

Formulación y estabilidad de emulsiones para encapsulación de biocompuestos

María Matos, Susana Luque y Gemma Gutiérrez

Resumen: La encapsulación de biocompuestos ha tenido un interés creciente en la industria alimentaria, con el fin de obtener alimentos funcionales enriquecidos (probióticos, vitaminas), así como en las industrias farmacéutica y cosmética, para la liberación controlada de fármacos, como son los antioxidantes. Se han desarrollado distintas técnicas de encapsulación lo que permite proteger el principio activo de su degradación, controlar su liberación con el tiempo y/o enmascarar el olor o sabor del compuesto encapsulado. En este trabajo se hace una revisión de encapsulación de principios activos utilizando distintos tipos de emulsiones. Las emulsiones han sido utilizadas satisfactoriamente para encapsular compuestos bioactivos, su preparación y caracterización y algunos ejemplos de sus principales aplicaciones se describen en el presente trabajo.

Palabras clave: Emulsiones, Encapsulación, Biocompuestos, Emulsiones dobles.

Abstract: The encapsulation of bioactive compounds is of growing interest in the food industry, in order to develop functional foods, particularly probiotics, vitamins, fatty acids, etc, as well as in the pharmaceutical and cosmetic industries, for the controlled delivery of drugs, such as antioxidants. Several encapsulation techniques have been developed that allow to protect the active principle from degradation, to control its release over time and / or to mask the odor or taste of the bioactive ingredient. In this work, a review of encapsulation using different types of emulsions is reported. Emulsions have been successfully used to encapsulate bioactive compounds, their preparation and characterization is described and some examples of their main applications are presented.

Keywords: Emulsions, Encapsulation, Biocompounds, Double emulsions.

INTRODUCCIÓN

La encapsulación de biocompuestos tales como probióticos, minerales, vitaminas, ácidos grasos, luteína y antioxidantes se ha realizado desde hace algún tiempo en la industria alimentaria con el fin de obtener alimentos funcionales. Del mismo modo, han tenido aplicaciones en las industrias farmacéutica y cosmética.

La técnica de encapsulación permite proteger el principio activo de su degradación (oxidación, hidrólisis), controlar su liberación en un cierto tiempo o en un punto determinado y enmascarar el olor o sabor del compuesto principal.

Una técnica de encapsulación muy empleada es mediante emulsificación. Una emulsión se define como un sistema heterogéneo, consistente en al menos un líquido, denominado *fase interna* o *discontinua*, disperso en forma de gotas en otro, conocido como *fase externa* o *continua*, inmisible con el primero.^[1]

Las emulsiones, aunque termodinámicamente inestables, pueden presentar cierta estabilidad en el tiempo, dependiendo de sus componentes. Para lograr la estabilidad de las gotas de fase dispersa en la fase continua, evitando su coalescencia, se utilizan agentes estabilizantes o emulsionantes, que se sitúan en la interfase entre la superficie de las gotas y la fase continua. La selección del estabilizante depende, tanto de la aplicación del producto en emulsión obtenido, como de la técnica seguida para su preparación. Los estabilizantes más frecuentes son los tensioactivos, aunque también hay emulsiones estabilizadas por sólidos o proteínas.



M. Matos



S. Luque



G. Gutiérrez

Departamento de Ingeniería Química y Tecnología del Medio Ambiente
Universidad de Oviedo
Julián Clavería, 8, 33006 Oviedo
C-e: matosmaria@uniovi.es

Recibido: 01/03/2020. Aceptado: 9/03/2020.

Las emulsiones se utilizan en industrias muy diversas, entre las que destacan la alimentaria, farmacéutica, cosmética y metalúrgica; en esta última principalmente como fluidos de mecanizado con características lubricantes y refrigerantes.

Los productos en emulsión son muy frecuentes y pueden utilizarse para encapsular compuestos con propiedades beneficiosas para la salud. Como ejemplos de compuestos susceptibles de encapsulación en emulsiones se encuentran: polifenoles,^[2,3,4,5] luteína^[6,7] o vitaminas.^[8,9] La encapsulación permite, que estos compuestos conserven mejor sus propiedades a lo largo del tiempo y que puedan ser liberados de forma controlada. Para encapsular un compuesto o principio activo, se requiere su disolución en la que será la fase interna, que posteriormente se dispersa en la fase externa. Dependiendo de la naturaleza del compuesto de interés se encapsulará en la fase acuosa (W) o aceitosa (O) en alguno de los diferentes tipos de emulsiones: [simples (O/W), dobles (W/O/W), múltiples (M-O/W), con partículas sólidas (SPL-O/W), proteínas, etc.].

En este trabajo se hace una revisión de los tipos de emulsiones que se han empleado para encapsular compuestos bioactivos, su preparación y caracterización y algunos ejemplos de sus aplicaciones en las industrias alimentaria, médica/farmacéutica y cosmética.

TIPOS DE EMULSIONES

Las emulsiones pueden clasificarse atendiendo a distintos parámetros como pueden ser la naturaleza del estabilizante y la estructura del sistema. En el presente trabajo se hará de acuerdo con: el tipo de estabilizante empleado y la disposición de las gotas y concentración de la fase interna.

Según el tipo de estabilizante empleado

Atendiendo a la naturaleza del agente que se sitúa en la interfase para estabilizar la emulsión se pueden distinguir tres grandes grupos.

1. Emulsiones estabilizadas con tensioactivos

Es el tipo más habitual. Los tensioactivos son compuestos de naturaleza anfífila, estando formados por una parte hidrófila y otra hidrófoba. Esta doble afinidad les permite situarse en la interfase, reduciendo así la tensión superficial y aumentando por tanto la estabilidad de la emulsión.

Debido a su doble afinidad la parte hidrófila es atraída hacia la fase acuosa, mientras que la parte lipófila es atraída hacia la fase aceitosa. En la Figura 1 se indica esquemáticamente la forma en la que se ubican y orientan las moléculas de tensioactivo en la interfase O/W. Este fenómeno, denominado *adsorción*, provoca la disminución

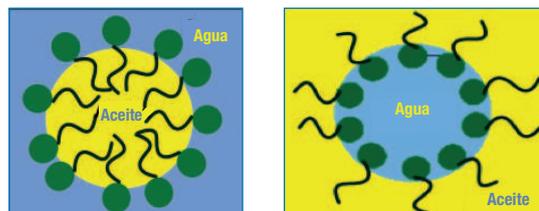


Figura 1. Orientación de las moléculas de tensioactivo en la superficie de una gota de aceite en una emulsión O/W y en una emulsión W/O

de la tensión interfacial entre el agua y el aceite, lo que aumenta la estabilidad de la emulsión.

Con el objetivo de facilitar el proceso de selección del tensioactivo, Griffin propuso en 1949 el balance hidrófilo-lipófilo (escala HLB) como una medida de la afinidad relativa del tensioactivo por las fases agua y aceite.^[10,11]

El HLB es un parámetro adimensional, comprendido entre 1 y 20, que permite prever el comportamiento que tendrá el tensioactivo y, por tanto, la emulsión resultante.

Para formular una emulsión del tipo O/W, se utiliza un tensioactivo que sea soluble en agua (hidrófilo), es decir de elevado valor HLB, mientras que para formular una emulsión agua en aceite (W/O) se usa un tensioactivo soluble en aceite (hidrófobo), es decir, de bajo valor HLB.

Como se puede apreciar, el valor HLB es un indicador de las características emulsionantes, pero no de la eficacia de un tensioactivo. La escala HLB clasifica a los tensioactivos según su estructura química, facilitando su comparación con la estructura química de lo que se desea emulsionar.

2. Emulsiones estabilizadas con partículas sólidas

Se denominan emulsiones Pickering y se caracterizan por estar estabilizadas con partículas mediante su adsorción en la interfase de las dos fases inmiscibles. Su nombre se debe a S. U. Pickering,^[12] quien describió el fenómeno en 1907, aunque el hecho fue documentado por primera vez por Walter Ramsden^[13] en 1903.

Tienen cada vez más interés por sus características y gran potencial tecnológico ya que muestran una gran estabilidad, aunque suelen ser emulsiones de mayor tamaño gota que las estabilizadas con tensioactivos. Esta estabilidad deriva de la mojabilidad parcial de las partículas en ambas fases, lo que produce su espontánea acumulación en la interfase.^[14]

Las emulsiones estabilizadas con partículas sólidas tienen alguna semejanza con las estabilizadas mediante tensioactivos aunque difieren en su comportamiento. Por ejemplo, los tensioactivos tienen una gran capacidad para formar micelas mientras que las partículas sólidas no poseen esta característica. Aún así, poseen una mayor estabilidad en relación con la coalescencia y la maduración de Ostwald.^[15] La razón de su mayor estabilidad se debe a que las partículas impiden la interacción interfacial por exclusión de volumen, es decir, las partículas crean una barrera física impidiendo el contacto entre gotas.

Finkle^[16] et al. describieron en 1923 por vez primera la correlación entre mojabilidad de partículas y su habilidad

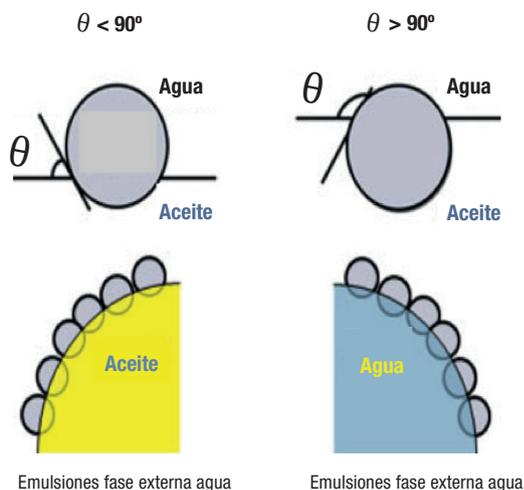


Figura 2. Ángulo de contacto de una partícula sólida en la interfase agua/aceite

para estabilizar emulsiones. Este hecho dio lugar a “La regla de Finkle” la cual enuncia que: “dependiendo del ángulo de contacto en la interfase aceite-partícula-agua, se favorecerá un sistema de gotas de aceite en agua, o un sistema de gotas de agua en aceite”. El ángulo de contacto equivaldría al HLB en los tensioactivos.^[15] En función del valor del ángulo de contacto ($^{\circ}$) en la interfase aceite-agua, Figura 2, serán apropiadas para la formación de emulsiones aceite-en-agua (O/W) (si $\theta < 90^{\circ}$) o agua-en-aceite (W/O) (si $\theta > 90^{\circ}$).

Esto implica que las emulsiones Pickering al igual que otros sistemas de emulsiones, pueden invertir su fase interna.^[17] Si el ángulo de contacto determinado en la fase acuosa es menor de 90° se trata de una emulsión O/W. Por el contrario, un ángulo mayor de 90° dará lugar a una emulsión W/O.^[18]

Con el fin de lograr un apropiado grado de recubrimiento de las gotas de fase dispersa, el tamaño de la partícula estabilizante debe ser considerablemente menor que el de la gota de fase dispersa. Como regla general se indica que es necesaria al menos una relación de 1:10.^[15] Sin embargo, hay que tener en cuenta lo soluble que se la partícula utilizada en la fase continua, ya que parte de dicha partícula puede encontrarse simplemente suspendida en la fase dispersa. Teniendo en cuenta este último factor otros autores indican que la relación entre las masas de fase dispersa y partículas determina el diámetro final de la gota de fase dispersa (D_d):^[19]

$$D_d = \frac{6M_{dispersa}}{P_{oil} a M_{particula}} \quad [1]$$

donde $M_{dispersa}$ y $M_{particula}$ son la relación entre las masas de fase dispersa y de partículas estabilizantes respectivamente, a es el área de fase dispersa cubierta.

Las partículas de sílice^[20] y de látex^[21] fueron las más utilizadas en un inicio debido a su parcial afinidad por ambas fases. Sin embargo su limitada aplicabilidad promovió la búsqueda de partículas sólidas alternativas de mayor biocompatibilidad como son las partículas de almidón,^[22,23] celulosa.^[24]

Aunque en la mayoría de casos las partículas sólidas utilizadas como estabilizante tiene forma cercana a la esfericidad hay estudios que indican que el uso de otras geometrías como cubos o filamentos pueden mejorar la estabilidad debido al mejor empaquetamiento en la interfase y el menor volumen de partícula sólida necesaria para cubrir toda el área creada en la interfase.^[24,25]

3. Emulsiones estabilizadas con proteínas

Son muy frecuentes en la industria alimentaria, ya que alimentos de consumo habitual, como leche, mayonesa, salsas para ensalada, etc., son emulsiones.

Las proteínas son un componente más de estos alimentos, que les confiere la estabilidad necesaria. Las proteínas forman una barrera protectora alrededor de las gotas de fase dispersa, lo que impide su coalescencia. El tipo de emulsión que se formará (O/W o W/O) vendrá determinado por el grado de afinidad de la proteína en ambas fases, favoreciendo que el medio donde la proteína sea más soluble actúe como fase externa.

Se pueden encontrar dos tipos principales de proteínas como estabilizantes, aquellas que se encuentran hidrolizadas formando una partícula sólida, y por tanto su comportamiento es similar al de las partículas responsables de la formulación de emulsiones Pickering.^[26]

Con frecuencia las proteínas se utilizan como coestabilizantes pudiendo ofrecer así un mayor grado de estabilidad a las emulsiones formuladas con otros estabilizantes como pueden ser tensioactivos o partículas, ya que pueden cubrir áreas parcialmente descubiertas por el empaquetamiento de partículas o enlazarse entre las cadenas hidrocarbonadas de los tensioactivos ofreciendo una mayor grado de estabilidad estérica.^[27]

La Figura 3 muestra esquemáticamente una emulsión estabilizada con proteínas y otros dos en las que las proteínas actúan de coestabilizantes.

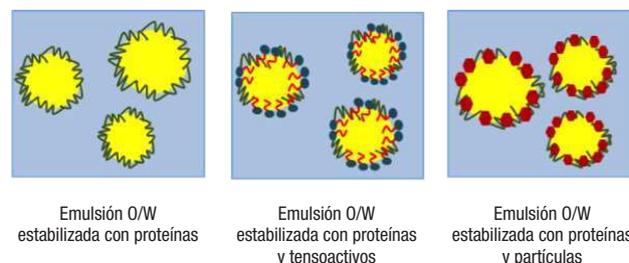


Figura 3. Emulsiones estabilizadas y coestabilizadas con proteínas

Según la disposición de gotas

Según la disposición de las gotas de fase interna se pueden considerar dos grandes tipos de emulsiones.

1. Emulsiones simples

Las más habituales son de aceite en agua (O/W). También es habitual encontrar emulsiones agua en aceite (W/O). Ambos tipos se representan en la Figura 4.

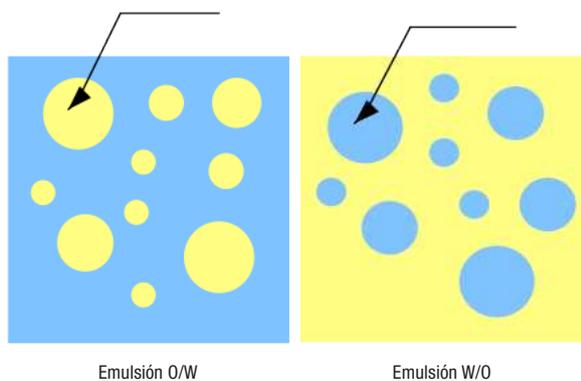


Figura 4. Representación esquemática de las emulsiones simples

2. Emulsiones dobles

Las emulsiones dobles tienen la particularidad de que la fase interna es a su vez una emulsión.^[28] Las formulaciones más habituales son agua en aceite en agua ($W_1/O/W_2$) o aceite en agua en aceite ($O_1/W/O_2$). En la Figura 5 se indica una representación esquemática de ambos tipos.

Puesto que estas emulsiones consisten en gotas dispersas en una fase continua, son necesarios dos tipos de tensioactivo que se sitúen en cada una de las interfaces para estabilizar el sistema, uno predominantemente hidrófilo y otro predominantemente hidrófobo.^[29,30]

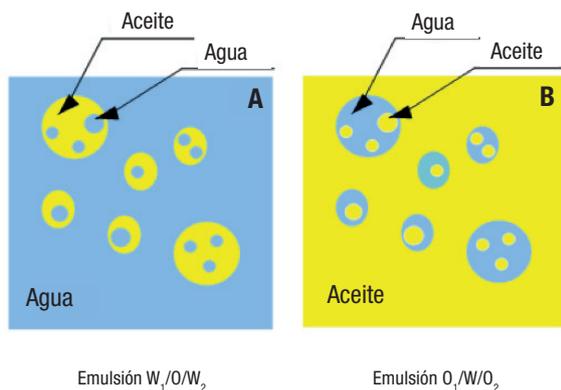


Figura 5. Representación esquemática de las emulsiones dobles

Uno de los factores más importantes para la estabilidad de la emulsión doble es la estabilidad de la emulsión simple que actúa como fase dispersa. Esta estabilidad depende a su vez del tamaño de gota y de la afinidad del agente estabilizante por las dos fases.^[31,32] A su vez, la proporción de fase interna-fase externa de la emulsión simple afecta a la estabilidad de la emulsión doble, trabajándose por estos motivos con un 20-30% de fase dispersa en volumen.^[33,34,35,36,37] Un aumento de la cantidad de fase dispersa en la emulsión simple puede causar la coalescencia de gotas y su posterior migración a la fase externa, aunque también aumenta la cantidad de principio activo que se puede encapsular. Por este motivo en el presente trabajo se aumentará esta proporción hasta el 40%.

Según el tamaño de las gotas

Según el tamaño de las gotas que constituyen la fase interna se pueden distinguir tres grandes grupos de emulsiones.

1. Macroemulsiones

Son sistemas coloidales que contiene gotas dispersas, normalmente de tamaño comprendido entre 1 y 100 μm (en algunos casos especiales se puede ampliar al intervalo 0.5-500 μm).

2. Nanoemulsiones

Son sistemas translúcidos que contienen gotas muy pequeñas de fase dispersa en una fase continua y cuya formulación corresponde a un sistema polifásico. Estos sistemas, con gotas del orden de 10 nm, están estabilizados por el término entrópico de la energía libre, pero se deben considerar como emulsiones.

3. Microemulsiones

A pesar de su denominación, es incorrecto considerarlas un tipo de emulsión, ya que sus propiedades son totalmente distintas. Así, por ejemplo, mientras las macroemulsiones son termodinámicamente inestables, las microemulsiones son estables. Se caracterizan por un tamaño de gota de menos de 0.1 μm , y tienen un aspecto translúcido. La composición de las mismas es agua, aceite y tensioactivo (estabilizante) como en las macroemulsiones, aunque en este caso la cantidad necesaria de estabilizante es mucho mayor^[37,38] (alrededor del 20%). Las microemulsiones pueden visualizarse como sistemas complejos de elevada área interfacial entre microestructuras de agua y aceite. Es justamente la elevada área interfacial lo que hace que el tensioactivo pueda disponer de un medio adecuado para satisfacer su doble afinidad y dar lugar a un sistema con energía libre inferior a la de las fases por separado.

En función de la concentración de fase interna

Pueden ser de tres tipos.

1. Emulsiones concentradas.

Son un tipo especial de emulsión con la particularidad de que al menos un 74% del volumen total debe estar ocupado por la fase interna. Este 74% es el denominado volumen crítico de Ostwald y estima que la emulsión estaría formada por gotas totalmente empaquetadas a partir de esta concentración.^[39] A partir de esta concentración, además, las gotas pierden su esfericidad debido al empaquetamiento, como se muestra en la Figura 6.

Este tipo de emulsión es ampliamente utilizado en la industria cosmética en forma para la elaboración de cremas o geles.

La preparación de emulsiones concentradas requiere una especial atención en la selección tanto de los estabilizantes como del mecanismo de preparación, ya que son emulsiones susceptibles a sufrir inversión de fases (transformarse del tipo O/W a W/O o viceversa) con facilidad.

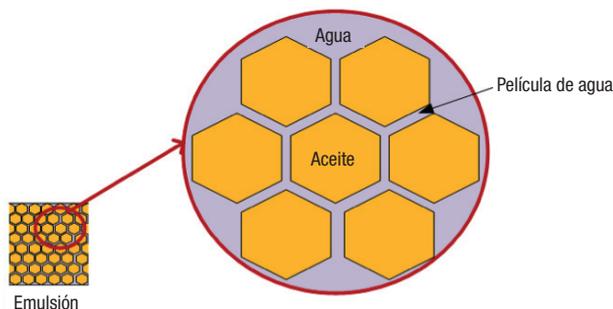


Figura 6. Representación esquemática de una emulsión concentrada

2. Emulsiones diluidas y semiconcentradas

Se consideran emulsiones diluidas aquella cuyo contenido en fase dispersa está por debajo del 20% del volumen.

La preparación de emulsiones diluidas no presentan las dificultades que presenta las emulsiones concentradas, ya que el contenido en fase dispersa es menor que de fase externa.

Las emulsiones semiconcentradas son las que presentan entre el 20 y el 74% del volumen de fase interna. La preparación de las mismas no es tan compleja como en el caso de las concentradas ya que no se supera el número crítico de Ostwald, aunque sí requiere cierta atención sobre la posible inversión de la emulsión, especialmente en los casos que se supera el 50% del volumen.

MÉTODOS DE PREPARACIÓN

Hay diversos métodos de preparación de emulsiones. Los métodos convencionales son la agitación mecánica o la homogeneización alta presión, aunque también se pueden preparar mediante el uso de molinos coloidales o mediante técnicas más novedosas que permiten controlar el tamaño de gota como es la emulsificación con membranas o el uso de microcanales de flujo focalizado.^[40,41,42,43] Los métodos de preparación de emulsiones más habituales se explican a continuación:

Homogenizadores de alta presión

Se emplean para producir emulsiones a partir de dispersiones de gotas grandes, de forma que no solo se disminuye su tamaño, sino que se alcanza una elevada uniformidad y una mayor estabilidad.^[44] La dispersión se comprime al pasar por una sección de área reducida. El paso por el estrechamiento provoca un aumento de la velocidad del fluido y un elevado esfuerzo de cizalla, que permite disminuir el tamaño de gota de la fase dispersa.

Es importante señalar que en los homogeneizadores el grado de disipación de energía es muy elevado lo que hace que la preparación de emulsiones mediante este tipo de dispositivos conlleve un importante consumo energético que repercute en los costes.

Los homogeneizadores se utilizan para preparar emulsiones con una viscosidad no muy elevada y para emulsiones técnicas en la industria alimentaria, láctea y fitosanitaria.

Ultrasonidos

Es un método más sofisticado para la preparación de emulsiones. Los ultrasonidos son ondas cuya frecuencia se encuentra por encima del umbral de audición (15-20 kHz) y, por tanto, no son perceptibles por el oído humano. En los equipos de emulsificación por ultrasonidos, se emplean frecuencias comprendidas entre 40 y 100 kHz.

En estos dispositivos se pone en contacto una dispersión de gotas gruesas con un material que presente comportamiento piezoeléctrico o de magnetostricción, es decir, que experimente una deformación, como consecuencia de la aplicación de un campo eléctrico (efecto piezoeléctrico) o magnético (magnetostricción). La emulsificación por ultrasonidos mediante efecto piezoeléctrico está más extendida, ya que la basada en magnetostricción es menos ventajosa desde el punto de vista técnico y económico.

Al igual que los homogeneizadores los dispositivos de emulsificación por ultrasonidos permiten reducir el tamaño de las gotas de las dispersiones gruesas. Esto se consigue inyectando la dispersión a través de una boquilla, para posteriormente entrar en contacto con el cristal en resonancia, que genera ondas ultrasónicas que provocan una inestabilidad en las gotas. Esta inestabilidad depende de la amplitud de la onda y hace que se formen gotas de diámetro igual a una fracción de la longitud de onda.

Agitación mecánica

La agitación mecánica es el método más simple para preparar emulsiones. Generalmente se realiza en un recipiente, en donde se hace girar un rodete conectado a un motor. La forma de dicho rodete da lugar a un determinado patrón de flujo del líquido en el interior del recipiente, que en la industria se suele aprovechar para mezclar líquidos miscibles o poner en suspensión sólidos en un líquido.

Sin embargo, cuando dos líquidos son inmiscibles y de diferente densidad, ambos se encuentran separados por una interfase. Esta interfase se ve sometida a cierta inestabilidad, provocada por las corrientes que se generan al poner el motor en marcha y empezar a girar el rodete. La dispersión de un líquido en otro se produce de manera gradual. En primer lugar, se forman perturbaciones cilíndricas de la fase dispersa, que penetran en la capa de fase continua y que con el tiempo crecen hasta formar hilos finos, lo que provoca que los glóbulos se dividan en gotas pequeñas.

Debido a esta serie de fenómenos, se genera una dispersión cuyas características dependerán de la naturaleza de ambos líquidos y de las condiciones hidrodinámicas.

La fuerza centrífuga provocada por el agitador genera gradientes de velocidad entre los dos líquidos debido a su diferencia de densidades. El esfuerzo de cizalla y la transferencia de cantidad de movimiento permiten compensar las diferencias de velocidad entre las gotas y la fase continua, que son mayores en la zona del agitador y, en particular, tras el choque del líquido con las paredes del recipiente.

En cualquier caso, este esfuerzo de cizalla generado por los gradientes de velocidad hace que las gotas se deformen y, debido al efecto de la tensión interfacial que obliga a la gota a adoptar una forma más compacta, se produce su ruptura. Por tanto, dentro del recipiente las regiones en las que tiene lugar la mayor ruptura de las gotas son la zona del agitador y las paredes. No obstante, la agitación puede provocar también la agregación de las gotas en flujo turbulento debido a la colisión de las mismas. Por lo tanto, como consecuencia de estos efectos contrapuestos, se termina llegando a un estado estacionario caracterizado por un determinado tamaño de gota.^[43] El procedimiento es muy sencillo. En primer lugar, se

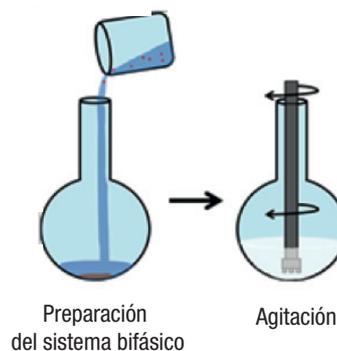


Figura 7. Preparación de una emulsión por agitación mecánica

preparan las distintas fases por separado. En la fase interna se disuelve el compuesto a encapsular y en la fase externa se disuelve el agente estabilizante. A continuación, se ponen en contacto ambas fases, aunque éstas quedan separadas debido a su diferente densidad, ya que se trata de líquidos inmiscibles.

Una vez se tiene este sistema bifásico, se realiza el aporte de energía mediante agitación mecánica, lo que provoca la dispersión de las gotas de fase dispersa y la formación de la emulsión, véase la Figura 7.

Esta técnica también se puede utilizar para preparar emulsiones dobles siguiendo un procedimiento análogo. Así, se prepara una emulsión simple en la forma indicada anteriormente, con la diferencia de que esta emulsión no es el producto final, sino uno intermedio. Una vez obtenida, se repite el proceso de agitación mecánica, siendo ahora la emulsión simple la nueva fase interna que se dispersa en la nueva fase continua.

Por ejemplo, si se desea preparar una emulsión doble tipo $W_1/O/W_2$, se disuelve el principio activo en la primera fase acuosa W_1 y un tensioactivo o estabilizante con carácter predominantemente lipófilo en la fase aceitosa O . Se juntan ambas fases y se someten a un primer proceso de agitación, lo que da lugar a una emulsión inversa. A continuación, se disuelve en una nueva fase acuosa W_2 un tensioactivo, cuyo carácter sea predominantemente hidrófilo, y se junta esta disolución con la emulsión previamente preparada. Se somete el conjunto a un segundo proceso de agitación, de forma que se obtiene una emulsión doble $W_1/O/W_2$.

Con el fin de que la fase dispersa en forma de gotas sea la deseada, el estabilizante tiene que estar disuelto en la fase que ha de ser la fase continua. Además, la elección del agente estabilizante es un aspecto clave.

Aunque con esta técnica de preparación se puede llegar al tamaño medio de gota deseado, la distribución suele ser ancha, lo que reduce la calidad de las emulsiones obtenidas de esta forma, especialmente para ciertas aplicaciones farmacéuticas y cosméticas, en las que se requiere la liberación controlada y en lugares específicos de los principios activos.

Emulsificación con membranas

Mediante los métodos convencionales de preparación de emulsiones se obtienen emulsiones con una distribución de tamaños de gota amplia (polidispersa). Sin embargo, para algunas aplicaciones resulta fundamental que la emulsión obtenida presente una distribución de tamaños de gota lo más estrecha posible. Esta cualidad de la emulsión, denominada monodispersidad, es crítica para la fabricación de ciertos fármacos en los que el tamaño de gota determina la llegada de los principios activos a los órganos diana. Por otro lado, algunos de los compuestos presentes en la formulación de estas emulsiones son sensibles al esfuerzo de cizallamiento y pueden perder ciertas propiedades o incluso degradarse, si se emplean métodos convencionales de emulsificación, por lo que se hace necesario encontrar un método alternativo que permita obtener este tipo de emulsiones sin deteriorar sus componentes.

Una técnica muy prometedora para la obtención de emulsiones monodispersas es el uso de membranas como sistemas de contacto entre las fases. Los fundamentos de esta técnica, que recibe el nombre de emulsificación con membranas, se muestran en el esquema de la Figura 8.

Como se observa en la Figura 8, el método consiste en impulsar la fase dispersa a presión a través de los poros de una membrana, de manera que penetre en la fase continua. A la salida de los poros, las gotas van creciendo hasta desprenderse, gracias a la aplicación de un pequeño esfuerzo de cizalla en la pared, el cual puede generarse de diversas maneras. El desprendimiento depende de las fuerzas de rozamiento entre la gota y la fase continua, de la flotabilidad de la gota, de la tensión superficial y de la presión.

Aunque la emulsificación con membranas es una técnica poco extendida a escala industrial, se prevé que pueda experimentar un importante desarrollo, gracias al auge de la nanotecnología y al desarrollo de diversas aplicaciones específicas.

En función de las etapas en que tenga lugar el proceso, se pueden considerar dos tipos de emulsificación con membranas.

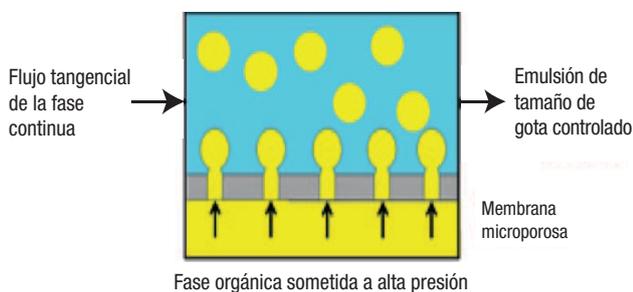


Figura 8. Esquema del proceso de emulsificación con membranas

1. Emulsificación directa

La emulsión se prepara en una sola etapa, mediante la inyección a presión de la fase dispersa, de forma que atraviese los poros de la membrana y llegue a la fase externa o continua. Como tiene lugar en una sola etapa, es necesario controlar todos los parámetros de operación (agitación, presión transmembrana, etc.) para conseguir la emulsión de las características deseadas.

2. Emulsificación con premezcla

Consta de dos etapas, en la primera se prepara una emulsión utilizando métodos convencionales (agitación, molinos coloidales, etc.), y en la segunda se afina haciéndola pasar a través de los poros de la membrana, Figura 9. En la emulsificación premezcla, el control de los parámetros de operación no es tan crítico como en la emulsificación directa, por lo que resulta más estable y fácilmente controlable. No obstante, presenta la desventaja de la pérdida de propiedades o incluso degradación de algunos compuestos orgánicos, como consecuencia del esfuerzo cortante al que se ven sometidos durante la preparación de la emulsión primaria por métodos convencionales (Figura 9).

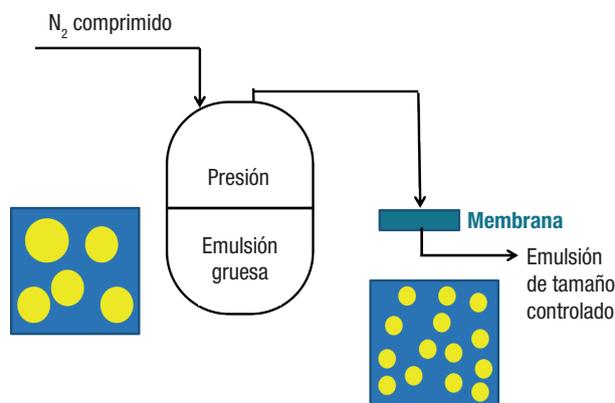


Figura 9. Esquema de emulsificación premezcla

Microcanales de flujo focalizado

Este tipo de microcanales permiten un elevado control sobre el tamaño de gota resultante. La fase dispersa es inyectada por la parte central mientras que la continua se inyecta por los laterales. La adición de más canales laterales permite la preparación de emulsiones múltiples, ya que a medida que se va avanzando en el canal se van inyectando lo que serán las fases continuas de las emulsiones finales.

El tamaño de gota vendrá altamente ligado por el caudal de cada una de las corrientes así como las propiedades interfaciales del sistema seleccionado.^[45]

La Figura 10 muestra una representación gráfica de estos dispositivos.

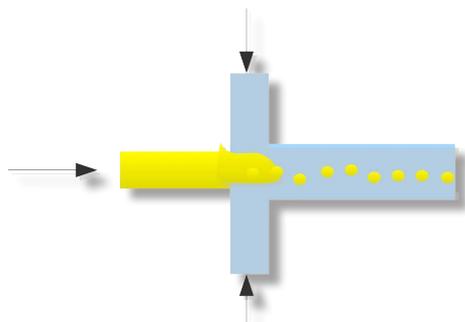


Figura 10. Esquema de microcanales de flujo focalizado

CARACTERIZACIÓN DE EMULSIONES

Distribución de tamaños de gota

Las distribuciones de tamaño de gota de las emulsiones se obtienen con equipos basados en la difracción de radiación láser.

Morfología

Para observar las emulsiones a nivel microscópico y comprobar si su estructura se corresponde con una emulsión simple (Figura 11A) o doble, Figura 11B, o visualizar el recubrimiento de la superficie en el caso de emulsiones estabilizadas con sólidos, Figura 11C, se recurre a

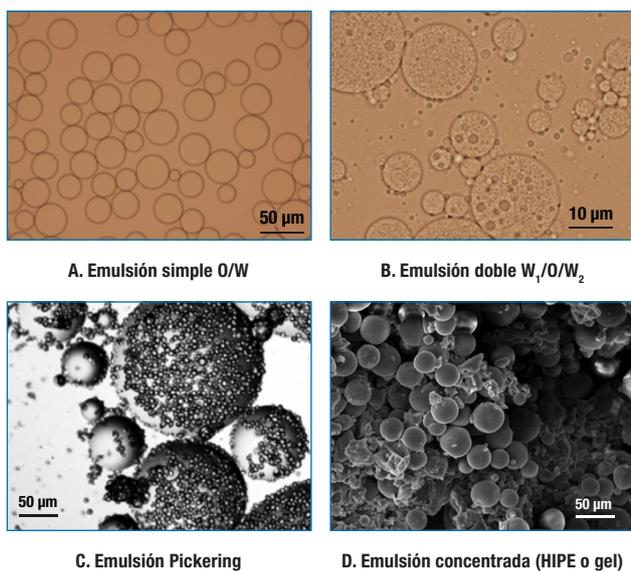


Figura 11. Micrografías obtenidas con el microscopio óptico: A. Emulsión simple estabilizada con tensioactivos del tipo O/W; B. Emulsión doble⁶ estabilizada con tensioactivos del tipo W₁/O/W₂; C. Emulsión simple Pickering^[17] del tipo O/W, y con el microscopio electrónico de barrido (SEM): D. Emulsión concentrada³ del tipo O/W

los microscopios ópticos. Si se quiere observar el grado de empaquetamiento (como por ejemplo en el caso de formulación de geles, Figura 11D, se puede recurrir al microscopio electrónicos (SEM).

Estabilidad

A diferencia de las fases acuosa y aceitosa separadas, las emulsiones necesitan la formación de una gran área interfacial entre las dos fases inmiscibles. El trabajo necesario para generar una unidad de área de una nueva interfase se calcula de la siguiente manera:

$$W - \gamma_i \Delta A \quad [2]$$

donde, γ_i es la tensión interfacial entre las dos fases y ΔA es el incremento de área interfacial.

Una emulsión al ser un sistema termodinámicamente inestable, con el tiempo acabara separándose en dos fases. Por lo general, se trata de obtener emulsiones estables con el tiempo cuyas propiedades no se vean alteradas, aunque en algunas situaciones, una relativa inestabilidad puede resultar beneficiosa.

No existe ningún método que permita obtener una estimación de la estabilidad de una emulsión. La única medida realmente absoluta de la estabilidad de una emulsión es la variación del número de gotas en función del tiempo. La distribución del tamaño de gotas tiene una gran importancia no solo en la estabilidad, sino también en otras propiedades importantes de las emulsiones.

En general, se puede relacionar la estabilidad de una emulsión con el volumen de las fases separadas. Con el paso del tiempo el sistema acaba por separarse en tres zonas fácilmente identificables:

- Una zona central que contiene la emulsión con elevada concentración de la fase interna.
- Una zona interna o coalescida.
- Una zona externa o clarificada.

Para lograr la estabilidad de la emulsión es necesario mantener la dispersión de las gotas de la fase interna en la fase continua evitando la ruptura de la emulsión, es decir, la flotación, floculación, coalescencia y maduración de Ostwald u *Ostwald ripening*.

Potencial zeta

La presencia de iones que rodean las gotas de aceite, dotándolas de una cierta carga, provoca la repulsión entre ellas. Esta repulsión se debe a una discontinuidad dieléctrica entre la interfase y las cargas superficiales de las gotas de la fase dispersa. La diferencia de potencial existente entre ambas fases provoca que los iones de signo opuesto a la carga superficial (denominados contraiones) resulten atraídos formando la capa fija. Desde

esta capa fija hacia la superficie se forma la capa difusa, formada por los contra-iones y por iones del mismo signo que la capa superficial. Estas dos capas adyacentes a la superficie de la gota forman la doble capa eléctrica. El potencial eléctrico de la superficie de la gota se denomina potencial de superficie (ψ_0). El potencial eléctrico medido entre la capa de fluido estacionaria que envuelve a la gota y la fase acuosa puede determinarse midiendo la movilidad de la partícula en un campo eléctrico aplicado y se denomina potencial zeta o electrocinético (ζ).

Eficacia de Encapsulación (EE) y Estabilidad (ES)

La eficacia de encapsulación (EE) de una emulsión se calcula mediante determinación de la concentración del compuesto de interés presente en la fase externa (concentración recuperada) y la concentración esperada en esa fase si todo el compuesto se hubiese liberado. Se calcula normalmente con la siguiente ecuación:

$$EE (\%) = 100 - \frac{\text{concentración recuperada}}{\text{concentración esperada}} \times 100 \quad [3]$$

Mediante la medida de la ES se puede conocer la liberación de un compuesto con el tiempo aplicando la siguiente ecuación:

$$ES (\%) = 100 - \frac{\text{concentración recuperada}}{\text{concentración esperada}} \times 100 \quad [4]$$

Para dicha determinación es necesario realizar una separación de la fase externa de una manera eficaz. Dependiendo de la concentración de la fase interna y del tamaño de las gotas dicha separación puede realizarse con una simple decantación o necesitar alguno mecanismo que favorezca la migración de las gotas (típicamente de aceite) a la parte superior. El método más comúnmente utilizado es la centrifugación. Dicha centrifugación se realiza en unas condiciones que aseguren que la ruptura de la emulsión no tendrá lugar y únicamente se favorece la migración de las gotas, por lo que se realiza a bajas velocidades.^[6,7,9]

Algunos autores contemplan la posibilidad que el método seleccionado provoque la pérdida parcial de compuesto encapsulado se determina un factor corrector (R_y). Para el cálculo de R_y se analiza una emulsión en donde el compuesto a encapsular en adicionado tras preparar la emulsión en la fase externa, simulando así una emulsión cuyo valor de EE sin corregir sería del 0%.

Para el cálculo de la EE corregida se utiliza la siguiente ecuación.

$$EE (\%) = 100 - \frac{\text{concentración recuperada}}{R_y \text{ concentración esperada}} \times 100 \quad [5]$$

Reología

La reología es de suma importancia con vistas a las aplicaciones industriales de la emulsión formulada (ya sea una emulsión concentrada de uso como crema comercial o una nanoemulsión doble utilizada como vacuna para inyección de fármacos con fines veterinarios) ya que debe conocerse el comportamiento del sistema frente a diferentes situaciones (bombeo, agitación, efecto de la temperatura de cara al almacenamiento o transporte, etc.).

Las emulsiones son sistemas cuyo comportamiento reológico es mucho más complejo que el de un líquido puro. La viscosidad de una emulsión diluida, es decir, con exceso de fase continua, es virtualmente la viscosidad de dicha fase y muy frecuentemente estas emulsiones presentan comportamiento newtoniano. Al aumentar la proporción de fase interna aumenta la viscosidad de la emulsión hasta un punto en que la emulsión deja de ser líquida. Cuando el volumen de la fase interna sobrepasa el de la externa, se aglomeran las gotas de la emulsión y la viscosidad aparente es parcialmente viscosidad estructural.

Uno de los factores más influyentes es el tamaño de las gotas de fase interna. Si se aplican métodos para obtener emulsiones de una determinada concentración que proporcionen un tamaño de gota inferior, se podrá observar cómo la viscosidad de la emulsión es superior, y viceversa.^[3,6]

APLICACIONES

Las emulsiones dobles compiten con las emulsiones simples como sistemas de encapsulación de compuestos activos. La selección de un tipo u otro dependerá de la aplicación concreta, una vez evaluadas las ventajas e inconvenientes de ambas.

Debido a su estructura, las emulsiones dobles pueden ser vistas como sistemas susceptibles de controlar el transporte de moléculas desde la fase interna a la externa o viceversa. Este hecho multiplica sus aplicaciones en las industrias alimentaria, farmacéutica y cosmética.^[46,47,48,49]

En la industria farmacéutica se emplean para encapsular principios activos sensibles que se deban proteger para evitar una pérdida prematura de actividad. Normalmente, se preparan fármacos para ser suministrados por vía oral o tópica, que aseguren una liberación controlada del principio activo y un efecto prolongado de sus propiedades terapéuticas.^[19]

También se han publicado trabajos en los que estas emulsiones se aplican a la encapsulación de biocompuestos como, por ejemplo, el resveratrol,^[2,3] para distintas aplicaciones (cosmética, alimentaria).

A continuación, se muestra en la Tabla 1 en la cual se recoge un resumen de diferentes tipos de emulsiones

formuladas para encapsular compuestos de interés de diferente aplicación (médica, alimentaria, cosmética o farmacéutica).

Tabla 1. Ejemplos de distintos tipos de emulsiones formuladas para encapsulación de biocompuestos con diferentes fines

Tipo de emulsión	Aplicación	Compuesto encapsulado	Ref.
O/W	Alimentaria	Luteína	6, 50
O/W*	Alimentaria	trans-resveratrol	51
O/W*	Alimentaria	Licopeno	52
O/W*	Médica, alimentaria y cosmética	Curcumina	53, 54
O/W	Médica	α -tocoferol	55, 56
O/W	Alimentaria	β -sitosterol y γ -orizanol	57
O/W	Alimentaria	Caroteno	58
O/W*	Alimentaria	Lactosa	59
O/W*	Alimentaria	Vitamina D	60
W/O/W	Médica	Insulina	61
W/O/W	Alimentaria	Croxina	62
W/O/W	Alimentaria	Zumo de remolacha	63, 64
W/O/W	Médica	Azocaseína	66
W/O/W	Médicas y alimentarias	Apigenina	66
W/O/W	Alimentaria	Semilla de uva	47
W/O/W	Alimentaria y cosmética	trans-resveratrol	2, 3, 9
W/O/W	Alimentaria y cosmética	Vitamina B ₁₂	67, 68
W/O/W	Alimentaria y cosmética	Azafrán	69
W/O/W	Alimentaria	Procianidinas	70
W/O/W	Médica	Aspirina	71
W/O/W	Alimentaria	Prebióticos	72
W/O/W	Alimentaria	Hierro	73
W/O/W	Alimentaria	Magnesio	74
W/O/W	Alimentaria	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	75
W/O/W*	Alimentaria	Colorante alimentario	76

*Emulsiones tipo Pickering.

Por otro lado existen diversas aplicaciones en las que la emulsión no es el producto final sino que actúa como producto intermedio. En estos casos las gotas de emulsión actúan de reactores donde se produce la precipitación o reacción necesaria para la formación de la partícula final, en este campo podemos encontrar la síntesis de partículas metálicas, de cápsulas poliméricas o de vesículas.

Otras aplicaciones conciernen el uso de nanoemulsiones como transportadores de oxígeno. Estas nanoemulsiones pueden penetrar con facilidad en las células transportando y liberando el oxígeno encapsulado de una manera controlada.^[76]

Tendencias futuras

Las últimas investigaciones tienden a la formulación de emulsiones con compuestos cada vez más naturales. En este sentido las emulsiones Pickering estabilizadas con partículas de almidón o las emulsiones estabilizadas con proteínas tienen un gran potencial de especial interés en la industria alimentaria.

A pesar de los grandes avances en los últimos años en el desarrollo de este tipo de sistemas mediante la selección apropiada de la formulación y el método de preparación, los avances respecto a la respuesta de estos sistemas frente a diferentes estímulos como temperatura, pH, campo magnético, etc., es escaso y es necesaria para poder desarrollar productos que operen como vehículo transportadores de las moléculas de interés.

AGRADECIMIENTOS

Al profesor José Coca por la revisión de este artículo y sus sugerencias.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] P. Becher, *Emulsions: Theory and Practice*, 2.^a ed., Reinhold Publishing Corp., ACS Monograph Series, núm. 162, Nueva York, 1965.
- [2] Y. Hemar, L. J. Cheng, C. M. Oliver, L. Sanguansri, M. Augustin, *Food Biophysics*, **2010**, *5*, 120-127.
- [3] M. Matos, G. Gutiérrez, J. Coca, J. C. Pazos, *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects*, **2014**, *442*, 69-79.
- [4] V. Juškaitė, K. Ramanauskienė, V. Briedis, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, Article ID 540916, 2015, 10 págs.
- [5] W. Lu., A. L. Kelly, S. Miao, *Trends in Food Science & Technology*, **2016**, *47*, 1-9.
- [6] G. Gutiérrez, M. Matos, J. M. Benito, J. Coca, C. Pazos, *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects.*, **2014**, *442*, 69-79.
- [7] M. Matos, G. Gutiérrez, O. Iglesias, J. Coca, C. Pazos, *Food Hydrocolloids*, **2015**, *49*, 156-163.

- [8] Y. Yang, D. J. McClements, *Food Hydrocolloids*, **2013**, *30*, 712-720.
- [9] M. Matos, G. Gutiérrez, O. Iglesias, J. Coca, C. Pazos, *Journal of Food Engineering*, **2015**, *166*, 212-220.
- [10] W. C. Griffin, *Journal of the Society of Cosmetic Chemists*, **1949**, *1*, 311-326.
- [11] W. C. Griffin, *Journal of the Society of Cosmetic Chemists*, **1954**, *5*, 249-256.
- [12] W. Ramsden, *Proc. R. Soc. Lond.*, **1903**, *72*, 156-164.
- [13] S. U. Pickering, *J. Chem. Soc., Trans.*, **1907**, *91*, 2001-2021.
- [14] M. Rayner *et al.* *J Sci Food Agric*. **2012**, *92*, 1841-1847.
- [15] B. P. Binks, *Curr. Opinion in Colloid & Interf. Sci.*, **2002**, *7*, 21-41.
- [16] P. Finkle, H. D. Draper, J. H. Hildebrand, *Journal of the American Chemical Society*, **1923**, *45*, 2780-2788.
- [17] M. Rayner, D. Marku, M. Eriksson, M. Sjöö, *Colloids and Surfaces A: Physicochem. and Eng. Aspects*, **2014**, *458*, 48-62.
- [18] R. Miller, V. B. Fainerman, V. I. Kovalchuk, D. O. Grigoriev, M. E. Leser, M. Michel, *Advances in Colloid and Interface Science*, **2006**, *128-130*, 17-26.
- [19] S. Arditty, V. Schmitt, V. J. Giermanska-Kahn, F. Leal-Calderon, *J. Colloid Interface Sci.*, **2004**, *275*, 659-64.
- [20] Y. Bao, Y. Zhang, P. Liu, J. Ma, D. Simion, *Journal of Colloid and Interface Science*, **2019**, *5531*, 83-90.
- [21] J. Jeng, T.-Y. Chen, C.-F. Lee, N.-Y. Liang, W. Y. Chiu, *Polymer* **2008**, *49*, 3265-3271.
- [22] M. Matos, A. Marefati, G. Gutiérrez, M. Wahlgren, M. Rayner, *Plosone*, **2016**, *0160140*.
- [23] M. Matos, G. Gutiérrez, O. Iglesias, C. Pazos, J. Coca, *Food Hydrocolloids*, **2015**, *49*, 156-163.
- [24] M. Matos, A. Marefati, R. Bordes, G. Gutiérrez, M. Rayner, *Carbohydrate Polymers*, **2017**, *169*, 127-138.
- [25] J. W. J. de Folter, E. M. Hutter, E. M. Castillo, K. E. Klop, A. P. Philipse, W. K. Kegel, *Langmuir*, **2013**, *30*, 955-64.
- [26] C.-H. Tang, *Food Hydrocolloids*, **2020**, *103*, 105664.
- [27] E. Dickinson, *Food hydrocolloids*, **2019**, *96*, 209-223.
- [28] A. Aserin (ed.), *Multiple Emulsions: Technology and Applications*. John Wiley & Sons, Hoboken, Nueva Jersey, EE. UU., 2008.
- [29] R. Kumar, M. S. Kumar, N. Mahadevan, *International Journal of Recent Advances in Pharmaceutical Research*, **2012**, *2*, 9-19.
- [30] M. Iqbal, N. Zafar, H. Fessi, A. Elaissari, *International Journal of Pharmaceutics*, **2015**, *496*, 173-190.
- [31] N. Garti, A. Aserin, *Advances in Colloid and Interface Science*, **1996**, *65*, 37-69.
- [32] J. Silvestre de los Reyes, C. Charcosset, *Fuel*, **2010**, *89*, 3484-3488.
- [33] N. F. Krog, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **1977**, *54*, 124-131.
- [34] N. Garti, *Colloids & Surfaces A: Physicochem. & Eng. Asp.*, **1997**, *123/124*, 233-246.
- [35] H. Okochi, M. Nakano, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **1997**, *45*, 1323-1326.
- [36] T. Schmidts, D. Dobler, A. C. Guldan, N. Paulus, F. Runkel, *Colloids & Surfaces A: Physicochem. & Eng. Asp.*, **2010**, *372*, 48-54.
- [37] K. Holmberg, B. Jönsson, B. Kronberg, B. Lindman, *Surfactants and Polymers in Aqueous Solutions*. John Wiley & Sons, Inc., Chichester, England, 2003.
- [38] A. K. Rakshit, S. P. Moulik, *Physicochemistry of W/O microemulsions: Formation, stability, and drop clustering*. En *Microemulsions Properties and Applications*, M. Fanun (ed.), Taylor & Francis Group, Boca Raton, EE. UU., 2009, 17-58.
- [39] K. J. Lissant, *Journal of Colloid & Inter. Sci.*, **1966**, *22*, 462-468.
- [40] E. De Hoog, *Prepared Foods*, *180*(6), 99-105.
- [41] S. M. Joscelyne, G. Trägårdh, *J. Memb. Sci.*, **2011**, *169*, 107-117.
- [42] M. Rayner, G. Trägårdh, *Desalination*, **2002**, *145*, 165-172.
- [43] Z. Starbacek, P. Tausk, *Pergamon Press*, **1965**, Oxford, UK.
- [44] S. M. Jafari, *Encapsulation of nanoemulsions by spray drying*, Lambert Academic Publishing, Iran, 2009.
- [45] C. Yu, L. Wu, L. Li, M. Liu, *Experimental Thermal and Fluid Science*, **2019**, *103*, 28-28.
- [46] S. van der Graaf, C. G. P. H. Schröen, R. M. Boom, *Journal of Membrane Sci.*, **2005**, *251*, 7-15.
- [47] R. Berendsen, C. Güell, M. Ferrando, *Food Chemistry*, **2015**, *178*, 251-258.
- [48] E. Dickinson, *Food Biophysics*, **2011**, *6*, 1-11.
- [49] A. L. Márquez, A. Medrano, L. A Panizzolo, J. R Wagner, *Journal of Colloid and Interf. Sci.*, **2010**, *341*, 101-108.
- [50] S. Li, B. Zhang, C. Li, X. Fu, Q. Huang, *Food Chemistry*, **2020**, *3051* a 125476.
- [51] M. Matos, A. Laca, F. Rea, O. Iglesias, M. Rayner, G. Gutiérrez, *J. Food Eng.*, **2018**, *222*, 207-217.
- [52] S. Jain, T. Winuprasith, M. Suphantharika, *Food Hydrocolloids*, **2020**, *104*, a 105730.
- [53] Q. Tang, X. Xieb, C. Lia, B. Zhen, X. Cai, G. Zhang, C. Zhou, L. Wang, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **2019**, *183*, 110414.
- [54] X. Lu, C. Li, Q. Huang, *International Journal of Biological Macromolecules*, **2019**, *139*, 917-924.
- [55] H. Cheng, Q. Fan, T. Liu, Wusigale, L. Liang, *Journal of Food Engineering*, **2020**, *264*, a109685.
- [56] Z. Fang, X. Xu, H. Cheng, J. Li, C. Guang, L. Liang, *Journal of Food Engineering*, **2019**, *247*, 56-63.
- [57] N. Khalid, I. Kobayashi, M. A. Neves, K. Uemura, M. Nakajima, H. Nabetani, *Food and Bioproducts Processing*, **2017**, *102*, 222-232.
- [58] D. Fu, S. Deng, D. J. McClements, L. Zou, J. Yi, C. Liu, W. Liu, *Food Hydrocolloids*, **2019**, *89*, 80-89.
- [59] Y. Zhang, Q. Zhong, *Food Chemistry*, **2018**, *241*, 397-402.
- [60] T. Winuprasith, P. Khomein, W. Mithumrung, M. Suphantharika, A. Nitithamyong, D. J. McClements, *Food Hydrocolloids*, **2018**, *153-164*.
- [61] B. Mutaliyeva, D. Grigoriev, G. Madygekova, A. Sharipova, A. Aidarova, A. Saparbekova, R. Miller, *Colloids & Surfaces A: Physicochem. & Eng. Asp.*, **2017**, *521*, 147-152.
- [62] M. Amin Mehrnia, S. M. Jafari, B. S. Makhmal Zadeh, Y. Maghsoudlou, *Food Hydrocolloids*, **2017**, *66*, 259-267.
- [63] V. Eisinaite, D. Juraite, K. Schröen, D. Leskauskaite, *J. Food Eng.*, **2017**, *213*, 54-59.

- [64] V. Eisinaite, D. Juraite, K. Schröen, D. Leskauskaitė, *Food Chemistry*, **2016**, 206, 59-66.
- [65] H. J. Giroux, G. Robitaille, M. Britten, *LWT Food Science & Technol.*, **2016**, 69, 225-232.
- [66] B. K. Kim, A. R. Cho, D. J. Park, *Food Chem*, **2016**, 206, 85-91.
- [67] M. Matos, G. Gutiérrez, O. Iglesias, J. Coca, C. Pazos, *J. Food Eng.*, **2015**, 166, 212-220.
- [68] H. J. Giroux, P. Fustier, C. P. Champagne, D. St-Gelais, M. Lacroix, M. Britten, *Int. Dairy J.*, **2013**, 29, 107-114.
- [69] A. Faridi, E. Seid, M. Jafari, E. Assadpoor, A. Mohammadi, *J. Food Eng.* **2015**, 165, 149-155.
- [70] R. Berendsen, C. Güell, M. Ferrnado, *Food Hydrocolloids*, **2015**, 43, 636-648.
- [71] S. Y. Tang, M. Sivakumar, B. Nashiru, *Colloids Surf. B: Biointerfaces*, **2013**, 102, 653-658.
- [72] D. J. Pimentel González, R. G. Campos Montiel, C. Lobato Calleros, R. Pedroza Islas, E. J. Vernon Carter, *Food Research Int.*, **2009**, 42, 292-297.
- [73] S. J. Choi, E. A. Decker, D. J. McClements, *Food Chemistry*, **2009**, 116, 271-279.
- [74] M. Bonnet, M. Cansella, M. H. Ropers, M. Anton, F. Leal-Calderon, *Food Hydrocolloids*, **2009**, 23, 92-101.
- [75] M. Shima, Y. Morita, M. Yamashita, S. Adachia, *Food Hydrocolloids*, **2006**, 20, 1164-1169.
- [76] C. A. Fraker, A. J. Mendez, L. Inverardi, C. Ricordi, C. L. Stabler, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **2012**, 98, 26-35.

¿Quieres ser socio de una de las sociedades científicas más importantes de España?



RSEQ
Real Sociedad Española de Química
www.rseq.org