

REVISIÓN

Avances en la formulación de emulsiones

Por, **José Muñoz***, **María del Carmen Alfaro** e **Isabel Zapata**

Departamento de Ingeniería Química. Facultad de Química.
Universidad de Sevilla. c/ P. García González, 1, 41012 Sevilla.

RESUMEN

Avances en la formulación de emulsiones

Esta revisión destaca que la formulación, junto con el procesado, definen la microestructura de las emulsiones, y por tanto sus propiedades funcionales. Se describen los componentes de las fases oleosa y acuosa, así como sus principales propiedades en relación con las emulsiones. Se estudian los emulsionantes, que ocupan básicamente la interfase aceite-agua, distinguiendo entre los de bajo y alto peso molecular, así como entre sintéticos derivados del petróleo, otros que se pueden obtener a partir de materias primas comestibles y de origen biotecnológico. Se resumen las etapas claves que sufren las proteínas como emulsionantes y las condiciones en que polímeros sintéticos y polisacáridos actúan como estabilizantes. Se aborda también la formación de complejos proteína-polisacáridos como una vía de optimización de formulaciones. Se finaliza destacando que los progresos en formulación de emulsiones deben basarse en la ingeniería del producto y en metodologías multidisciplinares.

PALABRAS-CLAVE: Emulsiones - Emulsionantes - Estabilizantes - Polisacáridos - Proteínas - Tensioactivos.

SUMMARY

Progress in emulsion formulation

This review emphasizes that formulation, along with processing, defines the microstructure of emulsions and therefore their functional properties. Possible components of both the oil and aqueous phases are described as well as their relevant properties concerning emulsions. The general characteristics of low molecular and high molecular weight emulsifiers, which essentially are adsorbed on the oil/water interfaces, are described. Synthetic emulsifiers derived from the oil industry, as well as those stemming from edible raw materials and biotechnological sources are considered. The main steps of the emulsifying mechanism using proteins and the role of synthetic polymers as well as polysaccharides as stabilizers are discussed. In addition, the formation of protein-polysaccharide complexes as a way of optimizing emulsion formulations is analyzed. Finally, this review points out that the progress in emulsion formulation must rely on the product engineering approach, which involves a multidisciplinary methodology.

KEY-WORDS: Emulsions - Emulsifiers - Polysaccharides - Proteins - Stabilisers - Surfactants.

1. INTRODUCCIÓN

Una emulsión es una dispersión termodinámicamente inestable de dos líquidos inmiscibles, normalmente de naturaleza apolar y polar, en la que uno de ellos forma gotas de pequeño tamaño (de 0,1 a 100 micras) que se denomina fase dispersa o interna y el otro, fase continua o externa. En la práctica debe contener un tercer componente, un emulsionante, sustancia anfifílica que facilita la formación de la emulsión disminuyendo la tensión interfacial entre la fase apolar (oleosa) y la polar (acuosa) y además aporta al menos una cierta estabilidad física durante un tiempo, que puede ser más o menos largo, dependiendo de la composición, características de procesado y condiciones externas durante el envejecimiento.

Las emulsiones encuentran aplicaciones en diversos campos: alimentación, cosmética, farmacia, química agrícola, detergencia, industria de la pintura y polímeros, pretratamientos de crudos de petróleo en refinerías, tratamiento de mareas negras, recuperación terciaria de petróleo, asfaltos, etc. No obstante, esta revisión hace especial énfasis en las emulsiones alimentarias.

Dependiendo de la naturaleza de las fases dispersa y continua, las emulsiones se clasifican como O/W, W/O o múltiples tipo W/O/W y O/W/O (Becher, 1985).

Una emulsión O/W, se denomina emulsión aceite en agua. En este tipo de emulsiones la fase dispersa consiste en pequeñas gotas de un líquido de naturaleza oleosa, por tanto hidrófoba, y una fase continua dominada por un medio normalmente acuoso. Como ejemplos de emulsiones O/W se pueden citar: leche, mayonesa, nata, abonos, fitosanitarios y herbicidas emulsionados, algunas sales y emulsiones de algunos tipos de petróleo.

Lógicamente en una emulsión agua en aceite (W/O), la fase dispersa es de naturaleza acuosa y la continua oleosa. Ejemplos: mantequilla, margarina, emulsiones para protección solar, algunas emulsiones de petróleo.

La posibilidad de que se formen emulsiones O/W o W/O con petróleos depende de si se trata de crudo de petróleo y del tipo que sea o si se trata de fracciones refinadas del mismo. Además, es clave el tipo de emulsionante utilizado (Sjöblom, 2001).

La mayoría de las emulsiones múltiples: O/W/O y W/O/W encuentran aplicaciones en cosmética y farmacia, constituyendo la medicina y tecnología de alimentos campos claros de aplicaciones potenciales (Garti y Benochou, 2003).

Es de destacar que esta nomenclatura no hace referencia a la presencia de componentes fundamentales, los emulsionantes.

Dada la diferente naturaleza de las fases orgánicas/oleosas y acuosas, son esperables diferencias significativas de densidad, que conduzcan tarde o temprano a una separación de fases, que en la práctica supone la rotura de la emulsión y, por tanto, el fin de su vida útil. Esto será un problema serio a no ser que se compense la inestabilidad termodinámica de estos sistemas mediante lo que se puede denominar estabilidad cinética. Es decir, a no ser que se consiga mantener prácticamente constantes el tamaño medio de gota, la distribución espacial de las mismas y sus propiedades funcionales a lo largo del tiempo de vida útil para la aplicación prevista de la emulsión. Por tanto, una de las propiedades más importantes de una emulsión es su estabilidad. Dependiendo del tipo de emulsión considerado, fundamentalmente de su composición, el término estabilidad no sólo incluye los aspectos físicos que controlan principalmente la separación de fases, sino también químicos (oxidación, hidrólisis) y microbiológicos (crecimiento bacteriano y de otros microorganismos). No obstante, en ocasiones, la clave del éxito de un proceso es justo la contraria, poder controlar la desestabilización de emulsiones. A título de ejemplo, los pretratamientos de crudo de petróleo en refinerías.

En cualquier caso, la investigación, desarrollo e innovación (I+D+I) de productos emulsionados abarca las siguientes etapas comunes a los distintos campos de aplicación:

1. Análisis de mercado para el producto emulsionado que se pretende desarrollar.
2. Formulación, incluyendo la caracterización física y química de las materias primas, además del estudio de las interacciones entre componentes.
3. Procesado, incluyendo la selección de los equipos más adecuados y las condiciones de operación óptimas.
4. Caracterización microestructural de las emulsiones.
5. Análisis de la estabilidad de las emulsiones.
6. Comercialización con énfasis en el valor añadido real del producto.

Una visión global de estas etapas indica que las propiedades funcionales, incluyendo la estabilidad de las emulsiones, están principalmente controladas por la microestructura de las mismas y en su evolución bajo las condiciones termo-mecánicas existentes durante su vida útil. La correlación entre una propiedad específica de la emulsión y su microestructura se denomina función de propiedad (Schubert et al, 2003). En este sentido es importante reparar en que la formulación, tanto desde el

punto de vista cualitativo, como cuantitativo, junto con las condiciones de procesado condicionan la formación de una microestructura determinada de la emulsión y, por tanto, indirectamente sus propiedades funcionales. La relación entre las condiciones de procesado y la microestructura de la emulsión se ha denominado función de proceso (Borho et al, 1991, Schubert et al, 2003).

La formulación de emulsiones se basa en un conocimiento lo más profundo posible de sus componentes básicos y de sus interrelaciones: la fase oleosa, la fase acuosa y el o los emulsionantes. En algunos casos para que la emulsión presente unas propiedades funcionales aceptables es también fundamental utilizar algún tipo de estabilizante o estabilizador. La estabilidad física de una emulsión está condicionada por el resultado de un balance complejo de fuerzas de atracción y repulsión entre las gotas de fase dispersa, condicionado por las condiciones fisicoquímicas del medio continuo (Evans y Wennerström, 1994). Finalmente, señalar que la inclusión de algún principio activo, alimento funcional o componente esencial para garantizar el valor añadido de la emulsión, dependerá de su compatibilidad con el medio donde se incorpore fundamentalmente: la fase oleosa (O), la fase acuosa (W) o la interfase.

2. LA FASE OLEOSA (O) DE LAS EMULSIONES

La fase oleosa de una emulsión puede estar constituida por un producto químico orgánico de síntesis, como por ejemplo: hidrocarburos, o grasas y aceites procedentes de materias primas apenas manipuladas, por tanto próximos a productos naturales de naturaleza orgánica, como por ejemplo, aceites vegetales. No obstante, también se utilizan fases oleosas basadas en lípidos naturales químicamente modificados, como por ejemplo grasas hidrogenadas. Entre los componentes más importantes de las fases oleosas de las emulsiones alimentarias se pueden citar los ácidos grasos y sobre todo los triglicéridos. Un resumen interesante sobre las estructuras químicas de los ácidos grasos y los lípidos, así como de las diferentes materias primas a partir de las cuales se obtienen se puede consultar en las obras de Gunstone (1997 a y b), Sikorski y Kola-kowska (2003) y O'Brien (2004). El resto de compuestos liposolubles presentes en la emulsión se concentrarán en la fase oleosa. Como ejemplos se pueden citar: vitaminas, colorantes liposolubles (carotenos), y esteroides. Los carotenos en la práctica se utilizan en forma cristalizada, siendo su solubilidad en fase oleosa bastante baja. Los carotenos como aditivos de emulsiones alimentarias se usan en forma emulsionada, consiguiéndose una mayor solubilidad que en fase oleosa (Schubert y Ax, 2003).

Entre las propiedades más importantes de las fases oleosas utilizadas en emulsiones alimentarias se encuentran, además de sus características organolépticas, la densidad, punto de fusión, viscosidad y tensión superficial (Mc Clements, 2004a). Todas estas propiedades son dependientes de la

estructura química concreta de los lípidos utilizados. Es también importante el carácter apolar de la fase oleosa ya que influye en las propiedades interfaciales de los emulsionantes. Por ejemplo, afecta a la intensidad de los cambios conformacionales de las proteínas adsorbidas en la interfase (Rampon et al, 2004 y Mc Clements, 2004b).

Merece atención especial, citar la importancia en el campo de las emulsiones alimentarias de los procesos de cristalización de lípidos, que deben ser analizados en profundidad incluyendo conceptos como el de líquidos subenfriados, procesos de nucleación de cristales, de cinética de crecimiento cristalino y el polimorfismo asociado a las distintas estructuras cristalinas que se pueden formar (Larsson, 1997).

En emulsiones W/O la cristalización de los lípidos del medio continuo puede favorecer la consistencia y propiedades de flujo de la emulsión, así como su estabilidad física. Por el contrario, en emulsiones O/W puede ser un problema debido a que la interpenetración de cristales de gotas cercanas puede favorecer la desestabilización de la emulsión mediante el mecanismo conocido como coalescencia parcial de gotas. Otro aspecto a considerar son las reacciones químicas que pueden sufrir las fases oleosas, fundamentalmente reacciones de hidrólisis de lípidos (ataque enzimático, tratamientos térmicos, contacto con humedad) y reacciones de oxidación, que provocan serios problemas organolépticos (Mc Clements, 2004a; Alamed et al, 2006).

La fase oleosa de las emulsiones constituye uno de los puntos de progreso en lo que respecta a formulaciones innovadoras. En el campo de las emulsiones alimentarias es de prever un interés creciente en el uso de aceites con propiedades funcionales, como por ejemplo: aceites de girasol alto oleico, aceites de oliva (refinado y virgen) y aceites vegetales enriquecidos en ácidos grasos poliinsaturados.

3. LA FASE ACUOSA (W) DE LAS EMULSIONES

La fase acuosa de las emulsiones raramente consiste en agua pura, lo normal es que además se encuentren varios productos de naturaleza hidrófila. Entre los componentes solubles en medio acuoso se encuentran: sales, ácidos, bases, azúcares, tensioactivos, proteínas (en los dos últimos casos puede ser por exceso respecto a las cantidades presentes en la interfase O/W, por incompatibilidad con la interfase o material desplazado de la misma durante el procesado), estabilizantes (polisacáridos, polímeros), conservantes y algunos colorantes (ejemplo: extracto de pimentón).

Desde un punto de vista químico es interesante distinguir entre las diferentes interacciones de las moléculas de agua con solutos iónicos, dipolares e hidrófobos, constituyendo la obra de Israelachvili (1992) una referencia clave para profundizar en estos aspectos. Respecto al agua en sí, debe prestarse atención al efecto de la cristalización en las

emulsiones sometidas a bajas temperaturas, sobre todo teniendo en cuenta la expansión de volumen que representa, reflejada en un claro descenso de densidad.

En algunas emulsiones O/W es decisivo el papel de los estabilizantes en la fase acuosa, papel que en emulsiones no alimentarias lo desempeñan principalmente polímeros sintéticos y en alimentarias, polímeros de naturaleza polisacáridica. Estos polisacáridos pueden llegar a controlar las propiedades de la fase acuosa en una emulsión.

Un factor decisivo para el éxito de una formulación es la correcta hidratación de biopolímeros, hidrocoloides tales como proteínas y polisacáridos en las emulsiones alimentarias y de polímeros sintéticos en otras emulsiones, que a su vez está condicionada por una dispersión previa eficaz de los componentes sólidos y de la presencia del resto de solutos en la fase acuosa (sales, ácidos, bases, azúcares, etc.) (Clark, 2004).

4. EMULSIONANTES

Un emulsionante es una molécula anfifílica, de bajo o alto peso molecular, que tiende a migrar y adsorberse rápidamente en la interfase aceite-agua, favoreciendo la formación de gotas con un menor consumo de energía, y por tanto la formación de la emulsión, al reducir la tensión interfacial.

Un emulsionante no es igual a un estabilizante, aunque estos términos se confunden en ocasiones. Lo que a veces se identifica como emulgente o emulsificante no es tal, sino un estabilizante, que a efectos prácticos no presenta actividad interfacial significativa. Sin embargo, los emulsionantes, además de facilitar la formación de las emulsiones, aportan desde la interfase una cierta estabilidad física, aunque puede ser durante un corto período de tiempo. En ciertos casos, son responsables de que la estabilidad física se prolongue durante un tiempo prolongado. Por ejemplo, las mayonesas sin polisacáridos añadidos y con un porcentaje en peso de aceite mayor o igual al 78% se mantienen estables durante un tiempo de vida comercial de al menos 1 año.

Como ejemplos de emulsionantes de bajo peso molecular se pueden citar los tensioactivos, lípidos polares y glicolípidos. Entre los emulsionantes de alto peso molecular, se pueden citar las proteínas, lipoproteínas, copolímeros de bloque (sintéticos) y algunos polisacáridos exudados como la goma arábiga. En este último caso la eficacia es sensiblemente inferior a los ejemplos anteriores y además se atribuye a la presencia de un pequeño porcentaje de proteínas enlazadas de forma covalente a una fracción de alto peso molecular del polisacárido (Dickinson, 2003).

4.1. Emulsionantes de bajo peso molecular

Entre los tensioactivos podemos distinguir los aniónicos, catiónicos, anfóteros (o zwitteriónicos) y

los no iónicos. Pueden utilizarse sintéticos, derivados de la industria del petróleo. Por ejemplo; dodecil sulfato de sodio, alcoholes grasos polietoxilados, sales alquílicas de amonio cuaternarias, alquil-betaínas (Tadros, 2005) o bien de materias primas alternativas, como los fosfolípidos (lecitinas de soja y de huevo), monoglicéridos obtenidos a partir de grasas y aceites mediante interesterificación con glicerol, ésteres de sacarosa, ésteres de sorbitano, polisorbatos, etc (Krog, 1997 a, b). Se utilizan también ésteres de monoglicéridos con ácidos orgánicos del tipo: acético, láctico, diacetiltartárico y cítrico, con lo que se logran emulsionantes con propiedades anfífilas diferentes a los monoglicéridos (Faergemand y Krog, 2003).

En fase acuosa pueden formar diversas estructuras de asociación, que pueden ser de naturaleza micelar e incluso líquido-cristalina (Muñoz y Alfaro, 2000). Se han llegado a establecer interesantes relaciones entre los diagramas de fase de tensioactivos y la estabilidad de las correspondientes emulsiones (Friberg, 2001). En la interfase, forman capas monomoleculares, aunque en ciertas condiciones pueden formar multicapas de naturaleza líquido-cristalina, que aumenta la viscoelasticidad de la interfase, favoreciendo el procesado y estabilidad de las emulsiones. Un ejemplo interesante es el de salsas finas que contienen lecitina de huevo, en las que se han podido observar láminas líquido-cristalinas mediante microscopía con luz polarizada (Krog, 1997a)

Otra fuente de emulsionantes interesantes es la biotecnología, constituyendo el emulsan un ejemplo interesante al ser un tensioactivo de naturaleza macromolecular obtenido por fermentación microbiana (Kim et al, 2000).

Un concepto importante para la selección de un emulsionante o una mezcla óptima de emulsionantes, al menos para los de baja masa molecular, es el balance hidrófilo lipófilo, HLB. Los emulsionantes son de naturaleza anfífilica, pero pueden tener una mayor o menor tendencia a solubilizarse en medio oleoso o acuoso, dependiendo de la importancia relativa de sus grupos hidrófilos (cabezas polares o grupos etoxilados) e hidrófobos (cadenas largas hidrocarbonadas, $C \geq 12$). Si el emulsionante tiende a ser soluble en agua será útil para formar emulsiones O/W. Por el contrario, si su parte apolar es dominante se disolverá preferentemente en un medio oleoso y, como consecuencia, será más útil para la formación de emulsiones W/O. Desde un punto de vista cuantitativo, se distinguen en la literatura tres conceptos con denominaciones similares pero definiciones diferentes: HLB, número HLB y la temperatura HLB, o PIT (temperatura de inversión de fases) (Shinoda y Friberg, 1986).

El HLB indica la tendencia dominante, hidrófila o lipófila, de un emulsionante en una formulación y condiciones externas concretas. Es decir, es sensible al tipo de la fase oleosa de la emulsión, a los tipos y concentraciones de aditivos presentes tanto en la fase acuosa como en la oleosa y también a la temperatura.

El número HLB se asocia a la estructura química de cada emulsionante, independientemente de las condiciones específicas de su aplicación. Es uno de los criterios principales para la selección de los tensioactivos a emplear en emulsiones. Existen diversos métodos para calcularlo, recomendándose el libro de Shinoda y Friberg (1986) para un estudio detallado de los mismos. La Tabla 1 presenta una selección de tensioactivos y sus correspondientes HLB. Los emulsionantes con número HLB comprendido entre 8 y 18 se recomiendan para formar emulsiones O/W. En el caso de las emulsiones W/O, los intervalos varían ligeramente según la fuente consultada: entre 4y 6 (St. Angelo, 1989) o entre 3 y 6 (Friberg, 1997).

La temperatura HLB (o PIT), temperatura de inversión de fases es una propiedad de la emulsión en sí y no del emulsionante. Es la temperatura a la que las propiedades hidrófilas y lipófilas de un tensioactivo no iónico se equilibran. En el caso de los tensioactivos iónicos, el HLB no varía significativamente con la temperatura pero si es sensible a la presencia de cotensioactivos.

4.2. Emulsionantes de alto peso molecular

Los polímeros sintéticos de naturaleza muy hidrófila o muy hidrófoba no son útiles como emulsionantes al no ser suficientes sus propiedades anfífilas. Una de las soluciones utilizadas para emulsiones no alimentarias consiste en el uso de copolímeros de bloque. Un ejemplo lo constituye el Synperonic PEF 127, un copolímero de bloque ti-

Tabla 1
Números HLB de tensioactivos comerciales usados como emulsionantes

Span 85 ¹	Trioleato de sorbitano	1,8
Monestriol GE ²	Monoestearato de glicerina	3,8
Span 80 ¹	Monooleato de sorbitano	4,3
Span 60 ¹	Monoestearato de sorbitano	4,7
Brij 52 ¹	Hexadecil eter dietoxilado	5,3
Span 40 ¹	Monopalmitato de sorbitano	6,7
Span 20 ¹	Monolaurato de sorbitano	8,6
Brij 30 ¹	Lauril eter polietoxilado	9,7
Brij 97 ¹	Oleil eter polietoxilado	12,4
Triton X-100 ³	Octilfenol polietoxilado	13,5
Tween 60 ¹	Monoestearato de sorbitano polietoxilado	14,9
Tween 80 ¹	Monooleato de sorbitano polietoxilado	15
Tween 20 ¹	Monolaurato de sorbitano polietoxilado	16,7

Los tensioactivos de la tabla son comercializados respectivamente por ¹Uniqema Inc.(ICI), ²Union Deriva, S.A., ³Dow Chemical Company.

po A-B-A formado por grupos óxido de polietileno (100 unidades de media por macromolécula) y grupos óxido de propileno (55 unidades de media por macromolécula) (Tadros, 2004). La diferencia en el número de grupos EO y PO, que permiten el establecimiento de puentes de hidrógeno con agua, y su distinta naturaleza, justifica el carácter anfílico de estos emulsionantes. Otros copolímeros de bloque interesantes son los denominados "de estrella", habiéndose comprobado sus aplicaciones en emulsiones tanto O/W como W/O (Frigberg y Yang, 1996).

Otra de las soluciones utilizadas para compensar las propiedades hidrófilas de ciertos polímeros, es vía preparación de polímeros modificados hidrofóticamente (hidroxicelulosa y ácido poliacrílico modificados, HMHEC y HMPAA).

En el campo de las emulsiones alimentarias es evidente el predominio de las proteínas como emulsionantes macromoleculares, debido a que están presentes en cantidades significativas en materias primas naturales comestibles. Si bien las materias primas más conocidas de proteínas para uso como emulsionantes son de origen animal (huevo y leche), las de origen vegetal se están usando cada vez más (soja, guisantes, altramuces, gluten de trigo) (Franco *et al*, 2000; Raymundo *et al*, 2001, Bengoechea *et al*, 2005).

Las proteínas para ejercer su función emulsionante siguen un mecanismo en tres etapas. La primera consiste en su transporte convectivo desde la fase continua a la interfase, la segunda en su adsorción en la interfase y la tercera en una reorganización de su estructura en la interfase, que recibe el nombre de desnaturalización superficial (Hill, 1998).

En muchos productos alimentarios están presentes varios emulsionantes simultáneamente, por ejemplo en el huevo y la leche. En estos casos se han descrito tres tipos de mecanismos de adsorción en la interfase (Bergenthal y Claesson, 1997).

- a) Competitiva: la interfase consiste en una monocapa homogénea formada por el emulsionante que rebaja en mayor medida la tensión interfacial, siendo capaz de desplazar a otros con propiedades interfaciales más pobres. Una de las consecuencias evidentes de la adsorción competitiva es que la composición de la capa de emulsionante en la interfase es diferente a la existente en la fase continua (Dickinson y Stainsby, 1987). La siguiente secuencia muestra la actividad interfacial comparada de algunos emulsionantes alimentarios de referencia: emulsionantes de baja masa molecular (tensoactivos) >> proteínas flexibles y grandes (β -caseína) > proteínas globulares pequeñas (lactoglobulina) > polisacáridos.
- b) Asociativa: la interfase está formada por una monocapa compuesta por varios emulsionantes, que por tanto es de naturaleza heterogénea. Las forman frecuentemente mezclas de emulsionantes naturales y técnicos.

Otro ejemplo es el de emulsionantes naturales, como el huevo, donde existen mezclas de lipoproteínas y fosfolípidos.

- c) Secuencial: se forman multicapas por adsorción de una capa de emulsionante sobre otra de un emulsionante distinto. Este sería el caso de la adsorción de polisacáridos sobre la interfase de gotas de aceite recubiertas de emulsionante.

La etapa de desnaturalización superficial de las proteínas recién adsorbidas en la interfase O/W consiste en la existencia de cambios conformacionales para optimizar las interacciones hidrófobas e hidrófilas en la interfase. La disposición de las proteínas en la interfase depende de su concentración en la interfase y de su naturaleza química, que provoca a su vez la formación de estructuras flexibles o globulares. A baja concentración, las proteínas flexibles se pueden colocar a lo largo de la interfase O/W favoreciendo el contacto interfase-polímero y desfavoreciendo los contactos polímero-fase continua e interfase-fase continua (estructura denominada en inglés "trains"). Otras disposiciones son conocidas como "colas", que implica la extensión de cadenas largas hidrófilas hacia la fase acuosa y "lazos", con cadenas que se extienden parcialmente hacia la fase acuosa pero que retornan para permitir que algunos segmentos entren en contacto con la interfase.

La cinética de la desnaturalización superficial depende de la flexibilidad de la molécula y de su estructuración en la interfase. Es rápida para las proteínas flexibles (Ej.: caseínas) y más lenta para proteínas rígidas (Ej.: β -lactoglobulina), que puede llegar a escala de tiempos del orden de días (Freer *et al*, 2004, McClements, 2004b). Esto significa que son esperables cambios en las propiedades de algunas emulsiones en días (Muñoz *et al.*, 2004a). La desnaturalización superficial de un buen número de proteínas globulares implica la exposición de grupos hidrófobos no sólo hacia el medio oleoso sino que también hacia la fase acuosa. También se exponen aminoácidos con grupos sulfrídilo. Conjuntamente, esto puede favorecer interacciones atractivas entre proteínas adsorbidas en gotas cercanas, mediante interacciones hidrófobas y puentes disulfuro. La aplicación de tratamientos térmicos por encima de la temperatura de desnaturalización de las proteínas globulares puede producir un efecto similar al anteriormente descrito (Moros *et al*, 2003). Algo parecido puede ocurrir tras tratamientos a alta presión (Dickinson y James, 2000).

Una alternativa interesante es la formación de multicapas de proteínas alrededor de la interfase ya que una elevada concentración de proteínas en la interfase y en las cercanías de la misma, puede mejorar las propiedades mecánicas de la interfase y por tanto favorecer la estabilidad física de la emulsión (Hill, 1998).

Un exceso de concentración de proteína provocará una acumulación de la misma en la fase continua. Dichas proteínas pueden interaccionar con las adsorbidas en la interfase, provocando problemas de

desestabilización o, por el contrario, haciendo posible la estabilización de la emulsión (Zapata, 2005)

5. ESTABILIZANTES

Un estabilizante o estabilizador es un compuesto químico normalmente de naturaleza macromolecular que hidratado en la fase acuosa confiere a una emulsión O/W una estabilidad física durante un tiempo prolongado. La estabilización de la emulsión se consigue restringiendo la movilidad de las gotas de la fase dispersa, gracias al aumento de viscosidad y, en ocasiones de la viscoelasticidad, de la fase continua.

Los estabilizantes contribuyen a la estabilidad de la emulsión favoreciendo principalmente las interacciones estéricas entre las gotas, si bien también pueden ser significativas las electrostáticas.

Como ejemplos de estabilizantes se pueden citar: polímeros sintéticos hidrófilos y polisacáridos: goma xantana, galactomananos, almidones, etc.

Los polímeros estabilizantes pueden realizar su función si se alcanza una concentración superior a la crítica (C^*) para la transición de un comportamiento típico de disolución diluida a disolución concentrada. En ocasiones la concentración límite no es tan clara y se ha definido una zona de transición, entre dos concentraciones críticas, C^* y C^{**} (Ross-Murphy, 1995 a). A concentraciones superiores a C^* o C^{**} las interacciones entre polímeros son mucho más importantes que las polímero-disolvente. Es decir, o hay una fuerte competencia por agua entre macromoléculas de polímeros cercanas y por tanto tienden a moverse como una unidad estructural solidaria (típica situación entre C^* y C^{**}) o a concentraciones más altas se produce una estructura basada en entrelazamientos físicos temporales entre las macromoléculas, que ocupan todo el volumen ocupado por la fase acuosa (zona semidiluida o concentrada). En estas condiciones consiguen gelificar la fase continua de las emulsiones O/W (Frigberg, 1997). Es decir no sólo aumentan su viscosidad sino que son responsables de la manifestación de propiedades viscoelásticas suficientemente importantes como para que se puedan determinar, cuantitativamente con la tecnología actual. En la práctica, debe distinguirse entre la formación de una estructura denominada de gel débil de la formada por un gel fuerte ya que la consistencia de la emulsión y sus propiedades reológicas serían completamente distintas. La diferenciación entre el comportamiento de una disolución macromolecular concentrada, un gel débil y un gel fuerte es bastante clara mediante ensayos viscoelásticos dinámicos en cizalla oscilatoria de baja amplitud y curvas de flujo en estado estacionario (Ross-Murphy, 1995 b)

A concentraciones inferiores a C^* , los polímeros pueden estabilizar las emulsiones cuando son de naturaleza aniónica, catiónica o anfótera, mediante interacciones electrostáticas.

En emulsiones cosméticas el mecanismo de estabilización puede estar basado en la formación de

complejos polímero-tensioactivo, que facilitan la formación de una matriz estructural con propiedades mecánicas adecuadas (Bais y Lapasin, 2003).

Los polímeros usados para estabilizar emulsiones alimentarias O/W son mayoritariamente hidrocoloides de naturaleza polisacáridica (gomas alimentarias). Se pueden clasificar en naturales, semisintéticos y sintéticos. Ejemplos de las primeras pueden ser: carragenatos, goma de garrofín, pectinas, gomas xantana y gelana, y almidones obtenidos a partir de cereales. Entre los semisintéticos, se pueden destacar los almidones modificados (Thomas y Atwell, 1999) y el propilenglicol alginato. Los polímeros de tipo polioxetilados se pueden citar entre los sintéticos (Da Silva, 1992). La Tabla 2 presenta una lista con hidrocoloides seleccionados de entre los que encuentran aplicaciones como estabilizantes y espesantes en emulsiones, incluyendo su número E. Para más información se puede consultar el trabajo de Sworn (2004).

Para terminar esta sección es importante destacar que las concentraciones de aplicación de los biopolímeros a usar como estabilizantes deben ser ajustadas convenientemente para evitar problemas de desestabilización por floculación inducida por puentes entre macromoléculas adsorbidas en gotas cercanas o por expulsión de macromoléculas del medio continuo de gotas también cercanas, fenómeno que ha sido estudiado por muchos autores tanto desde un punto de vista tanto teórico como aplicado (Waltz, 2000, Vélez et al, 2003, Dickinson, 2004). Además deben tenerse en cuenta variables tales como fuerza iónica, pH, temperatura y etapa del procesado en el que se van a incorporar a las emulsiones. No es lo mismo adicionarlos antes que después del proceso de formación de las emulsiones.

La inclusión voluntaria o no de partículas sólidas en la interfase pueden favorecer la estabilidad de las emulsiones, al formarse una barrera de protección mecánica en torno a las gotas de fase dispersa. Por ejemplo, monoglicéridos cristalizados y asfaltenos

Tabla 2
Hidrocoloides utilizados como estabilizantes de emulsiones

Hidrocoloide	Número E	Origen
Goma de garrofín	E 410	Semilla
Goma guar	E 412	Semilla
Goma tara	E 417	Semilla
Goma xantana	E 415	Microbiano
Propilenglicol alginato	E 405	Algas
Pectinas	E 440, E440ii	Piel de cítricos, remolacha
Adipato acetilado de dialmidón	E 1422	Maiz
Fosfato de dialmidón hidroxipropilado	E 1442	Maiz

en emulsiones de crudo de petróleo. La clave está en las propiedades de mojado de las fases oleosa y acuosa en relación con las partículas sólidas, siendo un ángulo de contacto de 90° la situación más favorable para la estabilidad de la emulsión.

6. INTERACCIONES PROTEÍNA-POLISACÁRIDOS

La composición de muchas emulsiones alimentarias incluye proteínas (emulsionantes) y polisacáridos (estabilizantes), biopolímeros que conjuntamente controlan la consistencia y textura del producto. Son de hecho, los compuestos responsables de la estructura de las emulsiones, junto con las gotas de la fase dispersa.

Las proteínas y polisacáridos presentes en una formulación pueden interactuar de formas diferentes según sus respectivas estructuras químicas, temperatura y el resto de la composición (Dickinson, 1995). Estas interacciones pueden ser atractivas o repulsivas, débiles o fuertes y específicas o no específicas. La formación de complejos proteína-polisacárido estables frente a diferentes condiciones del medio (pH, contenido en sales, azúcar, etc) requiere la formación de enlaces covalentes, normalmente tras tratamiento térmico controlado bajo condiciones de actividad de agua baja. Es frecuente que los sistemas proteína-polisacárido presenten separación de fases a nivel macroscópico e incluso a nivel microscópico. Los mecanismos de separación de fases identificados en sistemas proteína-polisacáridos son dos (Tolstoguzov, 1998).

- a) coacervación compleja, consistente en la separación espontánea del sistema en una fase constituida por un coprecipitado de los dos biopolímeros y la otra en una fase enriquecida en el disolvente. Este mecanismo es esperable cuando las interacciones proteína-polisacárido son de naturaleza atractiva.
- b) incompatibilidad termodinámica, cuando se produce la separación de dos fases ricas en disolvente, concentrándose casi todas las proteínas en una y casi todos los polisacáridos en la otra fase. La existencia de incompatibilidad termodinámica en emulsiones se está comprobando con eficacia mediante microscopía láser confocal de barrido (CSLM) (Moschakis et al 2005)

Si se consideran los casos en que las interacciones proteína-polisacárido son débiles o inexistentes habrá que concluir que no se puede aceptar la existencia de complejos estables, incluyendo los casos en que el tiempo de vida de dichos sistemas es despreciable frente al de la emulsión. Un ejemplo lo constituyen las interacciones repulsivas entre biopolímeros, que son no específicas y transitorias. Se producen a partir de efectos de exclusión de volumen (el concepto consiste en que el volumen ocupado por uno de los biopolímeros no puede ser ocupado por el

otro, que se encontrará "concentrado" en el resto de volumen disponible) (Grosberg y Khokhlov, 1997) e interacciones electrostáticas. Son esperables en mezclas proteína-polisacárido no iónico o proteína polisacárido aniónico a pH superior al punto isoelectrico (pI) de la proteína, cuando está cargada negativamente. Un ejemplo concreto de sistema proteínas-polisacárido sin interacciones específicas es el formado por dispersiones acuosas de yema de huevo deshidratada por atomización y goma xantana. Se ha demostrado mediante técnicas reológicas que el control lo ejerce la goma xantana, desempeñando la yema de huevo el papel de una carga ("filler") que no modifica significativamente la viscoelasticidad de estos sistemas (Muñoz et al, 2001).

La existencia de interacciones proteína-polisacárido fuertes requiere la existencia de enlaces covalentes o interacciones electrostáticas atractivas. Estas se dan entre proteínas cargadas positivamente (a $\text{pH} < \text{pI}$) y polisacáridos aniónicos, sobre todo cuando la fuerza iónica es baja, provocando la formación de coprecipitados insolubles de ambos biopolímeros (coacervación compleja). Las claves de la formación de complejos solubles no están suficientemente resueltas. Un ejemplo: un polisacárido sulfatado altamente cargado (dextrano) puede formar un complejo soluble con la proteína globular BSA a $\text{pH} > \text{pI}$, pero esta situación no se puede generalizar a polisacáridos con grupos carboxilato a $\text{pH} > \text{pI}$ (Dickinson, 1995).

Los complejos proteína-polisacárido covalentes se pueden incorporar al sistema a emulsionar antes de la homogeneización (emulsificación) en sí. Actúan como emulsionantes que forman membranas interfaciales gruesas, en las que las macromoléculas del polisacárido se extienden hacia la fase continua de emulsiones O/W, impartiendo estabilidad mediante fuertes repulsiones estéricas. Estas emulsiones requieren una menor concentración total de biopolímeros y presentan un comportamiento mejorado frente a variables como cambios de temperatura, presión, pH, etc (McClements, 2004c).

Alternativamente se pueden aprovechar las interacciones electrostáticas atractivas entre una proteína (o un emulsionante de baja masa molecular, como la lecitina) y un polisacárido para utilizar el emulsionante en una primera etapa de la homogeneización y formar una emulsión grosera. En una segunda etapa, se añade el polisacárido para realizar una homogeneización secundaria que permite la formación de una bicapa de biopolímeros en la interfase. Siguiendo este método se pueden formar emulsiones con multicapas de emulsionante y polisacáridos (McClements, 2004c).

7. FORMULACIÓN DE EMULSIONES O/W CON BAJO CONTENIDO EN FASE OLEOSA. ESTUDIO DEL CASO DE LAS SALSAS FINAS

Las salsas finas son emulsiones O/W similares a las mayonesas, llevan yema de huevo en su for-

mulación como emulsionante, pero con un contenido en aceite del orden del 35% en peso o inferior. Se trata de un ejemplo de emulsiones con fase continua semisólida donde las gotas de aceite pueden reforzar o debilitar la estructura del gel previamente formado. Si las gotas de fase dispersa son de mayor tamaño que los poros de la estructura gelificada, la consistencia disminuye como consecuencia de la distorsión creada en la estructura inicial. Por el contrario, si las gotas son de menor tamaño que los poros del gel, el aceite se podrá insertar bien en la estructura de la fase continua gelificada y por tanto la estructura final resulta reforzada por las gotas de la fase dispersa (McClements, 2004a). En el primero de los casos, la expulsión de aceite de la fase gelificada, provoca la rotura de la emulsión tras un tiempo de envejecimiento inferior al esperable para la concentración de biopolímeros utilizada. El segundo, da lugar a una estabilidad física plenamente aceptable.

Se ha comprobado mediante ensayos reológicos y comparación de las distribuciones de tamaños de gotas de aceite que la utilización de mezclas de almidón modificado, gelificado en presencia de goma xantana permite la producción de emulsiones tipo salsas finas de estabilidad física comprobada de al menos once meses (Pascual et al, 1999). La reología de estas emulsiones no está controlada por la totalidad de la fase continua. De hecho, el sistema que controla la consistencia y reología de estas emulsiones es un sistema más sencillo, el gel formado por el almidón. Esto significa que, aparentemente, la contribución de la goma xantana no es tan decisiva respecto a la consistencia de la emulsión, como podría esperarse. La incorporación de la yema de huevo (emulsionante), de los compuestos complementarios de la fase continua (ácidos, azúcar, sales) y de la fase dispersa no influye decisivamente en la reología controlada por el gel de almidón (Vélez et al, 2000).

Los almidones no se usan directamente en las formulaciones de emulsiones ligeras, deben ser gelificados previamente bajo condiciones controladas de temperatura final, tiempo de tratamiento y aplicación de energía mecánica (Martínez et al, 2003). De hecho, los almidones modificados gelificados consisten en una pasta formada por gránulos hinchados tras la incorporación de agua y algo de material macromolecular (fundamentalmente amilosa) lixiviado al medio continuo acuoso. Las mezclas de almidón con polisacáridos como pectinas de alto metoxilo (Fernández et al, 2002, Cabeza et al 2005), goma xantana (G. Vélez, 2002), goma gellan (Cabeza et al, 2002), goma tara (Muñoz, 2004b) tienen como objetivo conseguir efectos de sinergia positiva respecto al poder espesante de la mezcla de polisacáridos y por ende en las correspondientes emulsiones. Otro punto a tener en cuenta, respecto a la formulación de estos sistemas es la cuestión del orden de hidratación de los polisacáridos, obteniéndose productos diferentes si se hidratan mezclas almidón-goma directamente o se establece un orden determinado (Conde-Petit et al, 1997).

8. TENDENCIAS EN LA FORMULACIÓN DE EMULSIONES

La tecnología asociada a las emulsiones debe tender a establecer formulaciones basadas en la ingeniería del producto en detrimento de estrategias basadas en el ensayo y error. Para ello, se debe aplicar una metodología multidisciplinar que abarque tanto un profundo conocimiento de la química de los ingredientes utilizados (diseño de emulsiones con multicapas y de emulsiones múltiples), como aspectos físicos (Ej.: separaciones gravitacionales), de la ingeniería química (búsqueda de nuevas materias primas con propiedades emulsionantes, producción de emulsiones monomodales y nanoemulsiones) y de procesos (equipos diseñados bajo el principio de la integración de operaciones: homogeneizadores que incorporen la capacidad de aplicar los tratamientos térmicos necesarios dentro de la misma máquina), de la ingeniería de materiales, para cubrir aspectos de la caracterización microestructural de las emulsiones. Además, dependiendo del tipo de emulsiones pueden ser relevantes estudios de factores biológicos con énfasis en la microbiología (conservación de productos), sensoriales, farmacológicos y médicos. La aplicación de la ingeniería del producto implica el conocimiento de las interacciones existentes entre las distintas disciplinas. A título de ejemplo, un cambio en la naturaleza química de un polímero podría repercutir en una mejora o no de la estabilidad física de una emulsión, pero al mismo tiempo puede condicionar tanto el equipo óptimo para la homogeneización como las condiciones de operación (Ej.: historia termo-mecánica previa a producción) y percepción sensorial de la emulsión. Finalmente, parece claro que un pequeño cambio en la química de los ingredientes claves puede dar lugar a cambios significativos en la microestructura de la emulsión.

Otro aspecto que tendrá una importancia creciente en la formulación de emulsiones son los aspectos medio ambientales (pinturas emulsionadas de base acuosa y no orgánica), de efectos toxicológicos y secundarios en los campos cosmético, farmacéutico y médico. En el campo de las emulsiones alimentarias la tendencia clara es hacia productos nutracéuticos de gran valor añadido y uso de ingredientes (productos naturales) en detrimento de aditivos (productos obtenidos tras tratamientos químicos). En este sentido es de esperar progresos en el uso de tratamientos físicos para acondicionar adecuadamente ciertas materias primas (tratamientos térmicos, mecánicos y a alta presión). Un factor adicional importante cuando se tiende a usar productos naturales o "casi naturales" es la consistencia de los lotes de producción, sometidos a inevitables cambios en las propiedades de las materias primas.

Finalmente, destacar que los objetivos de I+D+i en el campo de la formulación de emulsiones deben cubrir la actual distancia entre los estudios sobre emulsiones modelo y emulsiones comerciales,

lo que reitera la necesidad de fomentar equipos de trabajo multidisciplinares que con una sinergia positiva contribuyan a un avance significativo en el campo de la formulación de emulsiones.

AGRADECIMIENTOS

Los autores quieren expresar su agradecimiento al Ministerio de Educación y Ciencia, la Comisión Europea y Corporación Alimentaria Peñasanta, S.A. por la financiación recibida (Proyectos AGL2002-03898 y PETRI95-0774-OP.03.01).

BIBLIOGRAFÍA

- Alamed J, McClements DJ, Decker EA. 2006. Influence of heat processing and calcium ions on the ability of EDTA to inhibit lipid oxidation in oil-in-water emulsions containing omega-3 fatty acids. *Food Chem.* **95**, 585-590
- Bais D, Lapasin R. 2003. Studio di matrici polisaccaridiche per emulsioni: interazioni polimero tensioattivo e proprietà reologiche. *Riv. Ital. Sostanze Grasse* **80**, 129-139.
- Becher, P. 1985. Enciclopedia of Emulsion Technology, M. Dekker, N.York.
- Bengoechea C, Cordobés F, Guerrero, A. 2005. Proteínas de gluten de trigo como agentes emulsionantes en emulsiones concentradas O/W en Velázquez M, Merchán, M (Eds.) *Coloides e Interfases*, 345-350. Ediciones Universidad de Salamanca. Salamanca.
- Bergenstahl, BA, Claesson, PM. 1997. Surface Forces in Emulsions en Friberg SE y Larsson K (Eds.) *Food Emulsions* 3rd Ed, 141-188, M.Dekker, N. York
- Borho K, Polke R, Wintermantel, K, Schubert H, Sommer K. 1991. Produkteigenschaften und Verfahrenstechnik. *Chem. Ing. Techn.* **63**, 792-808.
- Cabeza C, Alfaro MC, Flores V, Muñoz J. 2002. Influence of the addition of gellan gum on the rheology of low-calorie mayonnaise stabilised with modified starch en Martínez Boza, Guerrero A, Partal P, Franco, JM, Muñoz, J. (Eds.) *Progress in Rheology. Theory and Applications*. 477-480. Grupo Español de Reología. Sevilla.
- Cabeza C, Alfaro MC, Flores V, Muñoz J. 2005. Estabilidad física de emulsiones O/W con bajo contenido en aceite mediante la mezcla de almidón modificado y pectinas de alto metoxilo en Velázquez M, Merchán, M (Eds.) *Coloides e Interfases*, 371-376. Ediciones Universidad de Salamanca. Salamanca.
- Clark, R. 2004. Hydration, the forgotten hydrocolloid property en Williams PA, Phillips, GO. (Eds.) *Gums & Stabilisers for the Food Industry* **12**, 346-353 Royal Society of Chemistry. Cambridge.
- Conde-Petit B, Pfirter A, Escher, 1997. Influence of xanthan on the rheological properties of aqueous starch-emulsifier systems. *Food Hydrocoll* **11**, 393-399.
- Da Silva JAL, Rao MA. 1992. Viscoelastic Properties of Food Hydrocolloid Dispersions en Rao MA, Steffe, JF. (Eds.) *Viscoelastic Properties of Foods* 285-315. Elsevier, London.
- Dickinson E, Stainsby G. 1987. Progress in the Formulation of Food Emulsions and Foams. *Food Technol.* **45**, 75-116
- Dickinson E. 1995. Emulsions stabilization by polysaccharides and protein-polysaccharide complexes en A.M. Stephen (Ed.) *Food Polysaccharides and their applications*. 501-515. Marcel Dekker, New York.
- Dickinson E, James JD. 2000. Influence of high-pressure treatment on β -lactoglobulin-pectin associations in emulsions and gels. *Food Hydrocoll.* **14**, 365-376.
- Dickinson. E. 2003. Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. *Food Hydrocoll.* **17**, 25-39.
- Dickinson E. 2004 Effect of hydrocolloids on emulsion stability en Williams PA, Phillips, GO. (Eds.) *Gums & Stabilisers for the Food Industry* **12**, 394-404. Royal Society of Chemistry. Cambridge.
- Evans DF, Wennerström, H. 1994. The Colloidal Domain. Where Physics, Chemistry, Biology and Technology Meet. VCH Publishers, N.York.
- Faergemand M and Krog, N. 2003. Using emulsifiers to improve food texture en McKenna BM. (Ed.) *Texture in Food. Volume 1: Semi-Solid Foods*. 10, 1-35. Woodhead Publishing, Cambridge.
- Fernández MA, Alfaro MC, Muñoz J. 2002. Effect of the homogenisation speed on the rheological properties of low-oil content emulsions stabilised by a blend of modified starch and HM-pectin en Martínez Boza, Guerrero A, Partal P, Franco, JM, Muñoz, J. (Eds.) *Progress in Rheology. Theory and Applications*. 485-488. Grupo Español de Reología. Sevilla.
- Franco JM, Partal P, Ruiz Márquez D, Conde B, Gallegos C. 2000. Influence of pH and protein thermal treatment on the rheology of pea protein-stabilized emulsions. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **77**, 975-983.
- Freer EM, Yim KS, Fuller CG, Radke CJ. 2004. Interfacial rheology of globular and flexible proteins at the hexadecane/water interface: comparison of shear and dilatation deformation *J. Phys. Chem. B*, **108**, 3835-3844.
- Friberg, S, Yang, J. 1996. Emulsion Stability en Sjöblom J. (Ed.) *Emulsions and Emulsion Stability*, 1-40. Marcel Dekker, New York.
- Friberg, S. 1997 Emulsion stability en Friberg SE y Larsson K (Eds.) *Food Emulsions* 3rd Ed, 1-56, Marcel Dekker, New York.
- Friberg, S. 2001. A Few Examples of the Importance of Phase Diagrams for the Properties and Behavior of Emulsions en Sjöblom J. (Ed) *Encyclopedic Handbook of Emulsion Technology*, 47-58, Marcel Dekker. New York.
- Garti N, Benichou, A. 2003. Recent Developments in Double Emulsions for Food Applications en Friberg SE, Larsson K y Sjöblom J. (Eds.) *Food Emulsions 4th edition. Revised and Expanded* 10, 1-60. Marcel Dekker, New York.
- Grosberg AY, Khokhlov AR., 1997 *Giant Molecules*, Academic Press. San Diego.
- Gunstone, F.D. 1997a. Fatty Acids and Lipids Structure en Gunstone, FD y Padley FB (Eds.) *Lipid technologies and applications*, 1-18, Marcel Dekker, New York.
- Gunstone, F.D. 1997b. Major Sources of Lipids en Gunstone, FD y Padley FB (Eds.) *Lipid technologies and applications*, 19-50, Marcel Dekker, New York.
- Hill, SE. 1998 Emulsions and Foams en Hill, SE Ledward, DA, Mitchell, J.R. (Eds.) *Functional Properties of Food Macromolecules*, 302-334, Aspen Publishers Gaitersburg.
- Israelachvili, JN. 1992. Intermolecular and Surface Forces. Academic Press, London.
- Kim P, Oh DK, Lee JK, Kim SY, Kim JH. 2000. Biological Modification of the Fatty Acid Group in an Emulsan by Supplementing Fatty Acids under Conditions Inhibiting Fatty Acid Biosynthesis, *Biosci. Bioengin.* **90**, 308-312.
- Krog NJ. 1997a. Food Emulsifiers and Their Chemical and Physical Properties en Friberg, SE y Larsson K (Eds.) *Food Emulsions* 3rd Ed, 141-188, Marcel Dekker, New York.

- Krog NJ. 1997b Food emulsifiers en Gunstone, FD y Padley FB (Eds.) *Lipid technologies and applications*, 521-534, Marcel Dekker, New York.
- Larsson, K. 1997. Molecular organization of Lipids en Friberg, SE y Larsson K (Eds.) *Food Emulsions* 3rd Ed, 111-140, Marcel Dekker, New York.
- Martínez I; Partal P, Muñoz J, Gallegos C. 2003. Influence of thermal treatment on the flow of starch-based food emulsions. *Eur Food Res Technol.* **217**, 17-22.
- McClements, DJ. 2004a. Food emulsions. Principles, Practice and Techniques. 2nd edition. CRC Press, Boca Raton (Florida).
- McClements, DJ. 2004b. Protein-stabilized emulsions. *Curr. Opin Colloid Interface Sci.* **9**, 305-313.
- McClements, 2004c. Role of hydrocolloids as emulsifiers in foods en Williams PA, Phillips, GO. (Eds.) *Gums & Stabilisers for the Food Industry* **12**, 381-393. Royal Society of Chemistry, Cambridge.
- McClements, 2005. Theoretical analysis of factors affecting the formation and stability of multilayered colloidal dispersions. *Langmuir* **21**, 9777-9785.
- Moros JE, Cordobés F, Franco JM, Gallegos C. 2003. Enhancement of gel strength by application of thermal treatments in highly flocculated emulsions. *Food Hydrocoll.* **17**, 199-206.
- Moschakis T, Murray BS, Dickinson E. 2005. Microstructural evolution of viscoelastic emulsions stabilised by sodium caseinate and xanthan gum. *J. Colloid Interface Sci.* **284**, 714-728.
- Muñoz J, Alfaro MC, Ruiz M, de la Fuente J, Martínez M, Torres DP, Gonçalves, MP. 2004b. Rheological and interfacial properties of tara gum as additive of reduced-calorie mayonnaise en Diogo AC, Alvarenga NB, Canada J, Ferro S. (Eds.) *Progress in Rheology of Biological and Synthetic Polymer Systems*. 163-168. I. Politec Beja Public. Beja.
- Muñoz J, Alfaro MC. 2000. Rheological and phase behaviour of amphiphilic lipids. *Grasas y Aceites* **51**, 6-25.
- Muñoz J, Hudson NE, Vélez, G, Alfaro MC, Ferguson J. 2001. Rheological behaviour of spray-dried egg yolk/xanthan gum aqueous dispersions. *Rheol Acta* **40**, 162-175.
- Muñoz J, Zapata I, Alfaro MC, Berjano M, Flores V, de la Fuente J, Ruiz M. 2004 a. Short term ageing of O/W emulsions homogenised in a colloid mill pilot plant: a rheological and laser diffraction study en Diogo AC, Alvarenga NB, Canada J, Ferro S. (Eds.) *Progress in Rheology of Biological and Synthetic Polymer Systems*. 67-72. I. Politec Beja Public. Beja.
- O'Brien RD. 2004. Fats and Oils. Formulating and Processing for Applications. 2nd edition. CRC Press. Boca Raton.
- Pascual C, Alfaro MC, Muñoz, J. 1999. Rheology and Physical Stability of Low-Calorie Salad Dressings en Dickinson E, Rodríguez Patino JM. (Eds.) *Food Emulsions and Foams. Interfaces, Interactions and Stability*. 356-365. Royal Society of Chemistry, Cambridge.
- Rampon V, Brossard C, Mouhous-Riou N, Bousscau B, Llamas G, Genot, C. 2004. The nature of the apolar phase influences the structure of the protein emulsifier in oil in water emulsions stabilized by bovine serum albumin. A front-surface fluorescence study. *Adv. Colloid Interface Sci.* **108-109**, 87-94.
- Raymundo A, Empis J, Sousa I, Gallegos C, Franco, JM. 2001. Influencia de la relación proteína de atramuz/tensioactivo en las propiedades de flujo y texturales de emulsiones aceite en agua. *Grasas y Aceites* **52**, 235-240.
- Ross-Murphy SB. 1995 a Rheology of Biopolymer Solutions and Gels en Dickinson E. (Ed.) *New Physico-Chemical Techniques for the Characterization of Complex Food Systems* 139-156, Blackie Academic & Professional, Chapman & Hall, London.
- Ross-Murphy SB. 1995 b. Structure-property relationships in food biopolymer gels and solutions. *J. Rheol.* **39**, 1451-1463.
- Schubert H, Ax K, Behrend, O. 2003. Product engineering of dispersed systems. *Trends in Food Science & Technology* **14**, 9-16.
- Schubert H, Ax K. 2003. Engineering Food Emulsions en McKenna, BM. (Ed.) *Texture of foods. I: semisolids*
- Shinoda K, Friberg S. 1986. Emulsions & Solubilization, J. Wiley, N.York.
- Sikorski ZE, Kolakowska A. 2003. Chemical and Functional Properties of Food Lipids, CRC Press, Boca Raton.
- Sjöblom, J. 2001. Encyclopedic Handbook of Emulsion Technology. Marcel Dekker. New York.
- St Angelo AJ. 1989 A Brief Introduction to Food Emulsions and Emulsifiers en Charalambous G. and Doxastakis, G. (Eds) *Food emulsifiers*, 1-8, Elsevier, Amsterdam.
- Sworn G. 2004. Hydrocolloids thickeners and their applications en Williams PA, Phillips, GO. (Eds.) *Gums & Stabilisers for the Food Industry* **12**, 13-22. Royal Society of Chemistry, Cambridge.
- Tadros, T. 2004. Applications of rheology for assessment and prediction of the long-term physical stability of emulsions. *Adv. Colloid Interface Sci.* **108-109**, 227-258.
- Tadros, T. 2005. Applied Surfactants. Wiley. VCH. Weinheim.
- Thomas DJ, Atwell W.A. 1999. Starches Eagan Press Handbook Series. American Association of Cereal Chemists, Inc. St. Paul (Minnesota).
- Tolstoguzov, Y.B. 1998 Functional properties of protein-polysaccharide mixtures en Hill, SE Ledward, DA, Mitchell, J.R. (Eds.) *Functional Properties of Food Macromolecules*, 252-277, Aspen Publishers, Gaithersburg.
- Vélez G, Alfaro MC, Muñoz, J. 2000. Rheological characterization of protein-polysaccharide interactions in the continuous phase of light salad dressings en Binding D. et al (Eds.) *Proc. XIII International Congress on Rheology Vol. 4*. 398-400. British Society of Rheology. Glasgow.
- Vélez G, Fernandez MA, Muñoz J, Williams PA, English RJ. 2003. The role of hydrocolloids on the creaming of oil in water emulsions. *J. Agric. Food Chem.* **51**, 265-269.
- Vélez, G. Tesis Universidad de Sevilla, 2002.
- Waltz JY. 2000. Effect of a nonadsorbing polyelectrolyte on colloidal stability: an overview en Mittal, RL, Kumar, P. (Eds) *Emulsions, Foams and Thin Films*, 381-397. Marcel Dekker. New York.
- Zapata I, Ramos D, Alfaro MC, de la Fuente J, Ruiz M, Muñoz J. 2005. Del emulsionante a la formulación y procesado de emulsiones alimentarias aceite en agua concentradas en Velázquez M, Merchán, M (Eds.) *Coloides e Interfases*, 351-358. Ediciones Universidad de Salamanca. Salamanca.

Recibido: Noviembre 2005
Aceptado: Septiembre 2006