fase interna. El líquido circundante se conoce como la fase continua o fase externa. Dicho de manera más sencilla, una emulsión es una suspensión o dispersión de un líquido en otro donde las moléculas de los dos líquidos son antagónicas. En muchos alimentos, los diámetros de las gotas usualmente se encuentran comprendidas entre 0.1-100  $\mu\text{m}$ . Las emulsiones pueden ser convenientemente clasificadas de acuerdo a la relativa distribución espacial de las fases oleosa y acuosa. La concentración de gotas en una emulsión se describe en términos de la fracción volumen dispersa (McClements, 2005). Los tipos de emulsión simple pueden ser:

- a) Gotas de aceite dispersas a través de un medio acuoso, son emulsiones aceite/agua.
- b) Gotas de agua dispersas a través de un medio oleoso o graso, son emulsiones agua/aceite; estos dos tipos de emulsión se esquematizan en la Figura 1.

Sin embargo, las dispersiones de aceites polares (ejemplo: etilenglicol) en un hidrocarburo no polar produce una emulsión aceite/aceite (Aserin, 2008; Cavallo *et al.*, 1990).



**Figura 1. Emulsión simple. a) emulsión de gotas oleosas dispersas en medio acuoso y b) emulsión de gotas acuosas dispersas en medio oleoso. Fuente: Schramm, 2005.**

## **1.2.2 Propiedades físicas y químicas**

Las propiedades de las emulsiones pueden ser alteradas por cambios en la formulación; pueden ser de naturaleza química y/o fisicoquímica. En general, las propiedades de una emulsión dependen de la proporción de la fase continua respecto a la fase interna, y de las propiedades de la fase continua. A continuación se describen de manera general algunas de éstas propiedades:

### **1.2.2.1 Tamaño de partícula**

El tamaño de partícula se expresa como el diámetro de los glóbulos en la fase interna, este tamaño no es uniforme y la clasificación de las emulsiones depende del tamaño de partícula. Una emulsión fina contiene partículas que son de diámetro pequeño y las emulsiones comunes u ordinarias contienen glóbulos grandes. El intervalo de tamaño de los glóbulos depende del tipo y la concentración del emulsionante, del tratamiento mecánico al que fue sometida la emulsión, del orden de adición de los ingredientes y del tiempo de almacenamiento. Las emulsiones comerciales generalmente tienen un tamaño de partícula de  $0.5 \mu$  ( $0.25 \mu\text{m}$ - $50 \mu\text{m}$ ). En la mayoría de las emulsiones se presenta una distribución de partícula tipo gaussiana (es la más aproximada a fenómenos reales). La concentración de las gotas en una emulsión juega un papel muy importante porque determina el costo, apariencia, textura, sabor y estabilidad, la concentración de las gotas se describe en términos de la fracción volumen o porcentaje de masa, razón volumen o fracción de masa (McClements, 2005).

### 1.2.2.2 Apariencia

La textura de una emulsión frecuentemente es un reflejo de la fase externa, así que una emulsión aceite/agua usualmente es sensible a perder consistencia o hacerse cremosa, mientras que las emulsiones agua/aceite son sensible a hacerse aceitosas o grasosas. Esta distinción se hace menos evidente cuando la viscosidad de la emulsión aumenta, así que una emulsión aceite/agua muy viscosa puede hacerse aceitosa. La apariencia de las emulsiones depende de los ingredientes usados, de su color y del tamaño de partícula de la fase dispersa. La opacidad es determinada por la distribución de las partículas según su tamaño y la diferencia entre los índices de refracción de las dos fases. Se obtiene una mejor distribución de partícula cuando hay una diferencia significativa en los índices de refracción de ambas fases (Schramm, 2005). El color de las emulsiones se controla generalmente por el color de la fase continua. Se pueden obtener emulsiones estables reduciendo el tamaño de partícula incluso a pocos nanómetros o por ajuste de las dos fases con un idéntico índice de refracción. Cuando una emulsión es transparente cuando son idénticos los índices de refracción de las fases o cuando los diámetros de las partículas son de 0.05  $\mu\text{m}$  o inferiores. La opacidad aumenta cuando el tamaño medio de las gotas se incrementa de 0.05 a 1  $\mu\text{m}$  y así se obtiene la mayor opacidad. En el Cuadro 1 se muestra el efecto del tamaño de las gotas sobre el aspecto de la emulsión. No todas la emulsiones presentan una apariencia lechosa clásica; un intervalo muy amplio en cuanto a la apariencia se puede presentar dependiendo del tamaño de las gotas y de la diferencia en el índice de refracción entre las fases (Schramm, 2005).

**Cuadro 1. Efecto del tamaño de las gotitas sobre el aspecto de la emulsión.**

Tamaño de partícula	Aspecto
Macro glóbulos	Pueden diferenciarse dos fases
Mayores de 1 $\mu\text{m}$	Emulsión blanca lechosa
De 1 $\mu\text{m}$ a 0.1 $\mu\text{m}$	Emulsión azul blanquecina
De 0.1 $\mu\text{m}$ a 0.05 $\mu\text{m}$	Gris semitransparente
De 0.05 $\mu\text{m}$ o menores	Transparente

**Fuente:**

Schramm, 2005.

Una emulsión puede mezclarse con un líquido que es miscible en la fase continua, así que, la leche (aceite/agua) puede diluirse con agua, mientras que la mayonesa (agua/aceite) puede diluirse con aceite. Generalmente, una emulsión que retiene una apariencia uniforme

y lechosa cuando se ha diluido demasiado es más estable que una que se ha diluido menos. Por otro lado, las emulsiones se tiñen más consistentemente con tintes solubles en la fase continua con el propósito de identificar el tipo de emulsión, ya sea agua/aceite o aceite/agua (Schramm, 2005).

### ***1.2.2.3 Preservación***

Las emulsiones son propensas a la contaminación por microorganismos durante su preparación o uso, por eso es importante que todas las emulsiones sean protegidas con preservativos usados en productos alimenticios como ácido ascórbico, ácido benzoico, propianato de sodio y de calcio y propilenglicol (Hunter, 1886).

### ***1.2.2.4 Conductividad***

La conductividad de una emulsión depende de la conductividad de la fase externa. Esta propiedad se usa para identificar el tipo de emulsión, o sea, puede usarse para distinguir una emulsión aceite/agua, de tal modo que la conductividad es muy alta cuando la fase acuosa es continua y la conductividad es muy baja cuando la fase continua es aceite (Schramm, 2005).

### ***1.2.2.5 Viscosidad***

En general, la viscosidad de una emulsión, depende de la viscosidad de la fase externa, de la proporción de la fase externa respecto a la fase interna, y del tamaño de partícula de las gotas dispersas; además del tipo de emulsionante. Sin embargo, la viscosidad de la fase externa o continua es el principal factor de comportamiento reológico de una emulsión, mientras que la viscosidad de la fase interna o dispersa solo es significativa cuando se comporta como un líquido, ya que las gotitas en emulsión se comportan como esferas rígidas, su efecto sobre la viscosidad es de poca importancia. La viscosidad de la fase externa, aumenta con el uso de agentes que imparten viscosidad, agentes de alto peso molecular, que pueden ser sintéticos o naturales (goma xantana, guar y carragenina, entre otros); todos estos materiales cuando se disuelven en la fase continua incrementan la viscosidad del medio y se reducen los mecanismos de inestabilidad en la emulsión (Cavallo *et al.*, 1990).

La viscosidad de una emulsión generalmente es similar a la de la fase continua cuando esta fase constituye la mayor parte del producto. Cuando se aumenta la concentración de la fase interna la viscosidad del producto se incrementa, y cuando se aumenta el volumen de la

fase interna más que el de la fase externa la viscosidad aparente se incrementa marcadamente, ya que crece el número de gotitas y ocupan mayor volumen total, se aumenta el contacto entre ellas, por lo tanto aumenta la viscosidad. En teoría el 74% del volumen total de la emulsión puede estar ocupado por la fase dispersa cuando las gotitas son esféricas, de tamaño uniforme y la presión no las ha deformado. Si la fase dispersa supera el 74% de la emulsión las gotitas se deforman y el tamaño de partícula y la carga de partícula tendrán un gran efecto sobre la viscosidad de la emulsión (Fox, 1986).

Cuando se adiciona un emulsionante a una de las fases de la emulsión, se forma alrededor de cada gotita, una película orientada en la interfase sólida de las moléculas de emulsionante. La naturaleza química y la concentración del emulsionante influye principalmente sobre la viscosidad aparente de la emulsión. En general, una viscosidad alta resulta de una concentración alta de emulsionante debido al incremento de la adsorción de algunos tipos de moléculas (proteínas) y a la retención de fase continua en las micelas formadas por el exceso de moléculas de emulsionante. Puede ser que las gotitas de una emulsión tengan doble capa de cargas en sus interfases; estas cargas aumentan por ionización, adsorción o contacto por fricción, así que ejercen mucha influencia sobre la viscosidad. La capa adsorbida aumenta la viscosidad de la superficie, sin embargo, no se puede distinguir entre los efectos causados por la viscosidad y la elasticidad de la película. Se obtiene una capa de surfactante densamente compacta sobre las gotas superficiales de la emulsión cuando una fase lamelar coexiste con una fase acuosa y oleosa, en este caso, se observa que la viscosidad de la capa del emulsionante disminuye cuando se aumenta la temperatura y se aprovecha el punto de fusión de la fase lamelar. La viscosidad de interfase es generalmente mucho mayor cuando las proteínas cubren la interfase aceite-agua comparadas a cuando únicamente un emulsionante de bajo peso molecular está presente. La viscosidad de superficie de una capa proteínica depende del tipo de proteína, de la cantidad adsorbida y de las propiedades solventes, tales como el pH y la concentración de sal. Las proteínas son, debido a la tensión superficial y a la viscosidad superficial más eficientes que los emulsionantes de bajo peso molecular; así que los emulsionantes, son adicionados en muchos casos para desestabilizar proteínas que estabilizan emulsiones (Larsson y Friberg, 1990). La estabilidad de las emulsiones alimenticias está en función del aumento de viscosidad de interfase y del orden en la estructura del sistema (Lobo y Wasan, 1990).

### **1.3 EMULSIONANTES**

El principal factor de la acción estabilizadora de un emulsionante es su tendencia para adsorber a la interfase en vez de ser disuelto en una de las fases líquidas, sus propiedades tienen que ser balanceadas entre sus características hidrofílicas y lipofílicas (Larsson y Friger, 1990). Los agentes tensoactivos bajan fuertemente la tensión superficial o de interfases, porque modifican la estructura de la superficie formando una capa molecular

adsorbida y orientada, producto de su estructura anfipolar. Estas moléculas también bajan la energía en la interfase entre líquidos y superficies sólidas por un lado y entre líquidos inmiscibles por otro; en el primer caso provocan la extensión y en el segundo caso, la emulsión o disolución, o sea poder dispersante o solubilizante (Cavallo *et al.*, 1990). También incrementan la elasticidad de la superficie, incrementan la repulsión de la doble capa eléctrica (surfactantes iónicos). Para lograr la máxima eficiencia y efectividad, los emulsionantes estables tienen un límite de solubilidad en ambas fases (oleosa y acuosa) del sistema (Schramm, 2005).

### **1.3.1 Clasificación de agentes tensoactivos**

Los agentes tensoactivos se encuentran en forma natural en los alimentos, según Cavallo y col. (1990) los emulsionantes se pueden dividir o clasificar de acuerdo a su composición:

- Iónicos: aniónicos, catiónicos
- No iónico
- Anfótero

El emulsionante de tipo iónico está compuesto de un grupo lipofílico orgánico y de un grupo hidrofílico. Dependiendo de la naturaleza del grupo ión-activo, se pueden dividir así mismos en aniónicos o catiónicos. La porción lipofílica de la molécula es usualmente considerada la parte surfactante activa. El emulsionante anfótero es una molécula de surfactante que contiene grupos cargados positiva y negativamente; debido a su carácter iónico del grupo polar dependiente del pH, tienen la facultad de comportarse como aniónicos o catiónicos, dependiendo de la acidez de su medio ambiente. En el Cuadro 2 se presenta la clasificación de surfactantes y algunos ejemplos de estos (Schramm, 2005).

Las propiedades superficiales de las moléculas iónicas dependen sobre todo de las interacciones electrostáticas y pueden ser modificadas considerablemente por los electrolitos y el pH. Algunos tensoactivos naturales iónicos son las sales biliares, fosfolípidos (lecitinas), colesterol, saponinas, entre otros. Dentro de los agentes tensoactivos artificiales iónicos se encuentran los jabones, sulfatos y sulfanatos de arilo y/o de alcohol. Algunos agentes tensoactivos artificiales no iónicos se encuentran monoésteres de propilenglicol, mono y diésteres de glicerol, ésteres de sorbitol y de sacarosa, óxido de polietileno, monoestearatos de sorbitol polioxietileno, entre otros (Schramm, 2005). Los emulsionantes son una subdivisión de la clasificación general de los agentes tensoactivos que constan de mitades hidrófilas e hidrófobas y se clasifican de acuerdo a la naturaleza de la parte polar (hidrofílica) de la molécula (Cavallo *et al.*, 1990). Otras subdivisiones de los agentes tensoactivos son los agentes humectantes, solubilizadores, detergentes y agentes de

suspensión. Los emulsionantes pertenecen a un grupo de compuestos denominados surfactantes y estabilizantes. Un estabilizante es un ingrediente que puede usarse para aumentar la estabilidad de una emulsión y puede clasificarse como emulsionante o un modificador de textura dependiendo su modo de acción. Los emulsionantes son moléculas de superficie activa, muchos son moléculas anfifílicas, o sea, que tienen una región polar y otra no polar en la misma molécula. Los emulsionantes más comunes usados en la industria alimenticia son surfactantes de moléculas pequeñas, fosfolípidos y de alto peso molecular (proteínas, y polisacáridos). Los modificadores de textura actúan en la fase continua, se dividen en dos categorías dependiendo de su modo de operación y de las características reológicas de sus soluciones: agentes de película y agentes gelificantes. Los agentes de película son ingredientes que se usan para aumentar la viscosidad de la fase continua de las emulsiones, sin embargo, los agentes gelificantes son ingredientes que se usan para formar un gel en la fase continua de las emulsiones. Los modificadores de textura, estabilizan las emulsiones retardando el movimiento de las gotas. En la industria alimenticia, los más usados comúnmente como agentes de película y gelificantes son polisacáridos o proteínas en emulsiones aceite/agua y cristales grasos en emulsiones agua/aceite (McClements, 2005).

**Cuadro 2. Clasificación de surfactantes de bajo peso molecular.**

SURFACTANTES	EJEMPLOS
Aniónicos	Estearato de sodio Sulfato dodecil de sodio Sulfanato benceno dodecil de sodio
Catiónicos	Hidroclorido laurilamina Trimetil dodecilamonio de cloro Cetiltrimetilamonio de bromo
No iónicos	Alcohol polioxietileno Alquilfenol etoxilato Polisorbato 80 Propileno oxido modificado Polimetilsiloxano Etileneoxi Propilenoxi
Anfóteros	Dodecil betaina Lauramidopropil betaina Cocoamido-2-hidroxiopropilsulfobetaina

Fuente: Schramm, 2005.

### 1.3.2 Características de los emulsionantes

Los emulsionantes son sustancias que impiden el cambio de apariencia, inhibiendo reacciones o manteniendo el equilibrio químico; estos añadidos a los productos alimenticios mantienen la dispersión uniforme de dos o más fases no miscibles. Debido a que son agentes tensoactivos, bajan la energía de interfase o tensión superficial, modificando la estructura de la superficie, formando generalmente una capa molecular absorbida y orientada, esto debido a su estructura anfipolar (con funciones hidrófilas y funciones hidrófobas) y así logran la estabilización de una emulsión (Cavallo *et al.*, 1990).

Los surfactantes aniónicos son los más comúnmente encontrados en la industria (Schramm, 2005). En muchos casos las emulsiones inestables son sensibles a la concentración del emulsionante, particularmente de los no iónicos (Cavallo *et al.*, 1990). Los agentes surfactantes aniónicos y catiónicos no son compatibles mutuamente; debido a su oposición de cargas iónicas, ellos tienden a neutralizarse uno por otro y su efecto surfactante se nulifica, mientras que los emulsionantes no iónicos presentan una tendencia a ionizarse, su desventaja es que reaccionan con varios iones (iones de hidrógeno, divalentes y trivalentes inorgánicos, o iones emulsionantes de carga opuesta) y pueden formar complejos con reducido poder emulsionante y menor solubilidad en ambas fases líquidas. Por el contrario, los emulsionantes no iónicos son generalmente solubles en agua de las fases y no reaccionan con los iones mencionados; por lo cual, los emulsionantes no iónicos tienen un uso amplio en la industria alimenticia (Fenema, 1985). Sin embargo, los emulsionantes no iónicos se pueden combinar con otros agentes surfactantes no iónicos y son más eficientes con aniónicos o catiónicos. Los emulsionantes no iónicos son menos afectados por la acción de electrolitos que los surfactantes aniónicos. Para que un emulsionante sea eficaz debe tener la capacidad de disminuir la tensión de interfase, ser absorbido en la interfase rápidamente, tener un adecuado equilibrio de grupos hidrófilos e hidrófobos, conceder gran potencial electrocinético de las gotitas dispersas; ser eficaces a bajas concentraciones, ser resistentes a cambios químicos, ser incoloros e inodoros, no tóxicos y de bajo precio. Una cantidad suficiente de emulsionante en la formulación cubrirá toda la nueva interfase creada resultante de la dispersión. No sólo la cantidad de surfactante es importante, sino, que es de mayor consideración cómo se adsorbe y orienta a la interfase. Durante la emulsificación, la energía mecánica rompe la fase dispersa y las moléculas del surfactante se transportan a la recién creada superficie, esto es esencialmente para la formación de la emulsión y su subsecuente estabilidad (Cavallo *et al.*, 1990).

Los agentes estabilizantes para emulsiones pueden ser primero: emulsionante orientado hacia la interfase aceite/agua; segundo: partículas finamente divididas absorbidas en la interfase y, tercero: hidrocoloides dispersados en agua que aumenten la viscosidad de la fase continua. Es muy usual utilizar mezclas de esto tres tipos para conseguir una buena emulsión. Es preciso notar que, los emulsionantes alimenticios proceden de materia biológica o se sintetizan a partir de ácidos grasos purificados, triglicéridos y compuestos

hidrófilos (McClements, 2005; Krog y Barfod, 1990; Hunter, 1986).

### **1.3.2.1 Balance HLB**

HLB significa equilibrio hidrófilo – liófilo, es una relación de proporción, en peso, de grupos hidrófilos e hidrófobos de una molécula de emulsionante. La escala de intervalos de HLB va de 0-20 para surfactantes no iónicos,  $HLB < 9$  se refieren a los surfactantes lipofílicos (solubles en aceite) y los de  $HLB > 11$  se refieren a surfactantes hidrofílicos (solubles en agua) y los que tienen valores entre 8 y 11 son intermedios. Las mezclas de HLB elevado (hidrófilos) estabilizan emulsiones aceite/agua y las de HLB bajo (lipófilos) estabilizan emulsiones agua/aceite. Hay muchos surfactantes iónicos tienen HLB mayores a 20 (ejemplo: dodecil sulfato de sodio, con  $HLB = 40$ ). En general, los emulsionantes apropiados para emulsiones agua/aceite tienen valores de HLB en el intervalo de 3-8, mientras que emulsionantes para emulsiones aceite/agua comprenden valores de 8-18 (Schramm, 2005). Se presentan en el Cuadro 3 los valores de algunos emulsionantes alimentarios y emulsionantes no iónicos.

La solubilidad de un emulsionante está parcialmente relacionada con su HLB; cuando se incrementa el valor de HLB aumenta la dispersión de un emulsionante en el agua. Sin embargo, dos emulsionantes de similar HLB pueden presentar diferentes características de solubilidad específica. La solubilidad de los surfactantes en agua se puede usar como una guía (no infalible) aproximada de su HLB. Los emulsionantes con índices superiores a 13 producen disoluciones transparentes en agua. Para elegir la mezcla de emulsionante más favorable se recomienda usar un emulsionante muy hidrófilo y otro muy liófilo; dependiendo de las proporciones de estos se establece un HLB global, habrá que corroborar que otra(s) mezcla(s) de emulsionante con ese mismo valor de HLB global da igual o mejor resultado. La solubilidad del emulsionante varía con la temperatura, así el HLB varía especialmente con los emulsionantes no iónicos, un emulsionante puede estabilizar una emulsión aceite/agua a baja temperatura, pero para una emulsión agua/aceite se requiere alta temperatura (Schramm, 2005).

En el Cuadro 4 se presenta una estimación del número de HLB para algunos surfactantes. El número HLB de un emulsionante iónico puede alterarse por el cambio en la concentración de sal de la emulsión, con tal que estos cambios no hagan al producto final inaceptable. Por ejemplo, con incrementos de la concentración de NaCl en el sistema, la solubilidad del laurilsulfato de sodio ( $HLB=40$ ) podría decrecer y el emulsionante convertirse en más lipofílico (Cavallo *et al.*, 1990).

El HLB es un indicador de las características emulsionantes de un emulsionante, pero no es eficiente. Así que mientras todos los emulsionantes tienen un HLB mayor tienden a ser útiles en emulsiones aceite/agua, actúan para un sistema en partículas. Por ejemplo,

mezclas de emulsionante actúan mejor que componentes de un mismo HLB. La evidencia sugiere que dependiendo de la razón fase volumen empleada y la técnica de emulsificación usada pueden ser de más importancia en el tipo de emulsión final, que el valor de HLB del emulsionante en sí mismo (Schramm, 2005).

**Cuadro 3. Emulsionantes y sus valores de HLB, \* emulsionantes alimentarios y ° no iónicos.**

EMULSIONANTE	VALOR HLB
Ácido oléico	1.0
Monoestearato de propilenglicol	1.8 *
Triestearato de sorbitán (SPAN 65)	2.1 °
Monoestearato de glicerina	3.7 *
Lactopalmitato de glicerilo	3.7 *
Sesquiolato de sorbitán (ARLACEL 83)	3.7 °
Monooleato de sorbitán (SPAN80)	4.0
Monolaurato de propilenglicol	4.6 *
Estearato de sorbitán (SPAN 60)	4.7 °
Ester succínico de monoglicéridos	5.3 *
Monoestearato de diglicerilo	5.5 *
Monoestearato de sorbitán	5.7 *
Monolaurato de dietilenglicol	6.0
Monolaurato de sorbitán	6.6 *
Monopalmitato de sorbitán	6.6 *
Palmitato de sorbitán (SPAN 40)	6.7 °
Monolaurato de sorbitán (SPAN 20)	9.0 °
Ester diacetiltartárico de monoglicéridos	9.2
Polisorbato 61 (TWEEN 61)	9.6 *°
Grenetina	9.8 *
Polisorbato 81 (TWEEN 81)	10.0 °
Triestearato de polioxietileno de sorbitán	10.5
Metilcelulosa	10.5 *
Monooleato de polioxietileno (5) sorbitán	10.9 *
Monoestearato de glicerol	11.0
Polisorbato 85 (TWEEN 85)	11.0 °
Goma de tragacanto	11.9 *
Goma de acacia	11.9 *
Polisorbato 60 (TWEEN 60)	14.9 °
Monoestearato de polioxietileno de sorbitán	14.9 *
Monooleato polioxietileno de sorbitán	15.0
Monooleato de polioxietileno (20) de sorbitán	15.8 *
Polisorbato 20 (TWEEN 20)	16.7 °
Oleato de sodio	18.0
Octadecanoato de sodio	18.0
Oleato de potasio	20.0
Dodecanoato de sodio	21.0
Estearil 2 lactato de sodio	21.0 *
Diocetil sulfosuccinato de sodio	32.0
Sulfato heptadecil de sodio	38.0
Sulfato dodecil de sodio	40.0

Fuente: Schramm, 2005 y Cavallo *et al.*, 1990.

**Cuadro 4. Estimación de HLB por solubilidad en agua.**

Acción en agua	Intervalo de HLB
No dispersable	1-4
Poco dispersable	3-6
Dispersión lechosa después de vigorosa agitación	6-8
Dispersión estable lechosa	8-10
Translúcida a dispersión clara	10-13
Clara	13+

Fuente: Schramm, 2005.

### 1.3.2.2 Cálculo del número HLB

El HLB de un emulsionante no iónico más exacto se expresa por la fórmula:

$$HLB = \frac{H}{5} \quad (I)$$

Donde H= porcentaje en peso de grupos hidrofílicos en la molécula.

Los grupos hidrofílicos pueden ser glicerina, glicoles, poliglicoles (polímeros de óxido de etileno) sorbitol y sorbitán.

Para lograr una emulsión estable, por lo general se usa una combinación de dos o más emulsionantes (combinaciones de compuestos lipofílicos e hidrofílicos); en este caso se utiliza la fórmula siguiente para calcular el % necesario de cada componente:

$$\% A = \frac{100 (X - HLBb)}{HLBa - HLBb} \quad (II)$$

$$\% B = 100 - \% A \quad (III)$$

HLBa = referido al primer emulsionante

HLBb = referido al segundo emulsionante

El término A, determina el valor de HLB, la estabilidad de la emulsión puede variar en

función de los emulsionantes utilizados. Cada par de emulsionantes es capaz de originar diferente grado de estabilidad así que se requiere evaluar una serie de emulsiones, preparadas a partir de varias mezclas de emulsionante con idénticos valores de HLB para determinar el par más aconsejable (Larsson y Friberg, 1990).

## **1.4 ESTABILIDAD DE EMULSIONES**

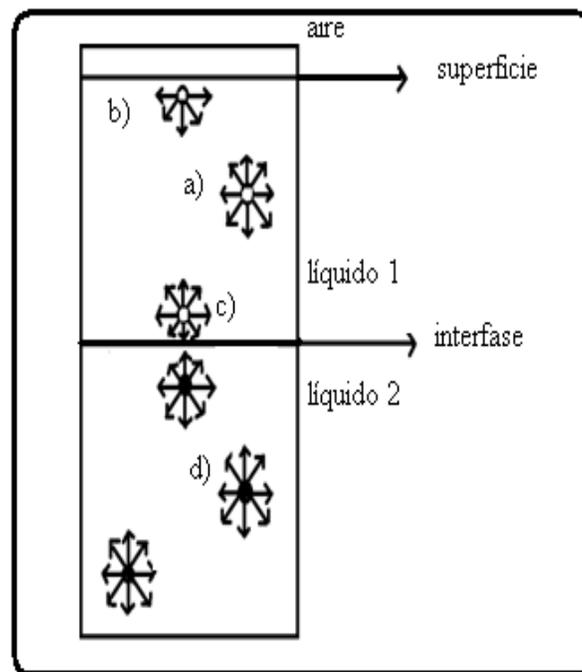
La estabilidad de una emulsión se refiere a la habilidad de una emulsión para resistir cambios en las propiedades con respecto al tiempo; la más estable, es la más lenta en cambiar sus propiedades, se evidencia por la retención de su apariencia original. La estabilidad de una emulsión alimenticia depende de las características de interfase, distribución del tamaño de partícula, viscosidad de la fase continua, relación fase-volumen y diferencia de densidades entre las fases. Cualquier modificación a estas propiedades desestabilizará la dispersión, así que las partículas dispersas se agruparán para formar agregados y si son de naturaleza líquida pueden unirse para formar una fase secundaria, o sea una capa oleosa (McClements, 2005).

### **1.4.1 Películas de interfase**

Las características de la superficie o de la interfase están relacionadas con las propiedades físicas, formación y estabilidad de las emulsiones. Cabe mencionar que el límite entre un líquido y un gas se denominan superficie y con otras combinaciones de fases se denomina interfase. En la Figura 2 se esquematizan estos dos límites, la superficie en la parte superior y en la parte inferior la interfase; como se puede apreciar, las moléculas de la interfase o de la superficie se comportan de diferente modo que las del interior de la fase (masa). Puesto que una molécula en el interior (masa), de una fase líquida es atraída con la misma fuerza en todas direcciones hacia las otras moléculas más cercanas (a), las fuerzas de atracción están equilibradas, o sea la fuerza de atracción neta sobre una molécula en el cuerpo principal de un líquido rodeado en todos sus lados por la misma clase de moléculas equivale a cero, ya que las fuerzas de Van der Waals y de London se equilibran. En la superficie hay una fuerza neta hacia el interior del líquido cuando las moléculas están cerca de la superficie no presentan fuerzas hacia la superficie (b), pero cuando las moléculas se encuentran cerca de la interfase presentan fuerzas de atracción pequeñas (c) comparadas con las fuerzas que se orientan hacia el cuerpo del líquido 1 y 2, sin embargo, las moléculas que están lejos de la superficie o de la interfase presentan fuerzas de atracción iguales en todas direcciones (d) (Schramm, 2005).

Las moléculas de la superficie o interfase no están totalmente rodeadas por otras del mismo tipo y estado físico y en estas condiciones la fuerza de atracción reticular para cada molécula se dirige hacia el interior de la fase en que se encuentra y se produce un

desbalance. La atracción interna tiende a reducir el número de moléculas de la superficie o interfase y, en consecuencia, se reduce al mínimo la superficie o área entre las fases. Las fuerzas que originan la reducción de la superficie se denomina tensión superficial, o sea, es una contracción de fuerzas en la superficie; y las fuerzas que originan reducción del área entre las fases se denomina tensión de interfase, o sea, un desequilibrio de fuerzas intermoleculares. Por eso, la tensión superficial explica la tendencia de los líquidos a formar gotitas. El agua, los aceites triglicéridos comestibles y los alimentos líquidos más importantes presentan valores de tensión superficial de 10 dinas/cm con niveles de temperatura de 0 - 80 °C; de ahí que cuando se aumenta la temperatura en una fase líquida, aumenta la energía cinética de las moléculas y disminuyen las fuerzas de atracción entre ellas, por lo tanto la tensión superficial de un líquido disminuye cuando aumenta la temperatura. Además, la tensión superficial desciende cuando hay impurezas en un líquido. Las fuerzas de atracción varían dependiendo del líquido del que se trate y, en una mezcla con dos constituyentes, la energía de superficie variará dependiendo de la naturaleza del segundo constituyente de la interfase. En función de las diferentes tensiones de interfase presentes en un sistema, se adoptará el estado en que la energía libre de superficie sea mínima (Schramm, 2005).

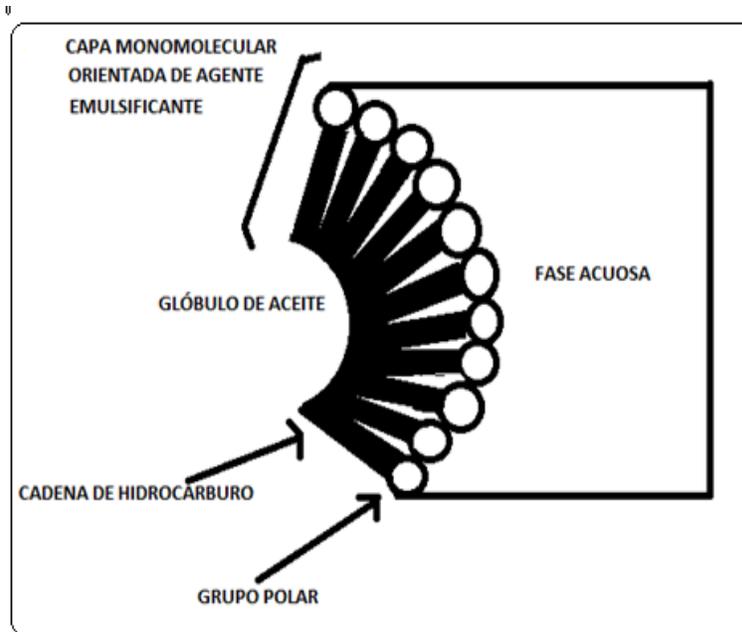


**Figura 2. Fuerzas de atracción entre las moléculas en la superficie, en la interfase y en el interior de las fases líquidas. Fuente: Schramm, 2005.**

Las atracciones intermoleculares responsables de las tensiones superficiales y de interfase del líquido incluyen a los enlaces puente de hidrógeno y a las fuerzas de dispersión de London. En los compuestos polares, tales como el agua, ambas fuerzas son importantes, mientras que en los líquidos no polares, como los triglicéridos solo son activas las fuerzas de dispersión de London (Fenema, 1985; Cheftel, 1983). Cuando hay proteínas disueltas en agua, bajan las tensiones superficiales y de interfase, ya que estas se desenrollan (desnaturalizan) y se adsorben fuertemente por la superficie, reaccionan entre sí formando una película viscosa, así que las tensiones superficiales de las soluciones proteínicas recién preparadas disminuyen con el tiempo, ya que su velocidad de adsorción superficial es lenta. También es de gran importancia para la formación y estabilidad de muchas emulsiones alimenticias, la tensión de interfase cuando se encuentra presente aceite comestible y agua, esta tensión de interfase entre el agua y el aceite deberá ser inferior a 10 dinas/cm (Larsson y Friberg, 1990).

La tensión superficial del agua se modifica con la presencia de solutos; la concentración y orientación de iones y moléculas en la superficie de una solución son las responsables de este cambio. En soluciones de sales inorgánicas y de compuestos con gran número de grupos hidroxilo (sacarosa), se aumenta ligeramente la tensión superficial cuando aumenta la concentración de soluto (Fenema, 1985).

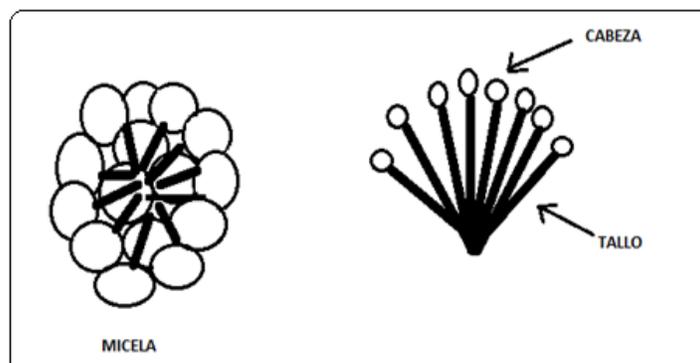
Cuando se adiciona a una solución un tensoactivo (emulsionante); sucede que la tensión superficial desciende a un mínimo (debido a las impurezas del tensoactivo) y luego aumenta para después mantenerse. En un sistema con dos líquidos, las moléculas de un emulsionante se alinean alrededor de la circunferencia de cada gota de aceite formando una capa con el grosor de una molécula; la parte soluble en grasa de cada molécula de emulsionante se orienta hacia y de hecho se disuelve en la capa exterior de las moléculas de grasa de la gota; la Figura 3 muestra este comportamiento. La porción soluble en agua de cada molécula se orienta hacia y se disuelve en la fase continua del agua que rodea la gota de aceite, o sea que la capa protectora alrededor de las gotas de aceite emulsificado consta de al menos tres capas: la más exterior consistente en moléculas de grasa, la capa del emulsionante, y la capa más interior consistente en las moléculas de agua. Los grupos polares (hidrófilos) y no polares (hidrófobos) se compensan y son absorbidos en la superficie, logrando la reducción en la tensión superficial. La elasticidad, firmeza y resistencia de las películas de interfase, alrededor de las gotitas tienen un fuerte efecto en la estabilidad de una emulsión (McClements, 2005).



**Figura 3. Orientación del agente emulsionante en una emulsión de aceite en agua. Fuente: McClements, 2005.**

Cuando se aumenta la concentración del agente tensoactivo de bajo peso molecular, las moléculas quedan adsorbidas en forma de capa única en la interface hasta que la región superficial está totalmente llena. Sobrepasada determinada concentración, las moléculas tensoactivas adicionales se agregan a las que ya están presentes, o sea, se agrupan en la masa para formar estructuras organizadas llamadas micelas, (en las que las partes lipofílicas del emulsionante asociado al interior del agregado deja las partes hidrofílicas hacia la fase acuosa media); el número de partículas activas no aumenta más y por lo tanto la superficie prácticamente no se modifica. Una solución de micelas es un buen ejemplo de una dispersión coloidal lipofílica estable. La Figura 4 esquematiza la estructura de una micela en solución acuosa. Las micelas de forma esférica o laminar constan de una parte interna, integrada por cadenas hidrocarbonatadas orientadas hacia el interior de compuestos tensoactivos y de una parte externa constituida por grupos hidrófilos hidratados. La concentración del tensoactivo mínimo a la cual se forman micelas se conoce como concentración micelar crítica (CMC), es una propiedad del emulsionante, ya que la micelización se opone a las fuerzas electrostáticas y térmicas. Una CMC baja es producida por un aumento en la masa molecular de la parte lipofílica de la molécula, bajando la temperatura y con la adición de electrolitos. Cuando la concentración es mayor que la CMC, las micelas actúan como depósitos del tensoactivo. Cuando se forman nuevas superficies las moléculas se desplazan desde las micelas a la superficie o a la interfase. Los lípidos, fosfolípidos, sales de ácidos grasos y monoglicéridos tienen propiedades tensoactivas; por otra parte, los fosfolípidos se agrupan para formar partículas más complejas que las micelas, como multicapas concéntricas (Schramm, 2005). Por encima de

la CMC, la tensión superficial no desciende más, lo mismo ocurre con la presión osmótica y el poder detergente (Hunter, 1986). A baja concentración de emulsionante (CMC o menor) la hidrodinámica de la película drenada está gobernada por las propiedades reológicas, la viscosidad y los gradientes de tensión o elasticidad. A concentraciones muy altas de emulsionante se forman fases mesomorfas llamadas cristales líquidos (cuando la viscosidad es 100 veces mayor que el agua y así se reducen a los intervalos de drenaje. A concentraciones sustancialmente altas que la CMC las micelas forman una estructura ordenada con la capa delgada que inhibe el drenaje (Lobo y Wasan, 1990).



**Figura 4. Estructura de una micela en solución acuosa. Fuente: Schramm, 2005.**

Las combinaciones de dos emulsionantes, uno liposoluble y otro hidrosoluble es recomendable y más eficaz para la estabilización que un emulsionante único. Las moléculas de emulsionante reaccionan entre sí para formar complejos monocapa densamente compactos que están adsorbidos fuertemente a la interfase y rebajan su tensión incluso a valores de 0.1 dinas/cm (las tensiones de interface aceite-agua se hallan entre 13-20 dinas/cm) (Aserin, 2008). Los emulsionantes macromoleculares que estabilizan emulsiones aceite-agua constituyen películas macromoleculares sobre las gotitas de aceite. Las moléculas proteínicas pueden ser adsorbidas en la interfase en forma de monocapas, después que se desenrollan y orientan por sí solas con las cadenas laterales hidrocarbonatadas hacia la fase oleosa y los grupos hidrófilos, hacia la fase acuosa. Las películas de las gotitas de algunas emulsiones alimenticias son capas de complejos proteínicos. La composición de las películas llegaría a ser compleja también si se utilizan emulsionantes complejos. En emulsiones aceite/agua, las películas formadas por emulsionantes de bajo peso molecular no iónicos, al igual que las macromoléculas hidrófilas (como proteínas) están envueltas por una o dos capas de moléculas de agua fuertemente unida (McClements, 2005).

La elasticidad de superficie en algunas películas se presenta cuando se ejerce una fuerza externa sobre las gotas. En emulsiones con emulsionante de bajo peso molecular, una expansión localizada de la película puede conducir a un aumento de la tensión de interfase;

si se retrasa la adsorción de otras moléculas de emulsionante desde la masa; este aumento tiende a contrarrestar el adelgazamiento de la película protectora. Las emulsiones alimenticias con emulsionante macromolecular pueden tener como película de interfase un gel polímero entremezclado tridimensional y se podrá contrarrestar cualquier fuerza que tienda a adelgazar esta película con una gran fuerza osmótica y la naturaleza elástica de las macromoléculas (la ruptura de la elasticidad de las películas proteínicas afecta la estabilidad). Proteínas y emulsificadores, así como hidrocoloides (gomas) generalmente están presentes en emulsiones alimenticias, y todos estos componentes toman parte en la formación de la película superficial alrededor de las gotas oleosas. Los emulsionantes son usualmente monoglicéridos o mezclas de monoglicéridos, o polisorbatos en una proporción de 4:1, además los emulsionantes son mejores tensoactivos que las proteínas de la leche o las gommas. Los emulsionantes serán adsorbidos preferentemente en la interfase aceite/agua debido a su alta energía de adsorción, y por lo tanto se dará la adsorción de proteínas (Krong y Barfod, 1990).

En el caso que una emulsión contenga gotas dispersas, todas de idéntico tamaño y todas esféricas, el volumen de la fase dispersa no puede rebasar el 74 %, pero en emulsiones alimenticias existe un gran intervalo de tamaño de gotas donde estas se agrupan estrechamente y se deforman, por lo tanto aparecen valores de volumen de la fase dispersa mayores a este (ejemplo: mayonesa, valor desde 85%) (Fenema, 1985).

#### **1.4.2 Mecanismos de estabilidad**

Las emulsiones son estabilizadas por la adición de un tercer componente, el agente emulsionante. Estos pueden ser surfactantes activos (monoglicéridos y diglicéridos) e hidrocoloides (goma acacia, metilcelulosa). La función de estos es diferente en cada emulsión, bajo condiciones ideales, cada tipo es capaz de estabilizar emulsiones específicas. En la formación de una emulsión existen tres mecanismos separados involucrados, uno o todos ellos pueden operar en un caso particular:

##### ***1.4.2.1 Reducción de la tensión de interfase***

Esta se logra por la adición de uno o varios emulsionantes, cuya tendencia es adsorberse a la interfase agua/aceite, en vez de ser disueltos en una de las fases líquidas, de esta manera se reduce la tensión de interfase formando una capa que resista la coalescencia.

#### ***1.4.2.2 Formación de una película rígida de interfase***

Cuando un agente surfactante está presente en una emulsión y forma una película rígida entre las dos fases inmiscibles, actúa como un mecanismo de barrera tanto para la floculación como para la coalescencia (más adelante se explicaran con más detalle estos fenómenos) de las gotas de emulsificación.

#### ***1.4.2.3 Cargas eléctricas***

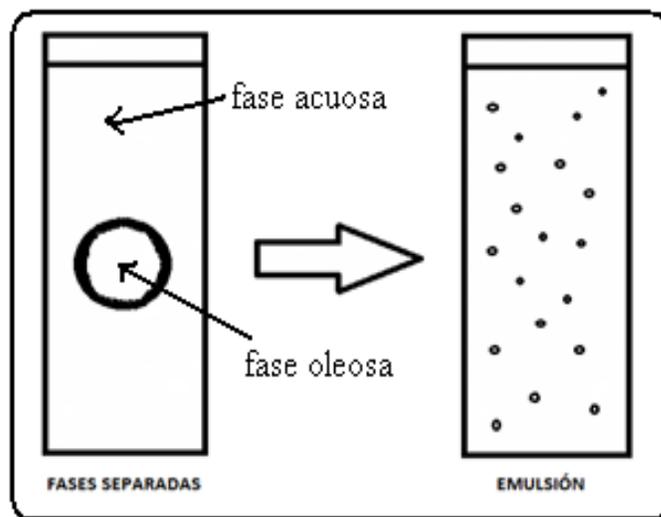
Las partículas coloidales pueden llevar muchas cargas eléctricas, estas son importantes para llevar a cabo la disociación en sistemas donde estén presentes. El efecto de la carga eléctrica es debido al agente surfactante. En una emulsión aceite/agua las moléculas dipolares (cargadas opuestamente a los dos puntos o polos) tienden a concentrarse en la interfase, entre el aceite y el agua; sucede que la geometría y los centros eléctricos no coinciden, las moléculas serán eléctricamente asimétricas, así que actúan como pequeños magnetos. La fase dispersa de prácticamente todas las emulsiones tienen partículas cargadas causada por disociación de uno de los ingredientes o, en el caso de emulsiones no iónicas esto puede ser causado por fricción eléctrica. Esta carga es más grande en sistemas no iónicos que en los iónicos. En emulsiones con tamaño de partícula pequeño la carga de partículas es de mucha importancia para mantener la estabilidad. En emulsiones con alta viscosidad la carga de partícula es de menor consecuencia sobre la estabilidad que en emulsiones líquidas. Muchos emulsionantes tienen una carga de partícula como resultado de su polaridad, y este es un valor a observar; la carga sobre el emulsionante y sobre las partículas de la emulsión (Schramm, 2005).

### **1.4.3 Fenómenos de inestabilidad**

La diferencia entre la estabilidad termodinámica de un sistema y su estabilidad cinética es crucial para el entendimiento de las propiedades de emulsiones alimenticias (McClements, 2005). A continuación se explica la inestabilidad termodinámica y cinética.

La inestabilidad termodinámica de una emulsión se demuestra si uno agita un vaso sellado conteniendo aceite puro o agua pura, y entonces se observa el cambio de apariencia del sistema con el tiempo. La emulsión ópticamente opaca que inicialmente se formó por agitación se rompe con el tiempo hasta que una capa de aceite se observa sobre una capa de agua. El origen de la inestabilidad termodinámica puede ilustrarse al comparar la energía libre de un sistema consistiendo de una fase oleosa y una acuosa antes y después de la emulsión, asumiendo que el aceite y el agua tienen densidades similares así que no se da el cremado ni la sedimentación; sino, que resultan gotas grandes solas suspendidas en la fase continua. En la Figura 5 se esquematiza la formación de una emulsión termodinámicamente

inestable, debido al incremento en el área superficial entre las dos fases, oleosa y acuosa.



**Figura 5. Formación de una emulsión termodinámicamente desfavorable por el incremento en el área de superficie entre la fase oleosa y acuosa. Fuente: McClements, 2005.**

El cambio de energía libre asociada con la formación de la emulsión determina si una emulsión es termodinámicamente estable o no, pero esto no da indicación alguna de la razón de que las propiedades de una emulsión cambien con el tiempo, el tipo de cambios que ocurren, o los mecanismos físicos responsables de estos cambios. La información acerca de la dependencia del tiempo de una emulsión estable es muy importante para la ciencia de los alimentos que requiere crear productos que retengan las propiedades deseadas por largo tiempo, bajo una variedad de diferentes condiciones en el medio ambiente, de ahí que sea más importante la estabilidad cinética de las emulsiones, que su estabilidad termodinámica. Una emulsión que contiene gotas pequeñas, usualmente tiene una vida útil mayor (alta estabilidad cinética) que una que contiene gotas grandes, aún si es más termodinámicamente inestable (porque tiene un área de interfase grande). A pesar de esto, las emulsiones alimenticias existen en un estado termodinámicamente inestable y muchas de ellas permanecen cinéticamente estables (metaestables) por meses o hasta años (Larsson y Friberg, 1990).

El origen de la estabilidad cinética de una emulsión se puede atribuir a la energía de activación, que sería mejor superarla antes de que la emulsión pueda llegar a un mejor estado termodinámicamente favorable. Una emulsión que es cinéticamente estable tiene una energía de activación lo suficientemente mayor que la energía térmica del sistema. Las emulsiones tienen diferentes estados metaestables, y cada uno de estos tiene su propia energía de activación. Una emulsión puede moverse desde un estado metaestable a otro

menor y finalmente llegar al estado más termodinámicamente estable. Un cambio de estos estados a otro puede ser suficiente para tener un deterioro en las cualidades del alimento. La estabilidad cinética de una emulsión puede únicamente ser entendida con referencia a su naturaleza dinámica. Las gotas en una emulsión están en un estado de continuo movimiento y frecuentemente chocan unas con otras, debido a su movimiento Browniano, gravedad o fuerza exteriores aplicadas. Si se retira el movimiento de las gotas, quedaran perdidamente asociadas con otras o detonan juntas después de una colisión dependiendo de la naturaleza de las interacciones entre ellas. La estabilidad cinética de las emulsiones es por lo tanto altamente determinada por la dinámica y las interacciones de las gotas que contiene. Si un aceite puro o agua pura se agitan juntos, temporalmente una emulsión se forma, y esta rápidamente revierte a sus componentes individuales, esto es por su baja energía de activación entre los estados emulsificados y sin emulsificar. La Figura 6 esquematiza un sistema de emulsión termodinámicamente inestable, donde puede existir un estado metaestable, y entonces llegar a ser un sistema cinéticamente estable, donde la energía de formación marca la diferencia en energía libre entre los estados inicial y final (McClements, 2005).

Para crear una emulsión que es cinéticamente estable por un largo período de tiempo, es necesaria la presencia de un emulsionante o modificador de textura que produzca una energía de activación que sea lo suficientemente grande para prevenir la inestabilidad. Un emulsionante adsorbe a la superficie de las gotas recién formadas y forma una membrana que prevenga su fusión, mientras que un modificador de textura aumenta la viscosidad de la fase continua o forma un gel, de tal manera que las gotas choquen menos unas con otras (McClements, 2005).

Debido a que las emulsiones son sistemas coloidales constituidos por la dispersión de numerosas partículas, poseen interfases de gran extensión entre las fases constituyentes: una relación superficie-volumen muy elevada provoca la disminución de la extensión de las interfases y esto redundando en una gran inestabilidad termodinámica. Ya que las gotas de la emulsión chocan frecuentemente, después de colisionar pueden pegarse a otras y puede quedar en medio una película delgada entre ellas, así se da la floculación o también se puede provocar la coalescencia y las gotas serán grandes (Larsson y Friberg, 1990). Son cuatro los mecanismos principales de desestabilización de las emulsiones múltiples: cremado, floculación, coalescencia de partícula e inversión de fase, los cuales se describen a continuación.

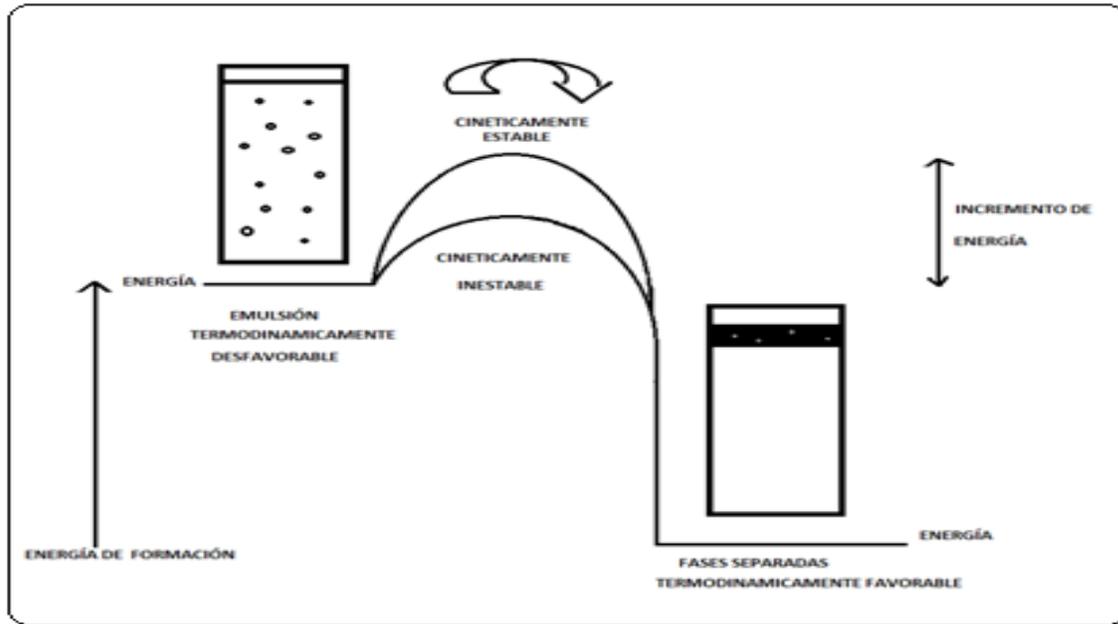


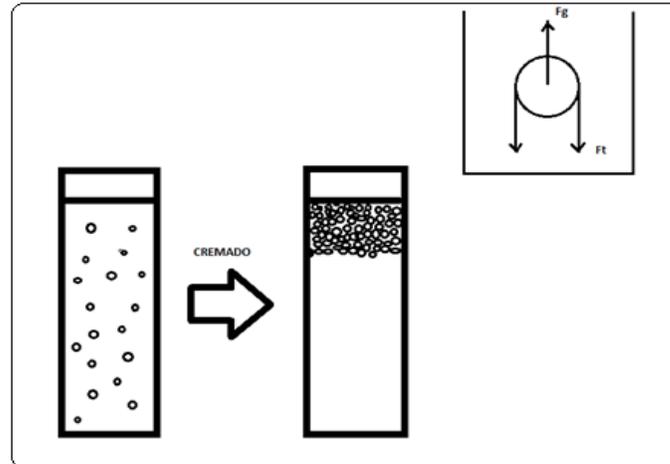
Figura 6. Emulsiones termodinámicamente inestables, donde puede existir un estado metaestable, y entonces serán cinéticamente estables. Fuente: McClements, 2005.

#### 1.4.3.1 Cremado de partícula

El cremado y sedimentación son ambas formas de separación gravitacional (McClements, 2005), se da cuando las fases presentan una diferencia de densidad, que es generalmente el caso presente en las emulsiones, ya que las gotas tienen diferentes densidades del líquido y sus alrededores, así que una fuerza neta gravitacional actúa sobre ellas. Si las gotas tienen menor densidad que el líquido circundante, ellas tienden a moverse ascendentemente, esto se conoce como cremado, en este fenómeno las gotas retienen su integridad (Cavallo *et al.*, 1990). Inversamente, si ellas tienen mayor densidad que el líquido circundante, tienden a moverse en forma descendente y esto se conoce como sedimentación. Las densidades de muchos aceites comestibles (en su estado líquido) son menores que la del agua, así que la tendencia del aceite es acumularse en lo más alto de la emulsión, y el agua en el fondo. Así que, las gotas en una emulsión aceite/agua tienden al cremado, mientras en una emulsión agua/aceite tienden a sedimentarse (McClements, 2005).

El fenómeno del cremado conlleva la flotación o sedimentación de las gotas emulsionadas y dispersas, con el peligro que el sistema se transforme en dos capas de emulsificación, una más rica y otra más pobre en la fase dispersa que en la emulsión inicial, así que la capa rica en gotas tiende a ser más viscosa de lo esperado, mientras que la capa reducida en gotas tiende a ser menos viscosa, por lo tanto, la textura esperada o atribuible al producto se ve alterada desfavorablemente. La Figura 7 esquematiza el cremado en una emulsión

alimenticia, también esquematiza las fuerzas que actúan sobre una gota de emulsión; cuando la partícula tiene una densidad menor que la del líquido circundante una fuerza ascendente ( $F_g$ ) actúa sobre esta, y el líquido experimenta una fuerza hidrodinámica de fricción ( $F_t$ ) que actúa en dirección opuesta y así retarda el movimiento; la partícula rápidamente alcanza una velocidad constante, donde la fuerza aumenta debido al balance de gravedad o la fuerza disminuye debido a la fricción.



**Figura 7. Emulsiones alimenticias propensas al cremado por la diferencia de densidad entre la fase oleosa y acuosa; fuerzas que actúan sobre las gotas de una emulsión. Fuente: McClements, 2005.**

La velocidad de cremado depende de la diferencia de densidad entre la fase dispersa y la fase continua, el tamaño de la gota y la viscosidad de la fase continua; la ecuación de Stokes determina si el movimiento de las gotas dentro de un líquido será ascendente o descendente:

$$V_{\text{Stokes}} = -2 g r^2 (\rho_2 - \rho_1) / 9 \eta_1 \quad (\text{IV})$$

Donde:

$V$  = velocidad de cremado ( $\text{m s}^{-1}$ )       $\rho_2$  = densidad de la fase dispersa ( $\text{kg m}^{-3}$ )

$r$  = radio de partícula (mm)       $\rho_1$  = densidad de la fase continua ( $\text{kg m}^{-3}$ )

$\eta_1$  = viscosidad de corte ( $\text{kg/m s}$ )

$g$  = aceleración debida a la gravedad ( $6.674 \times 10^{-11} \text{ N m}^2/\text{kg}^2$ )

El signo de la  $V_{\text{Stokes}}$  determina, tanto si la gota se mueve en forma ascendente (+) o en forma descendente (-). Cuando las gotas se mueven en forma ascendente hasta que ya no se

pueden mover más, se forma entonces una capa cremada. Las gotas grandes tienden a moverse rápido ascendentemente, a diferencia de las de menor tamaño. La sedimentación es más lenta cuanto menor es el tamaño de partícula, depende de la viscosidad de la fase dispersante (McClements, 2005). La razón de sedimentación será proporcional al cuadrado del radio de la gota (Larsson y Friberg, 1990).

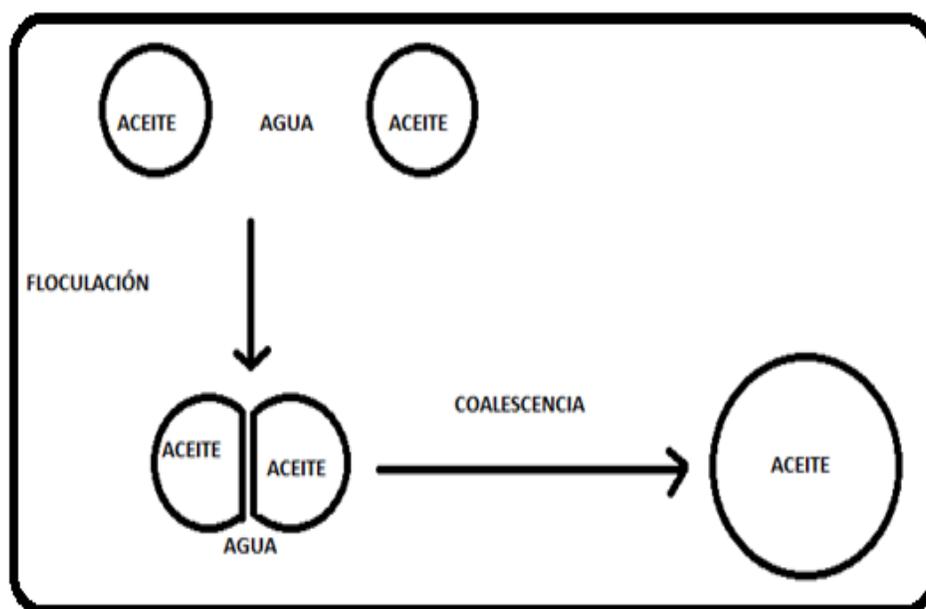
Otros factores que causan que una emulsión se desestabilice son: cuando la superficie de la emulsión se seca o cuando se congela, porque el secado y el congelamiento rompen ya sea la fase continua del agua alrededor de las gotas de grasa o la capa de emulsionante. La relación entre la tensión superficial y la temperatura en emulsionantes es debida a la transición de un tipo de monocapa líquida expandida que está a alta temperatura (aproximadamente 40 °C) a unas monocapas condensadas sólidas que se encuentran a baja temperatura (abajo de 20 °C). En monocapas sólidas condensadas el paquete molecular de moléculas de emulsionante es más densa que en monocapas líquidas expandidas, y estas diferencias resultan en menor o mayor tensión superficial respectivamente. Monoglicéridos saturados provenientes de monocapas líquidas expandidas a 40 °C, con enfriamiento debajo de 20 °C da lugar a una transición de cadenas de hidrocarburos sólidos, resultando en paquetes densos de las moléculas y en un descenso en la tensión de interfase. En sistemas que contienen emulsionantes y proteínas exhiben menor tensión de interfase que los sistemas que contienen únicamente emulsionantes o proteínas que se adicionan separadamente. En refrigeración, la tensión de interfase decrece, así que, el incremento de emulsionante determina la película de interfase a baja temperatura, aunque alguna proteína pudiera estar presente. Por otro lado, la adición de una sal a la emulsión aumenta la tensión superficial del agua (Krong y Barfod, 1990).

#### ***1.4.3.2 Floculación de partícula***

La floculación y coalescencia, son, ambos tipos de agregación de gotas (McClements, 2005). La inestabilidad de la emulsión se favorece ante la floculación e inmediata coalescencia de las gotas. La floculación se da cuando las gotas en la emulsión colisionan unas con otras frecuentemente, después de la colisión, las gotas pueden pegarse unas con otras, pero entre ellas queda una capa muy delgada de líquido circundante (Larsson y Friberg, 1990), o sea es una agregación reversible de gotas de la fase dispersa y la eventual separación en el campo gravitacional (Cavallo *et al.*, 1990). En la Figura 8 se esquematiza la floculación, donde dos gotas intactas que se agregan una con otra; y en la coalescencia, la película líquida delgada entre ellas se rompe y se forma una gran gota (Larsson y Friberg, 1990).

La dispersión se debe a fenómenos de repulsión electrostática que es el resultado de la presencia de dobles capas eléctricas que interactúan por su cercanía, seguidas por repulsión

que es determinada por la magnitud de la superficie, concentración de electrolito y valencia; combinando esta repulsión electrostática con la atracción de Van der Waals se entiende la estabilidad o inestabilidad coloidal. Se estabilizan las emulsiones frente a la floculación con cargas electrostáticas del mismo signo en la superficie de las gotas dispersas. Respecto a las emulsiones aceite-agua, se originan las cargas de superficie por ionización de grupos de los emulsionantes iónicos, adsorción de iones desde la fase acuosa sobre las capas de emulsionante no iónicos, o contacto por fricción entre las superficie de las gotas y el medio acuoso. Las gotitas cargadas están rodeadas por una doble capa difusa de contraiones, cuando estas dobles capas difusas se solapan se produce repulsión de las gotas, o sea, se genera un potencial eléctrico de superficie. Una modificación del pH o la adición de electrolitos pueden anular este potencial y provocar floculación instantánea.



**Figura 8. Floculación (gotas intactas, agregadas una con la otra). Coalescencia (película líquida entre gotas revienta y forma una gota grande). Fuente: Larsson y Friberg, 1990.**

Cuando una emulsión se rompe se deforma la simetría de la doble capa eléctrica alrededor de cada gota; así resulta la pérdida de energía e incremento de la viscosidad. En las emulsiones con películas proteínicas, se aumenta la velocidad de floculación cuando se ajusta exactamente el pH de la fase continua al punto isoeléctrico de la proteína. La floculación de dispersiones estéricamente estabilizada puede ser débil y reversible o fuerte e irreversible dependiendo de las condiciones. La floculación es la aglomeración de gotas para formar grumos indefinidos e irregulares, por lo tanto se aumenta el tamaño de las gotas con lo que resulta favorecida la velocidad de descremado. Por lo general, las gotas reunidas pueden redispersarse por mezcla o agitación para disminuir las fuerzas de Van der Waals

entre la gotitas responsables de la floculación. Una viscosidad elevada de la fase dispersante estabiliza las emulsiones retardando la sedimentación, pero también oponiéndose a la floculación (Trados, 2007). Como ya se ha explicado, la adición de emulsionante secundario constituye uno de los medios más eficaces para estabilizar las emulsiones, ya que forman una película rígida entre las dos fases inmiscibles y esta película actúa como un mecanismo contra la floculación y coalescencia.

### **1.4.3.3 Coalescencia de partículas**

La coalescencia es la fusión irreversible de diminutas gotitas para formar otras mayores, pues se reduce el área de interfase desde la energía libre de interfase del sistema; ocurre después de la floculación si se ha roto la película de interfase estabilizadora de agente estabilizante. Es un proceso termodinámicamente espontáneo que resulta en la separación de dos fases en dos capas distintas (Cavallo *et al.*, 1990). Debida a los choques provocados por la agitación térmica o mecánica, la interacción entre partículas; por ejemplo, la cristalización por formación de enlaces de hidrógeno, provoca coalescencia. La velocidad de coalescencia depende de la resistencia a la ruptura de la capa de interfase de emulsionante y por la distorsión que puede ocurrir durante la agitación o congelación de la emulsión (Leal-Calderón *et al.*, 2007).

Las emulsiones son sistemas inestables debido a que se aumenta el área de superficie producida por la dispersión del aceite, se incrementa la energía de superficie libre del sistema a cada aumento del nivel de energía. Para el proceso de coalescencia esta energía libre de superficie alcanza de nuevo este mínimo valor. La energía libre de superficie es dependiente del área de superficie y la tensión de interfase.

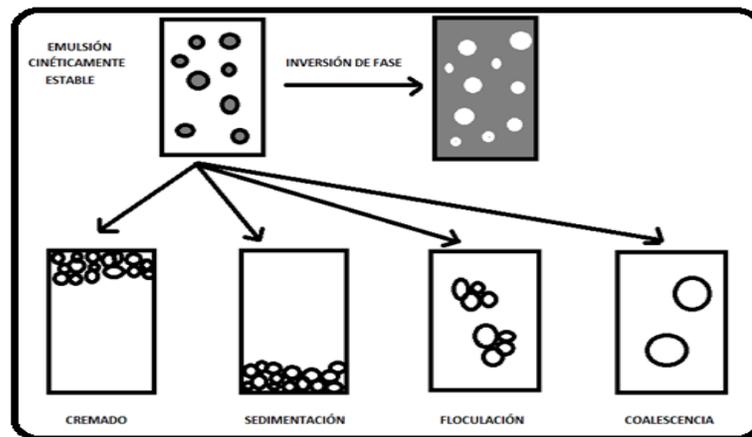
En emulsiones aceite-agua, las películas formadas por emulsionante de bajo peso molecular no iónicos o iónicos, al igual que las macromoléculas hidrófilas, como proteínas, están envueltas por una o dos capas de moléculas de agua, fuertemente unidas, que actúan como barreras físicas adicionales contra la coalescencia. La ruptura de la elasticidad de las películas proteínicas se relaciona con la estabilidad frente a la coalescencia (Krog y Barfod, 1990).

Por todo lo antes expuesto, la inestabilidad es generalmente causada por la coalescencia de las partículas dispersadas, este rango depende del tipo y concentración de emulsionante; la viscosidad de la emulsión y de los componentes de las fases; del tamaño de glóbulos dispersos y la carga sobre las partículas, y de las condiciones de almacenamiento para cada emulsión en particular. Como ya se ha explicado, para estabilizar las emulsiones frente al descremado, la floculación y la coalescencia se introduce una película resistente de interfase alrededor de cada gota, se añaden cargas eléctricas a las superficies de las mismas y se incrementa la viscosidad de la fase continua (Trados, 2007).

#### 1.4.3.4 Inversión de fase

Es el proceso por el cual una emulsión aceite/agua se convierte a si misma en una emulsión agua/aceite o viceversa, este mecanismo requiere de muy poca energía (McClements, 2005). Con una fracción volumen cercana 60-70% de la emulsión, se puede suceder instantáneamente la inversión, produciendo por ejemplo, una emulsión aceite/agua con gotas mucho más pequeñas que las gotas de la emulsión agua/aceite original. Otra variable que influye para que se presente la inversión de fase es la temperatura PIT (significa temperatura de inversión de fase), o sea la temperatura de transición en que un emulsionante cambia para estabilizar una emulsión aceite/agua a agua/aceite (Schramm, 2005).

En la Figura 9 se esquematiza la inversión de fase, partiendo de una emulsión cinéticamente estable, además de los otros cuatro mecanismos físicos que pueden tomar las emulsiones alimenticias para llegar a ser inestables: como la sedimentación, cremado, floculación y coalescencia.



**Figura 9. Emulsiones alimenticias inestables a través de varios mecanismos físicos (cremado, sedimentación, floculación, coalescencia e inversión de fase). Fuente: McClements, 2005.**

## 2.0 EMULSIONES MÚLTIPLES

### 2.1 DEFINICIÓN DE EMULSIONES MÚLTIPLES

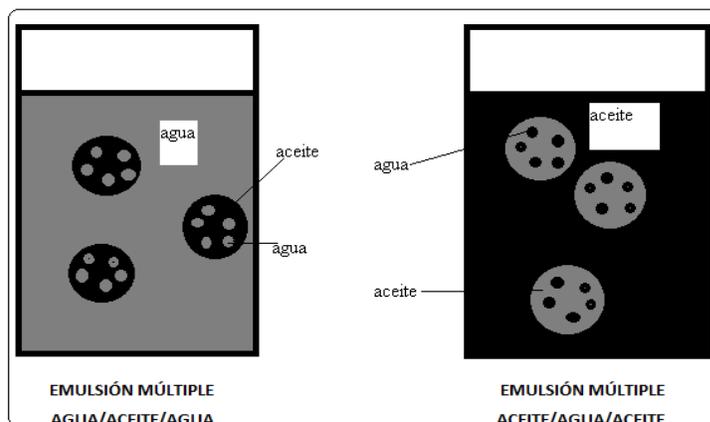
Las emulsiones múltiples son sistemas de dispersión muy complejos que se caracterizan por tener una baja estabilidad termodinámica (Muschiolik, 2007), son sistemas de fase múltiple, ya que tienen estructura terciaria, cuaternaria o aún más compleja. Las emulsiones más simples son las llamadas emulsiones dobles, esto es emulsión de emulsión (Aserin, 2008). También se les conoce como: emulsiones de membranas líquidas. En la emulsión múltiple las partículas de la fase dispersa incluyen pequeñas partículas dispersas que pertenecen a la fase continua y que tiene dos interfases. En emulsiones múltiples, cada partícula dispersa forma una estructura vesicular con uno o más compartimientos acuosos separados desde la fase acuosa por una película de la fase oleosa (Ursica *et al.*, 2005). La fase líquida que separa las gotas internas desde la fase continua externa actúa como una membrana semipermeable entre la fase externa y la fase interna; la transferencia de masa de las fases puede tomar lugar entre la fase externa y la fase interna por difusión a través de la fase membrana (Pal, 2008).

#### 2.1.1 Clasificación y tipos

Las emulsiones múltiples se clasifican en tres grandes grupos dependiendo el número de gotas internas presentes en las gotas de emulsiones múltiples (Garti y Benichou, 2001). Emulsiones múltiples Tipo A, donde las gotas de emulsiones múltiples consisten de únicamente una gota interna larga, esto es, la gota de emulsión múltiple es como un cascarón con núcleo; la emulsión múltiple Tipo B, donde la gota de emulsión múltiple consiste en varias pequeñas gotas internas, y la emulsión múltiple Tipo C, donde la gota de emulsión múltiple consiste de un gran número de gotas internas (Pal, 2008).

Las emulsiones múltiples pueden ser de tipo A, B o C y pueden clasificarse como emulsiones múltiples aceite/agua/aceite o emulsiones múltiples agua/aceite/agua. En la emulsión múltiple aceite/agua/aceite, las gotas internas y la fase continua externa (masa) son compuestos de aceite; las gotas oleosas internas son separadas desde la fase oleosa externa por la fase acuosa. Una emulsión múltiple agua/aceite/agua consiste de pequeñas gotas acuosas dispersas en aceite y estas emulsiones agua en aceite en sí misma es dispersada como gotas grandes en la fase acuosa continua (Pal, 2008; Muschiolik, 2007). Las emulsiones agua/aceite/agua son usualmente creadas por tecnología convencional de homogeneización, o sea, homogeneizando una emulsión agua/aceite/agua (McClements, 2005).

En la Figura 10 se esquematiza una emulsión múltiple agua/aceite/agua, donde se hace una clara apreciación de las gotas acuosas internas dentro de la gota oleosa múltiple, que a su vez se encuentra inmersa en una fase acuosa; y también se esquematiza una emulsión múltiple aceite/agua/aceite, donde las gotas oleosas internas se encuentran dentro de una gota acuosa múltiple, que a su vez se encuentra inmersa en una fase oleosa (Schramm, 2005).



**Figura 10. Emulsiones múltiples, tipo agua/aceite/agua y aceite/agua/aceite. Fuente: Schramm, 2005.**

### 2.1.2 Nomenclatura

Debido a la complejidad de las emulsiones múltiples, es útil tener un sistema de nomenclatura específico. Sheppard y Tcheurekdijan (1977), (citado por Florence y Whitehill, 1982), sugirieron una notación útil para definir los componentes individuales y sus orígenes en forma ordenada para no caer en ambigüedad. Por ejemplo, en la preparación de una emulsión múltiple agua/aceite/agua, usando la notación sugerida: la fase acuosa dispersa, agua<sub>1</sub> de la emulsión simple inicial agua<sub>1</sub>/aceite se convirtió en la fase interna acuosa dispersa de la emulsión múltiple. El agua adicional, agua<sub>2</sub>, mezclada con la emulsión inicial formó la fase externa de la emulsión múltiple. La continua o fase oleosa externa del inicio de la emulsión agua<sub>1</sub>/aceite se convirtió en la capa oleosa o que separó la fase acuosa externa del sistema agua<sub>1</sub>/aceite/agua<sub>2</sub>. Aquí, la fase acuosa externa, agua<sub>2</sub>, y la fase acuosa interna, agua<sub>1</sub> son las mismas. Por eso, la notación anterior agua/aceite/agua para este sistema equivale a agua<sub>1</sub>/aceite/agua<sub>2</sub>. Contrariamente, se puede tener una emulsión aceite<sub>1</sub>/agua/aceite<sub>2</sub>. También sugirieron el uso de un orden de terminología, que puede ser usado al describir sistemas más complejos. Una emulsión agua<sub>1</sub>/aceite/agua<sub>2</sub> o aceite<sub>1</sub>/agua/aceite<sub>2</sub> puede ser descrita como una emulsión de segundo orden (2 líquidos-líquidos de interfases). Sistemas más complejos pueden ser descritos como de tercero, cuarto, orden de emulsiones, entre otros; emulsiones simples deben ser entonces sistemas

de primer orden. Una emulsión  $\text{agua}_1/\text{aceite}/\text{agua}_2$  es un sistema de dos componentes y de segundo orden la emulsión, y una  $\text{aceite}_1/\text{agua}/\text{aceite}_2$  es un sistema de tres componentes y una emulsión de segundo orden también. En el caso de una emulsión de segundo orden, con tres componentes, tales como  $\text{aceite}_1/\text{agua}/\text{aceite}_2$ , la fase externa,  $\text{aceite}_2$  puede ser propiamente referida como la fase continua, desde entonces la  $\text{aceite}_1$  es diferente de  $\text{aceite}_2$ . Sin embargo, ambas la acuosa y  $\text{aceite}_2$  sirve como fase dispersa en la preparación de la emulsión. Excluyendo los emulsionantes, la fase oleosa, puede ser cualquiera de las dos: pura o mezclas y la fase acuosa puede ser cualquiera de las dos: agua o una solución.

En la formación de gotas múltiples en sistemas conteniendo tres diferentes fases líquidas inmiscibles, las muchas posibles formas de tales sistemas y podrían ser, dependiendo de las condiciones, por ejemplo:  $\text{aceite}_1/\text{agua}/\text{aceite}_2$ ,  $\text{aceite}_2/\text{agua}/\text{aceite}_1$ ,  $\text{aceite}_1/\text{agua}/\text{aceite}_1$ ,  $\text{aceite}_2/\text{agua}/\text{aceite}_2$ ,  $\text{agua}/\text{aceite}_1/\text{agua}$ ,  $\text{agua}/\text{aceite}_2/\text{agua}$ ,  $\text{aceite}_1/\text{aceite}_2/\text{agua}$ ,  $\text{aceite}_2/\text{aceite}_1/\text{agua}$ ,  $\text{agua}/\text{aceite}_2/\text{aceite}_1$ ,  $\text{agua}/\text{aceite}_1/\text{aceite}_2$ , entre otras; algunas de estas combinaciones pudieran existir en sistemas muy particulares. Sistemas como:  $\text{aceite}_1/\text{agua}/\text{aceite}_1/\text{agua}/\text{aceite}_2$ ,  $\text{aceite}_2/\text{agua}_3/\text{aceite}_1/\text{agua}/\text{aceite}_2$ , entre otros, pudieran presentarse en situaciones más complejas. Dependiendo de la naturaleza de la fase continua la emulsión se denota como  $\text{agua}/\text{aceite}/\text{agua}$  o  $\text{aceite}/\text{agua}/\text{aceite}$  (Larsson y Friberg, 1990).

## 2.2 COMPOSICIÓN DE SISTEMAS DE EMULSIONES MÚLTIPLES

Las emulsiones son materiales microheterogéneos cuya composición y propiedades varían de una región a otra. En muchas emulsiones alimenticias se puede considerar que tienen diferentes regiones, que tienen a su vez, diferentes propiedades fisicoquímicas en el interior de las gotas, en la fase continua y en la interfase. Los ingredientes en una emulsión están divididos entre el aceite, agua y región de interfase de acuerdo a su concentración y polaridad e interacciones con el medio ambiente local. Las moléculas no polares tienden a localizarse primeramente en la fase oleosa, las moléculas polares en la fase acuosa y las moléculas anfífilas en la interfase. Debe notarse que hasta en el equilibrio, hay cambios continuos de moléculas entre sus diferentes regiones que ocurren en proporción, dependiendo del transporte de masa de moléculas hacia diferentes regiones en el sistema. Las moléculas también pueden moverse de una región a otra cuando hay alguna alteración en las condiciones del medio ambiente de una emulsión, por ejemplo: cambio en la temperatura o dilución. La locación y el transporte de masa de moléculas dentro de una emulsión tiene influencia significativa en las propiedades organolépticas, estabilidad fisicoquímica de los productos alimenticios (McClements, 2005).

### 2.2.1 Fase acuosa y fase oleosa

En emulsiones agua/aceite/agua existen dos fases acuosas, una externa y otra interna que son separadas por una capa oleosa. En emulsiones aceite/agua/aceite solo existe una fase acuosa separada por dos fases oleosas, una interna y otra externa (Bonnet *et al.*, 2009). Cada glóbulo disperso en una emulsión múltiple agua/aceite/agua forma una estructura vesicular que posee compartimientos acuosos (u oleosos) separados de la fase dispersante acuosa (u oleosa) y a la vez de los componentes de la fase oleosa (u acuosa). Por lo tanto, las emulsiones múltiples contienen dos interfases: la interfase entre la fase acuosa externa y la fase continua de la primera emulsión, caracterizada por la tensión de interfase (del líquido<sub>1</sub>, y del líquido<sub>2</sub>), y la interfase entre las gotas internas y la fase continua de la primera emulsión, caracterizada por la tensión de interfase (del líquido<sub>2</sub>, y del líquido<sub>3</sub>), (Pal, 2007; De Luca *et al.*, 1991).

Las emulsiones alimenticias constan de por lo menos tres fases: la fase grasa u oleosa, la interfase y la fase acuosa. La fase oleosa puede ser parcial o totalmente cristalizada dependiendo de la temperatura. La interfase puede estar compuesta de proteínas o emulsionantes como: monoglicéridos, fosfolípidos, ácidos grasos o mezclas de moléculas de surfactante activo. La fase acuosa puede contener iones, biomoléculas, tales como polisacáridos o proteínas que pueden ejercer efectos estabilizadores o desestabilizadores. El entendimiento de las propiedades estructurales de las emulsiones, requiere de un conocimiento preciso del compartimiento de estas tres fases, de forma individual y colectiva (Leal-Calderón *et al.*, 2007), por lo cual las propiedades de la interfase agua/aceite (la tensión superficial, la elasticidad y viscosidad) pueden influir en la dinámica de las interfases y de la delgada película líquida que separa las gotas de la fase acuosa interna y de la fase acuosa externa (Bonnet *et al.*, 2009). Las moléculas de superficie activa en la fase continua pueden intercambiarse cuando se adsorben a la superficie de las gotas y así cambian las propiedades y composición de la interfase de las gotas.

Por lo antes expuesto, los factores que determinan las propiedades y estabilidad de muchas de las emulsiones alimenticias son las interacciones de ingredientes (ejemplo: biopolímero-biopolímero, biopolímero-surfactante, biopolímero-agua) y las condiciones de proceso (homogeneización, congelamiento, esterilización, pasteurización, agitación mecánica, presurización, secado), además de los factores a que son sometidos los alimentos, como: variaciones en su temperatura, presión durante su producción, almacenaje y manejo, las cuales pueden causar alteraciones en todas sus propiedades; por eso queda claro que las emulsiones múltiples alimenticias son sistemas complejos en su composición, estructura y dinámica, además que en ellos se presentan muchos factores que benefician o altean sus propiedades finales (McClements, 2005).

### 2.2.2 Emulsionantes en emulsiones múltiples

Las emulsiones múltiples requieren de un emulsionante para estabilizar gotas acuosas internas y gotas múltiples externas, debido a que el aumento en el área de interfase hace a la emulsión un sistema termodinámicamente inestable y tiende a revertirse al sistema original constituido de dos fases, reduciéndose al mínimo el área de superficie; esto obviamente resulta en una eventual destrucción de la emulsión. Al adicionar el emulsionante este se adsorbe a la interfase agua/aceite, reduciendo la tensión de interfase y formando una película de interfase que resiste la coalescencia de las gotas, esta película es fuerte y hace a la emulsión estable, de esta forma juega un papel crucial en la reducción de la tensión de interfase. Esta película puede ser monocapa, multicapa o una colección de pequeñas partículas adsorbidas a la interfase, dependiendo de la estructura y conformación del surfactante o moléculas de emulsionante en la interfase. La estructura y conformación pueden afectarse por la formulación de aditivos, temperatura de almacén, fuerza iónica y pH. Se requiere que la película sea una barrera efectiva, y quede intacta cuando esté entre las dos gotas. Si hay rompimiento, la película tiene la capacidad de reformarse rápidamente, así que la mejor película posee un cierto grado de elasticidad superficial, la cual correlaciona muy bien con la fuerza de la película de interfase y puede servir para predecir la estabilidad de la emulsión múltiple (Aserin, 2008).

Las emulsiones múltiples requieren la presencia de dos o más emulsionantes, uno que es predominantemente hidrofóbico que estabiliza la primera emulsión agua/aceite y uno que es predominantemente hidrofílico, que estabiliza la segunda emulsión aceite/agua. Los emulsionantes hidrofílicos e hidrofóbicos se adicionan a la fase oleosa y a la fase acuosa continua respectivamente. Estos dos emulsionantes pueden actuar sobre la interfase externa agua/aceite e interfieren con cada uno de los otros estabilizando el rendimiento (Jiao *et al.*, 2002; Aserin, 2008). Durante muchos años de investigación para mejorar la estabilidad y el control sostenido y la liberación prolongada de materiales activos, emulsionantes monoméricos fueron progresivamente reemplazados por emulsionantes poliméricos. Moléculas poliméricas anfifílicas, ambas naturales y sintéticas, conocidas por mejorar la cobertura de interfase durante la emulsificación y así asegurar una mejor encapsulación y control de la liberación de atrapados en las gotas de los glóbulos de emulsiones múltiples (Leal Calderón *et al.*, 2007). Surfactantes no iónicos pueden utilizarse, aunque el tipo seleccionado dependerá del uso que se le quiera dar a la emulsión múltiple. En alimentos, medicinas y cosméticos, los límites de toxicidad tienen que considerarse. Los emulsionantes no iónicos son preferidos para uso farmacéutico por su baja toxicidad y por su interacción con componentes iónicos. Los surfactantes no iónicos dan mejores rendimientos de gotas múltiples que los surfactantes no iónicos. Por otro lado, dadas las características de estos sistemas, se hace necesario el uso de un surfactante para la emulsificación primaria y el otro para la dispersión de esta emulsión al formar el sistema múltiple. El surfactante óptimo para emulsificar puede determinarse por el uso del balance

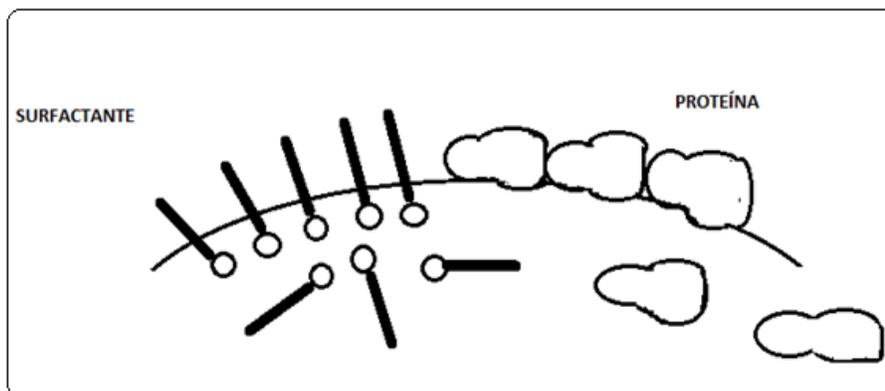
hidrofílico-lipofílico (HLB). La migración de un emulsionante hidrofílico de la interfase externa a la interna es una fuente de desestabilización de emulsiones. La adsorción de un incremento de moléculas de emulsionante hidrofílico a la superficie de las gotas que aumentan el valor de la curvatura espontánea de la capa anfifílica (mezclada) y crea condiciones favorables para la coalescencia de ambos, la gota/gota y gota/glóbulo. Emulsiones múltiples hechas con emulsionante de bajo peso molecular (emulsionante monomérico) son muy inestables termodinámicamente, debido a que el segundo estado de emulsificación la homogeneización severa o corte no se recomiendan, porque producen gotas grandes. Se han propuesto adecuadas combinaciones de emulsionantes para reducir los tamaños de gotas y así mejorar la estabilidad de las emulsiones (Aserin, 2008). El uso de copolímeros anfifílicos como emulsionantes, consigue un aumento de la vida útil de las emulsiones múltiples, si se usan en vez de emulsionantes de bajo peso molecular, sin embargo, la interfase de las gotas inversas es estabilizada con cualquiera de los dos con una pequeña molécula tensoactiva o con un surfactante polimérico (Muschiolik *et al.*, 2006).

El uso de macromoléculas anfifílicas y estabilizadores, tales como proteínas y polisacáridos sirve para estabilizar emulsiones agua/aceite/agua. Se han utilizado: grenetinas, proteína de suero, suero de albúmina de bovino, suero de albúmina humana, caseínas y otras proteínas; también se han usado en combinación con otros emulsionantes monoméricos. Una mejora significativa en la estabilidad se obtiene cuando estas macromoléculas se encapsulan dentro de la fase interna. Mejores capacidades de atrapamiento, alargamiento con menor estabilidad de los glóbulos y la mejor retención en la fase interna, pueden conseguirse si el aceite en la fase interna difiere de la fase externa y el emulsionante está fuertemente anclado a la interfase. Los polímeros complejos son excelentes candidatos para tales requerimientos (Aserin, 2008).

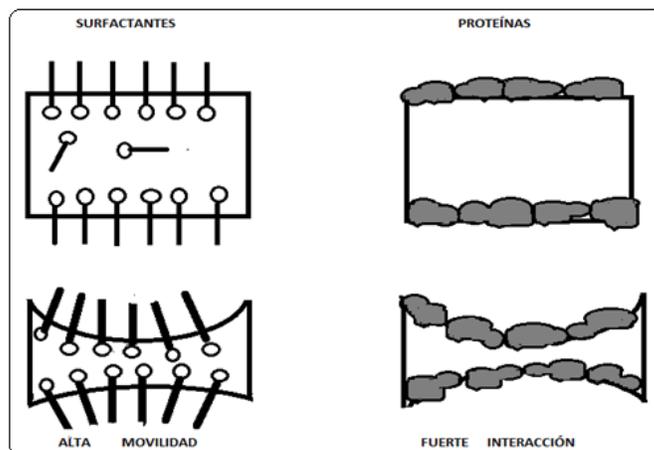
Es importante resaltar que cantidades significativas de fluidos inmiscibles pueden mezclarse juntos si la capa de interfase circundante a las gotas dispersas se ocupa por una capa de moléculas adsorbidas que impidan a las gotas colisionar. La Figura 11 muestra la importancia de la capa de interfase en sistemas de emulsiones para las dos principales clases de moléculas de superficie activa, surfactantes y proteínas, que actúan para estabilizar el sistema. Los surfactantes de bajo peso molecular, lípidos y emulsionantes se autoensamblan a interfases con la parte apropiada de moléculas asociadas con la parte hidrofílica o fase hidrofóbica.

Las proteínas, son macromoléculas complejas que se adsorben a la interfase y proceden a extenderse, exponiendo sus grupos hidrofóbicos hacia la fase hidrofóbica. La Figura 12 muestra dos tipos de moléculas que estabilizan las emulsiones. Los surfactantes dependen de la difusión rápida para disipar alguna contrariedad en la interfase. Este movimiento rápido arrastrará fluido solo dentro del espacio lamelar entre gotas, permaneciendo ellas separadas. Por otro lado, las proteínas se extienden, desarrollan fuertes interacciones con moléculas proteínicas vecinas y forman un gel en la interfase. El gel viscoelástico puede

estrecharse y extenderse y deformarse para adsorber las irregularidades en la interfase, y entonces estabilizar contra la coalescencia. La principal diferencia entre las interfases estabilizadas por proteínas y surfactantes es la viscoelasticidad de la interfase. Por lo tanto, la reología de interfase se usa para probar estos dos tipos de interfases (Aserin, 2008).



**Figura 11. Materiales de superficie activa estabilizando (surfactante y proteína) estabilizando emulsiones. Fuente: Aserin, 2008.**



**Figura 12. Mecanismo de estabilidad para surfactantes y proteínas. Fuente: Aserin, 2008.**

Reporta Aserin (2008) que Garti y de col. (1994) investigaron la liberación de NaCl desde una emulsión agua/aceite/agua y ésta fue afectada por la presencia de proteínas en la fase interna, pero no fue afectada la fase externa. Sin embargo, la adición de proteína para cualquiera de las dos fases aumenta la estabilidad de la emulsión, como se observó que la emulsión fue estable conteniendo proteínas en la fase acuosa externa. La adición de un polisacárido, con proteína, en la fase acuosa externa aumenta la estabilidad del glóbulo y la

encapsulación de vitamina B1 desde la fase acuosa interna por más tiempo.

Los fosfolípidos como la semilla de soya y la yema de huevo son componentes importantes en biomembranas. La Fosfatidilcolina (PC) es un fosfolípido natural que se usa como un agente estabilizador en emulsiones alimenticias. Lisofosfatidilcolina (LPC) tiene diversas funciones semejantes a las de PC en la formación de emulsiones estables (Mine *et al.*, 1996).

Las emulsiones alimenticias son mucho más complejas, más que una emulsión de tres componentes (aceite, agua, emulsionante). La fase acuosa puede contener una variedad de ingredientes solubles en agua, como: azúcares, sales, ácidos, bases, alcoholes, surfactantes, proteínas y polisacáridos. La fase oleosa usualmente contiene una mezcla compleja de compuestos liposolubles tales como: triglicéridos, diglicerol, monoglicerol, ácidos grasos libres, esterol y vitaminas. La región de interfase puede contener una mezcla de varios componentes de superficies activa, incluyendo proteínas, polisacáridos, fosfolípidos, surfactantes, alcoholes y complejos moleculares. Así que estos componentes pueden formar varios tipos de entidades estructurales en las regiones oleosa, acuosa o de interfase (tales como: cristales grasos, cristales de hielo, agregados de polímero, burbujas de aire, cristales líquidos y micelas de surfactante) que en su momento pueden asociarse para formar largas estructuras (tales como, biopolímeros o cadenas de partículas (McClements, 2005).

### **2.3 ESTABILIDAD DE EMULSIONES MÚLTIPLES**

La estabilidad en una emulsión generalmente depende del agente emulsionante, tamaño de gota, carga neta y propiedades mecánicas y físicas de la película adsorbida. La distribución de las gotas de emulsión es un parámetro importante para caracterizar una emulsión. La estabilidad y resistencia al cremado, reología, reactividad química y eficiencia fisiológica son influenciadas por el tamaño relativo y la distribución de tamaño. El control estricto del tamaño de partícula y su diseño son factores muy importantes, no únicamente para la preparación de emulsiones estables, sino para descubrir nuevas dispersiones que contengan partículas sólidas o líquidas (Mine *et al.*, 1996). La estabilidad de emulsiones múltiples es influenciada por su composición y depende de las condiciones de emulsificación (Muschiolik, 2007).

Para obtener sistemas estables de emulsiones agua/aceite/agua es de suma importancia controlar las siguientes variables: concentración del emulsificante lipofílico, composición y concentración de la fase oleosa, así como de la fase acuosa interna; la naturaleza de emulsionantes hidrofílicos, la concentración de la emulsión primaria en la emulsión múltiple agua/aceite/agua y el contenido de la fase acuosa externa (Ursica *et al.*, 2005). Por eso, la estabilidad de las emulsiones múltiples depende de varios parámetros que entran en juego simultáneamente, donde un único y simple mecanismo no puede explicar todas las

trayectorias o sucesos que tienen lugar en estos sistemas complejos (Muschiolik, 2007). De ahí que, las propiedades de las emulsiones múltiples (estabilidad, propiedades reológicas) y sus usos industriales son gobernados por variables como la temperatura, composición y distribución de tamaño de gotas, viscosidad, volúmenes de fase, presencia de surfactantes y número de fases dispersas (Leal-Calderón *et al.*, 2007).

La aplicación de emulsiones múltiples es limitada por su inestabilidad termodinámica, debida a la inmiscibilidad de la fase dispersa y la fase continua, o sea por su tensión de interfase; como ya se ha explicado, cuando la fase dispersa se rompe dentro de las gotas, la energía libre superficial aumenta, lo cual causa la inestabilidad termodinámica de la fase dispersa conduciendo a las gotas a la coalescencia (Jiao *et al.*, 2002). El exceso de energía libre superficial es el resultado de la cohesión de fuerzas entre las moléculas de un líquido individual siendo mayor que las fuerzas de adhesión entre los líquidos. En la dispersión, el área de interfase de la fase dispersa líquida incrementa considerablemente comparada con la fase continua líquida (Aserin, 2008). Otro inconveniente de las emulsiones múltiples es la posible difusión de materia hidrosoluble desde una fase acuosa a la otra a través de la capa oleosa (Bonnet *et al.*, 2009; Cheng *et al.*, 2007).

### **2.3.1 Factores que controlan la estabilidad en emulsiones múltiples**

A continuación se describirán algunas propiedades de presión involucradas en las emulsiones múltiples, como la presión de Laplace, presión osmótica y el balance de presión de Laplace con la presión osmótica.

#### **2.3.1.1 Presión de Laplace**

La presión de Laplace surge de la tensión de interfase de uno de los dos líquidos hacia una interfase curvada cuando uno de los líquidos es disperso como gotas dentro del otro líquido. La presión varía inversamente con el radio de la curvatura. Una gota esférica en una emulsión ejerce más presión sobre la interfase interna cóncava que sobre la cara convexa, así que una mayor tensión superficial constituye una mayor presión en el interior de la gota; por lo cual una gota con radio pequeño ejerce gran fuerza interna. En una emulsión en la que están en contacto dos gotas con la misma tensión superficial, la gota pequeña experimenta una presión alta, resultando en colapso y empujando todo su contenido dentro de la gota alargada. Cuando la deformación ocurre, la presión de Laplace de la gota deformada debería ser una función del radio a lo largo de la superficie de la gota. En los casos extremos, cuando una gota se alarga y toma una forma cilíndrica, la presión de Laplace se reduce a la mitad de la gota original esférica. En el caso de emulsiones múltiples, la presión de Laplace existe en ambas gotas la interna y la múltiple. Sin embargo,

si el tamaño de las gotas internas es muy pequeño, la presión de Laplace sobre la estabilidad de las gotas internas es mayor que sobre las gotas múltiples. La presión de Laplace en el proceso de emulsificación es la causa de que una emulsión se convierta termodinámicamente ineficiente. Para una emulsión con gotas altamente curvadas, se requiere energía extra para superar la presión que existe en las gotas (Aserin, 2008).

### **2.3.1.2 Presión osmótica**

Para emulsiones múltiples agua/aceite/agua la fase oleosa puede ser vista como una membrana lípida (cuya estructura es similar a las capas biomoleculares de moléculas de emulsionante) que separa las fases acuosas internas y externa de la interfase agua/aceite. El espesor de la membrana oleosa depende de los cambios en la composición de la emulsión múltiple. El agua puede pasar a través de la membrana oleosa de la fase acuosa a la otra dependiendo de la presión osmótica (Aserin, 2008) ya que la permeabilidad es una propiedad de las membranas lípidas; así que la capa oleosa de emulsiones múltiples permite la permeación de moléculas de agua, bajo un gradiente de presión osmótica entre los compartimientos y el medio, por lo cual el aumento o descenso que ocurra en los compartimientos será de acuerdo a la corriente de la presión osmótica, cuando la dilución de emulsión induce un gradiente de concentración de soluto entre las fases, esto como consecuencia de la presión osmótica o por la cantidad de emulsionante utilizado. Esta membrana semipermeable y el consecuente efecto osmótico afectan la estabilidad (Leal-Calderón *et al.*, 2007).

En emulsiones agua/aceite/agua, si la presión osmótica es alta en la fase acuosa interna, el agua podría pasar dentro de esta fase resultando en hinchazón y la eventual ruptura de las gotas internas con la consecuente liberación de sus contenidos dentro de la fase externa. Si la presión osmótica en la fase acuosa interna es baja entonces el agua será transferida desde la fase acuosa interna a la fase acuosa externa causando encogimiento de las gotas internas y desestabilizando el sistema (Jiao *et al.*, 2002). Si la presión osmótica en el medio ambiente externo es mayor que en la fase interna se reduce la edad de las gotas acuosas internas y/o rompe la capa oleosa, este problema se resuelve parcialmente por la incorporación de pequeñas cantidades de cloruro de sodio en la fase acuosa interna. Proteínas, azúcar y medicamentos en la fase acuosa pueden ejercer este efecto (Aserin, 2008).

La concentración de sal en la fase acuosa externa juega un papel importante en el balance de los efectos en la presión osmótica entre la fase acuosa externa y la fase acuosa interna. Una pequeña cantidad de sal en las gotas acuosas externas es capaz de equilibrar las diferencias en la presión de Laplace y la presión osmótica. Gotas internas muy pequeñas, con la concentración de sal correcta o de otros ingredientes son esenciales para regular el

balance osmótico en muchas emulsiones múltiples (Muschiolik, 2007). El cloruro de sodio y otros electrolitos adicionados inicialmente en la fase acuosa interna o externa de emulsiones múltiples agua/aceite/agua pueden migrar de un lado a otro de la capa oleosa y conseguir dentro de la fase acuosa a través de la migración molecular. La migración de electrolitos induce cambios en la presión osmótica por más tiempo y altera la estabilidad. Las emulsiones múltiples estabilizadas por Span 83 y Tween 80 son más estables con silicato de sodio incorporado en la fase acuosa interna que con cloruro de sodio (Jiao *et al.*, 2002). La diferencia en la estabilidad de las emulsiones múltiples observadas puede atribuirse a una rápida migración de cloruro de sodio desde la fase acuosa interna a la fase acuosa externa y la consecuencia más significativa es un desbalance en la presión osmótica comparada con el silicato de sodio (Aserin, 2008).

### **2.3.1.3 Balance entre presión de Laplace y presión osmótica**

Cuando una gota de agua contiene cierta cantidad de sal en un solvente (fase oleosa) existe un equilibrio en la interfase plana agua/aceite, y si la película alrededor de esta gota de agua es impermeable será capaz de prevenir la coalescencia. La presión de Laplace de una gota conteniendo una sal, dispersada en el solvente, puede causar encogimiento de la gota. Sin embargo la presión osmótica será la causa del hinchamiento de la gota y así provoca desbalance en la difusión del agua (Aserin, 2008).

Walstra (1996), (citado por Jiao y col., 2002), propuso una ecuación que muestra la concentración óptima de sal en la fase interna está basada en la presión de Laplace y la presión osmótica ejercida sobre las gotas acuosas internas.

$$2\gamma = 3 m R T \quad (V)$$

Donde  $\gamma$  = tensión superficial (Nm<sup>-1</sup> = kg/s<sup>2</sup>)  
 $m$  = concentración molar de sal (mol m<sup>-3</sup>)  
 $R$  = radio de la gota (m)  
 $T$  = temperatura ( ° C)

Bajo ciertas condiciones de concentración de surfactante lipofílico y la presión osmótica en la fase interna, las emulsiones múltiples desestabilizadas forman una estructura única meta estable con una apariencia de hoyuelo, la cual correlaciona con el tiempo real de inestabilidad de emulsiones múltiples agua/aceite/agua. La estabilidad de las emulsiones múltiples también correlaciona con la resistencia de la película de interfase (medida por la elasticidad en la interfase) de un surfactante hidrofóbico aceite mineral/fase acuosa externa. La formación de una estructura meta estable de hoyuelo y una larga estabilidad de emulsiones múltiples dependen de la presión osmótica de las gotas internas y de la presión de curvatura de Laplace, así como lo describe la ecuación de Walstra.

En emulsiones agua/aceite/agua, la presión osmótica generada por la presencia de electrolitos en la fase acuosa dispersa interna pueden causar hinchamiento y reventar las gotas internas dispersas, así desestabiliza el sistema, por lo tanto la concentración de electrolitos tiene que ser suficientemente alta para contrarrestar la presión de Laplace pero suficientemente baja evitar los efectos osmóticos. Debido a que una interfase grande presenta desafíos, se requiere una migración rápida de surfactantes en el sistema para estabilizar la fase dispersa o las fases dispersas. La estructura y propiedades de la película de interfase afectan las propiedades de las emulsiones múltiples, así como la presencia de varios aditivos (Aserin, 2008).

## 2.4 INESTABILIDAD DE EMULSIONES MÚLTIPLES

Como ya se ha dicho, en una emulsión múltiple los glóbulos dispersos tienen una estructura vesicular la cual consiste en compartimientos líquidos separados desde el mismo medio líquido por una capa delgada de otros componentes inmiscibles líquidos, por lo tanto, si ocurre una ruptura en la capa líquida, los compartimientos desaparecen instantáneamente y la fase acuosa interna se mezcla con el medio líquido; así que la estabilidad de la emulsión múltiple se puede entender en función de la durabilidad de la capa líquida. Las principales causas de inestabilidad son: agregación de las gotas internas y de gotas de emulsión múltiple, rompimiento de la fase líquida inmediata sobre la superficie de las gotas internas, filtración de la fase interna a la fase externa, encogimiento e hinchazón de las gotas internas debidas al gradiente osmótico cruzando la membrana líquida en el caso de emulsiones agua/aceite/agua y separación de fase (Aserin, 2008), lo que conlleva a procesos como la deformación, floculación y coalescencia (Jiao *et al.*, 2002). Debido a que la estabilidad de las emulsiones múltiples depende de varios parámetros que simultáneamente intervienen y que un único y simple mecanismo no puede explicar.

La Figura 13 esquematiza algunos de los posibles caminos que se pueden tomar en estos sistemas. Existen dos tipos de inestabilidad termodinámica conocidos por ser responsables del cambio en emulsiones múltiples agua/aceite/agua. El primer tipo envuelve coalescencia de las pequeñas gotas internas con las gotas externas de la interfase, que son debidas a la ruptura de la capa delgada nanoacuosa que se forma entre la fase continua externa y las gotas de agua interna. La inestabilidad irreversiblemente transforma una gota múltiple directa a una gota de emulsión simple. Tal mecanismo es adecuado para liberar sustancias solubles en agua. La segunda inestabilidad envuelve coalescencia entre las pequeñas gotas internas con el glóbulo oleoso. Por lo tanto el primer tipo de inestabilidad sigue a una liberación completa de gotas pequeñas internas hacia la fase externa, la segunda conduce al incremento del diámetro promedio de las gotas internas y al descenso en su número (Aserin, 2008).

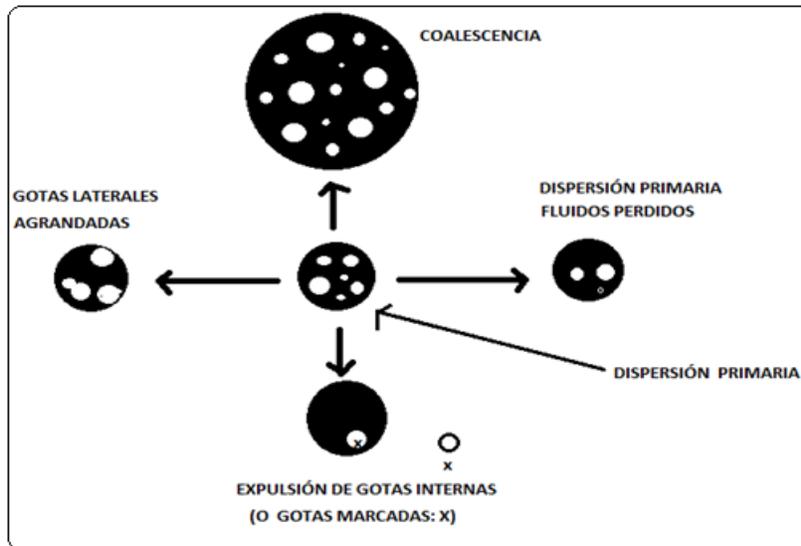


Figura 13. Mecanismos de inestabilidad en emulsiones múltiples. Fuente: Aserin, 2008.

#### 2.4.1 Coalescencia en emulsiones múltiples

Hay tres tipos de coalescencia en sistemas de doble emulsión: 1) coalescencia entre gotas internas, llamada coalescencia interna; 2) coalescencia de gotas internas con la fase continua externa, llamada coalescencia externa y 3) coalescencia entre glóbulos de dos fases. El tipo y concentración de emulsionante en cada fase de emulsión agua/aceite/agua son críticas en controlar la ocurrencia y el tipo de coalescencia. Con minutos u horas de preparación, se presenta la coalescencia interna donde hay una reducción en el número de gotas internas y un aumento en su tamaño, como se puede observar en la Figura 14 que a continuación se presenta.

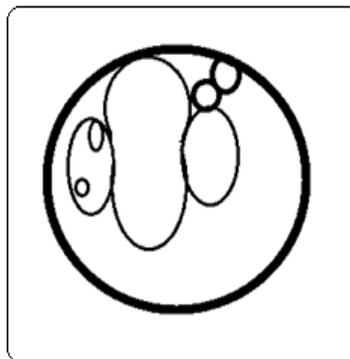
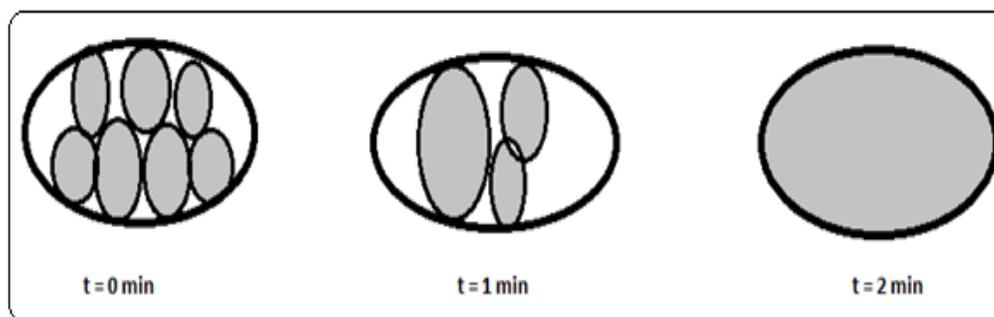


Figura 14. Coalescencia interna en glóbulos agua/aceite/agua. Fuente: Aserin, 2008.

En la Figura 15 se esquematiza la coalescencia externa, la cual es el resultado de la liberación de gotas internas y su contenido a la fase acuosa externa. En la coalescencia externa en glóbulos de agua/aceite/agua, además se muestra el cambio en los glóbulos con respecto al tiempo. Con un  $t=0$  minutos se hace referencia a una emulsión agua/aceite/agua recién emulsificada, al transcurrir 1 minuto se presenta la coalescencia interna de los glóbulos, donde los glóbulos son de mayor tamaño y el número de estos es menor, con un  $t=2$  min la coalescencia de gotas internas con la fase continua externa es total, por lo tanto se produce la coalescencia externa. En emulsiones conteniendo sustancias químicas para control de liberación, la concentración y tipo de emulsionante dicta si habrá liberación dominada por la coalescencia externa o por transporte de sustancias cruzando la fase media.



**Figura 15. Coalescencia externa en glóbulo en emulsión agua/aceite/agua. Fuente: Aserin, 2008.**

#### **2.4.2 Floculación en emulsiones múltiples**

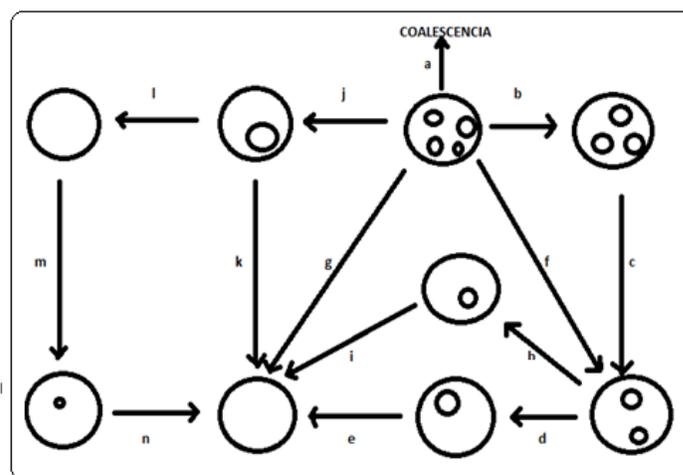
La floculación por polímeros es un proceso bien conocido. Una dispersión que es estable, con el tiempo, de pronto sedimenta cuando se adiciona a la solución una pequeña concentración de polímero. El mecanismo consiste en la adsorción de una partícula secundaria con superficie descubierta, de un grupo polar de un polímero que es atacado por la primera partícula. Cuando dos dispersiones se mezclan, las partículas de una, pero no de la otra, se cubren con polímero y la floculación toma lugar. La floculación ocurre cuando las curvas o las colas de la superficie descubierta de una partícula donde los grupos de polímeros son adsorbidos fuertemente. Las proteínas sirven como cofloculantes en suspensiones diluidas, este hecho es aprovechado para la purificación de agua con desechos por precipitación química y floculación. Estas propiedades de las proteínas no han sido muy usadas en la industria alimentaria (Larsson y Friberg, 1990).

La estabilización y floculación de una dispersión con polímeros, no dependen únicamente de las interacciones entre grupos de polímero y la superficie de la partícula, sino también de las interacciones polímero/polímero y polímero/solvente. Cuando dos partículas se acercan una con otra, ocurre la interpenetración de segmentos de los diferentes polímeros y la compresión toma lugar si la distancia es suficientemente pequeña. El acercamiento altera la

energía libre del sistema y la selección entre floculación o estabilización (Larsson y Friberg, 1990). En resumen, los mecanismos de inestabilidad de emulsiones múltiples son complejos y difíciles de estudiar, sin embargo, estos mecanismos se pueden englobar de la siguiente forma:

1. Los glóbulos dispersos pueden integrarse con otros glóbulos.
1. Los glóbulos pueden perder sus gotas internas por la ruptura de la capa oleosa en la superficie de las gotas internas resultando gotas simples.
2. Bajo la influencia de un gradiente osmótico, la fase oleosa actúa como una membrana semipermeable ocasionando el paso de agua cruzando la fase oleosa, esto provoca aumento o contracción de las gotas internas dependiendo de la dirección del gradiente osmótico.
3. Coalescencia de las gotas acuosas internas dentro de la fase oleosa.

También puede darse una combinación de los cuatro mecanismos, y éste ser aún más complejo. La probabilidad de que tomen lugar estos eventos se predice por análisis de fuerzas de atracción de Van der Waals y por los cambios de energía libre de estos sistemas. En la Figura 16 se esquematizan los posibles mecanismos que provocan inestabilidad, debido al rompimiento de emulsiones múltiples, tomando varias alternativas como la coalescencia (a), expulsiones individuales de gotas internas acuosas (b,c,d,e,i), expulsiones colectivas de gotas internas acuosas (f), expulsión de todas las gotas a la vez (g), coalescencia de gotas internas (h,j), el paso de agua hacia afuera por difusión (l,m,n), o incluso se puede dar una combinación de estos mecanismos. La agregación, floculación y coalescencia (ocurriendo en la fase interna y entre las gota de emulsión múltiple) llevan la delantera para la ruptura de gotas y en la separación de fases, y así que son factores de suma importancia en la inestabilidad de una emulsión (Aserin, 2008).



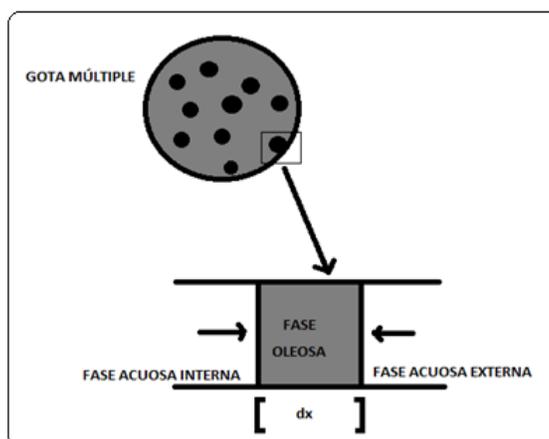
**Figura 16. Posibles mecanismos de rompimiento de emulsiones múltiples. Fuente: Aserin 2008.**

### 2.4.3 Mecanismos de paso de materiales cruzando la fase membrana

Debido a que la fase líquida que separa las gotas internas de la fase continua externa actúa como una membrana semipermeable entre la fase externa y la interna, puede haber transferencia de masa de materiales a través de la membrana fase. El mecanismo que se favorezca dependerá de la naturaleza del material, el aceite y pH en la fase acuosa (Pal, 2007).

#### 2.4.3.1 Mecanismo de transporte por difusión

Existen varios posibles mecanismos por los que los materiales pueden transferirse, cruzando la capa oleosa en un sistema de la emulsión múltiple, el más obvio o más importante en estos sistemas es el mecanismo por difusión de materiales lípidos solubles no ionizados. La Figura 17 muestra un modelo de transporte por difusión controlada de materiales no ionizados de la fase acuosa externa a las gotas acuosas internas en una emulsión agua/aceite/agua (Florence y Whitehill, 1982).

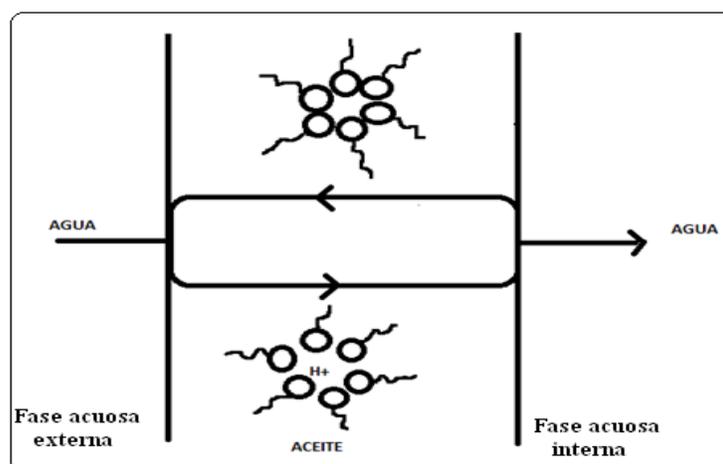


**Figura 17. Modelo para transporte de difusión controlada de materiales sin ionizar de la fase acuosa externa a las gotas acuosas internas en una emulsión agua/aceite/agua. Fuente: Florence y Whitehill, 1982.**

En este modelo de transporte de transporte la distribución espacial de las moléculas no es homogénea, sino que existe un gradiente de concentración  $dx$  a través de la fase oleosa, por lo cual la densidad de corriente de partícula es proporcional al gradiente de concentración. La difusión se lleva a cabo desde la fase acuosa interna hacia la fase oleosa y de la fase acuosa externa hacia la fase oleosa. La difusión es dependiente de la naturaleza del material, del tipo de aceite y del pH de la fase acuosa (Florence y Whitehill, 1982).

### 2.4.3.2. Mecanismo de transporte micelar reversible

Debido a que son materiales solubles atrapados durante la emulsificación en la fase oleosa interna, por el gradiente de presión osmótica, el material en cuestión tiende a la difusión y migración de la fase interna a la interfase mayormente a través del mecanismo de transporte micelar reversible, el dilema consiste en el control de difusión de las moléculas oleosas, así como de las moléculas de emulsionante y de la materia atrapada desde la fase interna a la fase externa. Parece casi imposible la retención del material dentro de la fase interna en almacenamiento prolongado, esto debido principalmente porque el emulsionantes monoméricos tienden a migrar desde la interfase interna y la externa, ambas, hacia la capa intermedia donde ellos se agregan para formar micelas capaces de solubilizar dicho material atrapado. En este mecanismo resulta importante saber la cantidad de agua solubilizada por las micelas reversibles en la fase oleosa del sistema agua/aceite/agua (Aserin, 2008). La migración de agua desde una gota interna a la fase acuosa continua resulta en un descenso en el tamaño de gota. La Figura 18 presenta un modelo de mecanismo de transporte micelar de agua de la fase acuosa a la fase interna acuosa a través de la capa oleosa en una emulsión múltiple agua/aceite/agua.

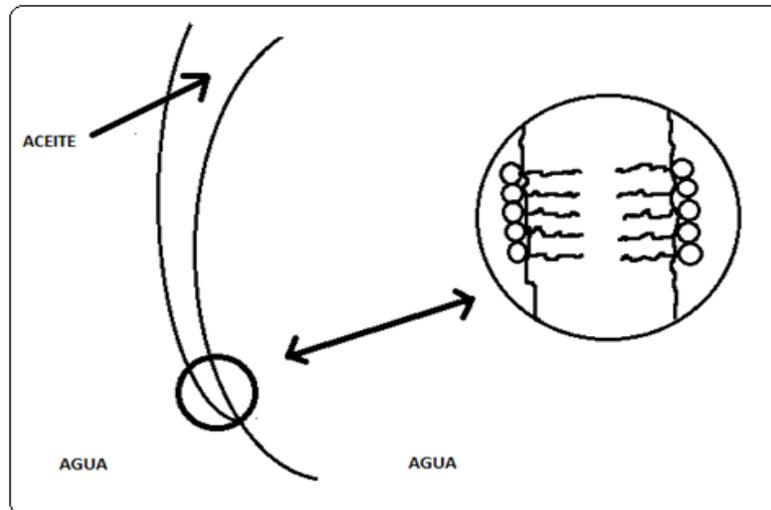


**Figura 18. Mecanismo de transporte micelar reversible en emulsiones múltiples. Fuente: Aserin, 2008.**

### 2.4.3.3 Mecanismo de transporte de acarreo del medio

El hinchamiento de la fase acuosa continua de emulsiones múltiples debidas a la migración de agua en presencia de un gradiente de presión osmótica, también es afectada fuertemente por la concentración de emulsionante en la fase oleosa, el grado de hinchamiento varía, pero puede aumentar significativamente el tamaño de los glóbulos de la emulsión. En algunos casos el exceso de hinchamiento favorece el eventual rompimiento de la fase

oleosa de la emulsión agua/aceite/agua, esto causa un extenso adelgazamiento de la película de separación de las fases acuosas, esto puede favorecer la ruptura de la capa delgada y así liberar las gotas hinchadas a la fase externa. En forma alternativa, las moléculas de agua pueden difundirse cruzando la delgada lamela de surfactantes formados cuando la capa oleosa es muy delgada, este mecanismo se conoce como mecanismo de transporte a través de la lamela adelgazada, sucede con una diferencia de presión osmótica entre las dos fases acuosas; el mecanismo se esquematiza en la Figura 19 (Aserin, 2008).



**Figura 19. Mecanismo de transporte de adelgazamiento lamelar desde la fase acuosa interna a la fase acuosa continua. Fuente: Aserin, 2008.**

El mecanismo de transporte de acarreo del medio, envuelve cualquier incorporación de material dentro de la fase acuosa interna o membrana que reacciona con los componentes permeados y produce liposolubilidad, es muy útil en la remoción de contaminantes de agua residual, en particular, para metales pesados. El transporte molecular desde la fase interna de una emulsión múltiple se da cruzando la fase media de la emulsión sin control de las gotas hacia la coalescencia entre la fase interna y externa; para este tipo de liberación desde una emulsión estable los factores que afectan la razón de liberación de electrolitos desde la fase interna incluyen la concentración de electrolitos y la hidrofobicidad. No se detecta cambio en el tamaño de gota o número en el sistema, a pesar de la liberación de varias sales y agentes activos desde la fase interna, esto indica la capacidad de las moléculas para migrar hacia la fase oleosa sin un trastorno en la estructura de la emulsión múltiple (Aserin, 2008).

#### **2.4.3.4 Mecanismo de transporte por emulsificación espontánea**

El transporte por emulsificación espontánea de gotas de agua a la fase salina, se da por la formación de muchas diminutas gotas acuosas dispersas en la fase oleosa. El descenso en el diámetro de las gotas acuosas internas indica la migración total de las moléculas acuosas a la fase acuosa externa. El efecto de Ostwald es un factor de inestabilidad en sistemas de emulsión agua/aceite/agua, la curvatura de la interfase interna agua/aceite es mayor que la de la interfase que separa la fase acuosa externa de la fase oleosa. Así que la solubilidad del agua es mayor en la interfase de las gotas internas, favoreciendo una transferencia neta de agua desde la fase acuosa interna a la externa. El transporte debido a la diferencia de presión de Laplace entre la fase acuosa interna y la externa de agua/aceite/agua pueden balancearse induciendo un gradiente de presión osmótica en la dirección opuesta. Emulsiones conteniendo NaCl en la fase interna, pero no en la fase externa, son más estables que aquellas con electrolitos en la fase interna (Aserin, 2008). Otro mecanismo de transporte, de menor importancia, es la solubilización inmediata de cantidades de la fase interna en la fase membrana en el paso de pequeñas cantidades de material..

Varios mecanismos de transferencia se han estudiado, incluyendo: la solubilización directa y difusión de especies hidrofílicas en aceite; la permeación a través de la película líquida delgada; y la solubilización de componentes encapsulados dentro de micelas reversibles de surfactantes y difusión de micelas en aceite (Bonnet *et al.*, 2009). En una emulsión estable, los glóbulos con respecto al tiempo indican que la liberación de la fase interna, podría ocurrir sin coalescencia de las gotas a la fase externa, pero sí por difusión o facilitarse el transporte cruzado de la fase media; ésta información es útil para el diseño de liberación controlada de sistemas en que el cambio de emulsionante, aceite y otros componentes pueden usarse para adaptar la proporción a la que ocurrirá la liberación. Resumiendo, los mecanismos de inestabilidad incluyen transporte a través de lamela adelgazada, transporte de complejos que son formados en la fase intermedia y actúan como una membrana líquida, además de otras variaciones de estos mecanismos. Al parecer, la principal inestabilidad y mecanismos de liberación son paralelos o simultáneamente ocurren fenómenos de transporte micelar reversible y de coalescencia (Aserin, 2008).

## **2.5 INFLUENCIA DE ALGUNOS COMPONENTES SOBRE LA ESTABILIDAD DE EMULSIONES MÚLTIPLES**

Las propiedades de la fase membrana son de vital importancia para determinar la estabilidad del sistema y las proporciones de masa transferida. De estas las más importante es la viscosidad. Las proporciones relativas de cada aceite en la emulsión determinan la

viscosidad del aceite de la fase membrana. La estabilidad de la membrana referente a la ruptura y goteo de materiales atrapados decrece con el descenso de la viscosidad. La viscosidad afecta la dinámica del crecimiento de las gotas (Jiao *et al.*, 2002, Aserin, 2008). El espesor de la fase membrana y el tipo de surfactantes usados pueden determinar la estabilidad y razón de transporte. La concentración de emulsionante puede ser un factor importante. Como en emulsiones múltiples hay dos películas de interfases separadas y la naturaleza de cada película depende de la naturaleza del surfactante primario y secundario usado al preparar las emulsiones respectivas, y también sobre la presencia de materiales en la fase interna y fase continua. La viscosidad y elasticidad de las películas de interfase aceite/agua y agua/aceite son importantes para determinar la estabilidad de ambas emulsiones, por ejemplo, obstruyendo el cierre de gotas (por efectos de la cadena de surfactantes) y previniendo la coalescencia (actúa como barrera mecánica), también determinan el transporte de material cruzando la interfase y a través de las diferentes fases de la emulsión. La presencia de estructuras de cristal líquido en ambas interfases, la interna y la externa, mejoran la estabilidad. La naturaleza de los materiales atrapados actúa sobre la estabilidad del sistema y debido a la naturaleza de una emulsión múltiple, el centro de la fase puede actuar como una membrana y los efectos osmóticos pueden convertirse en significantes. Los solutos pueden interactuar con el surfactante o en el caso de la superficie activa de medicamentos, ser absorbidas a la interfase, ambas resultando en un descenso en la estabilidad (Larsson y Friberg, 1990).

Con respecto a los efectos de cloruro de sodio sobre el tamaño de las gotas múltiples, en la concentración inicial (umbral de la concentración) los electrolitos no provocan cambios en el tamaño de las gotas múltiples, así que las gotas múltiples de diámetro grande requieren una alta concentración de cloruro de sodio para provocar hinchamiento, por esta razón los electrolitos pueden usarse para controlar la proporción y cantidad de materiales transferidos de una fase a la otra. Para estimar el flujo de agua cruzando a través de la capa oleosa mediante cambios en la viscosidad, se puede utilizar glucosa o cloruro de sodio en la fase acuosa interna, para provocar la migración de agua del exterior a la fase acuosa interna debido al gradiente de presión osmótica y el consiguiente aumento de las gotas internas, restando agua en la fase externa y así un incremento en la viscosidad. Al aumentar el tamaño de las gotas, la capa oleosa se rompe debido al agua interna y así se provoca una disminución en la viscosidad (Trados, 2007; Schramm, 2005; Knoth *et al.*, 2005).

El gradiente de presión osmótica se consigue con un diferencial de concentración de glucosa entre las fases acuosas. La razón de hinchamiento y el coeficiente de permeabilidad de agua aumentaron con el incremento de la concentración de surfactante en la fase oleosa, sin embargo con el aumento en el volumen de fase de agua en agua/aceite subió a 0.42, el coeficiente de permeabilidad decreció solo ligeramente. Con un mayor incremento de agua en la fase volumen agua/aceite (agua < 0.5), ocurre una pronunciada reducción del coeficiente de permeación. Por lo cual se concluye que para aplicaciones en el proceso de

alimentos la porción óptima de agua en la fase agua/aceite puede ser más alta de lo usual, dependiendo del emulsionante usado (Muschiolik, 2007). El coeficiente de partición, ionización, densidad de carga, peso molecular y la movilidad molecular de electrolitos pueden tener algún impacto sobre la habilidad de los electrolitos para cruzar la fase oleosa. Una variedad de materiales atrapados en la fase interna de emulsiones múltiples son fundamentales para afectar la presión osmótica (Aserin, 2008).

Flanagan y col. (2006), (citado por Muschiolik, 2007), estudiaron la reducción del contenido de poliglicerol poliricinoleato (PGPR) del 4 al 2% peso/volumen y el efecto de caseinato en la fase interna de agua/aceite/agua. En emulsiones de grado alimenticio agua<sub>1</sub>/aceite/agua<sub>2</sub> con alta estabilidad y alto rendimiento de fase agua<sub>1</sub> interna se preparó usando 2% de PGPR en aceite de semilla de soya y 0.5% de caseinato de sodio en agua<sub>1</sub> y fase agua<sub>2</sub> (0.1 M fosfato buffer, pH = 7). Los resultados indican un efecto sinérgico entre PGPR y el caseinato. Reportaron una reducción parcial de PGPR de 4 - 2% (agua/volumen) por la adición de 0.5% (agua/volumen) de caseinato de sodio en la fase acuosa interna. La reducción del contenido de PGPR en aceite sobre el intercambio de PGPR en fase oleosa por la acción de emulsionantes naturales (lecitina modificada), Scherze y col. (2006), (citado por Muschiolik, 2007), estudiaron el efecto de lecitina reducida (PC), en aceite comparado con el efecto de PGPR en aceite en la preparación de agua/aceite y agua/aceite/agua. Para la preparación de agua/aceite/agua, las propiedades de lecitina estabilizando emulsiones agua/aceite dependen más fuertemente del método de emulsificación que aquellas preparadas con PGPR. Knoth y col. (2005), (citado por Muschiolik, 2007), investigaron el efecto PC en aceite sobre agua/aceite/agua. La formación y estabilización de agua/aceite se soportó por la adición de proteínas con actividad en el medio de superficie a la interfase agua/aceite para la fase acuosa interna. Grenetina o caseinato de sodio con alta actividad superficial tienen un efecto perjudicial en emulsiones agua/aceite. Demostraron que el tamaño de partícula-agua y la agregación dependen del tipo de lípido de la fase oleosa. Las fases agua/aceite preparadas con lecitina fueron más viscosas y mostraron un comportamiento reológico diferente.

Knoth y col. (2005), (citado por Muschiolik, 2007), determinaron que la adición de NaCl es necesaria para conseguir coalescencia en emulsiones estables preparadas con PGPR; y la presencia de NaCl en emulsiones conteniendo lecitina contribuye más a la coalescencia de gotas de agua y a la separación de fase. Para volver a guiar la presión osmótica en emulsiones agua/aceite estabilizadas con lecitina es necesaria la adición de otros componentes (ejemplo: glucosa). De otra manera, el tamaño de las gotas de agua en emulsiones agua/aceite (estabilizadas con 2.5% de fosfatidilcolina lecitina reducida en aceite) puede reducirse adicionalmente por combinación de baja superficie activa, proteína de suero (WPI) con polisacárido goma xantana (XPS) en fase acuosa (1.5% WPI + 0.2% XPS en agua). Es importante que la superficie activa de ingredientes en fase acuosa<sub>1</sub> tampoco sea lata y que no haya competencia con lecitina al tomar el lugar de la superficie agua/aceite.

### 2.5.1 Efecto de biopolímeros

Los biopolímeros adsorbidos a la superficie de las gotas de la emulsión, pueden explicarse por sus relativamente lentos cambios de conformación con respecto al tiempo, lo que resulta en alteraciones de la estabilidad y propiedades fisicoquímicas del sistema completo. (McClements, 2005).

La estabilidad y textura de los coloides alimenticios conteniendo mezclas de biopolímeros depende no sólo de las propiedades funcionales de los ingredientes individuales, sino también de la naturaleza y fuerza de las interacciones proteína-polisacárido. En algunos casos, las interacciones proteína-polisacárido pueden mejorar la estabilidad general de las emulsiones. Cuando se presentan fuerzas de atracción, los complejos proteína-polisacárido pueden solubilizarse o pueden conducir a la separación de fase. Las proteínas y polisacáridos juegan un rol importante en la formación de la estructura y estabilización de emulsiones alimenticias. Mezclas de ambos biopolímeros pueden ser fundamentales en los ingredientes de una gran variedad de coloides alimenticios. Las proteínas son usadas primordialmente como agentes emulsionantes. El principal rol de los polisacáridos es inhibir el cremado inducido y la separación de fases durante un almacenamiento largo. El principal efecto de los polisacáridos se basa en el control de la reología de la fase acuosa continua localizado en los huecos en las gotas dispersas (Leal-Calderón *et al.*, 2007).

Proteínas tales, como el caseinato de sodio (SC) son excelentes emulsionantes en emulsiones aceite/agua. Sin embargo, la aplicación industrial de ellas es limitada debido a su inestabilidad en contra del calor, solventes orgánicos y cambios en el valor del pH. Conjugados de proteínas y polisacáridos con un alto peso molecular combinan las propiedades de una proteína hidrofílica, siendo firmemente atada a la superficie de la gota oleosa, con las propiedades hidrofílicas de un polisacárido, siendo altamente solubilizada por la fase acuosa media. La creación de tales conjugados se basa en la reacción tipo Maylard donde los grupos amino de la proteína reaccionan con el grupo carboxilo de un polisacárido por la formación de cadenas amida covalentes, las cuales son muy estables contra los cambios en el pH, temperatura o fuerza iónica (Muschiolik *et al.*, 2006). Neiryneck y col. (2007), (citado por Leal-Calderón y col., 2007), demostraron que la pectina tiene un efecto estabilizador en emulsiones, abajo y arriba del punto isoeléctrico, con tal que la precipitación electrostática de la proteína se impida. Un parámetro importante que determina la estabilidad o coalescencia y el estado de agregación de las gotas puede ser el pH de la proteína/polisacárido.

Benichou y col. (2002), (citado por Muschiolik, 2007), prepararon emulsiones múltiples estables utilizando PGPR como emulsionante agua/aceite con una mezcla de biopolímeros en la fase acuosa externa. La emulsión agua/aceite se dispersó en la fase acuosa externa con una mezcla de biopolímeros no complejos a pH = 7 en la interfase de aceite; se concluyó que a un pH bajo (pH = 3.5) la proteína es dominante a la interfase oleosa y la emulsión se

estabiliza por estabilización estérica. Otro trabajo de estos mismos autores (2007) se realizó para investigar el potencial de conjugados de proteína-polisacárido para estabilizar emulsiones dobles agua/aceite/agua, utilizaron proteína de suero (IPW) y el polisacárido (goma xantana) sobre la interfase; se presentó sinergismo de complejos anfifílicos de biopolímeros, utilizaron proporciones específicas de los dos polímeros y de sus concentraciones de solución, formando polímeros complejos anfifílicos. Se observó sinergismo en las propiedades de emulsificación en conjugados IPW/polisacárido comparados con cada uno de los biopolímeros solos. Estos complejos solos sirvieron como una barrera gruesa eficiente, que otra vez libera de moléculas disueltas en las gotas acuosas internas de emulsiones agua/aceite/agua y las moléculas lipofílicas disueltas en las gotas oleosas internas de emulsiones aceite/agua/aceite. A pH bajo el complejo es ineficiente, la barrera otra vez libera la vitamina B<sub>1</sub>. Mezzenga y col. (2004), (citado por Muschiolik (2007)), estabilizaron emulsiones agua/aceite/agua con PGPR en aceite por combinación de proteína de suero en medio pectina de bajo metoxilo y la adición de dextran a la fase interna o fase acuosa externa e interna para equilibrar la presión de Laplace con la diferencia de presión osmótica entre la fase acuosa<sub>1</sub> y la fase acuosa<sub>2</sub>. También evaluaron los mecanismos de transporte de agua en aceite, además desarrollaron un modelo numérico para predecir el comportamiento del hinchamiento/encogimiento en agua/aceite/agua, el cual registró una correspondencia positiva entre las predicciones teóricas y la medición de la distribución del tamaño de gotas agua/aceite/agua.

Kim y col., (2006), (citado por Leal-Calderón y col., 2007), mostraron que varios tipos de emulsiones pueden prepararse por mezcla en emulsiones aceite/agua con una mezcla de solución de polímero que separa las dos fases. La mezcla de solución de polímero compuesta proteína de suero aislada desnaturalizada por calor (HD-IPW) y pectina; donde calor desnaturalizado (HD) y proteína aislada de suero (IPW). Bajo ciertas condiciones los biopolímeros forman un sistema de de dos fases que consiste de una fase baja (agua<sub>1</sub>) HD-IPW enriquecida y una fase alta de pectina enriquecida (agua<sub>2</sub>) que se atribuye a la incompatibilidad termodinámica de los biopolímeros. Emulsiones agua/agua (agua<sub>1</sub>/agua<sub>2</sub> o agua<sub>2</sub>/agua<sub>1</sub>) pueden formarse por mezcla incompatible fases agua<sub>1</sub> y agua<sub>2</sub> a diferentes proporciones. Demostraron que las gotas oleosas estabilizadas IPW preferentemente partieron dentro de la fase agua<sub>1</sub>. Prepararon emulsiones múltiples por mezcla de proteína de suero estabilizada en emulsiones aceite/agua con fases incompatibles agua<sub>1</sub> y agua<sub>2</sub>. Estas emulsiones múltiples fueron de cualquier tipo de aceite/agua<sub>1</sub>/agua<sub>2</sub> o del tipo aceite/agua<sub>1</sub>-agua<sub>2</sub>/agua<sub>1</sub> dependiendo de la composición inicial del biopolímeros en el sistema. Esto puede tener una gran variedad de aplicaciones en la industria alimentaria, por ejemplo, para mejoramiento de texturas y para el desarrollo de nuevos sistemas.

Benichou y col. (2004 y 2007), (citado por Muschiolik (2007)) demostraron que la estabilización estérica de emulsiones múltiples puede deberse a la formación de una multicapa gruesa conteniendo gotas oleosas. Los complejos híbridos o complejos entre las

proteínas anfifílicas y coemulsionantes como cosolventes (polisacáridos) proveen significativamente de estabilidad a la emulsión y disminuye la liberación hacia la fase acuosa interna.

Cuando las emulsiones estabilizadas con proteína están sujetas a tratamiento calórico, como la pasteurización o esterilización, ellas generalmente tienden a agregarse y el resultado son emulsiones floculadas. Parkinson y Dickinson (2007), (citado por Leal-Calderón y col., 2007), con sus estudios mostraron que la adición de caseína puede inhibir la separación de fases de  $\beta$ -lactoglobulina de emulsiones estabilizadas, por más de un año. La estabilidad mejorada podría ser incrementada más allá por el proceso térmico. El efecto de alta estabilidad en presencia de caseínas abre la posibilidad de mejorar la apariencia de productos batidos. Estudiaron el efecto sinérgico por el que una pequeña cantidad de caseína puede impartir estabilidad a una emulsión estabilizada con proteína de suero calentada a 90 °C. Los resultados indican que una combinación de calor moderado y la adición de caseína pudieran mejorar la vida del suero de proteína en una emulsión. Aunque las proteínas de soya, debido a su estructura más rígida, son más estables al calor prolongado, especialmente a temperaturas arriba de 85 °C lo cual, conduce a la agregación de gotas y a la desestabilización de la emulsión.

Un estudio realizado por Diftis y Kiosscoglou (2006), (citado por Leal-Calderón y col., 2007), propuso una ruta para evitar la agregación de gotas inducidas térmicamente en emulsiones estables por sueros de proteína de soya. Incubaron mezclas de sueros de proteína de soya-dextran en agua a 60 °C por períodos de tiempo mayores a 30 minutos previos a la emulsificación. El efecto estabilizador se explica en términos de la formación híbrida polisacárido-proteína, que entonces se absorbió a la superficie de la gota de la emulsión, así previniendo la agregación de gotas. El estudio consistió en calentar emulsiones aceite/agua estabilizadas por proteína de suero de soya (SPI) a 100 °C, resultando en la agregación de gotas. La presencia de dextran libre en la fase continua de la emulsión aumentó la agregación de gotas. Sin embargo, la incubación de la mezcla SPI-dextran a 60 °C por una semana resultó en una emulsión con signos de gotas de agregación después de un prolongado calentamiento en agua hirviendo y el tratamiento calórico de la emulsión remite otra vez al cremado, seguido de un almacenaje de 24 horas.

La supresión o la agregación sobre el calentamiento es debido a la adsorción conjugada de SPI-dextran a la superficie de las gotas dando lugar a la mejoría de interacciones de repulsión estérica.

## 2.5.2 Emulsionantes y fase oleosa

Como ya se ha explicado, la prevención de interacciones negativas entre agua/aceite y aceite/agua-emulsionantes y entre emulsionantes-fase oleosa es muy importante. Por lo tanto se prefiere el uso de emulsionantes de bajo peso molecular para agua/aceite, por ejemplo PGPR o monooleato de sorbitán (Span 80) en combinación con un emulsionante de alto peso molecular, como las proteínas o el uso de un emulsionante primario polimérico lipofílico para la fase acuosa externa. La inestabilidad puede aumentar por una fase oleosa insaturada (prevenir un empaquetamiento condensado de la película de interfase), o por fases grasas con alta polaridad (Muschiolik *et al.*, 2006).

Muschiolik y col., (2006) utilizaron SC, debido a su alta actividad superficial y un surfactante de bajo peso molecular: polisorbato 20 (P-20), observándose cambios mínimos en el tamaño de las pequeñas gotas después de la preparación de la emulsión. Inmediatamente después de la preparación de la sustancia modelo la vitamina B<sub>12</sub> varió entre 6.6 - 8.5% independientemente del emulsionante usado. Sin embargo la liberación de la sustancia modelo se incrementó rápidamente durante el almacenamiento en emulsiones estabilizadas con P-20; las proteínas de alto peso molecular mejoran la encapsulación. El efecto de emulsionante sobre el nivel de hinchamiento de las gotas oleosas después de la preparación de la emulsión fue la presencia de gotas cerradamente empaquetadas. El nivel de relleno de las emulsiones estables con proteínas permanece casi constante después del almacenamiento. Las emulsiones estabilizadas con P-20 se caracterizaron por un visible hinchamiento de las gotas durante el almacenaje. Esto se atribuye a la interacción entre ambos, emulsionante, PGPR y P-20, y a la baja estabilidad de interfase de emulsionante de bajo peso molecular.

Benichou y col., (2007), (citado por Muschiolik, 2007), estudiaron los efectos de complejos de moléculas sobre aceite/agua/aceite. Utilizaron suero-goma híbrida proteína-xantana en la interfase interna aceite/agua y esta barrera de interfase prolongó la razón de liberación de medicamento entrampado. Tales híbridos pueden ser usados para alimentos al encapsular ingredientes sensitivos hidrofílicos es sistemas aceite/agua/aceite.

En sistemas aceite/agua/aceite se ha usado retinol para reducir la oxidación, la estabilidad del retinol aumenta con el aumento de la fase volumen oleosa interna. Se ha demostrado que en partículas grasas sólidas microcristalinas la interfase agua/aceite se puede estabilizar y que la adaptación de la composición y cristalización de la fase oleosa, el comportamiento de liberación de agua/aceite/agua se puede modificar (Muschiolik, 2007). Weiss y col., (2005) examinaron la posibilidad de usar una fase oleosa semicristalina en agua/aceite/agua para modificar la liberación de compuestos encapsulados hidrofílicos, sustancias de bajo peso molecular (LMWS) como L-triptófano fue encapsulado dentro de la fase acuosa interna de la emulsión agua/aceite/agua, la cual fue distribuida homogéneamente en un gel

alginate-Ca<sup>2+</sup> conteniendo malto dextrina como un agente de volumen. Diferentes emulsiones lípido fase, MTC-aceite y varias grasas vegetales semicristalinas fueron analizadas bajo las mismas condiciones de calor y frío por su capacidad para actuar como barrera hidrofóbica en la fase oleosa de la emulsión. También se varió el contenido de grasa en la fase oleosa por preparación de mezclas de grasas seleccionadas en MTC-aceite y la incorporación a 50 °C para formar la doble emulsión. Para iniciar la liberación del marcador, el sistema de encapsulación agua/aceite/gel se desestabilizó por almacenamiento del gel en agua, creando un alto gradiente osmótico.

L-triptófano, con un peso molecular pequeño comparado con otros marcadores potenciales, fue escogido para valorar la capacidad de encapsulación de diferentes lípidos, porque estos difunden más rápidamente que las moléculas largas. Se obtuvo una marcada eficiencia en la encapsulación por la disminución de la temperatura de almacenaje desde 23 a 7 °C. El incremento del contenido de grasa sólida en la fase oleosa resultó en una reducción en la difusión. La disminución de la proporción de liberación fue conseguida usando la grasa con el punto de fusión más alto y por el aumento del contenido de grasa al 100% de fase oleosa (Leal-Calderón *et al.*, 2007).

### **2.5.3. Contenido de azúcar en fase acuosa**

Dependiendo de la concentración de sucrosa, el tamaño de gotas múltiples de emulsiones agua/aceite/agua tuvo variación de entre 7-10 µm. Las gotas hinchadas de emulsión durante 28 días de almacenaje alcanzaron concentraciones de sucrosa del 20%, sin embargo, la distribución del tamaño de partículas no cambió a altas concentraciones de sucrosa. Las emulsiones múltiples estables por largo tiempo, que han sido enriquecidas con bioactivo y sustancias saborizantes pueden prepararse con bajo y alto peso molecular en ambas fases acuosas por adición de diferentes carbohidratos. La molaridad de los ingredientes usados, es muy importante para la estabilidad del sistema. Para emulsiones múltiples enriquecidas con azúcar, se estableció que la producción de pequeñas gotas de agua (< 1 µm) y de emulsiones múltiples estables se logran por arriba del 58.8% del contenido de sucrosa en la fase acuosa. Las gotas acuosas pequeñas (< 1 µm) son necesarias para producir emulsiones múltiples estables con un mayor rendimiento de la fase acuosa interna. La actividad de agua de las emulsiones múltiples varía entre 0.75 y 1.0 con respecto al contenido de sucrosa, la fase lípida y la temperatura de almacenamiento. El rendimiento de encapsulación de la vitamina B2 (riboflavina-5-fosfato) es alta a concentraciones de azúcar del 20-40%; la capacidad de encapsulación de emulsiones múltiples > 80% (Muschiolik *et al.*, 2006).

## 2.6 ENCAPSULACIÓN

Tomando en cuenta la alta capacidad de entrapamiento de compuestos hidrofílicos de las emulsiones agua/aceite/agua, como una protección hacia la degradación de las sustancias encapsuladas, y la habilidad para introducir sistemas incompatibles dentro del mismo sistema, esto mejora del rendimiento de componentes activos y de la liberación sostenida. Las estructuras de las emulsiones también se aprovechan en la industria alimenticia debido a su capacidad para entrapar en los compartimientos internos, sustancias solubles en agua (NaCl, vitaminas). La encapsulación de semejantes componentes puede enriquecer productos lácteos o actuar como máscaras de sabor. Se han reportado recientes aplicaciones de emulsiones agua/aceite/agua en la protección de probióticos, sustitución de grasa de leche en emulsiones múltiples para elaborar productos nutricionales con reducción de grasas, en particular: grasas saturadas (Bonnet *et al.*, 2009).

El entrapamiento de sustancias de bajo peso molecular solubles en agua (LMWS) es a menudo muy difícil debido a su rápida fuga de varios sistemas de encapsulación, especialmente cuando los ingredientes grado alimenticio, son usados para preparar cápsulas. El transporte de agua y de LMWS en emulsiones múltiples agua/aceite/agua ocurre por difusión de un lado a otro de la capa oleosa desde una fase a la otra, o por formación de micelas compuestas de un surfactante y el aceite. Los LMWS son con frecuencia usados para entrapar ingredientes solubles en agua, los geles de polisacárido, tales como alginatos, pectinas, o emulsiones múltiples, especialmente la emulsión tipo agua/aceite/agua. Este tipo de emulsiones representan una muy buena promesa de encapsulación para ambos componentes hidrofílicos y lipofílicos (Leal-Calderón *et al.*, 2002; Weiss *et al.* 2005).

Garti y col., (1999), (citado por Weiss y col., 2005), formularon emulsiones agua/aceite/agua con partículas de grasa microcristalina de tamaño submicron en la fase oleosa. La adsorción de estas partículas a la interfase agua/aceite iniciaron la estabilización efectiva del sistema y junto a esto no ocurrió la liberación del marcador encapsulado (NaCl). La capa delgada de la cubierta de la cápsula consiste de una malla limitada de polímero con fases inmiscibles (agua/aceite/agua o aceite/agua/aceite) y/o fases cristalinas encerradas que pueden suprimir la difusión y liberación de LMWS. Cabe mencionar que cuando se adicionan fases semicristalinas o lípidos con alto punto de fusión a la fase oleosa, la viscosidad de la fase oleosa debería incrementarse; así que se obtiene una alta liberación de sustancias activas de la emulsión aceite/agua preparadas con lípidos de alta fusión, cuando las gotas de emulsión son líquidas.

Algunos polímeros son usados para aumentar la viscosidad del sistema y para generar una matriz sólida que sea resistente al esfuerzo inducido mecánicamente; uno de estos polisacáridos es el alginato, que forma geles en presencia de iones de calcio. El alginato representa el mejor sistema de entrapamiento para celdas y para sustancias de alto peso

molecular como las enzimas y proteínas. Dependiendo de la fuente del alginato y la composición molecular, estos geles tienen poros del rango de diámetro de 5-200 nm, que determinan la eficacia de atrapamiento. La difusión de pequeñas moléculas hidrofílicas ocurre en una sola dirección a través del gel matriz. En una emulsión múltiple con alginato-matriz-gel, la fase gel representa la fase externa de la emulsión múltiple (Weiss *et al.*, 2005).

Cheng y col., (2007), (citado por Muschiolik (2007)), establecieron que una condición para que se logre alta eficiencia en la encapsulación es que haya alta estabilidad en emulsiones múltiples caracterizadas por muchas pequeñas gotas internas y una película oleosa extremadamente delgada entre las gotas acuosas internas, así que el transporte de iones depende principalmente del transporte micelar reversible más que de la difusión directa, pero la liberación por micelas reversibles se impide si la capa oleosa se hace extremadamente delgada. Con emulsiones agua<sub>1</sub>/aceite/agua<sub>2</sub> (n-hexadecano con Span 80 como fase oleosa) se estableció que los iones de cloruro de sodio y nitrito de plata pueden ser transportados a través de una película oleosa gruesa. El transporte es lento si la película oleosa es extremadamente delgada (1 µm). El transporte de iones vía transporte reversible de micelas en vez de difusión directa depende de los iones radio Pauling (pequeños iones fáciles de atrapar en micelas inversas). Por incremento de la concentración de surfactante soluble en aceite, la migración hacia adentro será lenta. Los resultados confirman que el PGPR influye favorablemente en el comportamiento de encapsulación. Una concentración de PGPR en la fase oleosa disminuye la liberación de vitamina B<sub>12</sub>. Preissler y Muschiolik (2007), (citado por Muschiolik, 2007), lograron una mayor estabilidad y mayor eficiencia de encapsulación en emulsiones agua<sub>1</sub>/aceite/agua<sub>2</sub> conteniendo PGPR en la fase oleosa con gotas de agua<sub>1</sub> < 1 µm (gotas oleosas 6-8 µm). Por otro lado, el gradiente osmótico se puede regular variando el contenido de azúcar o la concentración de cloruro de sodio.

El método de preparación, la fracción volumen de la fase oleosa y la naturaleza de materiales atrapados en la fase interna se tienen que optimizar para alargar la estabilidad de la emulsificación. Bonnet y col., (2009) investigaron el potencial de emulsiones múltiples agua/aceite/agua para encapsular iones de magnesio para suplementos alimenticios. El magnesio (Mg) es abundante en varios productos como el chocolate, legumbres y frutas deshidratadas. Se ha estudiado el efecto de la naturaleza del aceite sobre la liberación de proporciones de Mg encapsulado en emulsiones múltiples grado alimenticio, tomando en cuenta que la adición de Mg en alimentos puede inducir a degradaciones químicas, agregación de proteínas y generación de sabor desagradable; pero estas desventajas pueden evitarse o aminorarse por encapsulación. Formularon emulsiones agua/aceite/agua con aceite, aceite de olivo y oleína; poliglicerol poliricinoleato PGPR y caseinato de sodio se utilizaron como emulsionantes lipofílico e hidrofílicos respectivamente. El Mg fue encapsulado en las gotas acuosas internas. La estabilidad de la

emulsión se analizó mediante el tamaño de partícula y la liberación de Mg a 4 °C y 25 °C de almacenamiento. Independientemente de la naturaleza del aceite, tanto agua/aceite como agua/aceite/agua fueron estabilizadas con respecto a los parámetros de tamaño, con 10 µm de glóbulo de grasa y 1 µm de gotas acuosas internas. La fuga de Mg de emulsiones agua/aceite/agua fue influenciada por el tipo de aceite utilizado, la mayor fuga se obtuvo con aceites de baja viscosidad y con alta proporción de ácidos grasos saturados. La naturaleza del aceite puede afectar notablemente el comportamiento del sistema en relación a la solubilidad o a la viscosidad del agua. La hidrofobicidad intrínseca de los aceites comestibles con ácidos grasos de cadena larga se correlaciona con el grado de saturación de las cadenas, la mayoría de los aceites hidrofóbicos son aquellos que contienen mayor cantidad de ácidos grasos saturados. Un alto nivel de hidrofobicidad del aceite favorece la liberación de Mg. La liberación de Mg no se debió a coalescencia de glóbulos, sino más bien a la difusión y/o mecanismos de permeación con respecto al tiempo. Las emulsiones agua/aceite/agua fueron resistentes a varios tratamientos térmicos (como la pasteurización). Concluyeron que es posible utilizar emulsiones agua/aceite/agua cargadas con iones de Mg en aplicaciones alimenticias.

Benichou y col., (2007), (citado por Muschiolik (2007), indujeron complejos de polisacáridos-proteínas a las interfases vía regulación del pH, estos complejos de biopolímeros hechos a partir de complejas gomas IPW-xantana pueden usarse como controladores de liberación y mejoradores de estabilidad para emulsiones dobles del tipo agua/aceite/agua y aceite/agua/aceite. La homogeneización de agua/aceite en agua como una mezcla de proteínas-suero de Na-CMC previene la agregación de gotas después de la acidificación.

El intercambio de proteínas (0.5% caseinato de sodio) en la fase externa con 10% de goma arábica (0.5% PGPR en aceite) mejora la estabilidad de agua/aceite/agua y reduce la sensibilidad en la gama de pH ácido. Contrario a esto, Adachi y col., (2004), (citado por Muschiolik, 2007), establecieron que espumas agua/aceite/agua son más estables (alta eficiencia de encapsulación) con 10% de maltodextrina en la fase acuosa externa que aquellos preparados con 10-20% de goma arábica. Aquí la fase externa contenía 0.2% de lecitina como emulsionante, los resultados fueron una interacción negativa que tomó lugar en la interfase entre la superficie activa de goma arábica y lecitina. Proteínas como: caseinato de sodio, proteína de suero, proteína de trigo y proteína de soya se han usado como emulsionantes para agua/aceite/agua. El mejor comportamiento de emulsificación (pequeñas gotas y alta estabilidad de gotas) y la mayor encapsulación (triptófano) lo presenta la proteína de suero.

En emulsiones agua/aceite/agua la eficiencia de encapsulación de glicina se incrementa con el uso de conjugados de caseinato-dextran como emulsionante en aceite/agua en vez de la proteína sola. Tales conjugados (aceite/agua-emulsionante) mejoran la emulsificación del aceite; después de la acidificación y después del calentamiento, las gotas se rellenaron con

agua, resultando pequeñas en un rango de pH neutral. Gotas oleosas múltiples cubiertas con conjugado caseinato-dextran no se agregaron en el rango de pH ácido. El efecto del conjugado sobre el comportamiento de liberación de vitamina B 12 fue más pronunciado en sistemas múltiples preparados con una concentración baja de agua/aceite-emulsionante: 2% de PGPR en aceite (Muschiolik, 2007).

La adición de NaCl es necesaria para evitar coalescencia en emulsiones estables agua/aceite preparadas con PGPR. La presencia de gretina previene la coalescencia de gotas de agua en PGPR en emulsiones estabilizadas sin NaCl. El efecto estabilizante de NaCl y gretina incrementa la eficiencia de encapsulación y la estabilidad de las gotas oleosas de las emulsiones múltiples. Debido a la transferencia parcial de agua proveniente de agua<sub>1</sub> a la fase agua<sub>2</sub>, las emulsiones que contienen NaCl en la fase agua<sub>1</sub> presentan un mayor tamaño de gotas oleosas después de la preparación. Durante el almacenamiento de emulsión sin NaCl mostraron una coalescencia rápida de gotas oleosas. La larga estabilidad de emulsiones múltiples requiere un balance entre la presión de Laplace y la presión osmótica (Muschiolik *et al.*, 2006).

Weiss y col., (2006), (citado por Muschiolik, 2007), investigaron la posibilidad de crear combinaciones de proteínas con polisacáridos al preparar emulsiones con multicapas formadas de diferentes polielectrolitos. Estas capas pueden formarse usando el método de depósito electrostático capa por capa que envuelve la adsorción secuencial de polielectrolitos dentro de la superficie de cargas opuestas coloidales o partículas de emulsión múltiple. Tales aplicaciones de barreras de polímeros naturales pueden dar un efecto de barrera adicional y pueden ser un potencial para aplicaciones alimenticias.

### **2.6.1 Tamaño de gota oleosa y grosor de interfase**

Para una alta eficiencia de encapsulación, se necesita una alta estabilidad en emulsiones múltiples caracterizadas por muy pequeñas gotas internas y una extremadamente delgada película oleosa entre las gotas acuosas internas. El transporte de iones depende principalmente del transporte reversible de micelas, más que de la difusión directa, pero la liberación por inversión micelar se impide si la capa oleosa se hace extremadamente delgada; estas últimas se esperan en fases agua<sub>1</sub>/aceite/agua<sub>2</sub> con muy pequeñas gotas acuosas internas y un mayor rendimiento de fase acuosa interna. Las fases oleosas con un alto contenido de ácidos saturados, en particular C16:O y C18:O también ayudan a la formación de pequeñas gotas acuosas<sub>1</sub>.

El comportamiento de la fase interna respecto al cambio de tamaño de las gotas es muy importante. Si las partículas acuosas<sub>1</sub> son pequeñas para un análisis microscópico (< 1  $\mu\text{m}$ ), el grado de llenado de gotas oleosas estimado por análisis de imagen puede usarse para describir la estabilidad de la fase interna. Tales revisiones pueden utilizarse para explicar los resultados de los experimentos de encapsulación y la interpretación de datos. La

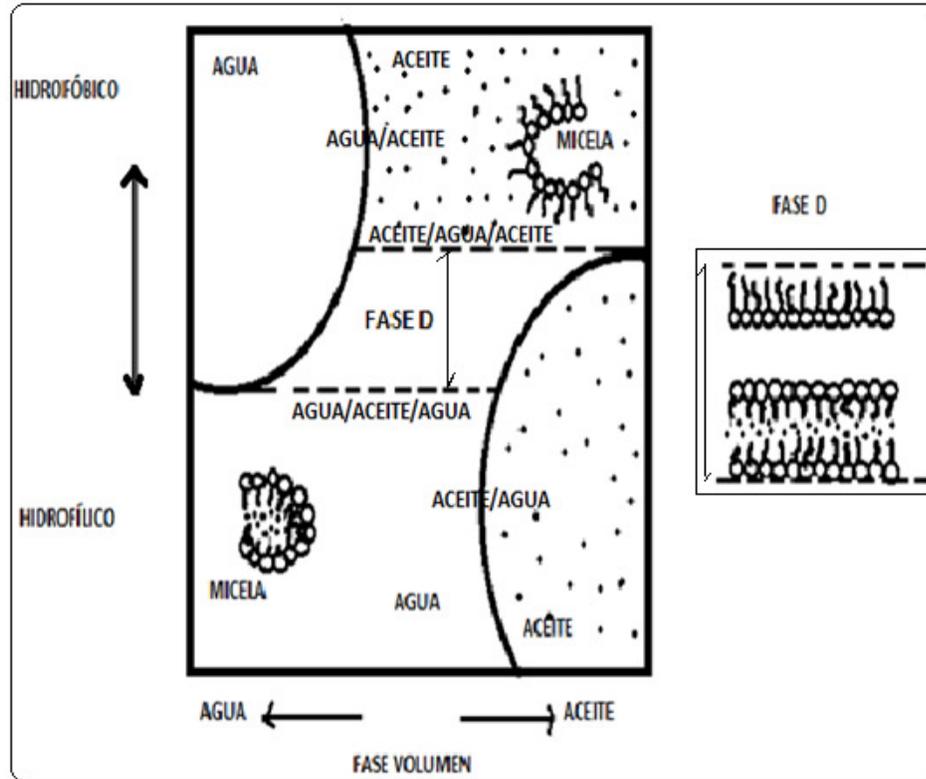
liberación de agentes con peso molecular alto controla mejor la difusión en emulsiones estables, tales marcadores no deberían ser adecuados para investigar el rendimiento de agua<sup>1</sup> y para superar complicaciones con pequeñas moléculas de difusión en emulsiones múltiples. De otra manera, la encapsulación con alto peso molecular ha sido interpretada como el rendimiento del proceso de emulsificación de agua<sup>1</sup> y para la determinación de la vida útil de una emulsión agua/aceite/agua (Muschiolik, 2007).

## **3.0 FORMULACIÓN, MANUFACTURA Y TECNOLOGÍA DE EMULSIONES MÚLTIPLES**

### **3.1 PREPARACIÓN DE EMULSIONES MÚLTIPLES**

Las emulsiones en alimentos tienen una variedad muy amplia de características fisicoquímicas y organolépticas, tales como apariencia, aroma, textura, sabor y vida útil, esta diversidad es el resultado de diferentes ingredientes presentes y condiciones de proceso usadas en la elaboración de cada tipo de producto. La manufactura de una emulsión alimenticia con cualidades específicas depende de la selección de muchas bases, vitaminas, saborizantes, colorantes, entre otros, y de las condiciones de proceso (mezclado, homogeneización, pasteurización, esterilización); por lo tanto, es muy importante conocer los principios implicados en cada etapa de su preparación, elaboración y proceso (McClements, 2005).

Shinoda y Friberg (1986), (citado por Matsumoto y Kang, 1989), propusieron diagramas generalizados de fase de la mezcla de agua/aceite/emulsionante, para poder entender y especificar donde se localiza la región de formación de las emulsiones múltiples como lo muestra la Figura 20, donde se esquematiza cómo los emulsionantes hidrofílicos se disuelven en agua y forman una solución micelar solubilizando una pequeña cantidad de aceite, mientras que gran parte del aceite se separa de la solución; esta área puede especificarse como el sitio donde se localiza la formación de macroemulsiones aceite/agua cuando haya ruptura de la interfase entre las dos fases. Por otro lado, una variedad de los emulsionantes hidrofóbicos disueltos en la fase oleosa forman micelas reversibles solubilizando una pequeña cantidad de agua, mientras que una cantidad mayor de agua residual separada de la solución micelar reversible; esta zona se caracteriza por ser el área favorable para preparar macroemulsiones agua/aceite debido a la ruptura entre las dos fases separadas. Algunos emulsionantes no pueden disolverse en agua, ni en aceite, pero forman una fase continua de ellos mismos, llamada la fase D, que en el esquema se encuentra en la parte central de la figura, a cual contiene una cierta cantidad de agua y/o aceite entre la estructura lamelar de la fase D, tal fase puede presentarse a condición de un incremento de temperatura de emulsionantes no iónicos o por mezcla de dos diferentes tipos de emulsionantes. La región para obtener una emulsión agua/aceite/agua se localiza cercanamente en cualquiera de las dos orillas de la fase D, así que los dos diferentes tipos de emulsiones múltiples deben ser preparadas alrededor de la fase D por uso de constituyentes similares entre sí.



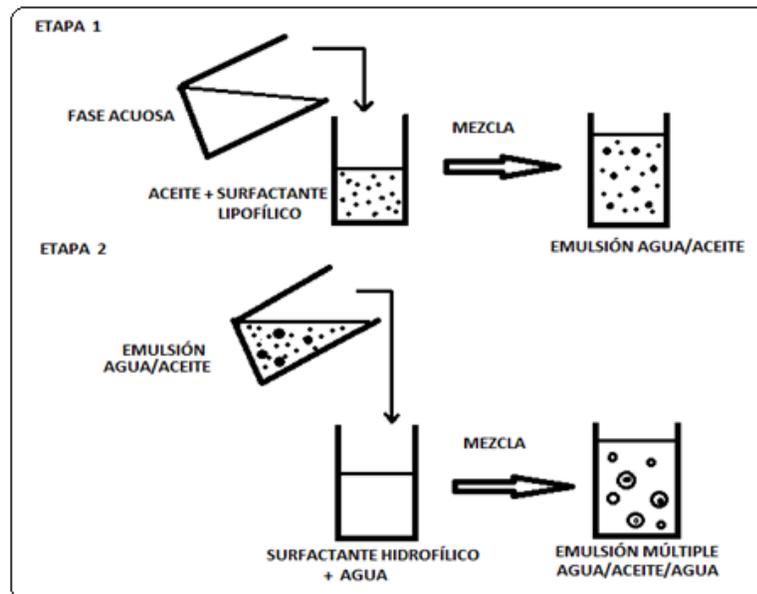
**Figura 20. Cambio del desarrollo de la solución de emulsionante con el balance hidrofílico-hidrofóbico en la mezcla de agua y aceite. Fuente: Matsumoto y Kang, 1989.**

### 3.1.1 Etapas de emulsificación

La preparación de las emulsiones múltiples debe ser un proceso de dos etapas, o sea, por una reemulsificación de la emulsión primaria. La primera etapa envuelve la preparación de la emulsión primaria o una emulsión simple agua/aceite o aceite/agua de gotas finas haciendo uso de un emulsionante hidrofílico o hidrofóbico, según sea el caso. Esta emulsión es reemulsificada en una solución acuosa o fase oleosa, usando un emulsionante hidrofílico o hidrofóbico, y así se prepara una emulsión múltiple agua/aceite/agua o aceite/agua/aceite; este proceso permite el control de la emulsión primaria y de la emulsión múltiple (Aserin, 2008; Schramm, 2005; Jiao *et al.*, 2002). Debido a que las emulsiones múltiples contienen dos interfases, se requiere de dos juegos de diferentes tipos de emulsionante. En emulsiones múltiples aceite/agua/aceite, el primer juego de emulsionantes, para la interfase interna, será hidrofílico, mientras que el segundo juego de emulsionantes, para la interfase externa, deberá ser hidrofóbico. En emulsiones múltiples agua/aceite/agua el orden de emulsionante es el opuesto: los emulsionantes internos son hidrofóbicos, mientras que los emulsionantes externos deben ser hidrofílicos. Se recomienda el uso de mezclas de emulsionantes en cada etapa para lograr mejor estabilización (Aserin,

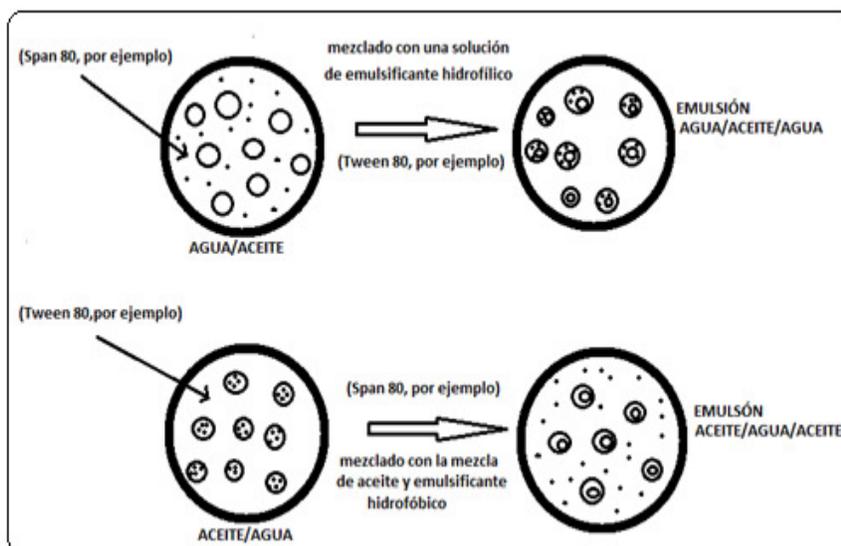
2008). Para obtener una emulsión múltiple aceite/agua/aceite se prepara una emulsión primaria que es una emulsión simple aceite/agua, usando aceite y una solución en agua de emulsionante con alto HLB y agitación mecánica; esta emulsión primaria es entonces reemulsificada dentro de una fase oleosa que contiene un emulsionante de bajo HLB y empleando baja agitación de corte para evitar la expulsión de gotas internas a la fase continua externa (Pal, 2008). El primer emulsionante con alto HLB provee una película de interfase fuerte para proteger las gotas durante las siguientes etapas de preparación y también durante el almacenamiento. El segundo emulsionante de bajo HLB deberá ser una barrera para la agregación y coalescencia (Schramm, 2005).

En la Figura 21 se muestran las dos etapas de preparación de una emulsión múltiple agua/aceite/agua; donde la etapa 1 consiste en adicionar la fase acuosa a una mezcla de aceite y emulsionante lipofílico de bajo HLB, se realiza un mezclado y se obtiene así una emulsión agua/aceite, la segunda etapa consiste en adicionar la emulsión resultante de la primera etapa a una mezcla de surfactante hidrofílico de alto HLB con agua, se efectúa un segundo mezclado y el resultado es una emulsión múltiple agua/aceite/agua (Pal, 2007; Aserin, 2008). Como ya se ha referido en capítulos anteriores, los emulsionantes no iónicos son preferibles a los iónicos para el proceso de la segunda emulsificación, dando un buen rendimiento a las emulsiones múltiples agua/aceite/agua, además que los glóbulos acuosos se dispersan en una solución acuosa del agente emulsionante no iónico de la emulsión agua/aceite con agitación mecánica.



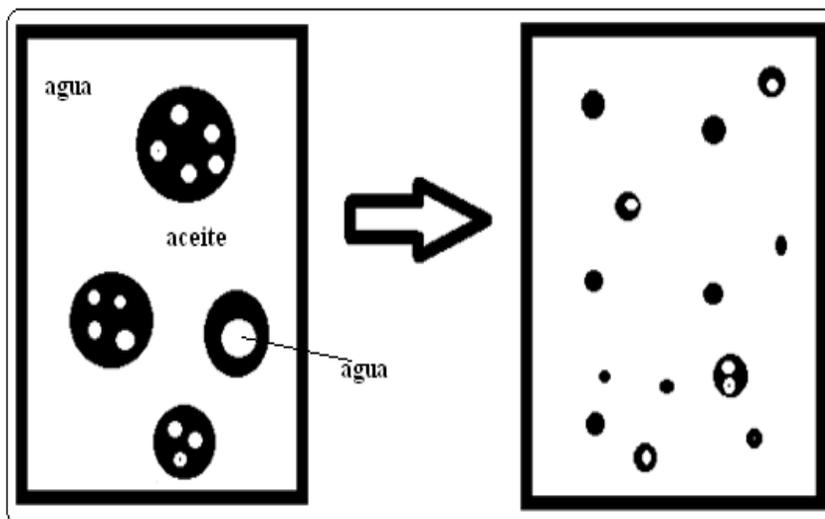
**Figura 21. Dos etapas de preparación para una emulsión agua/aceite/agua. Fuente: Pal, 2007.**

La Figura 22, esquematiza la apariencia de los glóbulos simples y glóbulos múltiples a través de las dos etapas de emulsificación, así como el uso de emulsionantes en emulsiones múltiples agua/aceite/agua y en emulsiones múltiples aceite/agua/aceite (Pal, 2007); para ejemplificar la preparación de emulsiones múltiples se presenta a continuación la emulsión primaria emulsificada, por ejemplo con Span 80 y utilizando para la segunda emulsificación Tween 80 que es un emulsionante hidrofílico, resultando al final una emulsión múltiple agua/aceite/agua; para obtener una emulsión aceite/agua/aceite se utiliza Tween 80 para la primera emulsión, seguida de la segunda emulsificación utilizando ahora Span 80, que es un emulsionante hidrofóbico.



**Figura 22. Glóbulos simples y glóbulos múltiples en la preparación de emulsiones agua/aceite/agua y aceite/agua/aceite conforme a las dos etapas de emulsificación. Fuente: Pal, 2007.**

El paso crítico es la segunda emulsificación, pues el exceso de mezclado puede fracturar las gotas múltiples y así disminuir las partículas internas de agua, resultando en una emulsión simple aceite/agua. Las gotas pequeñas internas de agua se pierden también y se mezclan con la fase acuosa externa, según lo muestra la Figura 23 (Schramm, 2005). De hecho, la membrana oleosa es la responsable de la ruptura bajo el efecto de varios parámetros, tales como la introducción de fases, temperatura de manufactura, selección de materiales y características de agitación. Todavía no se ha establecido un método único y generalizado para preparar emulsiones agua/aceite/agua, si esto fuera posible, la utilización de esta clase de emulsiones se podría ampliar aún más (Mine *et al.*, 1996).



**Figura 23. Rompimiento de gotas múltiples debido al exceso de mezclado. Fuente: Schramm, 2005.**

### 3.1.2 Condiciones

Se debe considerar que las condiciones de proceso pueden ser específicas para cada tipo de emulsión múltiple que se desee preparar, y que estos sistemas conllevan muchas variables que afectan el comportamiento y condiciones finales del producto deseado, sin embargo, a continuación se pretende presentar datos que ya han sido establecidos a través de muchos trabajos e investigaciones, y que son parámetros que sirven como base para la elaboración de las emulsiones múltiples, incluso se incluyen referencias un tanto viejas, pero que definitivamente han servido de base o fundamento para las subsiguientes investigaciones y que hasta la fecha se siguen respetando por ser datos muy útiles.

En general, las formulaciones aceite/agua contienen arriba del 70% de agua. En emulsiones gel-aceite/agua la viscosidad es alta, pueden contener bajos niveles de sólidos cerca de la fase acuosa o pueden contener niveles altos de grasas, aceites, proteínas y carbohidratos. Las emulsiones agua/aceite son usualmente altas en aceite o grasas sólidas y asumen el comportamiento de la fase oleosa (Fox, 1986; Florence y Whitehill, 1985).

En la preparación de una emulsión, la energía requerida inicial para alcanzar el incremento en la interfase proviene de condiciones mecánicas y del emulsionante. El área total de interfase generada debido al proceso de emulsificación es elevada debido a la formación de gotas pequeñas, por lo tanto, el aumento en la energía libre de la superficie del sistema requiere también de una energía libre muy grande para generar la emulsión, y ésta es suplida por agitación intensa. Para disminuir la energía de agitación necesaria para producir cierto tamaño de gotas, es necesaria la adición del emulsionante al sistema; este reducirá la

tensión de interfase, lo cual disminuirá la energía libre de superficie del sistema. La formación de una película de emulsionante alrededor de las gotas facilita la emulsificación y la reducción en la energía de agitación en un factor de 10 o más, obviamente la naturaleza y concentración del emulsionante también afecta el tamaño de gota y la energía requerida para formar la emulsión. Así que al escoger un balance de dos fuentes de energía, se optará por la que sea necesaria para formar una emulsión inicial adecuada; si se requiere la mayor energía mecánica inicial, la menor demanda la tendrá el emulsionante. Contrariamente, para una menor energía mecánica inicial, la mayor demanda será sobre el emulsionante. Si es suficiente la energía inicial mecánica, el nivel de emulsionante usualmente fijo se necesita a una mayor concentración, porque así lo demanda la estabilidad. Se debe poner más atención a la energía mecánica inicial (método) y proporciones de calentamiento y enfriamiento, así como a la agitación durante el enfriamiento (Sharma y Shah, 1983). Para la preparación de una emulsión se debe seguir las siguientes recomendaciones:

- Es importante tomar en cuenta los ingredientes usados de acuerdo a las solubilidades, calcular un aproximado del HLB requerido para la fase oleosa basada en el tipo de emulsión deseada.
- Se deben preparar mezclas de emulsionante con bajo HLB y emulsionantes con alto HLB, para dar valores de HLB cercanos al valor calculado.
- Escoger emulsionante de tipo iónico tomando en cuenta el uso final de la emulsificación. Para este proceso inicial, la formulación debe usar una alta concentración de emulsionante necesaria (10-3% de la fase oleosa).
- Es necesario disolver los ingredientes solubles en aceite y el emulsionante en aceite, usando calor si es necesario. Mantener de 5-10 °C por encima del punto de fusión del ingrediente de mayor punto de fusión, para facilitar la solubilización del aceite; la temperatura máxima conveniente es de 70-80 °C. También se deben disolver los ingredientes solubles en agua (excepto ácidos y sales). Si se emplean ácidos o sales, disolver el agua remanente y adicionarla a la emulsión enfriada, o sea, reservar algo de ellos para después adicionarlos. Si la fase oleosa se calienta, el calor de la fase acuosa tendrá que ser 3-5 °C mayor que la fase oleosa.
- Es importante adicionar la fase acuosa a la fase oleosa con la adecuada agitación mecánica. Para emulsiones aceite/agua se necesita agitación; la adición inicial de agua se hace lentamente hasta que la inversión de emulsión agua/aceite ocurra (evidenciada por un descenso en la claridad y viscosidad) es entonces cuando la adición de agua se puede hacer más rápidamente. Para emulsiones agua/aceite la homogeneización es más recomendable y usualmente se prepara una emulsión grosera y se adiciona al homogeneizador.

- En la preparación de concentrados emulsionados, la solubilidad de el emulsionante es de gran importancia, es por eso que se necesita que los restos concentrados sean homogéneos para un período indefinido y mayor a un intervalo amplio de temperatura.
- El emulsionante debe disolver cualquier resto concentrado, a través de todas las condiciones de almacenamiento, esto es posible frecuentemente al aumentar la solubilidad de un emulsionante con la adición de un coemulsionante; es por eso, que es conveniente usar varios solventes como parejas o cosolventes. Aunque, hay que tomar en cuenta que las parejas son altamente específicas para cada sistema (Schramm, 2005).
- Si la formulación no alcanza la estabilidad suficiente, se debe corregir preparándola con a) más emulsionante, b) un emulsionante con un ligeramente menor (una unidad) del número de HLB, c) una mezcla de emulsionante basados en una familia química diferente, d) por último, procede el cambio de ingredientes o una modificación en el proceso de preparación.
- Una emulsión estable no debe desencadenar coalescencia o cremado durante su vida útil normal esperada, ni cuando se congela o deshiela repetidamente, tampoco a exposición de temperaturas elevadas (40-50 °C) por varios intervalos de tiempo (Prybilsky *et al.*, 1991).

### **3.1.3 Controles de proceso**

En la manufactura y formulación existen tres parámetros que afectan a las emulsiones múltiples; los parámetros críticos, que solo admiten un valor aceptable; los parámetros esenciales, donde hay variación de los límites determinados; y los parámetros no esenciales, que ejercen una influencia mínima sobre las características de las emulsiones múltiples. Otros parámetros a considerar en la manufactura, son la introducción de fases, agitación, temperatura. En la formulación son importante, el porcentaje de aceite en una fase, el de la fase primaria en la emulsión múltiple y el del surfactante (Prybilsky *et al.*, 1991).

#### **3.1.3.1 Parámetros críticos**

Un parámetro crítico en la manufactura, sin duda es el equipo utilizado, ya que, de la elección del equipo de emulsificación depende la aplicación de la emulsión que se requiera preparar. El propósito del equipo de emulsificación, si este es simple o complejo, es romper o dispersar la fase interna dentro de la fase externa, así que el tamaño de partícula de la emulsión resultante sea suficientemente pequeño para prevenir la coalescencia y el rompimiento futuro de la emulsión en el tiempo esperado. Por lo tanto, el equipo tiene una influencia directa sobre la granulometría, la viscosidad de la emulsión y sobre la

estabilidad. Por eso la elección de este elemento es de importancia crítica para realizar la emulsificación (Prybilski *et al.*, 1991).

### 3.1.3.2 *Parámetros no esenciales*

a) Para una emulsión primaria.

Una emulsión primaria estable se puede obtener, por adición de la fase acuosa dentro de la fase oleosa o viceversa: la fase oleosa dentro de la fase acuosa, por lo tanto este es un parámetro no esencial. Debemos tomar en cuenta, que cuando una emulsión se prepara a temperatura  $\leq 65$  °C las gotas de emulsiones se integran enseguida al terminar la agitación, por lo tanto las emulsiones son estables preparadas a una temperatura  $\geq 70$  °C. Es importante observar que las emulsiones preparadas con una velocidad de agitación desde 800-2500 rpm para un período de mezcla de 30 minutos, son estables. También se obtienen emulsiones estables, si se utilizan diferentes proporciones relativas de aceite y agua (16, 18, 20 y 24%) (Prybilski *et al.*, 1991).

b) Para emulsiones múltiples.

Se pueden obtener emulsiones estables vertiendo la emulsión primaria dentro del agua o viceversa, verter agua en la emulsión primaria: por lo tanto este parámetro es no esencial. Para la segunda emulsificación se pueden utilizar velocidades entre 600-2000 rpm con un mezclado de 60 minutos y así obtener emulsiones múltiples estables. También pueden producirse emulsiones múltiples usando altas velocidades (1200-2500 rpm) para períodos cortos como de 10 minutos, después deben agitarse por otros 30 minutos. A mayor velocidad de agitación, se obtiene menor tamaño de partícula (12-5  $\mu\text{m}$ ). Referente a la temperatura, 10 °C es la temperatura mínima para la manufactura de una emulsión múltiple, así que las emulsiones múltiples formadas entre 10-60 °C son estables; a mayor temperatura de manufactura de emulsiones múltiples, el tamaño de partícula desciende (15-5  $\mu\text{m}$ ). Se debe observar que cuando se varía la cantidad o el porcentaje de la emulsión primaria en la formulación de emulsiones múltiples estables se establece que se tiene que utilizar por lo menos el 70% de la emulsión primaria y que a mayor porcentaje de emulsión utilizada, el tamaño de partícula decrece de (10 a 8  $\mu\text{m}$ ); abajo del 70% se presenta el cremado después de la manufactura. Por otro lado, al utilizar dos surfactantes, la cantidad de surfactante<sub>1</sub> debe ser menor a 1.4 veces que la cantidad de surfactante<sub>2</sub> para conseguir emulsiones múltiples estables. A mayor porcentaje surfactante<sub>1</sub>/surfactante<sub>2</sub>, se obtiene mayor estabilidad y menor tamaño de partícula. El tamaño de las gotas de la emulsión múltiple depende del emulsionante usado en la segunda fase (Fox, 1986). Se debe tomar en cuenta que, cuando se adiciona agua dentro de aceite, la emulsión se forma fácilmente, así como el agua primaria se adiciona, pero es preciso indicar que la fase oleosa total deberá adicionarse antes que se produzca la emulsión cuando el aceite es adicionado al agua

(Prybilski *et al.*, 1991).

### 3.1.3.3 *Parámetros esenciales*

La temperatura de manufactura, velocidad de agitación, cantidad de la emulsión primaria en la emulsión múltiple y el porcentaje de surfactantes son parámetros esenciales que pueden variarse dentro de ciertos límites. Cuando se manufacturan, ya sea la emulsión primaria o la emulsión múltiple, la temperatura tiene que controlarse; la temperatura mínima de manufactura para la emulsión primaria es de 70 °C lo cual ayuda a dispersar la mayor parte de emulsionante (al bajar la tensión de interfase se obtienen gotas de menor tamaño, lo que significa estabilidad en una emulsión) y para la emulsión múltiple la temperatura mínima es de 10 °C. La temperatura influye en la tensión de interfase sobre la lipoficidad del emulsionante y sobre la miscibilidad de una fase en otra (Prybilski *et al.*, 1991).

Por otro lado, se recomiendan altas velocidades de agitación durante la primera emulsión y bajas velocidades para la segunda emulsificación, la velocidad de agitación mínima debe ser de 800 rpm para la primera emulsificación y de 600 rpm para la segunda emulsificación, ya que las gotas experimentan una tensión suficientemente alta por su alargamiento y la ruptura interna de gotas pequeñas. Si la velocidad no es suficientemente alta, las gotas serán bastante grandes para facilitar la coalescencia y cremado. Además se requiere como mínimo el 70% y como máximo 80% de fracción volumen de la emulsión primaria para obtener el mayor rendimiento de emulsión múltiple, o sea, cuando el volumen de agua en la emulsión inicial es  $\leq 20\%$ , por lo cual, el rendimiento de gotas de emulsión múltiple se obtienen cuando el volumen de fase de la emulsión agua/aceite en la emulsión final agua/aceite/agua es  $\geq 30\%$  (De Luca *et al.*, 1990). Es necesario precisar que cuando la fracción volumen es alta, las gotas están cerradamente compactas dificultando el cremado y así se obtiene una estabilidad alta; cuando la interfase es inestable, se presenta la coalescencia de las gotas (Prybilski *et al.*, 1991).

El rendimiento de la emulsión agua/aceite/agua es influenciado por la concentración de agentes emulsionantes no iónicos usados en ambas etapas de la emulsificación. El aumento de concentraciones del emulsionante hidrofílico (por ejemplo: a concentración de  $\leq 2\%$  de aceite, grasa, éster de sucrosa, como emulsionante hidrofílico HLB=12, conduce a un rendimiento del 90% de gotas de emulsión agua/aceite/agua) usadas en la fase externa, provoca disminución del rendimiento de las gotas de emulsión múltiple. Cuando el valor de HLB de la mezcla aumenta y también aumenta la concentración de emulsionante hidrofílico, baja el rendimiento de las gotas de emulsión múltiple, a manera de ejemplo: se obtiene un rendimiento del 85% con un HLB = 1 y con una proporción de emulsionante hidrofílico  $> 2\%$ , con HLB=15 se obtiene un rendimiento menor a 80% (Fox, 1986). Debido a que el área superficial de las gotas de la emulsión primaria (agua/aceite) son

mayores que en las gotas múltiples (aceite/agua), la emulsión primaria requiere una gran cantidad de emulsionante que es necesaria para la formación de la emulsión múltiple; la proporción es por consiguiente siempre mayor que uno para emulsiones múltiples estables. De hecho el porcentaje de emulsionante primario a secundario será  $\geq 1.4$  ( $> 2.8$  para el primer emulsionante y  $> 2\%$  para el secundario). Porcentajes menores a 1.4 no permiten la manufactura estable de emulsiones múltiples. Cantidades excesivas de emulsionante secundario solubilizan las moléculas del primer surfactante, resultando en la ausencia de ellos en la interfase de las gotas múltiples (agua/aceite/agua), consecuentemente la emulsión no tiene gran estabilidad (Prybilsky *et al.*, 1991).

Por otro lado, el tipo de aceite utilizado en la formación de una emulsión múltiple tiene un efecto primordial en el rendimiento de la emulsión. También, el tiempo de homogeneización es importante, ya que después de 15 minutos las gotas de emulsión múltiple se rompen casi completamente y la emulsión agua/aceite/agua se transforma en una emulsión simple, por lo tanto es importante el tipo de mezclador y el equipo usado para su manufactura. Cuando se usan mezclas de emulsionante en la segunda fase con valores de HLB desde 9-13 se obtienen mejores rendimientos de emulsiones múltiples; con 2 minutos de homogeneización se logra el 80-85%, con 5 minutos se logra el 70-75% y con 10 minutos se logra el 50-65% de rendimiento. O sea que con valores de HLB  $\geq 13$  el rendimiento cae drásticamente, y el rendimiento de gotas múltiples desciende rápidamente al aumentar el tiempo de homogeneización. La longevidad de las gotas múltiples presentes después de las primeras semanas de preparación (1-3 semanas) disminuye su cantidad total del número de gotas presentes (10 -20%) en la emulsión (Fox, 1986).

Algunos otros criterios de control de proceso son: tiempo de almacenamiento mínimo, número de ciclos de congelación-deshielo, tiempo de almacenamiento a 40 y 50 °C (u otra temperatura elegida), el grado de separación o cremado. En la industria, muchas emulsiones alimenticias se evalúan a 5, 40 y 50 °C; la estabilidad a 5 y 40 °C por tres meses es considerada mínima y correspondientemente se espera poca estabilidad a 50 °C (Lissant, 1974).

### **3.2 TÉCNICAS DE PREPARACIÓN DE EMULSIONES MÚLTIPLES**

Los métodos de preparación de emulsiones, especialmente aquellos que envuelven agitación y movimiento tienden a iniciar descontrol y una distribución de tamaño de gota amplia. Existen varios métodos de preparación, el más simple es la extrucción de una fase dispersa a través de una pipeta entro de un flujo de fase continua (Schramm, 2005).

Generalmente, después de un mezclador inicial, se requiere un segundo mezclador aplicado con altas fuerzas mecánicas de corte; el cual puede proveerse por una pala, hélice o turbina mezcladora. Existen varios instrumentos a nivel industrial y de laboratorio para producir

emulsiones, por ejemplo: homogeneizadores rotor-estator (molinos coloidales, molinos de alfiler, molinos de disco dentado), máquinas de dispersión y homogeneizadores de alta presión, generadores de ultrasonido; en todos ellos se aplica una gran fuerza de corte, y la fuerza de ruptura proviene de la energía del rotor y la acción de corte proviene del estrecho hueco del estator. También son adecuadas otras técnicas, que incluyen por ejemplo, (atomizadores y nebulizadores de varios diseños usados para producir emulsiones teniendo relativamente distribuciones estrechas de tamaño de partícula (Schramm, 2005). Con estos instrumentos las emulsiones presentan considerable dispersabilidad, tal que la distribución de tamaño de gota es usualmente entre 0.1 y 100  $\mu\text{m}$ . La preparación de emulsiones simples se considera el paso más difícil para el uso de estos instrumentos (Mine *et al.*, 1995; Leal-Calderón *et al.*, 2007).

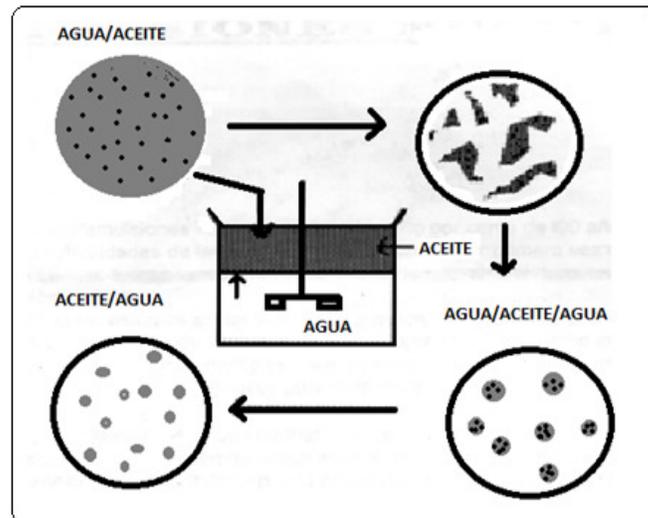
### 3.2.1 Técnica de inversión de fase

El desarrollo de la estructura de las emulsiones múltiples está relacionado con el fenómeno de inversión de fase de emulsiones. El proceso de elaboración de emulsiones agua/aceite/agua durante la inversión de fase de emulsiones concentradas agua/aceite es una técnica útil para conseguir este tipo de emulsión; por lo cual se debe tomar en cuenta el tipo de emulsionante hidrofílico usado en la fase acuosa, la fase oleosa disuelta en cierta cantidad de emulsionante lipofílico y el volumen de la fase oleosa. Ha habido muchos reportes de formaciones espontáneas de emulsiones múltiples durante procesos de emulsificación normal. En la preparación de emulsiones aceite/agua por la técnica de inversión de fase, la fase oleosa y el emulsionante se mezclan en un tanque, el agua se adiciona lentamente a la fase oleosa. La mezcla aceite/emulsionante inicial es brumosa y podría clarificarse al principio y entonces volverá a ser brumosa, y la mezcla será entonces súbitamente delgada. Las adiciones siguientes son más rápidas si la oleosa es adicionada a la acuosa resultará una emulsión pobre. Si el agua es adicionada al aceite rápidamente al principio y claramente no se obtiene, el tamaño de partícula será mayor que el obtenido cuando es lento, y el procedimiento de adición es cuidadoso (Cavallo *et al.*, 1990).

Lin (1975), (citado por Florence y Whitehill, 1985), notó que cuando un surfactante hidrofílico se ponía inicialmente en la fase oleosa se formaba una emulsión transitoria en el proceso de inversión de fase desde agua/aceite a la emulsión tipo aceite/agua, esto se esquematiza en la Figura 24.

Una porción de la fase acuosa, adicionada durante el proceso de emulsificación, podría ser emulsificada en la fase oleosa formando una emulsión agua/aceite. Si las condiciones favorecen la emulsificación aceite/agua, si el HLB de los surfactantes es alto la emulsión inicial agua/aceite pudiera ser inestable y con la sobre agregación la emulsión agua/aceite es mezclada dentro del exceso de agua al formar una emulsión agua/aceite/agua. Así, si los surfactantes migran a la fase inestable acuosa externa, las gotas grandes de agua realmente

colisionarán con pequeñas gotas al formar una emulsión final aceite/agua. Esto no sucede si el surfactante hidrofílico es inicialmente puesto en la fase acuosa. Se han reportado la inversión de emulsiones aceite/agua a sistemas múltiples seguidos después por la inversión de la emulsión al tipo opuesto. Bajo ciertas condiciones, cuando la inversión toma lugar, algo de la estructura original se entrapa en la emulsión final.



**Figura 24. Posible secuencia de eventos seguidos a la formación de una emulsión aceite/agua, vía una emulsión transitoria (agua/aceite)/agua, cuando la fase oleosa contiene inicialmente un surfactante hidrofílico. Fuente: Florence y Whitehill, 1985.**

Cuando la fracción volumen de la solución acuosa de emulsionante hidrofílico excede el 0.7 la fase continua oleosa se sustituye por la fase acuosa que anteriormente contuvo un cierto número de glóbulos vesiculares en medio de las gotas simples. Cuando sigue una extensión máxima de la capa oleosa se construyen glóbulos vesiculares, puede observarse alrededor del 0.75% de la fracción volumen de la fase acuosa (Matsumoto y Kang, 1989). En emulsiones con altos volúmenes fase dispersos  $> 0.74$  las gotas pueden asumir una estructura compleja. El examen al microscopio de una emulsión agua/aceite, por ejemplo, conteniendo alta concentración volumen de agua, con frecuencia revela pequeñas gotas de aceite dentro de los glóbulos dispersos en agua. Muchos trabajos han reportado la aparición de gotas múltiples durante la inversión de emulsiones, como resultado de particiones del surfactante entre las dos fases (De Luca *et al.*, 1991).

Incrementos adicionales de la fase acuosa continua causan una ruptura de la capa oleosa sobre la superficie de los compartimientos acuosos, así se forma la dispersión simple aceite/agua. Esto puede deberse a la solubilización de los componentes de la capa oleosa en

las micelas incorporadas de emulsionante hidrofílico e progresivamente suspendido, por la concentración aumentada de emulsionante hidrofílico en el sistema. Por lo tanto, el desarrollo de agua/aceite/agua puede caracterizarse como una mesofase entre las emulsiones agua/aceite y la aceite/agua durante el proceso de inversión de fase. Otra condición necesaria para desarrollar emulsiones agua/aceite/agua en el proceso de inversión de fases es la presencia de cierta cantidad de emulsionante hidrofílico en la fase acuosa continua (Matsumoto y Kang, 1989).

Emulsiones divididas muy finamente pueden prepararse por un incremento de temperatura del sistema, causando reinversión con la formación de gotas oleosas dispersas muy pequeñas (Schramm, 2005).

### **3.2.2 Técnica de agitación mecánica**

La emulsificación pretende la formación de un estado termodinámicamente estable, el cual se logra por la ruptura de la interfase líquido/líquido; así que la agitación mecánica es una de las principales técnicas que proporciona sistemas de macroemulsiones. Por la agitación mecánica de una mezcla de agua y aceite conteniendo emulsionantes hidrofílicos e hidrofóbicos en cada fase se obtienen glóbulos de emulsión agua/aceite/agua (Matsumoto y Kang, 1989). Los factores que afectan el desarrollo de las emulsiones agua/aceite/agua son de dos categorías; una es la concentración del emulsionante en las dos fases líquidas y la otra es la proporción de mezcla de la capa oleosa de las dos fases líquidas. La extensión de la capa oleosa nos indica el área total de la capa oleosa sobre la superficie de los compartimientos acuosos.

Además, el mecanismo de dispersión tipo agua/aceite/agua debida a la agitación puede observarse cualitativamente por la gran deformación de la fase oleosa dispersa, bajo el gran corte de flujo del fluido acuoso suspendido. Las gotas alargadas de la fase oleosa en el sistema de mezclado es una oportunidad para formar la estructura vesicular a lo largo de varias líneas de flujo acuoso suspendido. La baja tensión de interfase entre las dos fases líquidas debidas a la presencia de emulsionantes promueve el alargamiento de las gotas oleosas. Esto puede inducir parcialmente las superficies de la gota oleosa para asumir una forma cóncava, por una relativamente gran cantidad de emulsionante hidrofóbico en la fase oleosa, así se promueve la formación de la estructura vesicular. Puede suceder que la emulsión múltiple aparezca durante la preparación de sistemas ordinarios cuando el sistema contenga más de dos tipos de emulsionante (De Luca *et al.*, 1991).

### **3.2.3 Técnica de homogeneización**

Las propiedades fisicoquímicas y estabilidad de las emulsiones formadas son fuertemente determinadas por el tipo y concentraciones de los diferentes ingredientes usados para

preparar las emulsiones, así como la homogeneización y otros procesos empleados (Kim *et al.*, 2006).

El método de dispersión, la composición de dispersión y la composición de la formulación de fases (emulsionante agua/aceite, emulsionante aceite/agua, concentración de solutos en las fases acuosas) influyen en las propiedades de la emulsión agua/aceite/agua, así como el uso de diferentes dispositivos de emulsificación, tales como el homogeneizador de alta presión y la membrana de emulsificación (Muschiolik *et al.*, 2006).

Las emulsiones alimenticias requieren de pequeños tamaños de gotas que frecuentemente son hechas usando homogeneizadores de alta presión. La homogeneización es un proceso de alta dinámica que consiste en hacer pasar dos fluidos, bajo alta presión (7-24 MPa) a través de un orificio o válvula de entrada muy estrecha dentro de una cámara de mezclado, proyectándolos, al mismo tiempo con un punzón y haciéndolos expandirse bruscamente. Los fluidos sufren una combinación de flujos de corte, impactos y cavitaciones, asociadas a la turbulencia y gradientes de velocidad, de esta manera se consigue la reducción de tamaño de las gotas las gotas. A pesar de la complejidad que envuelve el mecanismo, el intervalo de distribución de tamaño va desde 20 nm a 5  $\mu\text{m}$ . Bajo la aplicación de mayor tensión de corte, la distribución del tamaño de gota resulta de una compleja interrelación entre la fragmentación de gota y recombinación; coalescencia (Leal-Calderón *et al.*, 2007; Schramm, 2005; McClements, 2005).

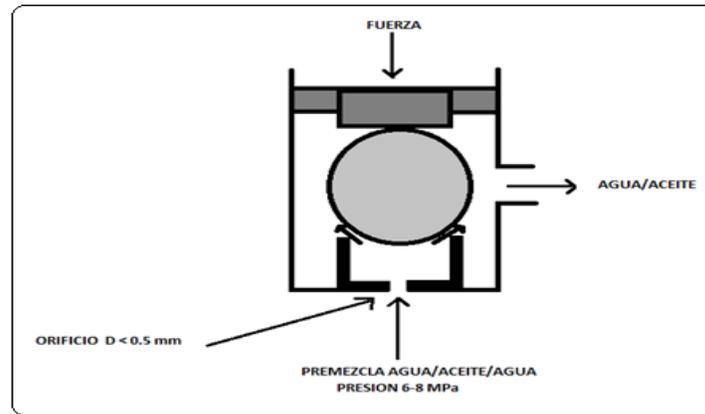
La homogeneización de alta presión es ampliamente usada para producir lácteos y emulsiones alimenticias. Con homogeneización es apropiada la preparación de emulsiones múltiples con un mayor rendimiento de la fase acuosa interna ( $\sim 97\%$ ) operando a baja presión (1 MPa). En la Figura 25a, se esquematiza la preparación de una emulsión simple en un homogeneizador con orificio combinado con válvula de bola, donde la premezcla aceite/agua se introduce a través de un orificio de diámetro menor a 0.5 mm, y que en la parte superior del aparato se ejerce una fuerza, por lo cual se obtiene la emulsión agua/aceite, mientras que, en la Figura 25b se esquematiza la preparación de una emulsión múltiple con homogeneizador modificado, donde la premezcla agua/aceite/agua tiene que pasar por dos orificios de diferente diámetro  $< 0.5$  mm y  $< 1$  mm. Cabe mencionar que con el homogeneizador de válvula combinada se alcanza un 97% de rendimiento y con la válvula de bola se alcanza un 57% de rendimiento operado a 10 MPa (Muschiolik, 2006).

### **3.2.4 Técnica de membrana de emulsificación**

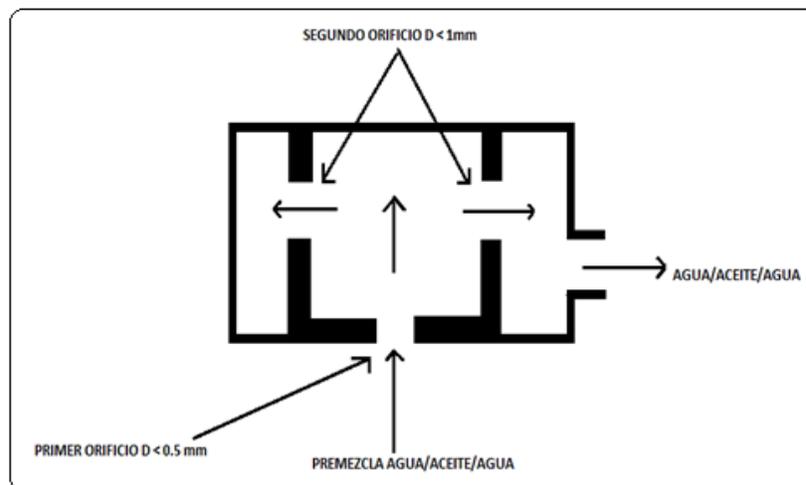
La emulsificación consiste en dispersar un fluido dentro de otro no miscible, por la creación de una interfase. Se requiere mayor control para producir emulsiones monodispersas. La monodispersabilidad ha seguido un progreso significativo en la ciencia de emulsiones (Leal-Calderón *et al.*, 2007). Se han desarrollado recientemente nuevas técnicas basadas en

la aplicación de bajas fuerzas de corte y el estado final es determinado solamente por fragmentación de gotas, siguiendo un buen control de la distribución del tamaño de estas.

a)



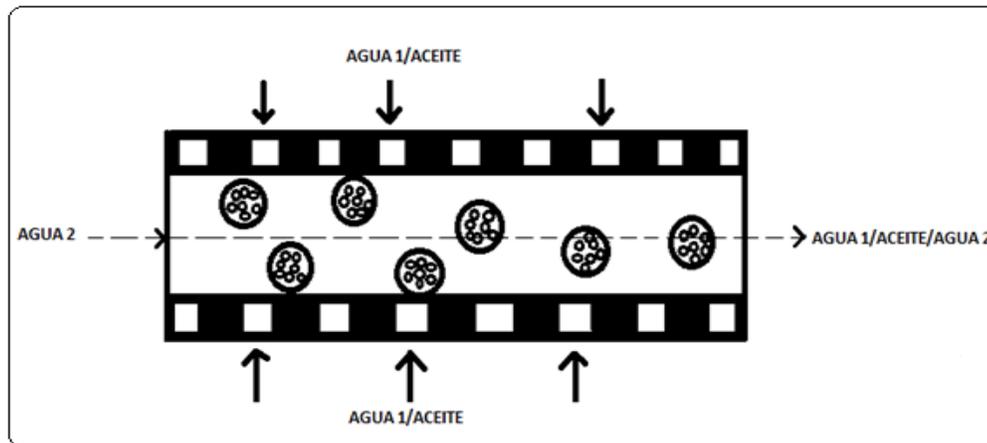
b)



**Figura 25. Sistemas de homogeneización por preparación en a) una emulsión fina agua/aceite con orificio combinado con válvula de bola, y en b) la preparación de una emulsión por homogeneización de una premezcla agua/aceite/agua utilizando una combinación de orificios. Fuente: Muschiolik *et al.*, 2006.**

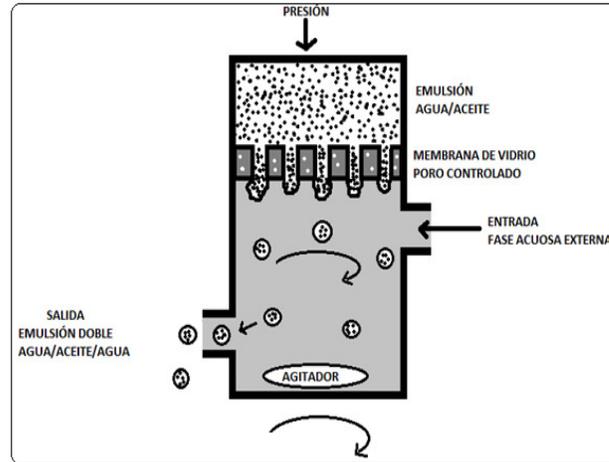
La membrana de emulsificación consiste en forzar la fase dispersa a permear dentro de la fase continua a través de una membrana, la cual tiene un tamaño de distribución de poro uniforme. La fase dispersa es presionada perpendicularmente hacia la membrana mientras que la fase continua está fluyendo tangencialmente a la membrana; esta técnica ha sido aplicada con éxito para coloides alimenticios (Leal-Calderón *et al.*, 2007). Los aparatos de

membrana de emulsificación pueden ser con microporos de vidrio o cerámica; y en función de la composición de la emulsión múltiple alimenticia (agua/aceite/agua), y del método de emulsificación las emulsiones pueden ser estables por largos períodos de tiempo (> 8 meses). En la Figura 26 se esquematiza la preparación de una emulsión múltiple por membrana de emulsificación donde agua<sub>1</sub>/aceite constituye la fase dispersa que permea a través de la membrana y agua<sub>2</sub> constituye la fase continua que fluye en forma tangencial con respecto a la membrana (Muschiolik *et al.*, 2006).



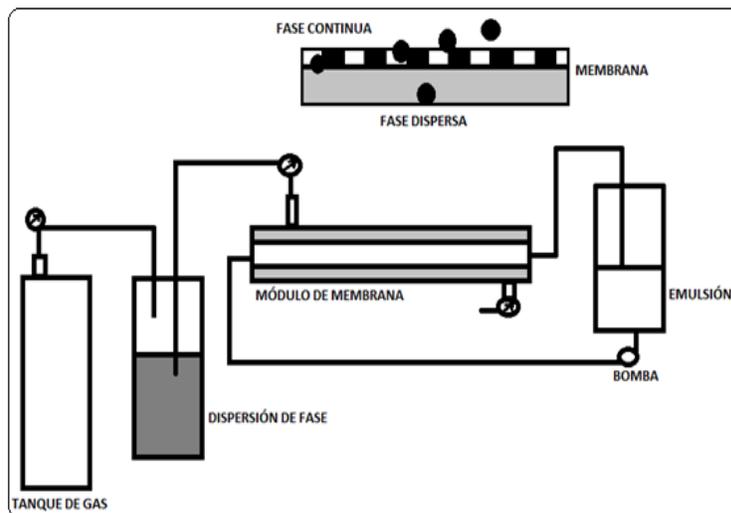
**Figura 26. Preparación de una emulsión múltiple por membrana de emulsificación. Fuente: Muschiolik *et al.*, 2006.**

Higashi y col., (1995), (citado por Aserin, 2008), emplearon la técnica de membrana de emulsificación, donde la emulsión primaria aceite/agua o agua/aceite se formó por sonicación y después se llenó al tope una cámara de un aparato especial, cuya figura esquemática se representa en la Figura 27, donde la fase externa de la emulsión final es inyectada continuamente dentro de la cámara inferior para crear el flujo continuo. Dentro de la cámara superior, se alimenta gas nitrógeno para iniciar la permeación de la emulsión primaria a través del poro de la membrana de vidrio dentro de la cámara emulsificadora, generando los glóbulos múltiples. La emulsión es removida desde el aparato, esta investigación sugiere que este proceso es factible para aplicación a gran escala (Aserin, 2008).



**Figura 27. Preparación de una emulsión múltiple agua/aceite/agua mediante la técnica de membrana de emulsificación. Fuente: Aserin, 2008.**

Mine y col., (1996) reportan una nueva técnica de membrana de emulsificación, la cual usa una membrana microporo de vidrio con una estrecha distribución de tamaño de poro y se usa como herramienta útil en la tecnología de diseño para estabilizar una emulsión. Este método tiene la capacidad de producir emulsiones simples y también emulsiones múltiples, tales como del tipo agua/aceite/agua. Este sistema consiste de un módulo de membrana, un tanque de gas nitrógeno (como fuente de presión), un tanque de almacenaje de la fase de dispersión, el tanque de emulsión y bomba de circulación. El protocolo para la formación de una emulsión monodispersa se esquematiza en la Figura 28.



**Figura 28. Proceso de membrana de emulsificación en aparatos experimentales. Fuente: Mine et al., 1996.**

Mine y col., (1996), prepararon emulsiones agua/aceite/agua usando membrana con microporo de vidrio, se prepararon dos tipos de emulsión, 1) emulsiones agua/aceite/agua usando la membrana y 2) emulsiones agua/aceite/agua usando la membrana seguida de una presión osmótica debida a la adición de glucosa. Los dos tipos de emulsiones agua/aceite/agua estuvieron compuestas de proteínas de huevo y aceite de soya. La emulsión agua/aceite con tamaño de partícula de diámetro de  $0.52 \mu\text{m}$  penetró exitosamente dentro de la emulsión aceite/agua, y se obtuvo un alto rendimiento de la doble emulsión usando otra membrana hidrofílica ( $D_m = 1.0 \mu\text{m}$ ). La concentración de la emulsión interna agua/aceite fue aproximada al 30% y el diámetro de la gota de la emulsión externa aceite/agua fue de  $4.8 \mu\text{m}$ . El tamaño de la emulsión interna agua/aceite aumentó con la diferencia del incremento de la presión osmótica entre las gotas acuosas continuas (30% glucosa) y la fase acuosa continua (1% glucosa). La membrana de microporo fue humedecida con la fase continua, antes de la membrana de emulsificación, por ejemplo, las membranas hidrofílicas para emulsiones aceite/agua son completamente humedecidas con la fase acuosa y las membranas hidrofóbicas para emulsiones agua/aceite son totalmente humedecidas con la fase oleosa de semilla de soya. El humedecimiento de las membranas es más efectivo por inmersión de la membrana microporo en la fase continua y la eliminación de gases por vacío, debería estar sujeto a ultrasonido por 30 minutos. Es por eso que, la membrana de emulsificación con microporo de vidrio puede ser una técnica viable para la preparación de emulsiones simples o emulsiones múltiples (utilizando aceite de soya y fosfolípidos de yema de huevo) que pueden utilizarse en alimentos, sin embargo se necesitan más estudios para preparar emulsiones internas agua/aceite usando solo un emulsionante natural, por razones de seguridad. Las emulsiones aceite/agua, agua/aceite y agua/aceite/agua fueron exitosamente preparadas usando estas membranas, ya que no se presentó coalescencia de gotas oleosas o rompimiento de las emulsiones. Las emulsiones simples y múltiples fueron estables, por lo menos 6 semanas a una temperatura de almacenamiento de  $5 \text{ }^\circ\text{C}$ ; la distribución del tamaño de partícula de la emulsión depende del tamaño del poro de la membrana, por lo tanto esta técnica resulta ser adecuada para la producción de emulsiones simples y múltiples para alimentos. En la preparación de la emulsión múltiple estable agua/aceite/agua, la selección del tamaño del poro es muy importante; en general, una membrana hidrofílica para la segunda etapa que tenga un tamaño de poro grande o igual a dos veces el diámetro de las partículas de agua en la primera etapa de la emulsión agua/aceite. Si el tamaño del poro de la segunda membrana es igual o menor que el diámetro de las partículas acuosas, las partículas de agua serán rechazadas por la membrana, así que esto haría imposible la obtención de la emulsión doble. La concentración de las gotas acuosas para la emulsión agua/aceite/agua deberán estar comprendidas entre 30-50% para obtener una emulsión estable.

Muschiolik y col., (2006) reportan que con la técnica de membrana de emulsificación se obtienen emulsiones múltiples con un rendimiento de la fase acuosa hasta de un 100%, esto se logró por la liberación de PolyR-478 (alto peso molecular) a un intervalo

establecido de tamaño de partícula. Se obtuvieron diferentes propiedades en las emulsiones, tamaño de gota externa desde 5–50  $\mu\text{m}$ ; los parámetros de proceso de la segunda etapa de emulsificación usando membranas con variaciones de microporos. En la preparación de la emulsión múltiple, se utilizó una membrana hidrofílica para la segunda etapa con un tamaño de microporo mayor o igual a dos veces el diámetro de la gota acuosa interna de la emulsión agua/aceite. Debido a que las proteínas son emulsionantes adecuados para evitar coalescencia en emulsiones múltiples, el tamaño de partícula de proteína de emulsión aceite/agua producidas mediante microporos es determinada por: el diámetro medio del poro de las membranas, la velocidad de la fase continua (tensión de corte de la pared) y la presión de la transmembrana (flujo de la fase dispersa). El tamaño de las gotas agua<sub>1</sub>/aceite se ve influenciada por la tensión de corte de la pared de la fase continua agua<sub>2</sub> y la tensión de corte de la pared por la variación de la velocidad y viscosidad de la fase continua.

Debemos considerar que los fosfolípidos naturales (ejemplo: semilla de soya y yema de huevo) son importantes componentes de biomembranas. La fosfatidilcolina (PC) es un fosfolípido muy importante, y es un emulsionante muy utilizado en emulsiones alimenticias; la lisofosfatidilcolina (LCP) es un componente minoritario, que tiene diversas funciones tales como la interacción con PC y la formación de una emulsión estable. Como ya se ha explicado, una emulsión múltiple agua/aceite/agua en que las gotas oleosas dispersas, donde ellas mismas contienen pequeñas gotas acuosas dispersas; así que la capa entre las dos fases acuosas (interna y externa) puede actuar como una membrana (Mine *et al.*, 1996).

### **3.2.5 Técnicas de microcanales de emulsificación**

#### ***3.2.5.1 Simulación de membrana de emulsificación***

Por uso de microporo Shirasu Glass, con tubos de soporte de cerámica o rotación de tubos de vidrio, resultan emulsiones casi monodispersas en, función de varios parámetros (tensión de interfase y de superficie, el flujo de tensión de corte). Se han utilizado modelos de capilares para simular el proceso de membrana de emulsificación y para dar mayor información sobre la forma de la gota y el proceso de desprendimiento. El uso de este método, la influencia de la tensión superficial, viscosidad de fase, y la densidad se estudiaron con un capilar único de 45.6  $\mu\text{m}$  de diámetro. Otros estudios se han realizado con sistemas de unión, con canal de aceite de 24  $\mu\text{m}$  y con canal de agua de 303  $\mu\text{m}$  (Muschiolik, 2007).

Graaf y col., (2005), (citado por Muschiolik, 2007), realizaron estudios conteniendo un canal para disipar la fase perpendicular al canal más grande (T-unión o cruce) con un gran flujo de la fase continua. La formación de gotas fue más rápida que el surfactante de adsorción (probado con SDS y Tween 20). La tasa de flujo de aceite durante el proceso

contribuyó al tamaño final de la gota, por lo tanto, la preparación de gotas de tamaño pequeño depende del flujo de la fase acuosa sobre la tasa de adsorción del surfactante y sobre la razón de flujo de la fase continua.

Se han realizado más experimentos en simulación de las condiciones de membrana de emulsificación usando cadenas de microcanal sobre un trocito de silicón (instrumento microfluídico). Una premezcla de gotas de emulsión ( $\sim 10 \mu\text{m}$ ) fueron presionados a través de microcanales de  $1 \mu\text{m}$  en el instrumento microfluídico. Se identificaron tres categorías de rompimiento de gotas:

4. Rompimiento debido a las fuerzas de corte localizadas
5. Rompimiento continuo debido a los efectos de tensión de interfase.
6. Rompimiento continuo debido al estorbo entre gotas

Los resultados muestran que únicamente unos pocos canales son activos a bajas razones de flujo. A alta razón de flujo, mayor número de poros son activos y los efectos de los ramales son más significativos (Muschiolik, 2007).

### 3.2.5.2 Técnica de microcanal

Este proceso de emulsificación se realiza durante la segunda etapa de emulsificación, en esta técnica una gota de la fase que se va a dispersar se presiona a través de un canal sobre un área predeterminada (terrazza) en la que la gota puede expandirse adquiriendo una forma de disco; después esa gota se infla hasta el borde de la terraza, después toma lugar una separación espontánea de las gotas, esto se esquematiza en la Figura 29. Con esta técnica se alcanza un alto rendimiento de moléculas activas en el corazón acuoso de las gotas finales de la emulsión múltiple (Aserin, 2005).

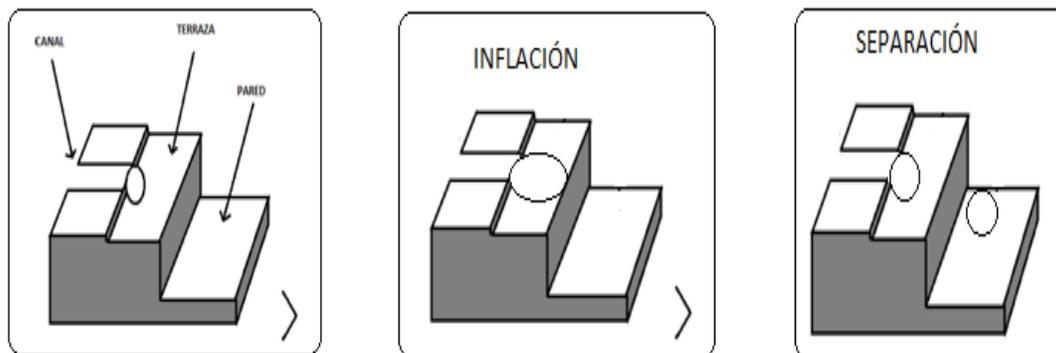


Figura 29. Emulsificación de microcanal. Fuente: Aserin, 2008.

La emulsificación con microcanales es útil para preparar emulsiones monodispersas, esto es una ventaja para la aplicación alimentaria ya que favorece que las gotas sean uniformes y que alcancen su tamaño deseado, también la regulación de liberación cinética se logra más precisa, por lo tanto su mayor aplicación se da cuando se requiere conseguir un tamaño de partícula estandarizado, por ejemplo, en la formación de cápsulas. Hay diferentes tipos de construcciones de microcanal para crear gotas monodispersas y aumentar la razón de producción. Dependiendo de las propiedades de los espacios, el flujo cruzado puede ser necesario o no (Muschiolik, 2007).

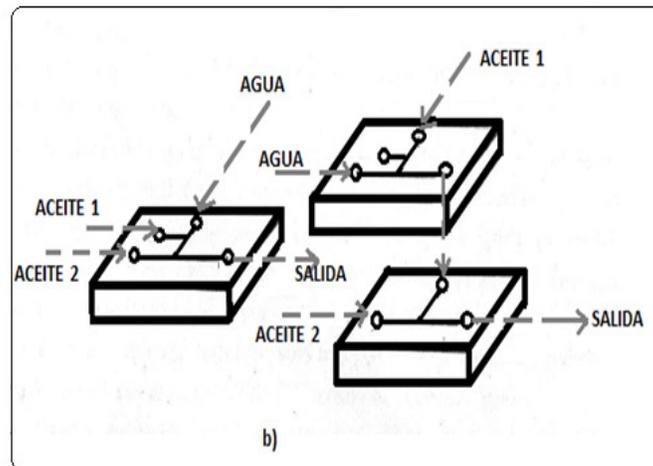
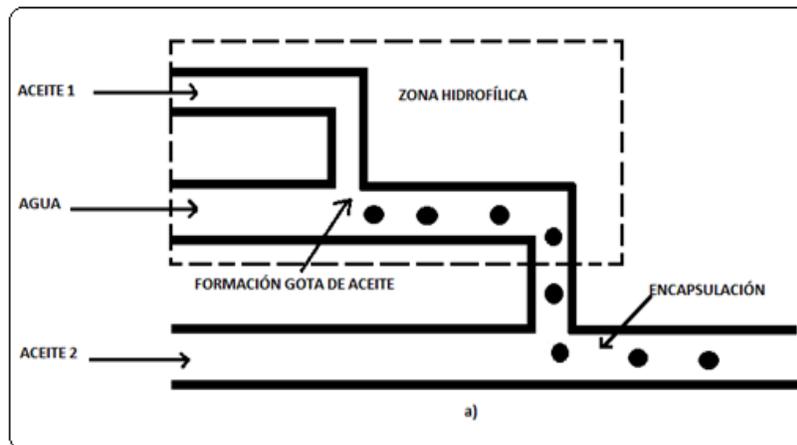
### ***3.2.5.3 Microcanales con flujo cruzado***

Se han utilizado la aplicación de microcanales de forma-T para preparar emulsiones múltiples agua/aceite/agua y aceite/agua/aceite (primero la unión de la fase interna y la segunda unión para la encapsulación de la fase interna en la segunda fase dispersa). Se obtiene una excelente fase interna dispersa, homogeneizada con un microfluidizador, dentro y fuera de la fase acuosa (Muschiolik, 2007). Se han utilizado métodos de emulsificación modificados de microcanales, en la Figura 30 se esquematiza la formación de gotas de emulsión aceite/agua/aceite. Con éste método se consiguen gotas acuosas con una alta reproducción de un flujo orgánico a la corriente unión T. Esta corriente es entonces fluida dentro de una segunda unión T, para crear gotas orgánicas monodispersas conteniendo gotas acuosas dentro de la fase acuosa externa. El tamaño y razón de rompimiento de las gotas se controla por variación de las condiciones de flujo en cada unión. El número de gotas acuosas atrapadas se controla por ajuste de la relación entre el rompimiento a las dos uniones. Las emulsiones aceite/agua/aceite pueden también producirse por este método cuando la unión hidrofóbica se prepara río abajo (Aserin, 2005).

### ***3.2.5.4 Microcanales sin flujo transversal o cruzado***

Nakajima y col., (2004), (citado por Muschiolik, 2007), aportaron información acerca de microcanales con un sistema de canal modificado para preparar emulsiones monodispersas agua/aceite/agua con un alto rendimiento de la fase interna (91%). La tensión de interfase es la fuerza de conducción para la formación de gotas en tales emulsiones de microcanal. Durante la formación de gotas la fase dispersa es forzada dentro a una forma alargada con una mayor área de interfase que con una forma globular. Así que, la fase dispersa se transforma espontáneamente dentro de las gotas esféricas. Se mostró que agua/aceite/agua con un diámetro de fase oleosa entre 32.6 y 35  $\mu\text{m}$  se prepararon con fases oleosas de diferentes viscosidades (desde 1.3-69 mPas). Los microcanales sobre el plato de silicón tuvieron una anchura de 11.7  $\mu\text{m}$  y una profundidad de 8.0  $\mu\text{m}$ . El volumen de gota puede

influenciarse por el cambio de la geometría del microcanal (profundidad de terraza variable y profundidad de canal).



**Figura 30. a) Aparato para la formación de una emulsión múltiple aceite/agua/aceite por el proceso de emulsificación por microcanal. b) Módulo individual (izquierda) y módulo doble (derecha). El agua representa la fase acuosa intermedia; el aceite1 representa la fase oleosa interna; el aceite2 representa la fase oleosa externa. Fuente: Aserin, 2008.**

Existe un novedoso instrumento de microcanal recto de silicón con canales rectangulares simétricos, con el que se logra la producción a gran escala de emulsiones monodispersas (instrumento con 211,000 canales rectangulares, con productividad de gotas de 35 mL/h por canal). Por el uso de canales asimétricos las emulsiones monodispersas pueden prepararse con aceite de baja viscosidad (50 gotas/segundo para decano y 10 gotas/segundo para aceite de semilla de soya). En microcanales asimétricos de línea recta, la fase a ser dispersa es presionada de todas formas a circular dentro del canal a una ranura donde la fase oleosa se expande con un disco de forma alargada transferida espontáneamente dentro de las gotas

esféricas. Para partículas pequeñas el tamaño del canal se puede reducir a 0.2-0.5  $\mu\text{m}$ , y se pueden formar gotas de 1  $\mu\text{m}$ . Está demostrado, que por el uso del instrumento de emulsificación de microcanal de línea recta, emulsiones monodispersas aceite/agua con un tamaño de gota de  $\sim 30 \mu\text{m}$  pueden producirse a gran escala con un flujo a dispersar de 35 L/ (m<sup>2</sup>h) (Muschiolik, 2007).

Los esfuerzos para aumentar la productividad de emulsificación de microcanales y en la adaptación del tamaño de gota abren la posibilidad de aplicar esta tecnología en la preparación de emulsiones monodispersas (primero en gotas oleosas en agua/aceite/agua o gotas acuosas en agua/aceite/agua) para aplicaciones especiales de alimentos, especialmente para la adaptación de cierto comportamiento requerido. Se debe dirigir a la disminución del tamaño de gota en la segunda fase a  $< 10 \mu\text{m}$ . Tales sistemas, por ejemplo agua/aceite/agua, muestran una alta estabilidad de almacenamiento si las gotas de la primera fase son  $< 1 \mu\text{m}$  (Muschiolik, 2007).

### **3.2.6 Técnica con instrumento coaxial microcapilar fluídico**

Otra forma de preparar emulsiones monodispersas es a través del uso de instrumentos de microcanales con el que se fabrican gotas simples con gotas simples. Este instrumento consiste en tubos de vidrio capilares cilíndricos anidados con un tubo de vidrio cuadrado. El fluido más interno es bombeado a través de un tubo cilíndrico capilar encintado, y el fluido medio es bombeado a través de la región coaxial externa. Tal instrumento puede generar doble emulsiones dispersas en fluidos hidrofóbicos o hidrofílicos (Muschiolik, 2007).

### **3.2.7 Técnica de membrana líquida**

La preparación de emulsiones de membrana líquida, se usa para la separación de hidrocarburos; donde el surfactante secundario no se usa, así que la primera emulsión se separa de la fase acuosa externa bajo gravedad. La membrana líquida se refiere a la fase media entre las fases interna y externa. Varios aditivos pueden también estar presentes para controlar la estabilidad, permeabilidad y selectividad de la membrana. La mezcla de hidrocarburo para ser separada es emulsificada primero en medio acuoso conteniendo un surfactante. La emulsión hidrocarburo/agua se mezcla con un solvente seleccionado, formando un sistema aceite/agua/aceite. Los hidrocarburos más permeables permean la fase acuosa y pasan dentro de la fase solvente, los componentes menos permeables se quedan en la fase oleosa interna. Los sistemas múltiples entonces permiten el cremado y los componentes son separados. Las membranas líquidas del tipo agua/aceite/agua han sido usadas en el tratamiento de desechos acuosos (la fase acuosa externa). Pasan contaminantes

del desecho con poca consistencia a la fase acuosa interna donde son atrapados (Florence y Whitehill, 1982).

### 3.2.8 Técnica de microemulsiones emulsificadas

Esta técnica está basada en la idea de dispersar una fase oleosa dentro de agua por un emulsionante para formar una fase L2 (agua/microemulsión oleosa), esta fase se emulsifica mejor con agua para formar la emulsión múltiple. El problema con esta técnica es que no hay evidencia de la formación de emulsión múltiple y que la fase interna permanezca después del proceso de la segunda emulsificación, una fase L2 de gotas de tamaño submicronal con estabilidad termodinámica intrínseca. Si se logra probar que los compartimientos internos son de una microemulsión estable, esto llevaría a un despegue en este campo, desde que los tamaños de las gotas externas pudieran reducirse a valores cercanos a 1  $\mu\text{m}$ , tales formulaciones ayudarían a la formación de emulsiones múltiples con mayor vida útil (Aserin, 2008).

### 3.2.9 Técnica con una etapa de emulsificación

Se han preparado emulsiones aceite/agua/aceite vía una etapa de emulsificación en fase acuosa conteniendo polietilenglicol (PEG) y polioxietileno monolaurato sorbitán (SPAN 20) en una fase oleosa formada de 1-octanol, hidroxipropilcelulosa (HCP) y monooleato sorbitán (SPAN 80). La formación de gotas de emulsión múltiple aceite/agua/aceite se atribuye a la difusión de la fase oleosa (1-octanol) desde la fase continua externa a la fase interna; el mecanismo propuesto para este fenómeno se esquematiza en la Figura 31 (Aserin, 2008).

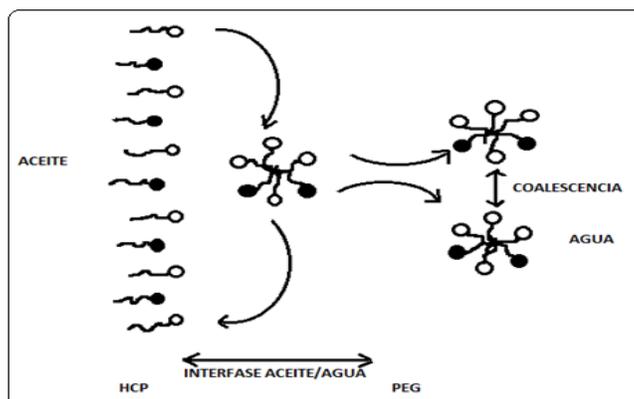


Figura 31. Mecanismo de formación de gotas internas oleosas en emulsiones múltiples aceite/agua/aceite preparadas por un proceso de emulsificación en una sola etapa. Fuente: Aserin, 2008.

### **3.2.10 Otras técnicas de emulsificación para agua/aceite/agua**

Benichou y col., (2002), (citado por Muschiolik, 2007), prepararon emulsiones agua/aceite/agua; la fase agua/aceite la emulsificaron en la fase acuosa externa conteniendo un 4% proteína de suero y 0.5% de goma xantana usando un homogeneizador con una celda alimentadora dual. Aquí la emulsión primaria agua/aceite y la fase acuosa externa se mezclaron bajo presión dinámica. El tamaño de la gota oleosa de la emulsión múltiple resultante fue de 3.3  $\mu\text{m}$ .

Leal-Calderón y col. (2002) reportaron un método para preparar una doble emulsión monodispersa por control de corte, donde la fase agua/aceite es sometida a una razón de corte, de por ejemplo:  $1890 \text{ s}^{-1}$  (con abertura de cilindros rotativos de 100  $\mu\text{m}$ , resultando gotas acuosas de 0.35  $\mu\text{m}$ ) y mezclados con fase-acuosa<sub>2</sub> bajo presión (300 bar) en una cámara de homogeneización antes de pasar a un orificio de salida de 0.62 mm.

Muschiolik y col., (2007) prepararon emulsiones agua/aceite/agua por rompimiento de gotas controladas durante la emulsificación en un flujo turbulento usando un homogeneizador con orificios combinados combi-válvulas y fueron entonces comparados con emulsiones preparadas con membrana de emulsificación (poros de 4  $\mu\text{m}$ ) Ha sido demostrado que se obtiene un muy alto rendimiento de la fase interna a baja presión con orificios combinados (< 10 bar, rendimiento > 96%, ~ 20 a 25 L/h ), 100% de rendimiento se logra con membrana de emulsificación.

### **3.2.11 Técnica de emulsificación por membranas rotatorias**

Vladisavljevic y Williams (2005), (citado por Muschiolik, 2007), estudiaron el aumento de flujo de la fase a dispersar y consiguieron la regulación del tamaño de gotas a través de emulsificación por membranas rotatorias. La velocidad de rotación permite la regulación de emulsiones múltiples vía fuerzas centrifugas, además la tensión de corte de la pared será influenciada por la viscosidad y la fase continua.

### **3.2.12 Técnica de reactor coaxial**

Una técnica de preparación de emulsión múltiple aceite/agua/aceite con gotas monodispersas puede producirse por la técnica de reactor coaxial, sin embargo, éste método no se ha utilizado para aplicaciones alimenticias, siendo viable para alcanzar la escala submicron si los líquidos conductivos y dieléctricos son dispersados. Por ejemplo, se ha realizado con aceites de silicón y hexano como dieléctrico o líquido aislante (aceite) y glicerol (agua) como líquido conductivo. Un líquido conductivo (fase agua) es inyectado a través de una abertura anular entre dos alfileres mientras que el líquido aislante interno es

inyectado al alfiler interno. Este estrés de corte eléctrico actúa en la interfase y consigue lentamente el incremento de viscosidad del líquido conductor. Por lo tanto, líquidos conductivos con mayor viscosidad son necesarios para la dispersión en una fase oleosa aislante externa. Esta técnica tiene la capacidad para generar gotas con diámetros con un intervalo submicrométrico, dependiendo de la conductividad del líquido (Muschiolik, 2007).

### **3.3 APLICACIÓN Y USO DE EMULSIONES MÚLTIPLES EN LA INDUSTRIA**

#### **ALIMENTARIA**

Debido a su especial microestructura, las emulsiones múltiples tienen una variedad de aplicaciones prácticas en la industria cosmética, farmacéutica y alimentaria y en técnicas de separaciones industriales; pero, aunque tienen potenciales aplicaciones, la preparación de ellas se ha limitado por su naturaleza compleja y por su inestabilidad termodinámica, debida a su estructura, y por lo tanto, estas son desventajas para lograr una estabilidad duradera (Pal, 2007; Ursica *et al.*, 2005; Mine *et al.*, 1995). Sin embargo, hay muchas dificultades asociadas con la preparación de emulsiones múltiples lo suficientemente estables para su utilización debido a la coalescencia de gotas o debido a la difusión de moléculas de agua de la fase acuosa interna al volumen de la fase acuosa (Benichou *et al.*, 2004).

Las emulsiones múltiples tienen la capacidad para entrapar importantes sustancias en las gotas internas, por lo cual son usadas en aplicaciones donde debe haber control de liberación (lenta o prolongada) de diversos ingredientes importantes deseados. Por ejemplo, muchos productos alimenticios experimentan una indeseable pérdida de cualidades debido a la liberación de componentes de sabor volátiles, durante el proceso de almacenaje. Una forma de resolver este problema es la utilización de emulsiones múltiples con componentes de sabor atrapados en las gotas internas (Pal, 2006). También, se han entrapado en los compartimientos internos, sustancias solubles en agua, como NaCl y vitaminas (Benichou *et al.*, 2004; Muschiolik, 2007). Así que, las emulsiones múltiples tienen un amplio potencial de aplicaciones en la encapsulación de componentes bioactivos y para la liberación controlada de tales componentes (Muschiolik *et al.*, 2006).

Otra prometedora aplicación de emulsiones múltiples es en la sustitución de grasas lácteas, para la producción de productos lácteos que cumplan con propuestas nutricionales tales como la reducción de grasas en general y en particular con grasas saturadas (Bonnet *et al.*, 2009). Esta es una buena aplicación en el área de emulsiones agua<sub>1</sub>/aceite/agua<sub>2</sub> en la formulación de grasas reducidas en quesos y lácteos en general. La composición de grandes cantidades de grasas saturadas en la dieta es considerada como un factor de riesgo en enfermedades del corazón, que es ahora la primera causa mundial de muerte. El desarrollo

de productos lácteos conteniendo menor cantidad de grasa láctea y mejor balance de grasas saturadas-insaturadas puede contribuir a mejorar la salud del consumidor. Debido a esto, productos lácteos reducidos en grasa son usualmente producidos por el uso de leche descremada adicionada con remplazos de grasa que imitan la funcionalidad de la grasa de leche; productos lácteos usualmente envuelven la sustitución parcial o total de grasa de leche por emulsificados insaturados de aceites vegetales. En ambos casos, interacciones entre cadenas de caseína de la leche descremada y remplazos de grasa y/o emulsificados vegetales oleosos, dan realce a nuevas estructuras que son completamente diferentes de esos obtenidos por el uso de leche entera. El uso de emulsiones agua<sub>1</sub>/aceite/agua<sub>2</sub> permite mayor reducción del contenido de grasa que podría lograrse con emulsiones simples, como parte del equivalente de fase dispersa en emulsiones agua<sub>1</sub>/aceite/agua<sub>2</sub> es hecho por el contenido de la fase acuosa interna (agua<sub>1</sub>). En estructuras alimenticias complejas como productos lácteos, el tamaño y distribución de regiones dispersas y fase continua, también la estructura fina con cada fase y las interfases, determinan las propiedades mecánicas (textura y reología) de estos sistemas. Por eso, es de mucha importancia el entendimiento de las propiedades microestructura y las propiedades mecánicas de la Ingeniería en Alimentos para poder predecir la percepción del consumidor y para mejorar la textura y estabilidad de los alimentos (Lobato-Calleros *et al.*, 2006).

También se ha probado que las emulsiones agua/aceite/agua cargadas con iones de magnesio pueden aplicarse en productos alimenticios, ya que al ponerlas en presencia de lipasa pancreática, los triglicéridos de emulsiones fueron hidrolizados por esta enzima. Se investigó el efecto de aceite natural sobre las proporciones de liberación de magnesio encapsulado en emulsiones múltiples con grado alimenticio, las emulsiones fueron morfológicamente estables y la liberación de iones se monitoreo después de un mes, que es el periodo límite de productos lácteos y resultó que las emulsiones múltiples permanecieron estables (Bonnet *et al.*, 2009).

Se ha logrado la estabilidad del 100% de la fase acuosa interna durante el proceso de preparación en algunos apartados, como suplementos alimenticios con micronutrientes sensibles en la fase interna, para enmascarar sabores desagradables de componentes bioactivos, o para conseguir liberación controlada de varias sustancias. También han sido útiles como membrana líquida en la preparación de lípidos vesiculares, en la preparación de microcápsulas, en protección de ingredientes lábiles y como controladores o disipadores de liberación y en reducción de contenido graso (Benichou *et al.*, 2004). También se han reportado algunas aplicaciones recientes en protección de probióticos contra los efectos de jugos gástricos y ácidos biliares y por otro lado, una aplicación amplia es en la microencapsulación (Mine *et al.*, 1995). Las emulsiones múltiples tiene un uso potencial en el proceso industrial para encapsulados o protectores sensitivos y componentes alimenticios activos en el medio ambiente (antioxidación), para el control de aroma y liberación de sabor (Muschiolik, 2007).

Un buen número de investigaciones han mostrado la preparación de diferentes tipos de emulsiones múltiples basadas en incompatibilidad termodinámica de mezclas de soluciones de biopolímeros. Por ejemplo, las emulsiones aceite/agua/agua pueden prepararse por mezcla de una emulsión aceite/agua con una mezcla separada de solución de biopolímero. Este tipo de emulsiones múltiples tienen varias ventajas con respecto a las emulsiones convencionales en la industria alimenticia, las emulsiones aceite/agua/agua pueden ser usadas para producir alimentos con similares propiedades sensoriales de las emulsiones aceite/agua, pero con niveles reducidos de grasa. Alternativamente las emulsiones aceite/agua/agua pueden ser usadas deliberadamente como sistemas para controlar la liberación de agentes activos, tales como saborizantes, lípidos antimicrobiales o bioactivos (Kim *et al.*, 2005). Las emulsiones agua/aceite/agua pueden utilizarse en la industria alimentaria como vehículos de administración de nutrientes en dietas especiales, o usar los compartimientos acuosos internos como inmovilizadores de ciertos ingredientes, también en la manufactura de productos con mejoras en las características sensoriales (Pal, 2008).

Al igual que ingredientes cosméticos, aditivos alimenticios se microencapsulan por diferentes razones, que incluye la reducción de efectos locales o control de liberación. Las características de las microesferas producidas determinan la adecuación para su utilización requerida, las microesferas se preparan a partir de polímeros sintéticos y naturales. Las emulsiones agua/aceite/agua son generalmente usadas para encapsulación de proteínas y péptidos. Estas moléculas altamente solubles en agua son cuantitativamente introducidas en la fase acuosa interna de las emulsiones múltiples y resultan en microcápsulas altamente cargadas en comparación a las partículas producidas por emulsión simple con el método de solvente-evaporación. La particular localización de las proteínas induce a un efecto estabilizador sobre las dos emulsiones, que en turno contribuyen a la estabilización exitosa de la carga de emulsiones múltiples (Aserin, 2008).

Si en vez de tener dos fases líquidas en emulsiones múltiples, se tiene una fase o dos fases con partículas sólidas o semisólidas, disminuye drásticamente la razón de liberación de moléculas activas atrapadas, así que pueden almacenarse por períodos prolongados de tiempo sin que haya transporte de material activo a la interfase externa. Cuando la emulsión múltiple se use, podría calentarse o cortarse, y el material interno sólido se rompería, así que la materia activa se libera. El mayor problema en la práctica de tal tecnología son las dificultades surgidas en la dispersión (permanecer estable) de micro o nanopartículas en la fase continua. Microesferas y nanopartículas usadas en la técnica de encapsulación sólida son probadas para remplazar la emulsión primaria dispersa. Se han usado múltiples emulsiones como intermediarios para la preparación de microesferas o microcápsulas aceite/agua/aceite para mejorar la solubilización y protección química de materia activa insoluble en agua. Se han usado emulsiones múltiples por adsorción selectiva de ciertos componentes para extracción y purificación. Últimamente se han utilizado micropartículas

con una distribución de tamaño pequeño con diferentes polímeros biodegradables, los tamaños comunes de micropartículas comprendidos entre 40-50  $\mu\text{m}$  (Aserin, 2008).

## 4.0 DISCUSIÓN

Las emulsiones múltiples presentan posibilidades interesantes para el control de liberación de sustancias químicas inicialmente atrapadas en las gotas internas. Tienen también un gran potencial de beneficios sobre las emulsiones convencionales, tales como la reducción del contenido de grasa, marcadores de sabor, disparadores o controladores de sabor, además de la protección de ingredientes lábiles o probióticos sensitivos. Sin embargo, no se puede ignorar que hay muchas dificultades asociadas con la preparación de este tipo de emulsiones múltiples con la suficiente estabilidad para que sean utilizados dentro de la industria alimenticia, debido a la coalescencia o debido a la difusión de moléculas de agua desde la fase acuosa interna al volumen fase acuosa o viceversa.

Los ingredientes de las emulsiones se organizan bajo el efecto de diferentes factores: físicos (fuerzas intermoleculares, fuerzas entre gotas, o separación de fases), químicos (formación de enlaces covalentes) y biológicos (fermentación). Debido a que las emulsiones son sistemas inestables, su estructura inicial puede alterarse con el tiempo de duración del almacenaje y/o la transportación como resultado de tratamientos térmicos, tensión mecánica, física y acción biológica.

Se ha podido observar que los parámetros pueden variar dentro de los límites sin una modificación de las características de las emulsiones múltiples, debido a la eficiencia de los pares de surfactantes que son particularmente compatibles con la estructura química de los hidrocarburos y por las características poliméricas del surfactante primario que forman una estructura reticular con la fase oleosa, lo cual conlleva a obtener emulsiones múltiples muy estables. La estabilidad de las emulsiones múltiples está influenciada por varios factores como la viscosidad, barreras de energía e interacciones de Van der Waals; también depende de la presión osmótica y de Laplace, de las gotas internas, así como de la presión de balance entre ellas descrita por la ecuación de Walstra; igualmente depende de la fuerza de la película de interfase formada sobre la interfase de las gotas de emulsión múltiple. La dispersabilidad de las gotas de emulsiones es un parámetro importante para estabilizar los polisacáridos de la emulsión, así como el tamaño de las gotas. La distribución del tamaño de partícula de la emulsión depende de la distribución del tamaño del poro cuando se usa una membrana como técnica de elaboración, y de estos depende lograr la dispersabilidad deseada.

No está de más recordar, que el proceso de manufactura se lleva a cabo en dos etapas de emulsificación, donde la segunda etapa es el paso crítico en la manufactura. De hecho, la membrana oleosa es la responsable de permitir el efecto de varios parámetros tales como la introducción de fases, temperatura de manufactura, cambio de materiales y características de agitación.

Se han reportado diferentes aditivos utilizados en diferentes estudios, como la glucosa, sucrosa, ácido acético, ácido cítrico, ácido ascórbico, cloruro de sodio, y acetato de sodio, entre muchos otros. La glucosa y sucrosa aumentan la viscosidad para algunos

sistemas hasta que alcanzan un valor constante. Con los otros aditivos, se ha reportado un incremento inicial en viscosidad, seguido por un decremento y un correspondiente descenso en la estabilidad. Estas observaciones son explicadas en términos del gradiente de presión osmótica entre los compartimientos internos y externos del agua y el efecto de aditivos sobre el estado físico de las películas emulsificadas absorbidas en las interfases entre los dos compartimientos de agua y la fase oleosa. También, se han realizado numerosas investigaciones para describir los efectos de diferentes componentes de grado alimenticio (fases lípidas, emulsionantes, electrolitos, azúcares, biopolímeros) sobre la estabilidad de emulsiones múltiples tipo agua/aceite/agua y aceite/agua/aceite, tomando en cuenta que estos sistemas dependen de la emulsión matriz y de la influencia de los métodos de dispersión utilizados.

El desarrollo de una estrategia efectiva para prevenir cambios indeseables en las propiedades de las emulsiones múltiples depende del dominio de mecanismos fisicoquímicos responsables de estos cambios. En la práctica, dos o más de estos mecanismos pueden operar en conjunto; de ahí la importancia de identificar cada uno de ellos, la relación entre sí y los factores que los influyen, por eso, es necesario el control de la estabilidad para conseguir las propiedades fisicoquímicas requeridas.

Se han realizado investigaciones donde se han preparado emulsiones primarias con gotas internas muy pequeñas, con alto rendimiento de la fase interna para obtener emulsiones con gotas monodispersas de la fase dispersa primaria y secundaria, con un alto rendimiento.

Un aumento marcado en la eficacia de encapsulación se observa por la disminución de la temperatura de almacenaje de geles de emulsión desde 23 a 7°C; la cantidad de lípidos usados en la preparación influye en la razón de liberación, así que el incremento del contenido de grasa en la fase oleosa resulta en un descenso en el marcador de difusión. Se consigue la menor razón de liberación usando grasa con el mayor punto de fusión y por el incremento del contenido de grasa al 100% de la fase oleosa. Cuando se combinan diferentes técnicas de encapsulación se abre la posibilidad de crear un nuevo sistema de encapsulación con propiedades ajustables de liberación y protección adicional.

La nueva tecnología de emulsificación con microcanales abre la posibilidad para preparar emulsiones múltiples con mayor monodispersión (microcápsulas). La preparación de gotas uniformes puede ser importante para la aplicación alimenticia y para regular la liberación cinética con mayor precisión, también para aplicaciones donde se tenga que estandarizar el tamaño de partículas (formación de cápsulas). Para crear partículas con estabilidad regulada y adaptar la liberación o comportamiento de encapsulación, es importante el papel que juega el espesor de interfase y la densidad (ejemplo: realizado por polielectrolito capa por capa) en la liberación de agentes con diferente polaridad y tamaño de molécula. Los diferentes tipos de construcción de microcanales para creación de gotas monodispersas incrementa la razón de producción. Dependiendo de la topología, el flujo cruzado puede ser o no necesario.

Se ha encontrado que la liberación en una emulsión múltiple es menor que en el caso de la emulsión gel, esto puede atribuirse a distintas diferencias en el tratamiento de los dos sistemas. El mayor impacto sobre la liberación del marcador desde los geles de emulsión es la liberación de almacenamiento de agua, donde la proporción entre el agua y la emulsión gel es de proporción 5:1. A fin de lograr un balance osmótico reubicado entre las fases acuosas (agua<sub>1</sub> y la fase acuosa externa, incluyendo gel alginato acuoso), se prefiere que el agua proveniente de la liberación media difundida dentro de la fase agua<sub>1</sub> cause un considerable hinchamiento de las gotas de agua<sub>1</sub> seguidas por su rompimiento.

En geles de emulsión agua/aceite/agua preparada con diferentes grasas, enfriadas por cristalización, únicamente se han reportado pequeñas diferencias dependiendo del tipo de propiedades de la fase lípida. Se ha observado que existe dificultad para el control del proceso de cristalización de la fase lípida en emulsiones múltiples durante la refrigeración. Con la aplicación de condiciones de refrigeración para los geles de emulsión, los cristales se forman de manera incontrolada en la fase lípida de la emulsión múltiple, y esto es desfavorable para las propiedades de liberación de las emulsiones, sin embargo, se han reportado condiciones experimentales de baja liberación usando grasas con alto punto de fusión.

El análisis de tamaño de partícula es un método de evaluación de la estabilidad de emulsiones múltiples, también puede ser acompañado por imágenes microscópicas de las muestras. El método de microscopía óptica también se ha utilizado para confirmar la estructura de emulsiones múltiples agua/aceite/agua. Los resultados de análisis granulométrico de emulsiones múltiples agua/aceite/agua, han mostrado que estos sistemas contienen algunas dispersiones finas y otras muy finas de carácter estable. Este método es ventajoso en el control de la estabilidad de emulsiones múltiples porque ofrece indirectamente información acerca de su estructura, también permite el control de la cantidad y producción de la emulsión, a su vez cuantifica las modificaciones de la partícula múltiple, permitiendo el monitoreo de las dimensiones de término medio y/o el número de partículas presentes en la unidad de volumen, así como de las características del fenómeno de inestabilidad para estos sistemas (la coalescencia de partículas acuosas internas y su expulsión en la fase acuosa externa; transferencia de agua de la fase externa al compartimiento acuoso interno y la coalescencia de partículas múltiples).

Otro desafío que debe atenderse para la ciencia de emulsiones múltiples alimenticias es la comprensión y control de la evolución en interacciones coloidales, microestructuras y propiedades reológicas durante el almacenamiento y transporte.

## 5.0 CONCLUSIONES

Las emulsiones alimentarias son sistemas no equilibrados que no solamente se gobiernan por condiciones termodinámicas, sino por el proceso completo. La base del conocimiento de las propiedades estructurales de las emulsiones alimentarias ha sido progresiva y la complejidad inherente de tales materiales es permanente, interviniendo una gran variedad de cuestiones fundamentales en las fronteras físicas, químicas y biológicas.

Las emulsiones múltiples han tenido numerosas aplicaciones reportadas en muchos campos, uno de ellos, importante para nosotros es en la industria alimentaria, es por eso, que se requiere realizar más investigaciones respondiendo a diferentes necesidades particulares para lograr la estabilidad completa de las emulsiones múltiples, ya que está influenciada por numerosas formulaciones y variables de proceso.

Investigaciones recientes han logrado una mayor comprensión de las interacciones entre las gotas; del impacto de las interacciones proteína polisacárido sobre la estabilidad de la emulsión en la producción de geles de emulsificación; también se ha abierto la posibilidad de controlar las propiedades estructurales, además del diseño de emulsiones alimenticias con mejoras en la estabilidad y en sus propiedades funcionales.

Las emulsiones múltiples tienen un alto potencial de beneficios sobre las emulsiones convencionales, tales como: reducción del contenido de grasa, protección de ingredientes lábiles y como disparadores de liberación; sin embargo, presentan problemas referentes a su preparación para conseguir una buena estabilidad requerida en la industria alimenticia, debido a la coalescencia de las gotas o a la difusión del agua de las moléculas de la fase acuosa interna al volumen fase acuoso.

Una ventaja básica de una emulsión múltiple sobre una emulsión común de dos fases, es la liberación prolongada de ingredientes activos; ésta se obtiene después del paso de la sustancia a través de las dos interfases, en contraste, con la emulsión simple donde existen solo dos fases.

La emulsión múltiple contiene dos sustancias incompatibles hidrofílicas, una en la fase interna acuosa y la segunda en la fase acuosa externa. Debido a esta ventaja y a los beneficios que aportan las emulsiones múltiples, se recomienda ampliamente la preparación, formulación y producción de este tipo de sistemas, ya que se han formulado emulsiones múltiples con vida útil mayor a dos años, lo cual constituye además, una gran ventaja económica.

Particularmente para emulsiones alimenticias, existen numerosos emulsionantes naturales y artificiales, estabilizadores de diferentes pesos moleculares y propiedades químicas para escoger, sin embargo, muchas regulaciones federales y locales limitan la selección y niveles permitidos, pero aún más importante que la calidad del producto

alimenticio, es crítica la aceptación del consumidor. Es importante resaltar que, la preparación y producción de grandes volúmenes de muchas emulsiones alimenticios son secretos comerciales y que el conocimiento y entendimiento de técnicas básicas es información disponible que utiliza la comunidad científica.

Es muy importante dar atención a los sistemas de emulsiones múltiples, determinando las necesidades y usos de las mismas, ya que en función de este hecho se usará cierto tipo de agente emulsionante, también será importante el efecto de la fracción volumen sobre el proceso de formación y estabilidad; a su vez, el efecto de la proporción de emulsionante en la fase primaria y secundaria de la emulsificación, y a su vez, el efecto del procedimiento del proceso sobre la formación y estabilidad de la emulsión múltiple. Algunas emulsiones son productos finales que deben permanecer estables hacia el cremado y coalescencia durante su producción y vida útil, las emulsiones pueden también ser usadas como ingredientes que participen en la formación de productos más complejos, como sistemas gelificados; queda claro que los requerimientos para la composición y propiedades de las gotas de emulsiones son diferentes dependiendo del uso final de la emulsión múltiple.

Las emulsiones múltiples son sistemas complejos, que requieren de entendimiento profundo de sus características, por lo tanto, es necesario seguir estudiando su comportamiento en condiciones específicas requeridas, según las necesidades deseadas que deban satisfacer estos sistemas.

## 6.0 RECOMENDACIONES

Resulta necesario para la industria alimentaria realizar más investigaciones futuras respondiendo a diferentes necesidades particulares para lograr la estabilidad total de las emulsiones múltiples, ya que está influenciada por numerosas formulaciones y variables de proceso; también deben estar orientadas a lograr la mejoría en procesos industriales.

Para que las técnicas de preparación de emulsiones múltiples sean viables, es importante el estudio y uso de surfactantes naturales en el campo alimenticio, por razones obvias de seguridad para la salud.

Un apartado de interés en la elaboración de emulsiones múltiples, es el uso de la técnica de reactor coaxial, que hasta el momento se ha utilizado para aplicaciones no alimentarias, este hecho representa una oportunidad para encontrar las condiciones de proceso adecuadas y conseguir su uso en emulsiones múltiples alimenticias, ya que con ésta técnica se conseguirían gotas de diámetro con intervalos de submicrón, lo cual favorecería la estabilidad de estos sistemas.

También es importante resaltar, que debe darse mayor atención a la prueba de textura de emulsiones alimenticias, ya que la textura no solo depende del sabor de los componentes, sino también de las estructuras que se forman por los componentes usados para fabricar emulsiones, por eso recientemente hay mucho interés a establecer el comportamiento oral de los alimentos.

Es relevante el aumento de conocimiento de las emulsiones alimenticias bajo condiciones orales, más específicamente la observación de cambios estructurales debidos a la masticación, la liberación de sabores e interacciones con la saliva.

En estructuras alimenticias complejas, el tamaño y distribución de las regiones fase continua y dispersa, así como la estructura fina dentro de cada fase y las interfases determinan su comportamiento mecánico (textura). Por eso, es de gran importancia, aumentar el conocimiento entre la microestructura y las propiedades mecánicas de ingeniería de alimentos con el fin de mejorar la estabilidad alimenticia y además, para satisfacer la percepción y gusto de los consumidores; debido a esto, un aspecto de estudio necesario para mejorar el proceso, manufactura, manejo y aceptación de las emulsiones múltiples, y en el cual se debe profundizar es en el análisis de tamaño de partícula.

Es de primordial importancia fabricar emulsiones múltiples que no sean únicamente aceptables en términos de percepción sensorial, sino también ser los bastante estables para ser viables comercialmente. Sin embargo, se requieren de más trabajos para encontrar métodos específicos que favorezcan una estructura estable de las emulsiones múltiples, encontrando los límites donde ellas han de ser formadas, y así aumentar su vida útil para aplicaciones reales en alimentos.

Es necesario hacer adaptaciones en la formación de gotas y en la dispersión de la emulsión primaria con un alto rendimiento de la fase interna para preparar emulsiones con un intervalo definido de la fase secundaria dispersa.

Las emulsiones múltiples ofrecen oportunidades para mejoramiento nutricional, incorporando componentes saludables. Existen tres fenómenos de potencial relevancia para la formulación de nuevos sistemas funcionales: las interacciones de atracción de gotas, la formación de una cadena de polímero en la fase continua (por ejemplo) y el calor inducido de gelación de la proteína que estabiliza la emulsión, con respecto a la temperatura.

Casi independientemente de la composición del sistema de geles de emulsión agua/aceite/agua, la reducción de temperatura, presenta un relativo alto impacto sobre el marcador de liberación. Para ampliar la efectividad, es importante que se realicen experimentos que examinen el umbral de liberación de los geles de emulsiones como sistemas de encapsulación con una fase aceite líquido enriquecido con cristales; donde el proceso de cristalización, debería ocurrir dentro de la fase oleosa anterior a la emulsificación.

## REFERENCIAS

- Adachi, S., Imaoka, H., Ashida, H., Maeda, H., Matsuno, R. (2004). Preparation of microcapsules of w/o/w emulsions containing a polysaccharide in the outer aqueous phase by spray-drying. *Eur. Journal Lipid Science Technology*, 106, 225-231.
- Aserin, A. (2008). *Emulsions Multiples: Technology and Applications*. New Jersey: Sons.
- Benichou, A., Aserin, A., Garti, N. (2002). Double emulsions stabilized by new molecular recognition hybrids of natural polymers. *Polym Adv. Technology*, 13, 1019-1031.
- Benichou, A., Aserin, A., Garti, N. (2004). Double emulsions stabilized with hibrids of natural polimers for entrampment and slow release of active matters. *Adv. Colloid Interface Science*, 108-109, 29-41.
- Benichou, A., Aserin, A., Garti, N. (2007). O/w/o double emulsions stabilized with WPI-polysaccharide. *Colloid Surfaces, A. Physicochem Eng Asp.*, 297, 211-220.
- Binks, B. P., Horozov., T. S. (2006). *Colloidal Particles at Liquid Interfaces*. Cambridge.
- Bonnet M., Cansell M., Berkaoui A., Ropers M.H., Anton M. y Leal-Calderon F. (2009). Release rate profiles of magnesium from multiple w/o/w emulsions. *Food Hydrocolloids*, 23, 92-101.
- Cavallo, L., Chang, L., Salleb, Z. (1990). *Formulation considerations in emulsion preparation and stability*. American Institute of Chemical Enginners (Comp.). Food Emulsion and Foams: Theory and Practice. Núm 277, 86, 17-22, New York.
- Cheftel, J.C. y C.heftel. H. (1983). *Introducción a la Bioquímica y Tecnología de los Alimentos*. Zaragoza España: Acribia.
- Cheng, J., Chen, J.F., Zhao, M., Luo, Q., Wen, L.X., Papadapoulus, K. CD. (2007). Transport of ions through the oil phase of w1/o/w2 double emulsions. *Journal Colloid Interface Science*, 305, 175-182.
- De Luca, M., Grossiord, J. L., Medard, J. M .and Vaution, C. (1990). A stable w/o/w multiple emulsion. *Cosmetic and Toiletries*, 105, 67-69.
- De Luca, M ., Rocha, F. P., Grossiord, J. L., Rabaron, A., Vaution, C., Sheiller, M. (1991). Le emulsions multiples. *International Journal of Cosmetic Sience*, 13, 1-21.
- Diftis, N., Kiosscoglou, V. (2006). Stabily against heat-nduced aggregation of emulsions prepared with a dry-heated soy protein isolate, dextran mixture. *Food Hydrocoll*, 20, 787-782.

- Fenema, O .R. (1985). *Introducción a la Ciencia de los Alimentos*. Barcelona España: Reverte.
- Flanagan, J., Hemar, and Singh, H. (2006). Synergistic effects o polyglycerol ester of polyricinoleic acid and sodium caseinate on the stabilisation of w/o/w emulsions. *Food Hydrocolloid*, 20, 261-268.
- Florence, A. and Whitehill,D. (1985). *Stability and Stabilization of water in oil in water multiple emulsions*. American Chemical Society (Comp.). Dinesh O., Shah (Ed.). Macro and emulsions Theory and Applications. Florida.
- Florence, A. T. y Whitehill, D. (1982). The formulation and stability of multiple emulsions. *International Journal of Pharmaceutics*, 11, 277-308.
- Fox, C. (1986). An introduction to multiple emulsions. *Cosmetics and toiletries*, 101, 110-112.
- Garti, N., Aserin, A., Cohen, Y. (1994). Mechanistic considerations on the release of electrolytes from multiple emulsions stabilized by BSA and nonionic surfactants. *Journal Contolled Release*, 29, 45-51.
- Graaf, V. W., Steegmanns, M. L. J., Van der S. R.G.M., Schroen, C. G. P. H., Boom, R. M. (2005). Droplet formation in a T-shaped microchannel jnction: a model system for membrane emulsification. *Colloids Surfaces A. Physicochem Eng. Asp.*, 26, 106-116.
- Higashi, S., Shimizu, M., Nakashima, T., Iwata, K., Uchiyama, F., Tateno, S., Tamura, S., Setoguchi, T. (1995). Arterial-inyection chemotherapy for hepato celular carcinoma using monodispersed poppy-seed oil mcredroplets containing fine aqueous vesicles of eprubicin. *Cancer*, 75,1245-1254.
- Hunter, R. J. (1986). *Foundations of Colloid Science Vol 1*. Oxford: Oxford Science Publications.
- Jiao J., Rhodes, D. G. and Burgess, D. J. (2002). Multiple Emulsion Stability: Pressure Balance and Interfacial Film Strength. *Journal of Colloid and Interface Science*, 250, 444-450.
- Kim H. J., Decker E. A., and McClements J. D. (2006). Preparation of multiple emulsions based on thermodynamic incompatibility of heat-denatured whey protein and pectin solutions. *Food Hydrocolloids*, 20, 586-595.
- Knoth, A., Scherzem I., Muschiolik, G. (2005). Effect of lipid type on w/o emulsions stabilized by phosphatidylcholine-depleted lecithin and polyglycerol polyricinoleato. *Eur. Journal Lipid ScienceTechnology*, 107, 857-863.
- Krong, N., Barfod, N.M. (1990). *Interfacial Properties of Emulsifier/protein films related to food emulsions*. American Institute of Chemical Engineers (Comp.). Peter J. Wan (Ed.) Food Emulsion and Foams: Theory and Practice, Vol 86, 1-6.

- Larsson, K. and Friberg, E. Stig. (1990). *Food Emulsions, Segunda Edición*. New York: Marcel Dekker, Incorporation.
- Leal-Calderon, F., Thivilliers, F. and Schmitt, V. (2007). Structured emulsions. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 12, 206-212.
- Lin, T. J., Kurihara, H. and Ohta, H., Effects of phase inversion and localization on the formation of o/w emulsions. *Journal Society Cosmetic Chemistry*, 26, 121-139.
- Lissant, K.J. (1974). *Emulsions and Emulsion Technology*. New York: M. Dekker.
- Lobato-Calleros, C., Rodríguez, E., Sandoval, O., Vernon C., E. J., and Álvarez R., J. (2006). Reduced-fat white fresh cheese-like products obtained from w1/o/w2 multiple emulsions: Viscoelastic and high-resolution image analyses. *Food Research International*, 39, 678-685.
- Lobo, L. A. and Wasan, D. T. (1990). *Thin film stability and interfacial rheology of emulsion systems*. American Institute of Chemical Engineers (Comp.). Food Emulsions and Foams: Theory and Practice, Num 277, 86, 25-43, New York.
- Matsumoto, S. and Kang, W. W. (1989). Formation and applications of multiple emulsions. *Journal Dispersion Science and Technology*, 10, 455-482.
- McClements, D. J. (2005). *Food Emulsions, Principles, Practices and Techniques, Segunda Edición*. Washington D. C.: CRC Press.
- Mezzenga, R., Folmer, B. M., Hughes, E. (2004). Design of double emulsions by osmotic pressure tailoring. *Langmuir*, 20, 3574-3582.
- Mine Y., Shimizu M. and Nakashima T. (1996). Preparation and stabilization of simple and multiple emulsions using a microporous glass membrane. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 6, 261-268.
- Muschiolik, G. (2007). Multiple emulsions for food use. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 12, 213-220.
- Muschiolik, G., Scherze, I., Preissler, P., Weiss, J., Knoth, A. and Fechner, A. (2006). Multiple Emulsions Preparation and Stability. *Food Technology*, 123-137.
- Nakajima, M., Sugiura, S., Yamamoto, K., Iwamoto, S., Oda, T., Satake, M. (2004). Preparation characteristics of water/oil/water multiple emulsions using microchannel emulsification. *Journal Colloid Interface Science*, 270, 221-228.
- Neiryneck, N., Van der M., P., Lausceker, M. C. (2007). Influence of pH and biopolymer ratio on whey protein pectin interactions in aqueous solutions and in o/w emulsions. *Colloid Surfaces A*, 298, 99-107.
- Pal, R. (2007). On the viscoelastic behavior of multiple emulsions. *Journal of Colloid and Interface Science*, 313, 751-756.

- Pal, R. (2008). Viscosity models for multiple emulsions. *Food Hydrocolloids*, 22, 428-438.
- Parkinson, F. L., Dickinson, F. (2007). Synergetic stabilization of heat-treated emulsions prepared with a dry-heated soy protein isolate, dextran mixture. *Food Hydrocolloid*, 20, 787-792.
- Preissler, P., and Muschiolik, G. (2007). Multiple emulsionen mit reduziertem wassergehalt. In: Muscholik G. Bunges H. editors. Multiple emulsionen. Hamburg: *Behr's Verlag*, 188-206.
- Prybilski C., De Luca M. Grossiord J. L. and Vaution C. (1991). W/O/W multiple emulsions. *Cosmetics and Toiletries*, 106, 97-100.
- Scherze, I., Knoth, A., Muschiolik, G. (2006). Effect of emulsification method on the properties of lecithin and PGPR-stabilized w/o emulsions. *Journal Dispersions Science Technology*, 27, 427-434.
- Schramm, L. L. (2005). *Emulsions, Foams and Suspensions, Fundamentals and Applications*: Wiley VCH.
- Sharma, M. K. and Shah, D. O. (1983). *Introduction to Macro and Microemulsions*. Dinesh O. Shah (Ed.), Macro and microemulsiones Theory and Applications. Florida.
- Sheppard, E. and Tchekretdian, N. (1977). Comments on multiple-phase emulsions. *Journal Colloid Interface Sci.*, 62, 564-565.
- Shinoda, K. and Friberg, S. (1986). *Emulsions and solubilization*. John Willey and sons, New York.
- Trados, T. F. (2007). *Colloid Stability. The Role of Surface Forces-Part 1*: Wiley VCH.
- Ursica, L., Tita, D., Palici, I., Tita, B. and Vlaia, V. (2005). Particle size analysis of some water/oil/water multiple emulsions. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 37, 931-936.
- Vladisavljevic, G. T., Williams, R. A. (2005). Recent developments in manufacturing emulsions and particulate products using membranes. *Advances Colloid Interface Science*, 113, 1-20.
- Walstra, P. (1996). *Emulsion stability*. In: *Encyclopedia of Emulsion Technology*. New York: Becher P. Ed., Marcel Dekker, Vol. 4, 1-62.
- Weiss J., Scherze I. and Muschiolik G. (2005). Polysaccharide gel with multiple emulsion. *Food hydrocolloids*, 19, 605-615.
- Weiss, J., Takhistov, P., McClements, D.J. (2006). Functional materials in food nanotechnology. *Food Science*, 71, 107-116.