



Mecanismos de inestabilidad y métodos de estabilización de emulsiones múltiples

H. A. Peredo-Luna* y M. T. Jiménez-Munguía

*Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental, Universidad de las Américas Puebla.
Ex hacienda Sta. Catarina Mártir S/N, San Andrés Cholula, Puebla. C.P.72810. México.*

Resumen

La aplicación de las emulsiones múltiples es de gran interés en el área de alimentos. Éstas son sistemas termodinámicamente inestables, debido a que están conformadas por tres fases y por consecuencia dos interfaces de naturaleza diferente. Los mecanismos principales de inestabilización son la coalescencia de las gotas internas, la coalescencia de las gotas externas, la migración de líquido entre las fases interna y externa y la coalescencia de las gotas internas con la fase externa. En este trabajo se identifican las causas y consecuencias de la inestabilidad de las emulsiones múltiples. También se aborda la estabilización de las emulsiones múltiples: por los métodos de estabilización electrostática, estérica y mecánica, así como las estrategias de estabilización de la fase interna, selección de la fase intermedia y estabilización de la fase externa; además se exponen los biopolímeros alimentarios que funcionan como agentes emulgentes o estabilizantes.

Palabras clave: emulsiones múltiples, mecanismos de inestabilidad, coalescencia, estabilización, emulgentes.

Abstract

Multiple emulsions' application is of great interest in food science. These systems are thermodynamically unstable due to the three phases which compose them and consequently two interfaces of different nature. The main mechanisms of instability are the inner droplet coalescence, the external droplet coalescence, fluid migration between internal and external phases and coalescence of the inner droplets with the external phase. In this review, the causes and consequences of the multiple emulsion instability are identified. It also addressed the stabilization of these systems: methods, electrostatic stabilization, steric and mechanical, and strategies, stabilization of internal phase, intermediate phase selection and stabilization of external phase; and the food biopolymers that serve as emulsifying agents and stabilizers.

Keywords: multiple emulsions, instability mechanisms, coalescence, stabilization, food emulsifiers.

*Programa de Doctorado en Ciencia de Alimentos
Tel.: +52 222 229 2126, fax: +52 222 229 2727
Dirección electrónica: hilda.peredola@udlap.mx

Introducción

Las emulsiones múltiples pueden aplicarse dentro del área de los alimentos como una técnica de encapsulación para proteger compuestos sensibles, enmascarar sabores y olores o como una estrategia para la formulación de productos reducidos en grasa.

Las emulsiones múltiples, o dobles, son sistemas coloidales en los que una emulsión simple se dispersa en una tercera fase para formar una nueva emulsión. Estos sistemas se componen de tres fases y, por esto, de dos tipos diferentes de interfaz, por lo que la inestabilidad termodinámica de estos sistemas es mayor, lo que causa que las fases tiendan a separarse con más facilidad, en comparación con las emulsiones simples. La pérdida de estabilidad provoca cambios en las características o propiedades de las emulsiones múltiples, lo que puede hacer que éstas dejen de cumplir con el propósito para el que fueron hechas. Por ejemplo, si el objetivo es proteger un compuesto sensible, la inestabilidad puede promover la migración del compuesto de la fase interna a la fase externa y en algunos casos causar su degradación. La aplicación y el éxito industrial y comercial de las emulsiones múltiples dependen, por tanto, de su estabilidad.

La inestabilidad de las emulsiones múltiples se da a través de diferentes mecanismos que ocurren simultáneamente, algunos análogos a los de las emulsiones simples, como la coalescencia. Estos mecanismos dependen de la composición y microestructura de las emulsiones múltiples y están relacionados fundamentalmente con fenómenos de transferencia de masa, gradientes en la presión osmótica y propiedades como la viscosidad y el pH. Por todo lo anterior, en esta revisión se describirán estos mecanismos, sus causas y sus efectos; junto con los métodos y estrategias principales para contrarrestarlos.

Revisión bibliográfica

Las emulsiones múltiples, o dobles, son sistemas coloidales en los que una emulsión simple se dispersa en otra fase para formar una nueva emulsión. En general, se distinguen dos tipos de emulsiones múltiples: (a) agua en aceite, en agua (W/O/W por sus siglas en inglés) y (b) aceite en agua, en aceite (O/W/O por sus siglas en inglés). Explicado más detalladamente, una fase acuosa interna, W₁, dispersa en una fase intermedia de aceite, O, forman lo que se conoce como emulsión primaria (W₁/O); ésta es a su vez dispersada en una fase acuosa externa, W₂, para formar así una emulsión múltiple W₁/O/W₂. Las emulsiones múltiples de tipo O₁/W₁/O₂ se forman de manera análoga. Estos sistemas se componen de tres fases y, por lo tanto, de dos tipos diferentes de interfaz; la de las gotas internas y la de las gotas externas, que al ser de naturaleza distinta requieren de un agente estabilizador o emulgente diferente. Debido a todo lo anterior, la inestabilidad termodinámica de estos sistemas es mayor, lo que causa que las fases tiendan a separarse con más facilidad, en comparación con las emulsiones simples.

1. Mecanismos de inestabilidad de las emulsiones múltiples

En general se distinguen cuatro mecanismos predominantes de inestabilización: coalescencia de las gotas internas, coalescencia de las gotas externas, coalescencia de las gotas internas con la interfaz externa y migración de líquido entre las fases interna y externa. Estos se ilustran en la Fig. 1 y se describirán en las sub-secciones siguientes. Durante el desarrollo de los temas se tomará el caso de emulsiones múltiples del tipo W/O/W como ejemplo para ilustrar los mecanismos.

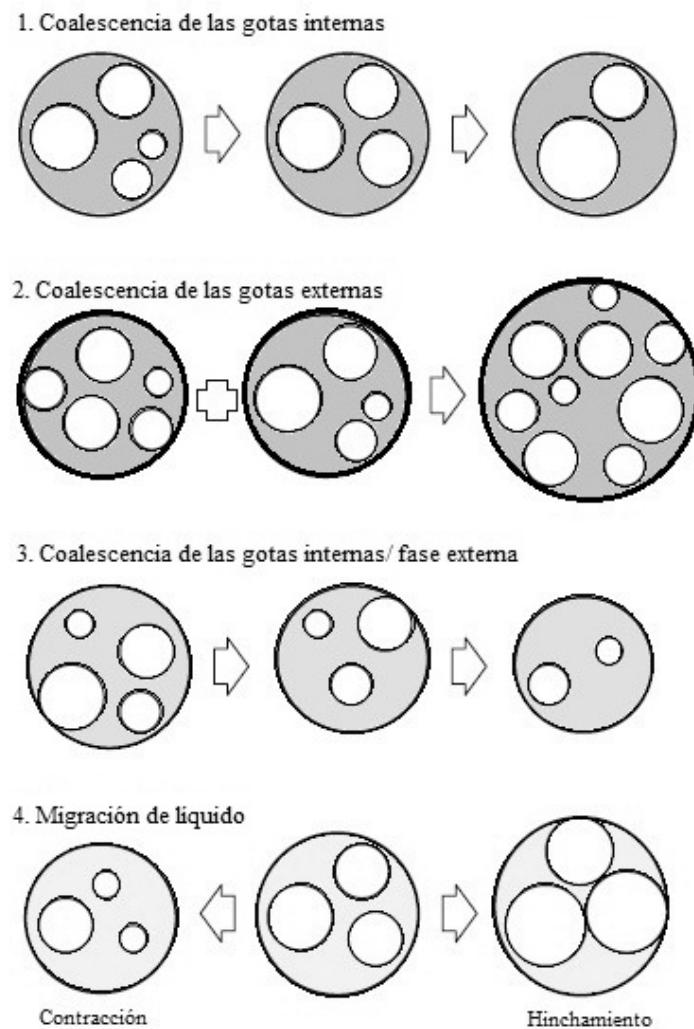


Fig. 1. Principales mecanismos de inestabilidad de las emulsiones múltiples (Adaptado de Dickinson, 2011).

1.1 Coalescencia de las gotas internas

La coalescencia ocurre cuando dos gotas adjuntas se unen en una sola entidad más grande debido a la ruptura de la membrana o película de la interfaz que las separa. Durante el desarrollo de este mecanismo no hay cambio en la interfaz de las gotas externas (Appelqvist *et al.*, 2007; Dickinson, 2011).

El adelgazamiento de la película provoca su ruptura y depende de la hidrodinámica relativa dentro de la película y de factores como: las propiedades reológicas de la fase en la que están dispersas las gotas, la concentración de la fase dispersa y la estabilización efectiva de las gotas y su capacidad de mantener la distancia entre las gotas. La ruptura interfacial depende de las propiedades mecánicas de la película y está influenciada por el cizallamiento, las condiciones de esfuerzo

cortante y la temperatura (Appelqvist *et al.*, 2007). Esto produce un crecimiento desigual de gotas internas, que podría derivar hacia otro mecanismo de inestabilidad, la coalescencia de las gotas internas con la interfaz externa (Chávez-Páez *et al.*, 2012). Un sistema W/O/W pierde estabilidad cuando se agregan cantidades considerables de agentes hidrófilos (Jiao y Burges, 2003; Schmidts *et al.*, 2010). Las investigaciones sugieren que tales concentraciones aceleran la coalescencia de las gotas internas (Pays *et al.*, 2001).

1.2 Coalescencia de las gotas externas

Este mecanismo es análogo a lo que ocurre en las emulsiones simples, las gotas externas se unen en un proceso irreversible que crea unidades de mayor tamaño. El efecto de la gravedad sobre estas gotas más grandes puede llevar a la separación de las fases de la emulsión múltiple; produciendo “cremosidad”, lo que en inglés se denomina como “creaming”, que es la formación de una capa cremosa en la superficie o sedimentación, en el caso contrario, en el que la capa separada se asienta (Appelqvist *et al.*, 2007; Dickinson, 2011). Este fenómeno sucede cuando la repulsión entre las gotas es muy débil, la tensión interfacial y la viscosidad son bajas, y la película de la interfaz es poco elástica (Friberg y Yang, 1996; Bergenståhl y Claesson, 1997).

1.3 Coalescencia de las gotas internas con la interfaz externa

En este caso las gotas internas coalescen con la interfaz de las gotas externas, lo que conduce a la transferencia de materia de la fase interna hacia la fase continua externa. Esto puede ser causado por una inestabilidad en la interfaz debida a la migración de un exceso de surfactante hidrofílico hacia la fase interna, provocando la apertura y liberación repentina del contenido de la gota a la fase continua; también se puede observar este fenómeno

cuando hay una cantidad grande de gotas internas en contacto con la interfaz externa (Chávez-Páez *et al.*, 2012); y cuando la diferencia de tamaño entre las gotas internas y las gotas externas es muy grande, de aproximadamente 10 veces, a bajas concentraciones del emulgente hidrofílico en emulsiones W/O/W (Pays *et al.*, 2001). Durante este proceso puede presentarse también la ruptura de la interfaz de las gotas externas (Garti y Lutz, 2004; Dickinson, 2011).

1.4 Migración de líquido entre la fase interna y la fase externa

Este mecanismo se da como resultado de la transferencia de masa desde o hacia las gotas internas. Para explicarlo, se considera que la fase intermedia de una emulsión múltiple es una especie de membrana líquida que separa las fases interna y externa. Entonces, la migración de líquido es consecuencia del intercambio difusivo entre las fases a través de la membrana líquida, en la que la dirección depende del gradiente en la presión osmótica (Dickinson, 2011). Por lo que la gota interna puede sufrir contracción cuando la fase interna tiene una presión osmótica menor a la de la fase externa y el líquido fluye a través de la membrana hacia la fase externa; o hinchamiento cuando ocurre lo contrario. Si el hinchamiento sucede más allá de un tamaño crítico se rompe la membrana líquida y hay coalescencia con la fase externa.

El gradiente en la presión osmótica puede ser impulsado por la existencia de diferentes moléculas en cada una de las fases, interna y externa, o por la diferencia de concentraciones entre ellas (Garti y Lutz, 2004).

2. Métodos de estabilización: mecanismos y estrategias

Las emulsiones múltiples son estabilizadas por diferentes métodos y estrategias dependiendo de los objetivos de su aplicación.

2.1 Mecanismos

2.1.1 Estabilización electrostática

Este principio está relacionado con el efecto que las fuerzas electrostáticas repulsivas tienen en las gotas de la emulsión. En las emulsiones múltiples las gotas dispersas tienen un mayor tamaño, por lo que el efecto de estas fuerzas es menos pronunciado (Garti y Lutz, 2004).

Para que ocurra la coalescencia de las gotas en una emulsión; éstas deben de estar en contacto unas con otras, este fenómeno se conoce como floculación y para evitarlo, las gotas pueden mantenerse separadas por la repulsión entre sus superficies cargadas. Biopolímeros con actividad superficial como las proteínas, los polisacáridos y sus complejos pueden proveer estabilidad electrostática, sus interacciones electrostáticas dependen de su concentración, el pH (punto isoeléctrico) y la fuerza iónica de la solución (Dickinson y Stainsby, 1988; Dickinson, 1989; Dickinson, 1998).

Cuando dos superficies o partículas cargadas idénticamente se aproximan en un medio fluido, generan una interacción repulsiva que, dependiendo de su magnitud, la distancia entre las superficies o partículas y las fuerzas de atracción que puedan generarse, las mantendrá separadas. Estas interacciones representan una barrera de energía que ayuda a reducir la coalescencia de las partículas (Myers, 1996; Bergenstähl y Claesson, 1997).

Por ejemplo, las proteínas a valores de pH lejanos a su punto isoeléctrico están cargadas eléctricamente y, por lo tanto, hay una repulsión electrostática que previene que las partículas se aproximen estrechamente unas a otras (Dickinson y McClements, 1996). Este

fenómeno de estabilización suele ser débil; pero contribuye a la estabilización de emulsiones tomando en cuenta que sucede simultáneamente con la estabilización estérica y/o con otros métodos (Myers, 1996; Bergenstähl y Claesson, 1997).

Un parámetro indicativo de la carga superficial y, por lo tanto, de las interacciones electrostáticas de las partículas, es el potencial zeta. De acuerdo a ciertas investigaciones (Aoki *et al.*, 2005; Jiménez - Alvarado *et al.*, 2009), valores altos del potencial zeta ($>|40|$) indica una alta estabilidad de las emulsiones debido a que las partículas se encuentran a mayor distancia entre ellas.

2.1.2 Estabilización estérica

La estabilización estérica, o el impedimento estérico, es un factor dominante cuando se trata con polímeros anfífilos que se usan como surfactantes macromoleculares, que se adsorben en la interfaz externa. Estos polímeros pueden mejorar la estabilidad de las emulsiones múltiples y retardar el transporte a través de las interfaces, ya que forman películas gruesas (Garti y Lutz, 2004).

Se distinguen diferentes mecanismos principales: (a) la estabilización por agotamiento por macromoléculas no adsorbentes que previenen la colisión entre gotas y proporcionan elasticidad al sistema; (b) la repulsión electrostática entre dos gotas que llevan la misma carga (por efecto de un volumen de exclusión) (Dickinson, 1998); y (c) la estabilización como resultado de las interacciones hidrofóbicas entre los polímeros adsorbidos (Garti y Lutz, 2004).

Los polímeros anfífilos son adsorbidos en la interfaz y forman películas gruesas semisólidas que promueven la estabilidad y retardan el transporte hacia la fase externa; esta estrategia es muy prometedora, ya que además requiere de cantidades menores de

surfactante y éstos pueden ser macromoléculas de origen natural. En general, los polímeros hidrofóbicos estabilizan las gotas internas, mientras que los hidrofílicos estabilizan a las interfaces externas (Garti y Lutz, 2004).

Para aplicaciones en alimentos se recurre al uso de biopolímeros como proteínas y polisacáridos. Las investigaciones han llegado a buenos resultados mediante el uso de suero de albúmina de bovino, aislado de proteína de suero, caseínas, gelatina, maltodextrina, pectina y complejos con hidrocoloides como goma xantana, goma guar, goma arábiga o goma de algarrobo (Garti y Lutz, 2004; Dickinson, 2011).

La estabilización por agotamiento se basa en la adición de agentes que aumentan la viscosidad y agentes gelificantes en una de las fases para reducir la movilidad de los ingredientes atrapados. Estos agentes no se pueden considerar como emulgentes, pero si como estabilizantes y le proporcionan características de semi-sólido o tipo gel a las emulsiones. Las gomas pueden cumplir con esta función. Algunas de las propiedades que se ven afectadas son el tamaño de gota, la consistencia, la eficiencia o rendimiento de encapsulación, entre otros. La capa interfacial gruesa y la fase acuosa viscosa o gelificada podrían tener ventajas cuando se requiere la protección de compuestos sensibles adicionados. La presencia de hidrocoloides poliméricos en la fase interna acuosa, puede mejorar la estabilidad a la coalescencia y la estabilidad química (Garti y Lutz, 2004).

2.1.3 Estabilización mecánica

La vida de anaquel de las emulsiones múltiples puede mejorarse incorporando pequeñas partículas sólidas de surfactantes a las formulaciones. La idea es crear una barrera mecánica mediante la incorporación de partículas sólidas pequeñas adsorbidas en las interfaces (Garti y Lutz, 2004).

La mayor aplicación de este método de estabilización es en el campo farmacéutico. Estudios con celulosa microcristalina, arcilla hidrofóbicamente modificada y partículas de sílice, indican que la adición de partículas sólidas mejora la estabilidad de emulsiones múltiples debido a que la interfaz en la que se adsorben se vuelve rígida. Estudios con partículas de sílice indican que la concentración de partículas, y su carácter hidrofóbico o hidrofílico, afecta el tamaño de las gotas en emulsiones múltiples (Garti y Lutz, 2004).

2.2 Estrategias

2.2.1 Estabilización de la interfaz interna

Las estrategias más usadas para la estabilización de la interfaz interna son: la reducción del tamaño de gota, la formación de microemulsiones o microesferas y el incremento de la viscosidad de la fase acuosa, principalmente (Garti y Aserin, 1996).

En investigaciones conducidas en años recientes, se ha estudiado la forma de controlar el tamaño de gota y las propiedades de emulsiones múltiples a través de la manipulación de la presión osmótica. Esto se logra por la diferencia en la concentración de electrolitos o solutos entre la gota interna y la fase externa o al poner en contacto la emulsión con una solución. Este método, usado generalmente en microencapsulación, puede usarse para reducir el tamaño de gota o para lograr su efecto contrario (Pistel y Kissel, 2000; Tu y Lee, 2012). Así pues, la incorporación de electrolitos, azúcares y polisacáridos para controlar el balance osmótico es una estrategia esencial para mantener la estabilidad termodinámica de las emulsiones W/O/W (Dickinson, 2011).

Dickinson (2011) hizo una revisión de los biopolímeros alimentarios que se han investigado en la estabilización de emulsiones

primarias de sistemas W/O/W, en la que incluye albúmina de suero bovino, gelatina, caseína, proteína de suero, proteína de haba, goma arábiga, goma xantana y celulosa microcristalina. Este autor destaca la eficiencia del caseinato de sodio (0.5 % p/p) en combinación con éster poliglicerol de ácido poliricinoleico, como emulgente lipofílico (2% p/p).

El uso del éster poliglycerol de ácido poliricinoleico está restringido para muchas aplicaciones en productos alimentarios. Una alternativa efectiva y legalmente aceptable es el uso de lecitina (Dickinson, 2011). En emulsiones W/O concentraciones de 2.5% de lecitina han demostrado proporcionar una buena estabilidad, la cual se relaciona con la alta viscosidad que desarrollan tales emulsiones (Muschiolik *et al.*, 2006). El tamaño de gota en estas emulsiones puede ser reducido cuando la fase acuosa contiene aislado de proteína de suero (1.5%) y goma xantana (0.2%) (Knuth *et al.*, 2005b). Matsumoto *et al.* (1978) encontraron que con lecitina (8 a 10%)-Span 80 en la fase oleosa y con éster de sacarosa-ácido graso (SE 160) en la fase acuosa (0.2 a 1.0%), emulsiones múltiples W/O/W tienen buena estabilidad.

Otra estrategia es convertir las gotas internas de una emulsión W/O/W, en una especie de partículas sólidas suaves. Para ello se adicionan biopolímeros que puedan formar geles con la aplicación de calor, como aislado de proteína de suero o gelatina, y se someten las emulsiones primarias W/O a tratamientos, relativamente cortos, con temperaturas de alrededor de 80 °C. También puede usarse almidón gelificado y en este caso se requiere provocar enfriamiento para completar la gelación (Dickinson, 2011).

Las interfaces internas de emulsiones múltiples de tipo O/W/O mejoran su estabilidad al agregar conjugados o complejos proteína-polisacárido.

2.2.2 Selección de la fase intermedia

La fase intermedia no sólo debe seleccionarse apropiadamente, también puede modificarse incrementando su viscosidad, agregando portadores de carga o agentes complejos (Garti y Aserin, 1996).

El tipo de fase oleosa usado es determinante en la preparación de emulsiones W/O/W, ya que es responsable, en gran medida, de las características del sistema e influye en el patrón de liberación de los compuestos y la estabilidad. Mientras más alta sea la polaridad de un aceite, menor será su tensión interfacial lo que favorece más la transferencia de masa entre las fases interna y externa. Las fases oleosas usadas más frecuentemente son los hidrocarburos, los triglicéridos y los ésteres. Aunque los hidrocarburos mejoran la estabilidad de un sistema, no son adecuados para su aplicación en el área de alimentos. Sin embargo, algunos aceites vegetales y triglicéridos, proporcionan una buena estabilidad y las mezclas de éstos pueden mejorarla (Knuth *et al.*, 2005a; Özer *et al.*, 2006).

2.2.3 Estabilización de la interfaz externa

Las interfaces externas suelen estabilizarse mediante el uso de emulgentes poliméricos o agregando partículas coloidales sólidas para formar películas más fuertes y rígidas (Garti y Aserin, 1996).

Las proteínas son agentes emulgantes y estabilizadores efectivos en interfaces de tipo O/W, ya que son insolubles en la fase oleosa, por lo que no tienden a migrar. También es común añadir polisacáridos en concentraciones bajas como agentes espesantes y gelificantes. En la estabilización de emulsiones múltiples se han empleado diferentes tipos de emulgentes proteicos como caseinato de sodio, gelatina, albúmina de suero bovino, aislado de proteína de suero y algunos hidrocoloides como la

goma arábiga. Entre los diferentes tipos de polisacáridos que se han investigado están la pectina, la carragenina, el alginato, la goma xantana, la goma de algarrobo y la carboximetilcelulosa (Dickinson, 2011).

Se ha encontrado que el caseinato de sodio reduce el tamaño de gota y que puede maximizar la eficiencia de encapsulación. La goma arábiga (Acacia de Senegal), por sus propiedades únicas de actividad superficial y emulgentes, permite alcanzar una buena estabilidad a largo plazo a concentraciones de alrededor del 10% (p/p) y proporciona estabilidad coloidal en un intervalo amplio de pH (Dickinson, 2011).

Los conjugados o complejos proteína-polisacárido, formados con calor seco controlado, mejoran la solubilidad de la proteína y la estabilidad bajo condiciones de pH bajo y alta fuerza iónica. Esto es debido al incremento de su carácter hidrofílico y mayor capacidad de estabilización estérica. Conjugados de caseína-dextrano o caseína-maltodextrina producen gotas W/O/W más pequeñas a valores de pH neutros y mejoran la estabilidad contra la coalescencia en condiciones ácidas, junto con una mayor eficiencia de encapsulación. Las mezclas de proteína-polisacárido que han sido investigadas recientemente son las de aislado de proteína de suero con goma xantana, galactomananos (goma de algarrobo, goma guar y goma de fenogreco), carboximetilcelulosa o pectina modificada, y concentrado de proteína de suero con goma arábiga, pectina o goma de mezquite (Jiménez - Alvarado *et al.*, 2009). Algunos de estos complejos han tenido éxito en la encapsulación de electrolitos (Dickinson, 2011).

Conclusiones y comentarios finales

Los mecanismos de inestabilización de las emulsiones múltiples dependen, en gran medida, de la naturaleza de sus componentes, fase interna, fase intermedia, fase externa, agentes emulgentes y estabilizantes, así como de las propiedades de éstos. En cuanto a la aplicación de una u otra estrategia de estabilización es importante tomar en cuenta los objetivos y propósitos del uso de las emulsiones, ya que pueden existir algunas restricciones. Por ejemplo, en el área de alimentos no se deben utilizar compuestos que puedan ser tóxicos o no aptos para el consumo humano, como los aceites derivados de hidrocarburos. Por último, las investigaciones en el uso de biopolímeros, como proteínas y polisacáridos, han demostrado buenos resultados en su aplicación para contrarrestar la inestabilidad de emulsiones múltiples.

Agradecimientos

Las autoras agradecen al Consejo de Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por financiamiento del proyecto (CB-2011-01, Núm. 168709) "Estudio del efecto de diferentes métodos de homogeneización en la estabilidad y liberación de aceites esenciales encapsulados mediante emulsiones múltiples". La autora Peredo Luna agradece especialmente a la Universidad de las Américas Puebla y al CONACyT por el apoyo proporcionado para sus estudios de posgrado.

Referencias

- Aoki, T., Decker, E. A. y McClements, D. J. 2005. Influence of environmental stresses on stability of

- o/w emulsions containing droplets stabilized by multilayered membranes produced by a layer-by-layer electrostatic deposition technique. *Food Hydrocolloids*. 19: 209–220.
- Appelqvist, I .A. M., Goldiing, M., Vreeker, R. y Zuidam. N .J. 2007. Emulsions as delivery systems in foods. En: J. M. Lakis (Ed). *Encapsulation and Controlled Release Technologies in Food Systems*. Blackwell Publishing. Iowa. E.E.U.U. pp. 41-81.
- Bergenstähl, B. A. y Claesson, P. M. 1997. Surface forces in emulsions. En: S. E.Friberg y K Larsson (Eds). *Food emulsions*. Tercera edición. Marcel Dekker, Inc. Nueva York. pp. 57-109.
- Chávez-Páez, M., Quezada, C. M., Ibarra-Bracamontes, L., González-Ochoa, H. O. y Arauz-Lara, J. L. 2012. Coalescence in double emulsions. *Langmuir*. 28:5934-5939.
- Dickinson, E. 1989. Food colloids – an overview. *Colloids and surfaces*. 42: 191-204.
- Dickinson, E. 1998. Stability and rheological implications of electrostatic milk protein-polysaccharide interactions. *Trends in Food Science and Technology*. 9: 347-354.
- Dickinson, E. 2011. Double emulsions stabilized by food biopolymers. *Food Biophysics*. 6: 1-11.
- Dickinson, E. y Stainsby, G. 1988. *Advances in Food Emulsions and Foams*. Elsevier applied sience. Gran Bretaña. 397 p.
- Dickinson, E. y McClements, D. J. 1996. *Advances in Food Colloids*. Blackie Academic and Profesional. Gran Bretaña. 333 p.
- Friberg. S. E. y Yang, J. 1996. Emulsion stability. En: J. Sjöblom (Ed). *Emulsions and emulsions stability*. Marcel Dekker, Inc. Nueva York. pp. 1-40.
- Garti, N. y Aserin, A. 1996. Double emulsions stabilized by macromolecular surfactants. *Advances in colloid and interface science*. 65: 37-69.
- Garti, N. y Lutz R. 2004. Recent progress in double emulsions. En: Petsev, D.N. *Emulsions: Structure stability and interactions*. pp. 557-605.
- Jiao, J. y Burgess, D. J. 2003. Rheology and stability on water-oil-water emulsions containing Span 83 and Tween 80. *The AAPS Journal*. 5(1): 62-73.
- Jiménez - Alvarado, R., Beristain, C .I., Medina-Torres, L., Román-Gerrero, A. y Vernon-Carter, E. J. 2009. Ferreus bisglycine cinate and release in w1/o/w2 multiple emulsions stabilized by protein-polysaccharide complexes. *Food Hydrocolloids*. 23: 2425-2433.
- Knoth, A., Scherze, I. y Muschiolik, G. 2005a. Effect of lipid type on water-in-oil-emulsions stabilized by phosphatidylcholine-depleted lecithin and polyglycerol polyricinoleate. *European Journal of Lipid Science and Technologie*. 107: 857–863.
- Knoth, A., Scherze, I. y Muschiolik, G. 2005b. Stability of water-in-oil-emulsions containing phosphatidylcholine-depleted lecithin. *Food Hydrocolloids*. 19: 635–640.
- Matsumoto, S., Ueda,Y., Kita, Y. y Yonezawa, D. 1978. Preparation of water-in-olive oil in-water multiple emulsions in an eatable form. *Agricultural and Biological Chemistry*. 42(4):739-43.
- Muschiolik, G., Scherze, I., Preissler, P., Weiss, J., Knoth, A. y Fechner, A. Multiple emulsions – preparation and stability. 2006. IUFoST, doi: 10.1051/IUFoST:20060043
- Myers, D.1996. *Surfaces, interfaces and colloids: principles and applications*. VCH Publishers. E.E.U.U. 433 p.
- Özer, Ö., Aydin, B. y Yazan, Y. 2006. Effect of oil type on stability of W/O/W emulsions. *Cosmetic and Toiletries magazine*. 121(7): 57-64.
- Pays,K. Giermanska, J., Pouliquen., Bibette, J. y Leal-Calderon, F. 2001. Coalescence in surfactant-stabilized double emulsions. *Langmuir*. 17(25): 7758-7769.
- Pistel K. F. y Kissel T. 2000. Effects of salt addition on the microencapsulation of proteins using a w/o/w double emulsion technique. *Journal of Microencapsulation*. 17(4): 467-483.
- Schmidts, T., Dobler, D., Guldan, G.-A., Paulus, N. y Runkel, F. 2010. Multiple w/o/w emulsions – using the required HBL for emulsifier evaluation. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 372: 48-54.
- Tu, F. y Lee, D. 2012. Controlling the stability and size of double-emulsion-templated poly(lactic-co-glycolic) acid microcapsules. *Langmuir*. 28: 9944-6652.