



Original / *Alimentos funcionales*

Emulsiones múltiples; compuestos bioactivos y alimentos funcionales*

Francisco Jiménez-Colmenero

Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos y Nutrición (ICTAN-CSIC) (anteriormente Instituto del Frío). Dpto. Productos, Laboratorio de Carne y Productos Cárnicos. Ciudad Universitaria. Madrid. España.

Resumen

La continua aparición de evidencias científicas acerca del papel de la dieta y/o sus componentes en el bienestar y la salud, ha favorecido la aparición de los alimentos funcionales que en la actualidad constituyen uno de los principales impulsores del desarrollo de nuevos productos. La aplicación de emulsiones múltiples abre nuevas posibilidades en el diseño y desarrollo de alimentos funcionales. Tales sistemas pueden emplearse como producto intermedio (ingrediente alimentario) dentro de las estrategias tecnológicas habitualmente empleadas en la optimización de la presencia de compuestos bioactivos en alimentos más saludables y funcionales. Este artículo presenta un breve análisis de los tipos, características y formación de emulsiones múltiples, posibilidad de localización de compuestos bioactivos, así como su potencial aplicación en el diseño y preparación de alimentos saludables y funcionales. Tales aplicaciones se manifiestan especialmente relevantes en relación con aspectos cuantitativos y cualitativos del material lipídico (reducción de grasa/calorías y optimización del perfil de ácidos grasos), encapsulamiento de compuestos bioactivos fundamentalmente hidrofílicos y reducción de sodio. Esta estrategia ofrece interesantes posibilidades en relación con el enmascaramiento de sabores y mejora de las propiedades sensoriales de los alimentos.

(*Nutr Hosp.* 2013;28:1413-1421)

DOI:10.3305/nh.2013.28.5.6673

Palabras clave: *Alimentos funcionales. Compuestos bioactivos. Emulsiones múltiples. Encapsulación. Mejora del contenido lipídico. Reducción de sodio.*

MULTIPLE EMULSIONS; BIOACTIVE COMPOUNDS AND FUNCTIONAL FOODS

Abstract

The continued appearance of scientific evidence about the role of diet and/or its components in health and wellness, has favored the emergence of functional foods which currently constitute one of the chief factors driving the development of new products. The application of multiple emulsions opens new possibilities in the design and development of functional foods. Multiple emulsions can be used as an intermediate product (food ingredient) into technological strategies normally used in the optimization of the presence of bioactive compounds in healthy and functional foods. This paper presents a summary of the types, characteristics and formation of multiple emulsions, possible location of bioactive compounds and their potential application in the design and preparation of healthy and functional foods. Such applications are manifested particularly relevant in relation to quantitative and qualitative aspects of lipid material (reduced fat/calories and optimization of fatty acid profile), encapsulation of bioactive compounds mainly hydrophilic and sodium reduction. This strategy offers interesting possibilities regarding masking flavours and improving sensory characteristics of foods.

(*Nutr Hosp.* 2013;28:1413-1421)

DOI:10.3305/nh.2013.28.5.6673

Key words: *Bioactive compounds. Encapsulation. Functional foods. Improving the lipid content. Multiple emulsion. Sodium reduction.*

*Este artículo está basado en una ponencia presentada al VII Congreso Español de Ingeniería de Alimentos (CESIA, 2012), Ciudad Real.

Correspondencia: Francisco Jiménez-Colmenero.
Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos y Nutrición (ICTAN-CSIC) (anteriormente Instituto del Frío).
Dpto. Productos. Laboratorio de Carne y Productos Cárnicos.
Ciudad Universitaria.
C/ José Antonio Novais, 10.
28040 Madrid. España
E-mail: fjimenez@ictan.csic.es

Recibido: 28-II-2013.
1.ª Revisión: 9-V-2013.
Aceptado: 15-V-2013.

Abreviaturas

- AGMI: Ácidos grasos monoinsaturados.
AGPI: Ácidos grasos poliinsaturados.
AGPI n-3: Ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-3.
AGS: Ácidos grasos saturados.
CLA: Ácido linoléico conjugado.
EE: Eficiencia de la encapsulación.
O: Fase lipídica.
O/W: Emulsiones de aceite-en-agua.
O/W/O: Emulsiones de aceite-en-agua-aceite.
W/O: Emulsiones de agua-en-aceite.
W₁: Fase acuosa interna.
W₂: Fase acuosa externa.
W₁/O/W₂: Emulsiones de agua-en-aceite-en-agua.

Introducción

En los últimos años se están produciendo importantes cambios en los hábitos de consumo impulsados por la continua aparición de evidencias científicas que acreditan como a través de la dieta y/o sus componentes se pueden modular algunas funciones fisiológicas específicas en el organismo y por tanto favorecer el bienestar y la salud. En tal sentido se está produciendo continuos avances en el desarrollo de alimentos percibidos más saludables, entre los que cabe destacar los alimentos funcionales que en la actualidad constituyen un mercado en alza y uno de los principales impulsores del desarrollo de nuevos productos. Ya que el papel de los alimentos funcionales se fundamenta en la presencia de ingredientes funcionales (compuestos bioactivos), la posibilidad de desarrollar tales alimentos pasa por emplear estrategias capaces de condicionar la presencia de determinados compuestos, bien incrementando la proporción de aquellos que exhiben efectos beneficiosos, o bien limitando el contenido de aquellos otros con implicaciones negativas para la salud. Existen distintas estrategias (tecnológicas o biotecnológicas) asociadas a los sistemas de producción (animal o vegetal), procesos de elaboración, conservación y consumo, aplicadas para modificar cuali y/o cuantitativamente la composición de los alimentos. Tales estrategias permiten modular la presencia de numerosos compuestos (endógenos y exógenos) con diferentes efectos potenciales sobre el organismo¹.

Entre las estrategias tecnológicas de desarrollo de alimentos funcionales se encuentran las basadas en cambios en los sistemas de transformación. La forma más versátil de modificar la composición de los alimentos surge de la enorme posibilidad de introducir cambios en los ingredientes utilizados en su elaboración y en consecuencia sobre la presencia de diversos compuestos bioactivos de carácter endógeno y exógeno. La reformulación de alimentos permite, además de la utilización de ingredientes tradicionales, el empleo de otros diseñados específicamente para ser

dotados de unos atributos (naturaleza o composición) convenientes para conferirles de propiedades saludables¹. En este contexto el empleo de las emulsiones múltiples (también denominadas dobles) ofrece notables expectativas².

Las emulsiones múltiples (emulsiones dobles o emulsiones de emulsiones) son sistemas multicompartimentalizados, caracterizados por la coexistencia de emulsiones de aceite-en-agua (O/W) y de agua-en-aceite (W/O), en las que los glóbulos de la fase dispersa contienen dentro de ellos gotas igualmente dispersas más pequeñas. Las más comunes son las de agua-en-aceite-en-agua (water-in-oil-in-water, W/O/W), aunque las de aceite-en-agua-aceite (oil-in-water-in-oil, O/W/O) pueden ser también utilizadas en aplicaciones específicas. Las emulsiones de agua-en-aceite-en-agua consisten en partículas minúsculas de agua (W₁) dispersas dentro de glóbulos de grasa (O), los cuales se encuentran a su vez dispersos en el interior de una fase continua acuosa (W₂) (fig. 1). Se trata pues de un sistema (W₁/O/W₂) constituido por tres fases, dos acuosas (una interior y otra exterior generalmente de distinta composición) y una lipídica localizada entre ellas, y separadas entre sí por dos tipos de interfases estabilizadas mediante surfactantes hidrofílicos y lipofílicos.

Por sus propiedades, entre ellas la capacidad de atrapar y proteger diversas sustancias y producir su liberación controlada desde el interior de una fase a otra, este tipo de emulsiones han sido empleadas como medio de microencapsulación en farmacología (vehiculación de anticancerígenos, hormonas, esteroides, etc.), cosmética (facilidad de aplicación de cremas con compuestos encapsulados) y otros usos industriales³⁻⁵. Las emulsiones múltiples representan un método prometedor de preparación de micro y nano-capsuladas (en forma sólidas o semisólidas) conteniendo compuestos hidrofílicos y lipofílicos³. La aplicación de las emulsiones múltiples a alimentos ofrece interesantes posibilidades ya que aparece como una estrategia potencialmente útil en procesos de reducción de grasa (energía), enmascaramiento de sabores y mejora de las propiedades sensoriales de los productos, o liberación controlada y protección de ingredientes lábiles durante el procesado y conservación de alimentos o incluso de la acción de cierta actividad enzimática tras su ingesta^{3,4,6}. Estos sistemas también pueden emplearse en alimentos aprovechando que la fase acuosa externa es más aceptable en términos de palatabilidad⁷. Con tales posibilidades, la aplicación de emulsiones múltiples se presenta como una herramienta interesante en el diseño y desarrollo de alimentos funcionales, por cuanto pueden emplearse como un producto intermedio (como ingrediente alimentario más) dentro de las estrategias tecnológicas habitualmente empleadas en la optimización de la presencia de compuestos bioactivos en alimentos.

Las emulsiones múltiples abren oportunidades no exploradas para condicionar la presencia de compuestos bioactivos (nutrientes o no) en numerosas matri-

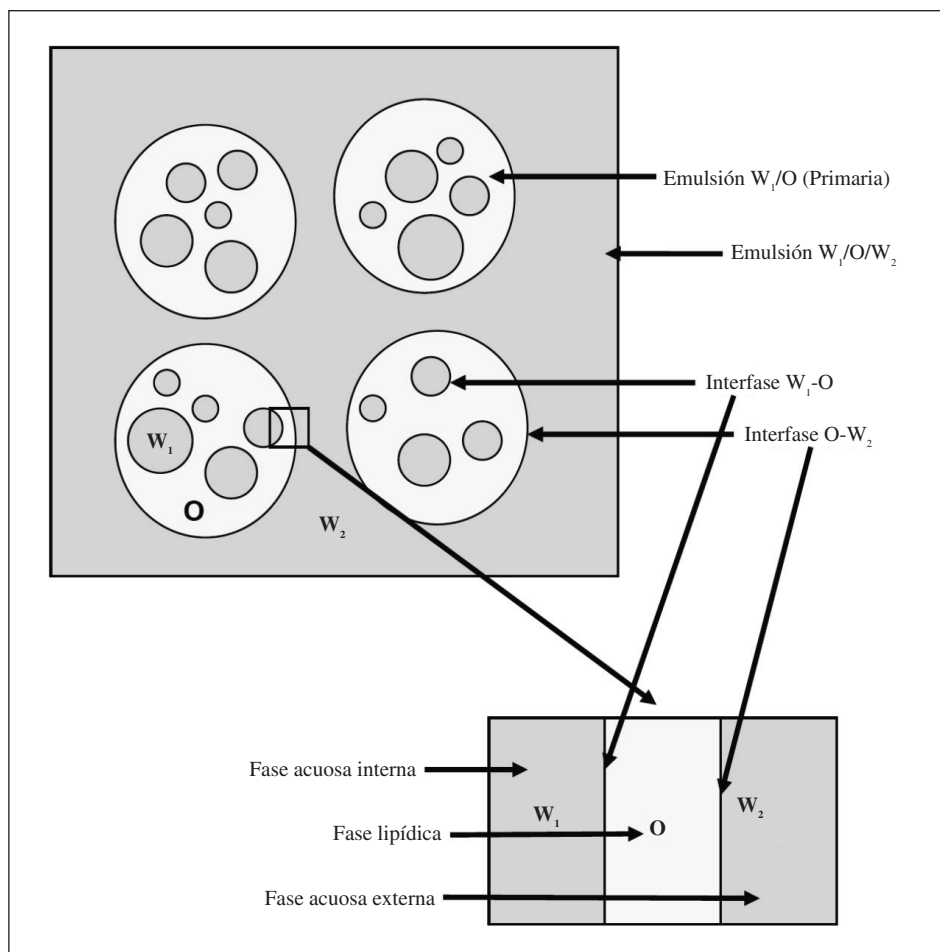


Fig. 1.—Representación de la estructura de las emulsiones múltiples tipo agua-en-aceite-en-agua.

ces, favoreciendo el desarrollo de nuevos productos, incluidos los alimentos funcionales². Este artículo presenta de manera resumida un análisis de los tipos, características y formación de emulsiones múltiples, posibilidades de localización de compuestos bioactivos, así como su potencial aplicación en el diseño y preparación de alimentos funcionales. Tales aplicaciones se manifiestan especialmente relevantes en relación con aspectos cuantitativos y cualitativos del material lipídico (reducción de grasa/energía y optimización del perfil de ácidos grasos), enmascaramiento de sabores y mejora de las propiedades sensoriales de los productos, así como en la incorporación, liberación controlada y protección de ingredientes funcionales lábiles (encapsulados) fundamentalmente hidrofílicos. También ofrece interesantes posibilidades para reducir sodio en alimentos.

Formación de emulsiones múltiples y localización de compuestos bioactivos

Aunque existen varios métodos de preparación, la formación de emulsiones múltiples transcurre generalmente a través de dos procesos de emulsificación (fig. 2), dado que resulta el procedimiento más ade-

cuado para obtener sistemas estables de composición bien definida y distribución del tamaño de partícula reproducible. En una primera fase se forma una emulsión de agua-en-aceite (W_1/O) mediante homogenización de una fase acuosa (W_1) y otra lipídica (O), en presencia de un emulsificador lipofílico capaz de producir la interfase W_1-O . En una segunda etapa se procede a la homogenización de la emulsión W_1/O con una nueva fase acuosa (W_2) con la ayuda de un emulsificador hidrofílico (interfase $O-W_2$), obteniéndose así la doble emulsión ($W_1/O/W_2$). La emulsión primaria (W_1/O) es preparada empleando condiciones de homogenización más energéticas que la segunda, así la aplicación de procesos de homogenización más suaves evitan la rotura de los globos internos (W_1/O)⁷. Sin embargo, si tal proceso es demasiado suave se obtienen sistemas altamente polidispersos y si por el contrario es demasiado intenso la eficiencia de la encapsulación se reduce.

Las características químicas y estructurales de estos sistemas multicompartimentalizados hacen posible que los compuestos bioactivos puedan ser integrados en varias localizaciones y en distintas condiciones ambientales^{8,9}. Así los compuestos solubles en agua (minerales, vitaminas, aminoácidos, péptidos, fibras, etc.) pueden ser incorporados tanto en la fase acuosa

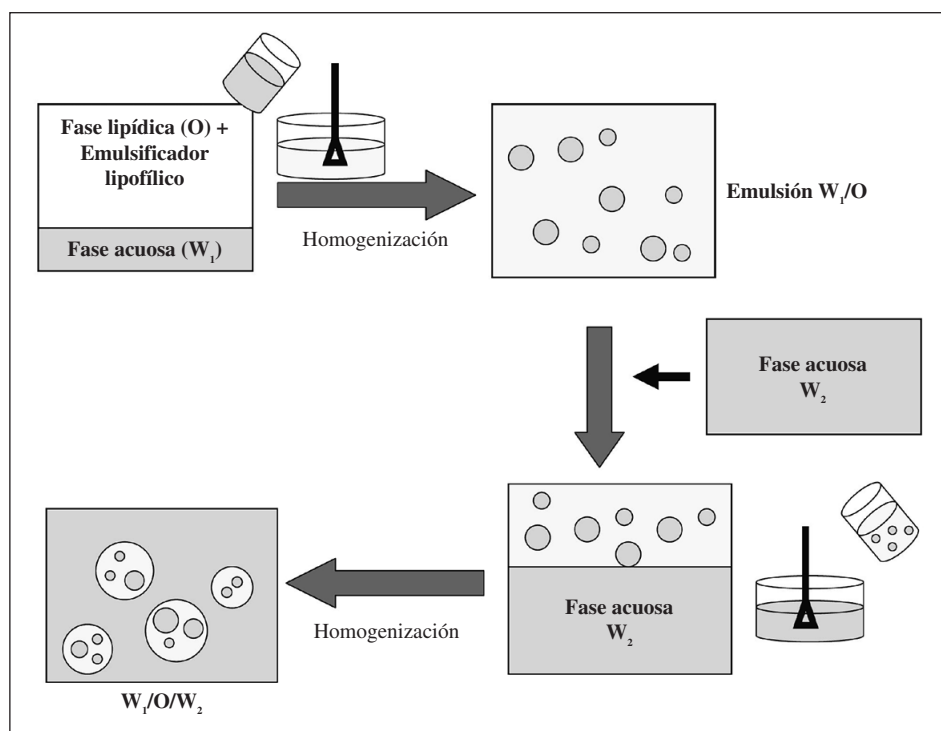


Fig. 2.—Preparación de emulsiones múltiples.

interna (W_1), como externa (W_2), con antelación a la aplicación de los procesos de homogenización encaminados primero a la formación de la emulsión simple (W_1/O) y después a la múltiple ($W_1/O/W_2$). Los ingredientes bioactivos hidrofílicos presentes en la fase interna (W_1) se encuentran atrapados en el interior de micro o nanocapsulas, exhibiendo algunas propiedades (protección y liberación controlada de compuestos bioactivos y limitación del efecto de atributos sensoriales indeseados de los mismos) que favorecen distintos tipos de aplicación en alimentos. De igual modo, y tanto en la primera como en la segunda etapa de homogenización, pueden incorporarse compuestos liposolubles (ácidos grasos poliinsaturados-AGPI, ácido linoléico conjugado-CLA, carotenoides, antioxidantes, vitaminas, etc.) en la fase lipídica. Además la elección misma de dicha fase lipídica puede servir como estrategia para favorecer la presencia de ingredientes funcionales (por ejemplo aceites ricos en AGPI n-3 o ácidos grasos monoinsaturados-AGMI). Por otro lado, ingredientes funcionales con actividad superficial podrían integrarse en las interfases W_1-O y $O-W_2$. La tabla I recoge ejemplos de dichos ingredientes funcionales incluidos en la lista de declaraciones autorizadas de propiedades saludables distintas de las relativas a la reducción del riesgo de enfermedad y al desarrollo y la salud de los niños¹⁰.

Sin embargo, y a pesar de este amplio espectro de oportunidades, la posibilidad de condicionar la presencia de compuestos bioactivos hidrofílicos y lipofílicos en las emulsiones múltiples y su potencial aplicación en alimentos presentan algunas dificultades derivadas de su limitada estabilidad.

Aplicación de las emulsiones múltiples en el desarrollo de alimentos más saludables

Aunque existen un gran número de estudios que señalan el enorme potencial de la utilización de las emulsiones múltiples en alimentos, e incluso se han patentado algunas aplicaciones en productos reformulados (como por ejemplo mayonesa), su aprovechamiento en nuevos desarrollos es muy reducido.

La mayor parte de los estudios realizados sobre emulsiones dobles se han centrado en tareas de formación y caracterización, realizadas a través del análisis de su estructura y propiedades en función de distintas variables asociadas a la composición y sistema de preparación, entre ellas: condiciones de formación (homogenización), tipo de emulsificantes hidrofílicos y lipofílicos a emplear, naturaleza y concentración de la fase lipídica, utilización de distintos compuestos (proteínas y polisacáridos) en la fase acuosa interna y externa para ayudar a la estabilización del sistema, incorporación de compuestos bioactivos (fundamentalmente hidrosolubles en la fase acuosa interna), fracción de materia atrapada en la fase interna, etc. Generalmente el efecto de tales variables sobre las emulsiones múltiples se ha evaluado a través de cambios en propiedades (coloidales y fisico-químicas) tales como: tamaño, distribución y carga de las partículas, características de las interfases, estabilidad, reología, propiedades ópticas, etc. De igual modo las propiedades de encapsulación se han considerado esenciales en las dobles emulsiones. En estos sistemas multicompartimentalizados tienen lugar fenómenos de transporte (liberación) de las sustancias encapsuladas desde la fase acuosa interna (W_1) hacia la fase externa (W_2)

Tabla I

Ejemplo de ingredientes funcionales o categoría de alimentos susceptibles de ser modulados a través del empleo de emulsiones múltiples y que se encuentran incluidos en la lista de declaraciones autorizadas de propiedades saludables distintas de las relativas a la reducción del riesgo de enfermedad y al desarrollo y la salud de los niños (Reglamento UE n.º 432/2012)

<i>Ingrediente funcional o categoría de alimentos</i>	<i>Declaración^a</i>
Ácido α -linolénico	El ácido α -linolénico contribuye a mantener niveles normales de colesterol sanguíneo.
Ácido docosahexaenoico (DHA)	El ácido docosahexaenoico contribuye a mantener el funcionamiento normal del cerebro y al mantenimiento de la visión en condiciones normales.
Ácido eicosapentaenoico (EPA)/DHA	Los ácidos eicosapentaenoico y docosahexaenoico contribuyen al funcionamiento normal del corazón.
Ácido linoleico	El ácido linoleico contribuye a mantener niveles normales de colesterol sanguíneo.
Ácido oleico	La sustitución de grasas saturadas por grasas insaturadas en la dieta contribuye a mantener niveles normales de colesterol sanguíneo. El ácido oleico es una grasa insaturada.
Ácidos grasos monoinsaturados o poliinsaturados	La sustitución de grasas saturadas por grasas insaturadas en la dieta contribuye a mantener niveles normales de colesterol sanguíneo.
Alimentos con un contenido bajo o reducido de ácidos grasos saturados	Un menor consumo de grasas saturadas contribuye a mantener niveles normales de colesterol sanguíneo.
Alimentos con un contenido bajo o reducido de sodio	Un menor consumo de sodio contribuye a mantener la tensión arterial normal.
Calcio	El calcio contribuye al metabolismo energético normal, al funcionamiento normal de los músculos, de la neurotransmisión, de las enzimas digestivas, es necesario para el mantenimiento de los huesos en condiciones normales, etc.
Hierro	El hierro contribuye a la función cognitiva normal, a la formación normal de glóbulos rojos y de hemoglobina, al transporte normal de oxígeno en el cuerpo, etc.
Magnesio	El magnesio ayuda a disminuir el cansancio y la fatiga, contribuye al equilibrio electrolítico, etc.
Tiamina (vitamina B ₁)	La tiamina contribuye al metabolismo energético normal, al funcionamiento normal del sistema nervioso, etc.
Riboflavina (vitamina B ₂)	La riboflavina contribuye al metabolismo energético normal, funcionamiento normal del sistema nervioso, etc.
Vitamina B ₁₂	La vitamina B ₁₂ contribuye al metabolismo energético normal, contribuye al funcionamiento normal del sistema nervioso, etc.
Vitamina C	La vitamina C contribuye al funcionamiento normal del sistema inmunitario durante el ejercicio físico intenso y después de este, etc.
Polifenoles del aceite de oliva (hidroxitirosol y sus derivados)	Los polifenoles del aceite de oliva contribuyen a la protección de los lípidos de la sangre frente al daño oxidativo.

^aPara varios de los ingredientes funcionales, en la tabla sólo se incluyen algunos ejemplos de las declaraciones de propiedades saludables atribuibles.

debido a proceso de migración o difusión (a través de la fase lipídica) durante su formación, conservación, o exposición a condiciones estresantes tales como procesos mecánicos, tratamientos térmicos, congelación, deshidratación, etc. Las propiedades de encapsulación de las emulsiones $W_1/O/W_2$ se evalúan a menudo en términos de eficiencia de la encapsulación (EE), definida como la cantidad de compuesto encapsulado que permanece atrapado en la fase interna acuosa (W_1) tras el proceso de elaboración de la emulsión múltiple¹¹.

Por otro lado hay que tener en cuenta que muchos de los estudios realizados se han encaminado a evaluar la viabilidad del sistema, empleando diversos compuestos (emulsificantes, estabilizantes, fases lipídicas, etc.) utilizados en la formación de múltiples emulsiones destinadas a aplicaciones no alimentarias (por ejemplo cosmética o farmacología). Esto supone que tales ingredientes no reúnen la calidad requerida (grado alimentario), haciendo difícilmente trasladable su aplicación a una matriz alimentaria. Las propiedades ideales de las emul-

siones $W_1/O/W_2$ (incluyendo la estabilidad requerida como producto intermedio) varían con el tipo de alimento en que va a ser incorporado (sólido, líquido, productos cárnicos o lácteos, etc.). En cualquier caso, tales sistemas, además de satisfacer aspectos de estabilidad frente a las condiciones habitualmente empleadas en el procesamiento de alimentos (tratamientos mecánicos, refrigeración, congelación, calentamiento, etc.), han de presentar unas propiedades (color, textura, sabor, etc.) compatibles con las matrices (alimentos) en los que se integren.

Teniendo en cuenta tales condicionantes, las emulsiones múltiples pueden emplearse en el diseño y preparación de alimentos funcionales favoreciendo la aplicación de estrategias encaminadas tanto a reducir la presencia de compuestos con efectos negativos para la salud (grasa, ácidos grasos saturados, sodio, etc.), como a potenciar de la de aquellos otros con efectos beneficiosos (tabla I), en especial mediante encapsulación ingredientes bioactivos, fundamentalmente hidrofílicos³.

Mejora del contenido lipídico en alimentos

Las emulsiones múltiples pueden emplearse para modificar el contenido lipídico de los alimentos mediante dos mecanismos: reducción del nivel de grasa y mejora del perfil de ácidos grasos. En alimentos tipo emulsión (O/W), la utilización de sistemas $W_1/O/W_2$, permite reducir el contenido en grasa ya que parte del material lipídico es reemplazado por las partículas de agua dispersas (W_1) en su interior (fig. 1). Su particular microestructura asegura una drástica reducción en el contenido en grasa (valor energético), proporcionando además propiedades reológicas similares a las emulsiones convencionales (O/W). Comparada con una emulsión simple, y para una misma fracción de fase dispersa, las emulsiones $W_1/O/W_2$ contienen menor cantidad de aceite manteniendo además propiedades texturales similares⁷.

Como fase lipídica de las emulsiones múltiples se han empleado aceites minerales y solventes hidrocarbonados, así como aceites vegetales tales como cáñola, colza, oliva, soja, etc. Aunque en la mayoría de los casos estos materiales se han empleado con la función de ejercer básicamente como fase dispersa, también son elementos a tener en cuenta por sus notables implicaciones en la salud. Así, la sustitución de la grasa (por ejemplo animal) habitualmente presente en algunos alimentos (caso de productos cárnicos o lácteos) por emulsiones múltiples (con menor densidad calórica) formuladas con aceites con un perfil lipídico más saludables abre nuevas posibilidades de obtención de alimentos potencialmente funcionales.

Reducción del contenido en grasa.- Son muy escasos los estudios sobre aplicaciones de las emulsiones múltiples para reducir grasa en alimentos, habiéndose centrado las mismas fundamentalmente en analizar su

influencia sobre parámetros reológicos y estructurales de la matriz, sin que se hayan realizado diseños experimentales dirigidos a evaluar las posibilidades reales de esta estrategia y establecer su viabilidad tecnológica y sensorial. Reemplazando la grasa de leche por emulsiones múltiples (aceite de canola) se han obtenido análogos lácteos (tipo queso fresco, yogurt) con menor contenido en grasa y ácidos grasos saturados^{12,13}. Análogos de queso con reducciones de grasa de entre 15-26% se obtuvieron empleando emulsiones $W_1/O/W_2$ (estabilizadas con hidrocoloides) en su formulación. Tales productos presentaban características texturales y niveles de preferencia similares a los de su homólogo con el contenido habitual de grasa¹⁴. Márquez y Wagner¹⁵ han utilizado las emulsiones múltiples como sustitutos de grasa en la preparación de derivado de leche de soja. En este contexto, una interesante posibilidad a considerar consistiría en el uso de fases lipídicas no digestibles (por ejemplo aceites minerales)¹⁶; de hecho la utilización de sustitutos de grasa no digestibles o con limitada digestibilidad ha sido ensayado como estrategia de reducción de grasa en alimentos.

Mejorar el perfil de ácidos grasos.- Por sus implicaciones en la salud, los lípidos se encuentran entre los componentes (ingredientes funcionales) que mayor atención han recibido (tanto a nivel cuantitativo como cualitativo) en relación con el desarrollo de productos más saludables. La elección de la fase lipídica en las emulsiones múltiples ofrece una interesante estrategia para reformular alimentos reduciendo la proporción de ácidos grasos saturados (AGS), incrementando la presencia de AGMI, AGPI o CLA, además de mejorar la relación AGPI n-6/n-3 y AGPI/AGS, y todo ello disminuyendo el contenido calórico y el colesterol. En tal sentido aceites tanto de origen vegetal (oliva, girasol, chia, etc.), como marino (pescado, algas), abre nuevas posibilidades¹⁷. Por su composición, el aceite de oliva se ha asociado con un amplio rango de efectos beneficiosos para la salud¹⁸. Tanto como fuente de ácido oleico, como por sus propiedades tecnológicas (proporciona mayor liberación de Mg en las emulsiones $W_1/O/W_2$ comparada con otros aceites)¹⁹, el aceite de oliva ha sido empleado en la formación de estos sistemas, como fase lipídica en las emulsiones primarias¹⁹⁻²². De igual modo, la presencia de aceite de girasol en emulsiones múltiples empleadas en la elaboración de derivados de leche de soja se ha descrito favorece la reducción de colesterol y aumenta la presencia de ácidos grasos insaturados¹⁵. El aceite de chia (*Salvia hispanica* L.)²³, que es la fuente botánica con mayor riqueza en ácido α -linolénico, se ha empleado para mejorar el perfil de ácidos grasos en emulsiones $W_1/O/W_2$. La mejora del contenido lipídico (proporción y perfil de ácidos grasos) de una matriz cárnica se ha llevado a cabo reemplazado la grasa animal habitualmente empleada, por una emulsión múltiple preparada con aceite de oliva, demostrándose la posibilidad de aplicar esta estrategia en el desarrollo de productos cárnicos más saludables²⁴.

Encapsulación de ingredientes funcionales

Numerosos estudios han puesto en evidencia que las emulsiones $W_1/O/W_2$ pueden ser empleadas para encapsular ingredientes funcionales (principalmente en fase acuosa interna), para su posterior aplicación como ingrediente en procesos de reformulación de alimentos^{5,8,25}. Las ventajas del sistema se manifiestan a varios niveles, por ejemplo: a) protección del ingrediente de la interacción con otros componentes del alimento, de la acción de distintas condiciones de procesamiento o conservación, y/o de la actividad de enzimas en tracto gastrointestinal; b) liberación controlada de los compuestos bioactivos; c) mejora de las propiedades sensoriales a través de su influencia sobre la palatabilidad del alimento. En ocasiones, la encapsulación de estos compuestos se ha empleado con un propósito distinto, como por ejemplo marcador para estudiar mecanismos de liberación²². A continuación se describen algunos ejemplos de la aplicación de emulsiones múltiples en la encapsulación de ingredientes funcionales.

Minerales.- Minerales como Ca, Fe o Mg, presentan notables implicaciones en distintas funciones del organismo. Las emulsiones múltiples han sido utilizadas como medio para aislar Ca, Fe y Mg. La encapsulación de Ca (emulsión múltiple) se ha señalado como un medio de fortificación de leche de soja evitando su interacción con proteínas y fosfolípidos que conducen a la desestabilización del sistema¹⁵. De igual manera esta estrategia permite la fortificación de alimentos con Fe, utilizando sustratos (bisglicinato ferroso) que de otro modo tendrían limitaciones sensoriales y de estabilidad^{25,26}, y con Mg, cuya adición directa induce agregación proteica y genera un gusto no deseable^{19,21}.

Vitaminas.- Según su naturaleza, las vitaminas pueden ser incorporadas en las emulsiones múltiples de distinta manera. Mientras las hidrosolubles (C y grupo B) han sido encapsuladas en emulsiones $W_1/O/W_2$, las de tipo $O/W/O$ pueden resultar más apropiadas en el caso de las vitaminas liposolubles (A, D, E, K). La vitamina C es un nutriente implicado en numerosas funciones fisiológicas, cuya estabilidad se ha protegido mediante encapsulación en emulsiones múltiples^{23,27}. Las vitaminas del grupo B son cofactores en diferentes sistemas enzimáticos del organismo. Distintas estrategias han sido empleadas para favorecer su presencia en alimentos, entre ellas su incorporación en la fase acuosa interna de emulsiones múltiples, caso de las vitaminas B_{12} ^{11,28}, B_1 ²⁹ y B_2 ^{30,31}. Simultáneamente a la vitamina B_2 (localizada en la fase acuosa interna), se ha llevado a cabo la inclusión de la vitamina E en la fase lipídica de la emulsión múltiple³¹. En cambio, la vitamina A ha sido encapsulada en emulsiones $O/W/O$, si bien para aplicaciones cosméticas y farmacológicas³².

Microorganismos.- Procesos de microencapsulación han sido empleados como medio de protección de microorganismos (probióticos) frente a condiciones adversas, ofreciendo la aplicación de emulsiones múltiples una interesante posibilidad. En tal sentido, este

procedimiento se ha ensayado para la protección de *Lactobacillus acidophilus* (localizado en la fase acuosa interna) de la acción del jugo gástrico³³ y de los ácidos biliares³⁴. De igual modo se ha establecido la viabilidad de *L. rhamnosus*, en emulsiones múltiples, evaluando el efecto protector durante su paso simulado por el tracto gastrointestinal³⁵.

Carotenoides.- Son compuestos (α -, β -, y γ -carotenos, licopeno, luteína, etc.) comúnmente encontrados en productos de origen vegetal, a los que se han atribuido efectos de disminución del riesgo (cáncer, enfermedades del corazón, envejecimiento, etc.), y cuya incorporación en alimentos plantea problemas de estabilidad y coloración. Las emulsiones múltiples se han utilizado para minimizar tales inconvenientes. Microcápsulas conteniendo tanto carotenoides hidro y liposolubles han sido preparados mediante el secado por pulverización de emulsiones múltiples³⁶. En tal sistema, mientras que los carotenoides hidrosolubles se incluyeron en la fase acuosa interna, los lipofílicos lo fueron en la fase lipídica.

Resveratrol.- Es un compuesto fenólico natural que recientemente ha suscitado un enorme interés por sus efectos beneficiosos (incluyendo su capacidad antioxidante, actividad anticancerígena, etc.). Sin embargo, por sus características (solubilidad y estabilidad) requiere de estrategias de encapsulación para favorecer su aplicación en alimentos. En este contexto se han formulado emulsiones múltiples con resveratrol encapsulado en distintas fases acuosas de la emulsión primaria³⁷.

Antocianinas.- Pertenecen al grupo más importante de pigmentos hidrofílicos de plantas y tienen fuertes efectos antioxidantes, anticancerígenos e inmuno moduladores. Fuera de su entorno natural, estas moléculas son extremadamente inestables. Extractos de arándanos ricos en antocianinas pueden ser estabilizados en la fase interna de una emulsión múltiple y liberados durante en condiciones de digestión gastrointestinal³⁸.

Otros compuestos.- Con propósitos muy diversos, se ha descrito la incorporación de otras muchas sustancias en estos sistemas multicompartimentalizados, entre ellas: lactoferrina³⁹⁻⁴⁰, L-triptófano³⁰, compuestos aromáticos⁴¹, o aspartamo⁴².

Reducción de sodio

Las emulsiones $W_1/O/W_2$ se ha señalado pueden emplearse para modular la percepción del gusto (por ejemplo, ácido, salado, o amargo) controlando eficazmente la extensión en que la fase acuosa es capaz de interaccionar con las papilas gustativas. Así estos sistemas podrían ser empleados como estrategia para la reducción de sal (sodio) en alimentos. Si en la emulsión $W_1/O/W_2$, la sal se encuentra solo presente en la fase acuosa externa (W_2), se podría disponer de un producto en el que la percepción del contenido en sal fuese mayor que el que está realmente presente. En tales condiciones se ha postulado posibles niveles de reducción de sal de hasta el 80%⁴³.

Conclusiones

Los avances en los estudios de formación, caracterización y estabilización de las emulsiones múltiples apoyan las interesantes perspectivas que se abren para la aplicación de las emulsiones múltiples en alimentos, y en particular como estrategia para optimizar la presencia de distintos agentes bioactivos con implicaciones en la salud. Como producto intermedio, las emulsiones múltiples constituyen una herramienta dentro de las estrategias tecnológicas a utilizar en el diseño y desarrollo de alimentos funcionales, especialmente cuando se requiere de mecanismos de protección de ingredientes lábiles. Sus consecuencias se manifestarían a varios niveles; nutricionalmente permitiría la incorporación de compuestos de interés pero que presentan limitaciones asociadas a su escasa estabilidad y/o formación de interacciones no convenientes. Por otro lado, estas emulsiones ofrecen interesantes posibilidades en relación con el enmascaramiento de sabores y mejora de las propiedades sensoriales de los productos. Sin embargo, en el momento actual (y excepto en algún producto lácteo) no se han llevado a cabo estudios dirigidos a evaluar las posibilidades reales de esta estrategia en alimentos, abordando aspectos relacionados con su viabilidad tecnológica y sensorial. En consecuencia resulta imprescindible avanzar en ese planteamiento que evidentemente exige el desarrollo de nuevas emulsiones compatibles a todos los niveles (estabilidad, composición, concentración del ingrediente funcional, propiedades tecnológicas, atributos sensoriales, etc.) con el alimento a reformular. Adicionalmente tales desarrollos han de ser fácilmente integrables en los sistemas de producción y económicamente factibles.

Agradecimientos

A los proyectos AGL2011-29644-C02-01 y Consolider-Ingenio 2010:CARNISENUSA (CSD2007-00016) de el Plan Nacional de I+D+i.

Referencias

1. Jiménez-Colmenero F. Meat based functional foods. En Hui YH et al. (eds.). Handbook of Food Products Manufacturing. John Wiley & Son, Inc. New Jersey, 2007, pp. 989-1015.
2. Jiménez-Colmenero F. Potential applications of multiple emulsions in the development of healthy and functional foods. *Food Res Inter* 2013; 52: 64-74.
3. Benichou A, Aserin A, Garti N. Double emulsions stabilized with hybrids natural polymers for entrapment and slow release of active matters. *Adv Coll Interf Sci* 2004; 108-9: 29-41.
4. Kukizaki M, Goto M. Preparation and evaluation of uniformly sized solid lipid microcapsules using membrane emulsification. *Coll Surf A: Phys. Eng. Aspects* 2007; 293: 87-94.
5. Muschiolik G. Multiple emulsions for food use. *Curr Opin Coll Interf Sci* 2007; 12: 213-20.
6. Dickinson E. Double emulsions stabilized by food biopolymers. *Food Bioph* 2011; 6: 1-11.
7. Garti N. Progress in stabilization and transport phenomena of double emulsions in food applications. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol* 1997; 30: 222-35.
8. McClements DJ, Decker, EA, Weiss J. Emulsion-based delivery systems for lipophilic bioactive components. *J Food Sci* 2007; 72: R109-R124.
9. McClements DJ, Decker EA, Park Y, Weiss J. Structural design principles for delivery of bioactive components in nutraceutical and functional foods. *Crit Rev Food Sci Nut* 2009; 49: 577-606.
10. Reglamento (UE) n° 432/2012 de la comisión de 16 de mayo de 2012 por el que se establece una lista de declaraciones autorizadas de propiedades saludables de los alimentos distintas de las relativas a la reducción del riesgo de enfermedad y al desarrollo y la salud de los niños. *Diario Oficial de la Unión Europea* 2012; L136: 1-40.
11. O'Reagan J, Mulvihill DM. Water soluble inner aqueous phase markers as indicators of encapsulation properties of water-in-oil-in-water emulsions stabilized with sodium caseinate. *Food Hydrocoll* 2009; 23: 2339-45.
12. Lobato-Calleros C, Rodríguez E, Sandoval-Castilla O, Vernon-Carter E, Álvarez-Ramírez J. Reduced-fat white fresh cheese-like products obtained from W-1/O/W-2 multiple emulsions: Viscoelastic and high-resolution image analyses. *Food Res Inter* 2006; 39: 678-85.
13. Lobato-Calleros C, Recillas-Mota MT, Espinosa-Solares T, Álvarez-Ramírez J, Vernon-Carter EJ. Microstructural and rheological properties of low-fat stirred yoghurts made with skim milk and multiple emulsions. *J Text Stud* 2009; 40: 657-75.
14. Lobato-Calleros C, Sosa-Pérez A, Rodríguez-Tafoya J, Sandoval-Castilla O, Pérez-Alonso C, Vernon-Carter E. Structural and textural characteristics of reduced-fat cheese-like products made from W1/O/W2 emulsions and skim milk. *LWT- Food Sci Technol* 2008; 41: 1747-56.
15. Márquez AL, Wagner J. Rheology of double (W/O/W) emulsions prepared with soybean milk and fortified with calcium. *J Text Stud* 2010; 41: 651-71.
16. McClements DJ, Li L. Review of in vitro digestion models for rapid screening of emulsion-based systems. *Food Funct* 2010; 1: 32-59.
17. Jiménez-Colmenero F. Healthier lipid formulation approaches in meat-based functional foods. Technological options for replacement of meat fats by non-meat fats. *Trends Food Sci Technol* 2007; 18: 567-78.
18. López-Miranda J, Pérez-Martínez P, Pérez-Jiménez, F. Health benefits of monounsaturated fatty acids. En C. Williams & J. Buttriss (Eds.). Improving the Fat Content of Foods. Cambridge: Woodhead Publishing Limited. 2006, pp. 71-106.
19. Bonnet M, Cansell M, Berkaoui A, Ropers HM, Anton M, Leal-Calderon F. Release rate profiles of magnesium from multiple W/O/W emulsions. *Food Hydrocoll* 2009; 23: 92-101.
20. De Cindio B, Cacace D. Formulation and rheological characterization of reduced-calorie food emulsions. *Inter J Food Sci Technol* 1995; 30: 505-14.
21. Bonnet M, Cansell M, Placin F, Anton M, Leal-Calderon F. Impact of sodium caseinate concentration and location of magnesium release from multiple W/O/W emulsions. *Langmuir* 2010; 26: 9250-60.
22. Bonnet M, Cansell M, Placin F, David-Brian E, Anton M, Leal-Calderon F. Influence of ionic complexation on release rate profiles from multiple water-in-oil-in-water (W/O/W) emulsions. *J Agric Food Chem* 2010; 58: 7762-9.
23. Carrillo-Navas H, Cruz-Olivares J, Varela-Guerrero V, Alamilla-Beltrán L, Vernon-Carter EJ, Pérez-Alonso C. Rheological properties of a double emulsion nutraceutical system incorporating chia essential oil and ascorbic acid stabilized by carbohydrate polymer-protein blends. *Carbohydrate Polymers* 2012; 87: 1231-5.
24. Cofrades S, Antoniou I, Solas MT, Herrero AM, Jiménez-Colmenero F. Preparation and impact of multiple (water-in-oil-in-water) emulsions in meat systems. *Food Chem* 2013; 141: 338-46.
25. Choi SJ, Decker EA, McClements J. Impact of iron encapsulation within the interior aqueous phase of water-in-oil-in-water emulsions on lipid oxidation. *Food Chem* 2009; 116: 271-6.

26. Jiménez-Alvarado R, Beristain CI, Medina-Torres L, Román-Guerrero A, Vernon-Carter EJ. Ferrous bisglycinate content and release in W₁/O/W₂ multiple emulsions stabilized by protei-polysaccharide complexes. *Food Hydrocoll* 2009; 23: 2424-33.
27. Lutz R, Aserin A, Wicker L, Garti N. Release of electrolytes from W/O/W double emulsion stabilized by a soluble complex of modified pectin and whey protein isolate. *Coll Surf B: Biointerf* 2009; 74: 178-85.
28. Fechner A, Knoth A, Scherze I, Muschiolik G. Stability and release properties of double-emulsions stabilised by caseinate-dextran conjugates. *Food Hydrocoll* 2007; 21: 943-52.
29. Benichou A, Aserin A, Garti N. W/O/W double emulsions stabilized with WPI-polysaccharide complexes. *Coll Surf A: -Physicochem Eng Aspects* 2007; 294: 20-32.
30. Owusu RK, Zhu Q, Dickinson E. Controlled release of L-tryptophan and vitamin-B₂ from model water oil-water multiple emulsions. *Food Hydrocoll* 1992; 6: 443-53.
31. Li B, Jiang Y, Liu F, Chai Z, Li Y, Li Y, Leng X. Synergistic effects of whey protein-polysaccharide complexes on the controlled release of lipid-soluble and water-soluble vitamins in W₁/O/W₂ double emulsion systems. *Inter J Food Sci Technol* 2012; 47: 248-54.
32. Yoshida K, Sekine T, Matsuzaki F, Yanaki T, Yamaguchi, M. Stability of vitamin A in oil-in-water-in-oil-type multiple emulsions. *J Am Oil Chem Soc* 1999; 76: 195-200.
33. Shima M, Morita Y, Yamashita M, Adachi S. Protection of *Lactobacillus acidophilus* from the low pH of a model gastric juice by incorporation in a W/O/W emulsion. *Food Hydrocoll* 2006; 20: 1164-9.
34. Shima M, Matsuo T, Yamashita M, Adachi S. Protection of *Lactobacillus acidophilus* from bile salts in a model intestinal juice by incorporation into the inner-water phase of a W/O/W emulsion. *Food Hydrocoll* 2009; 23: 281-5.
35. Pimentel-González DJ, Campos-Montiel RG, Lobato-Calleros C, Pedroza-Islas R. Encapsulation of *Lactobacillus rhamnosus* in double emulsions formulated with sweet whey as emulsifier and survival in simulated gastrointestinal conditions. *Food Res Inter* 2009; 42: 292-7.
36. Rodríguez-Huezo ME, Pedroza-Islas R, Prado-Barragán LA, Beristain CI, Vernon-Carter EJ. Microencapsulation by spray drying of multiple emulsions containing carotenoids. *J Food Sci* 2004; 69: E351-E359.
37. Hemar Y, Cheng LJ, Oliver CM, Sanguansri L, Agustin M. Encapsulation of resveratrol using water-in-oil-in-water double emulsions. *Food Bioph* 2010; 5: 120-7.
38. Frank K, Walz E, Gräf V, Greiner R, Köhler K, Schuchmann HP. Stability of anthocyanin-rich W/O/W emulsions designed for intestinal release in gastrointestinal environment. *J Food Sci* 2012; 77: N50-N57.
39. Al-Nabulshi AA, Han JH, Liu Z, Rodríguez-Vieira ET, Holley RA. Temperature-sensitive microcapsules containing lactoferrin and their action against *Carnobacterium viridans* on bologna. *J Food Sci* 2006; 71: M208-M214.
40. Balcão VM, Costa CI, Matos CM, Moutinho CG, Amorim M, Pintado ME, Gomes AP, Vila MM, Teixeira JA. Nanoencapsulation of bovine lactoferrin for food and biopharmaceutical applications. *Food Hydrocoll* 2013 doi: 10.1016/j.foodhyd.2013.02.004
41. Brückner M, Bade M, Kunz B. Investigation into the stabilization of a volatile aroma compound using a combined emulsification and spray drying process. *Eur Food Res Technol* 2007; 226: 137-46.
42. Rocha-Selmi GA, Bozza FT, Thomazini M, Bolini HMA, Fávoro-Trindade CS. Microencapsulation of aspartame by double emulsion followed by complex coacervation to provide protection and prolong sweetness. *Food Chem* 2013 doi:10.1016/j.foodchem.2013.01.114
43. Norton JE, Norton IT. Designer colloids-towards healthy every days foods? *Soft Matter* 2010; 6: 3735-42.