

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIHUAHUA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
CHIHUAHUA

**Desarrollo de microemulsiones grado alimenticio (MEM-GA) y su
aplicación en la protección de flavonoides contra la radiación UV y el
tratamiento térmico**

**TESIS PRESENTADA PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

POR:

QBP Liliana Piñón Gómez

Bajo la Dirección de

D.C. Néstor Gutiérrez Méndez (UACH-FCQ)

Co-dirección: D.C. José Carlos Rodríguez Figueroa (UNISON)

CHIHUAHUA, CHIH., MÉXICO

ENERO 2024



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
CHIHUAHUA

Asunto: **Liberación Tesis**

Chihuahua, Chih., 27 de noviembre del 2023

**M.A.P. TERESA VIRIDIANA ESPINOZA MOLINA
SECRETARIA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
PRESENTE. –**

Los que suscriben, informamos a usted que se llevó a cabo la revisión de la tesis titulada: **“Desarrollo de microemulsiones grado alimenticio (MEM-GA) y su aplicación en la protección de flavonoides contra la radiación UV y el tratamiento térmico”** presentada por la estudiante **Liliana Piñón Gómez** con número de matrícula **282226**, alumno del programa de **Maestría en Ciencias en Ciencia y Tecnología de Alimentos**.

Se le fueron indicadas a la estudiante las correcciones que eran necesarias efectuar, y después de realizarse lo anterior y verificar que las mismas fueron atendidas, manifestamos que el documento en cuestión, cumple con los requisitos de calidad y originalidad señalados por el Comité de Tesis y por la Facultad de Ciencias Químicas, por lo que autorizamos que sea impresa para que se proceda con los trámites para la presentación de su Examen de Grado.

ATENTAMENTE

“LUCHAR PARA LOGRAR, LOGRAR PARA DAR”

Dr. Néstor Gutiérrez Méndez
Director

Dr. José Carlos Rodríguez Figueroa
Codirector

Dra. Martha Graciela Ruíz Gutiérrez
Asesora

Dra. María del Rosario Peralta Pérez
Asesora

Dra. Martha Yarely Leal Ramos
Asesora

Dr. León Raúl Hernández Ochoa
Asesor

16 de noviembre de 2023

M.C. Teresa Viridiana Espinoza Molina
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
Facultad de Ciencias Químicas
Universidad Autónoma de Chihuahua

Estimada maestra Viridiana por medio de este conducto le informo que la **QBP Liliana Piñón Gómez** estudiante de la maestría en Ciencias en *Ciencia y Tecnología de Alimentos* ha concluido satisfactoriamente el escrito de tesis del trabajo **"Desarrollo de microemulsiones grado alimenticio (MEM-GA) y su aplicación en la protección de flavonoides contra la radiación UV y el tratamiento térmico"** Por lo que en mi carácter de Director de Tesis le liberó su escrito de tesis, para que sea turnado a los correspondientes asesores para comentarios, correcciones o retroalimentación, considerando los 10 días hábiles de revisión. Hago notar que el proyecto originalmente se registró con el nombre de "Inhibición de alfa-glucosidasas intestinales por flavonoides: estudio bajo condiciones de microemulsión." Sin embargo, por ajuste de objetivos el nombre cambio al descrito previamente.

En este trabajo de tesis participan los siguientes investigadores:

D.C. José Carlos Rodríguez Figueroa (UNISON) jose.rodriguez@unison.mx

Dra. Martha Graciela Ruiz Gutiérrez (UACH-FCQ) mruizg@uach.mx

Dra. María del Rosario Peralta Pérez (UACH-FCQ) mperalta@uach.mx

Dra. Martha Yarely Leal Ramos (UACH-FCQ) yleal@uach.mx

Dr. León Raúl Hernández Ochoa (UACH-FCQ) lhernandez@uach.mx

Sin otro particular quedo de usted

Atentamente,


D.C. NESTOR GUTIÉRREZ MENDEZ

Director de tesis

AGRADECIMIENTOS

Primeramente, quiero agradecer a Dios por la vida de las personas que amo y por todas las bendiciones que me ha dado a lo largo de toda mi vida. Por poder tener y amar a la familia que tengo. Gracias por las personas que son bendiciones en mi vida. Le agradezco el poder empezar una vida al lado de un hombre maravilloso. Agradezco infinitamente a mi familia ya que siempre han sido mi mayor motor para poder seguir adelante y dar lo mejor de mí. A mi mamá por enseñarme los valores que son cimientos en mi vida, por su amor desinteresado y por siempre dar todo a su familia sin esperar nada a cambio. A mi papá por ser un ejemplo a seguir, por buscar siempre el bienestar de la familia, por apoyarme en cada decisión que he tomado, por ser mi primer amor en mi vida. A mi hermana que siempre ha sido una compañía en mi vida, aunque tenemos peleas se que siempre será mi persona incondicional y en mí también la tendrá. Al hombre que me hizo creer nuevamente en el amor, con el que sueño una vida a su lado, doy gracias por ser como eres y la persona que soy desde que te conocí, te amo.

Hay compañeras que se vuelven amigas y amigas que son familia, y eso eres Chuchona, una hermana para mí.

Agradezco grandemente a mi director de tesis el Dr. Néstor Gutiérrez por su valiosa guía y gran apoyo a lo largo de mis estudios de maestría. Al Dr. y amigo Diego Carballo por compartirme sus valiosos conocimientos y por enseñarme que el trabajo no es trabajo si se hace con amor. Al Dr. Johan Mendoza por enseñarme que todo se puede lograr a base de esfuerzo y trabajo. A mi compañero y amigo Victiyo por aguantar y ayudar a esta gritona. A mis asesores por sus extensos conocimientos y retroalimentación que fueron de gran ayuda en la elaboración de esta tesis. Fueron muchas las personas involucradas en el camino de mis estudios de maestría, no terminaría de agradecer a cada una de ellas, simplemente gracias por cada palabra de apoyo dada en el momento adecuado y por ayudarme desinteresadamente.

GRACIAS.

DEDICATORIA

De manera muy especial quiero dedicar este trabajo de investigación a mis maravillosos padres, por ellos he llegado a ser la persona que soy y si he logrado mis objetivos durante mi vida en gran parte es gracias a esos dos seres admirables. Su amor y bendición siempre me han guiado por los caminos correctos y me han motivado para seguir adelante y alcanzar mis metas tanto en lo profesional como en lo personal. Simplemente hay deudas que nunca se pueden pagar. Los amo.



ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	i
DEDICATORIAS	ii
ÍNDICE DE CUADROS	vii
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
LISTA DE ABREVIATURAS	xiv
RESUMEN	1
ABSTRACT	2
1. INTRODUCCIÓN	3
2. ANTECEDENTES	5
2.1. Emulsiones	5
2.2. Tipos de emulsiones	6
2.2.1. Macroemulsión (emulsión convencional)	6
2.2.2. Nanoemulsión	6
2.2.3. Microemulsión	7
2.3. Teorías de formación de las microemulsiones	8
2.3.1. Teoría de la solubilización micelar	8
2.3.2. Teoría interfacial	9
2.3.3. Teoría de la termodinámica	10
2.4. Microestructuras de las microemulsiones	11
2.5. Parámetro del equilibrio hidrofílico-lipofílico (HLB)	14
2.6. Componentes de las microemulsiones	15
2.6.1. Fase oleosa	15
2.6.2. Fase acuosa	16
2.6.3. Surfactante	16
2.6.4. Co-surfactante	18
2.6.5. Co-solvente	19
2.7. Métodos utilizados en la preparación de microemulsiones	20
2.7.1. Diagramas ternarios	20
2.7.2. Método de titulación acuosa	22
2.8. Microemulsiones alimentarias como sistemas de encapsulación de flavonoides	23



2.8.1.	<i>Flavonoides</i>	23
2.8.2.	<i>Quercetina y rutina</i>	25
3.	<i>JUSTIFICACIÓN</i>	28
4.	<i>HIPÓTESIS</i>	29
5.	<i>OBJETIVO</i>	29
5.1.	<i>Objetivo general</i>	29
5.2.	<i>Objetivos particulares</i>	29
6.	<i>MATERIALES Y MÉTODOS</i>	31
6.1.	<i>Fase 1: Formación de microemulsiones grado alimenticio</i>	31
6.1.1.	<i>Diagrama metodológico</i>	31
6.1.2.	<i>Reactivos</i>	32
6.1.3.	<i>Equipos</i>	32
6.1.4.	<i>Estructura química de los principales ingredientes utilizados en la formulación de MEM-GA.</i>	33
6.1.5.	<i>Explorando la formación de MEM-GA a partir de Diagramas de Fases Ternarios (DFTs)</i>	34
6.1.6.	<i>Explorando la formación de MEM-GA a partir de mezclas simples y concentración fija de surfactante</i>	38
6.1.7.	<i>Formulación de MEM-GA por solubilización micelar en una solución con exceso de surfactante (método de titulación)</i>	39
6.1.8.	<i>Cinéticas de la formación de las microemulsiones</i>	43
6.2.	<i>Fase 2: Caracterización de las microemulsiones</i>	45
6.2.1.	<i>Diagrama metodológico</i>	45
6.2.2.	<i>Equipos</i>	45
6.2.3.	<i>Microscopía</i>	46
6.2.4.	<i>Densidad de las microemulsiones</i>	48
6.2.5.	<i>pH</i>	48
6.2.6.	<i>Conductividad</i>	48
6.2.7.	<i>Viscosidad</i>	49
6.2.8.	<i>Propiedades viscoelásticas</i>	49
6.2.9.	<i>Propiedades termoreológicas de microemulsiones selectas</i>	50
6.2.10.	<i>Estabilidad de las microemulsiones al calentamiento, agitación y sonicación</i>	50



6.2.11.	<i>Análisis estadístico</i>	51
6.3.	<i>Fase tres: Incorporación de flavonoides a las microemulsiones</i>	52
6.3.1.	<i>Diagrama metodológico</i>	52
6.3.2.	<i>Reactivos</i>	53
6.3.3.	<i>Equipos</i>	53
6.3.4.	<i>Estructura química de los flavonoides agregados a las MEM-GA.</i>	54
6.3.5.	<i>Método de preparación de las microemulsiones y de la incorporación de flavonoides a las mismas.</i>	55
6.3.6.	<i>Propiedades fisicoquímicas de las microemulsiones adicionadas con flavonoides</i>	56
6.3.7.	<i>Estabilidad térmica y a la agitación de las microemulsiones adicionadas con flavonoides</i>	56
6.3.8.	<i>Estabilidad antioxidante de los flavonoides emulsionados antes y después de ser expuestos a radiación UV-A</i>	57
6.3.9.	<i>Estabilidad antioxidante de los flavonoides emulsionados antes y después de ser expuestos a temperaturas de 80 y 100°C</i>	59
7.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	60
7.1.	<i>Fase 1: Formación de microemulsiones de grado alimenticio.</i>	60
7.1.1.	<i>Uso de diagramas ternarios en la formación de emulsiones</i>	60
7.1.2.	<i>Uso de mezclas simples en la formación de emulsiones</i>	70
7.1.3.	<i>Formación de microemulsiones por el método de solubilización micelar</i>	73
7.2.	<i>Fase 2: Caracterización de las microemulsiones</i>	86
7.2.1.	<i>Morfología y tamaño de gota en las emulsiones madre y las microemulsiones.</i> ..	86
7.2.2.	<i>Análisis reológico de las microemulsiones</i>	94
7.2.3.	<i>Análisis físico-químico de las microemulsiones</i>	97
7.2.4.	<i>Estabilidad de las microemulsiones</i>	100
7.2.4.1.	<i>Termoestabilidad</i>	100
7.2.4.2.	<i>Propiedades termoreológicas</i>	105
7.3.	<i>Fase 3: Incorporación de flavonoides a las microemulsiones</i>	109
7.3.1.	<i>Estabilidad de los las microemulsiones en presencia de los flavonoides quercetina y rutina</i>	109
7.3.2.	<i>Termoestabilidad de la microemulsión en presencia de quercetina o rutina</i>	111
7.3.3.	<i>Protección de la actividad antioxidante de microemulsiones adicionadas con flavonoides al aplicarles UV-A (365 nm) y temperaturas de 80 y 100°C</i>	116



8. CONCLUSIÓN.....	129
9. BIBLIOGRAFÍA.....	130
ANEXO I: Proporciones de los ingredientes utilizadas en cada sistema ternario.	136
ANEXO II: Cinéticas de la turbidez vs tiempo de las 56 emulsiones realizadas.	153
ANEXO III: Análisis de varianza	159



ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Comparación de las propiedades de los tres sistemas coloidales.....	5
Cuadro 2. Valor numérico asignado a cada grupo funcional utilizado en el método de Davies para estimar el equilibrio hidrófilo-lipófilo (HLB)	15
Cuadro 3. Lista de surfactantes usados comúnmente en emulsiones de grado alimenticio.	18
Cuadro 4. Lista de co-surfactantes utilizados frecuentemente en emulsiones de grado alimenticio	19
Cuadro 5. Estructura química de los principales ingredientes utilizados en la elaboración de las microemulsiones grado alimenticio MEM-GA.....	33
Cuadro 6. Diagramas de fases ternarios (DFTs) usados para generar microemulsiones	34
Cuadro 7. Cantidades generales de surfactante, fase oleosa y fase acuosa utilizadas para realizar los diagramas ternarios.	36
Cuadro 8. Ingredientes utilizados para realizar las mezclas simples, manteniendo constante la concentración de surfactante al 1% y el uso de buffer de fosfatos pH 7, 10 mM como fase acuosa.	39
Cuadro 9. Formulaciones usadas en la elaboración de emulsiones madre para el método de solubilización micelar en exceso de surfactante.....	41
Cuadro 10. Formulaciones utilizadas en la preparación de MEM-GA por el método de solubilización micelar en una solución con exceso de surfactante (método de titulación).....	42
Cuadro 11. Resumen de las mezclas que produjeron microemulsiones (MEM), así como de las emulsiones madres de donde se originaron dichas MEM.....	47
Cuadro 12. Estructura química de la quercetina y rutina agregadas a las MEM-GA.	54
Cuadro 13. Formulaciones empleadas en la preparación de MEM-GA por el método de titulación, así como la emulsión madre utilizada.	55
Cuadro 14. Tiempo de incubación a 40°C, requerido para la formación de las MEM-GA.	56



Cuadro 15. Cuadro descriptivo de mezclas simples utilizando como surfactante lecitina, tween-80, o sales biliares en una concentración fija del 1% (p/v), aceite de oliva o aceite de coco de cadena mediana como fase oleosa (O), buffer de fosfatos pH 7.0, 10 mM como fase acuosa (W), con o sin ácido acético como co-surfactante, a diferentes proporciones.	71
Cuadro 16. Tiempo necesario para la formación de las microemulsiones, pasando de macroemulsión – Winsor I - Winsor IV o macroemulsión - Winsor IV.	75
Cuadro 17. Fotografías de las emulsiones en función del tiempo.	81
Cuadro 18. Diámetro de gota presente en cada emulsión madre.	87
Cuadro 19. Imágenes microscópicas de la emulsión madre B y de las microemulsiones obtenidas a partir de esta misma microemulsión madre. Las barras de escala indican 100 micrómetros.....	88
Cuadro 20. Imágenes microscópicas de la emulsión madre C y de las microemulsiones obtenidas a partir de esta misma microemulsión madre. Las barras de escala indican 100 micrómetros.....	89
Cuadro 21. Imágenes microscópicas de la emulsión madre D y de las microemulsiones obtenidas a partir de esta misma microemulsión madre. Las barras de escala indican 100 micrómetros.....	90
Cuadro 22. Imágenes microscópicas de la emulsión madre E y de las microemulsiones obtenidas a partir de esta misma microemulsión madre. Las barras de escala indican 100 micrómetros.....	91
Cuadro 23. Propiedades viscoelásticas de las microemulsiones estudiadas a temperatura ambiente.	96
Cuadro 24. Propiedades viscoelásticas de las emulsiones madre estudiadas a temperatura ambiente.	97
Cuadro 25. Propiedades viscoelásticas de los ingredientes utilizados en la formación de las emulsiones.....	97
Cuadro 26. Propiedades fisicoquímicas, realizadas a temperatura ambiente, de las microemulsiones estudiadas.	99
Cuadro 27. Propiedades fisicoquímicas, realizadas a temperatura ambiente, de las emulsiones madre estudiadas.....	99



Cuadro 28. Propiedades fisicoquímicas de los ingredientes utilizados en la formación de las emulsiones.....	100
Cuadro 29. Efecto del aumento de la temperatura (75°C, 5 min), la agitación mecánica (15, 500 rpm, 2 min), y el ultrasonido (70 W, 40 KHz, 2 min) sobre la turbidez de las microemulsiones estudiadas.	101
Cuadro 30. Efecto del aumento en temperatura (75°C, 5 min), agitación mecánica (15, 500 rpm, 2 min), y ultrasonido (70 W, 40 KHz, 2 min) sobre la transparencia de las microemulsiones estudiadas.	102
Cuadro 31. Efecto del aumento de la temperatura (75°C, 5 min), la agitación mecánica (15, 500 rpm, 2 min), y el ultrasonido (70 W, 40 KHz, 2 min) sobre el pH de las microemulsiones estudiadas.	103
Cuadro 32. Efecto del aumento de la temperatura (75°C, 5 min), la agitación mecánica (15, 500 rpm, 2 min), y el ultrasonido (70 W, 40 KHz, 2 min) sobre la conductividad de las microemulsiones estudiadas.....	104
Cuadro 33. Efecto del aumento de la temperatura (75°C, 5 min), la agitación mecánica (15, 500 rpm, 2 min), y el ultrasonido (70 W, 40 KHz, 2 min) sobre la densidad de las microemulsiones estudiadas.	104
Cuadro 34. Temperaturas de desestabilización de las emulsiones madre utilizadas en la formulación de microemulsiones.	105
Cuadro 35. Propiedades dinámicas viscoelásticas: módulo elástico G' y módulo viscoso G'' en función de la temperatura (5-150°C) de las emulsiones madre y las microemulsiones realizadas a partir de estas.....	106
Cuadro 36. Cambios en la turbidez de las microemulsiones adicionadas con quercetina (12.5 mg/mL) o rutina (25 mg/mL).	109
Cuadro 37. Cambio en la densidad de las microemulsiones adicionadas con quercetina (12.5 mg/mL) o rutina (25 mg/mL).	110
Cuadro 38. Cambio en el pH de las microemulsiones adicionadas con quercetina (12.5 mg/mL) o rutina (25 mg/mL).	110
Cuadro 39. Cambios en la conductividad de las microemulsiones adicionadas con quercetina (12.5 mg/mL) o rutina (25 mg/mL).	111



Cuadro 40. Efecto del aumento en temperatura (75°C, 5 min), agitación mecánica (15, 500 rpm, 2 min), y ultrasonido (70 W, 40 KHz, 2 min) sobre la transparencia de las microemulsiones en presencia del flavonoide quercetina.	112
Cuadro 41. Efecto del aumento en temperatura (75°C, 5 min), agitación mecánica (15, 500 rpm, 2 min), y ultrasonido (70 W, 40 KHz, 2 min) sobre la transparencia de las microemulsiones en presencia del flavonoide rutina.	114
Cuadro 42. Efecto termo protector (80°C x 5 min) de la actividad antioxidante de flavonoides contenidos dentro de microemulsiones.	118
Cuadro 43. Efecto termo protector (100°C x 5 min) de la actividad antioxidante de flavonoides contenidos dentro de microemulsiones.	119
Cuadro 44. Efecto protector a radiación ultra ultravioleta (365 nm x 10 min) de la actividad antioxidante de flavonoides contenidos dentro de microemulsiones.	120
Cuadro 45. Efecto térmico (100°C x 5 min) en el %RSA en microemulsiones adicionadas con quercetina y rutina a una concentración de 200 µM.	121
Cuadro 46. Efecto de la radiación ultravioleta (365 nm x 10 min) en el %RSA en microemulsiones adicionadas con quercetina y rutina a una concentración de 200 µM.	122
Cuadro 47. Capacidad de captación del radical libre DPPH por parte del etanol con flavonoides (quercetina y rutina) como control y de las microemulsiones con ambos flavonoides antes (línea negra) y después de aplicar tratamientos de temperatura (100°C x 5 min, línea azul) y radiación UV-A (365 nm x 10 min, línea roja).	123

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Etapas de solubilización de micelas O/W o O/W por incorporación del surfactante y/o co-surfactante (Imagen adaptada de Gutiérrez- Méndez et al., 2022).	9
Figura 2. Orientación de los surfactantes y co-surfactantes en una película interfacial (Imagen adaptada de Ballesteros, 2020).	10
Figura 3. Esquema de la energía involucrada en un sistema típico de microemulsión, así como la energía de sus fases separadas (Imagen adaptada de Callender et al., 2017)	11
Figura 4. Microestructuras de las microemulsiones. A) Modelos básicos de las microestructuras de las microemulsiones estabilizadas por moléculas anfifílicas (surfactante y co-surfactante): gota de aceite (O/W) (a), gota de agua (W/O) (b) y estructura bicontinua.	12
Figura 5. Sistema Winsor de las microemulsiones (Imagen adaptada de Ballesteros, 2020).	13
Figura 6. Constitución del diagrama ternario (Novelo-Torres & Gracia-Fadrique, 2010)	20
Figura 7. Diagrama de fases (obtenida de Kale & Deore, 2017)	21
Figura 8. Representación esquemática del método de titulación acuosa. A: Nanoemulsión. B: Solución micelar de surfactante. Sistema I: gotas de nanoemulsión solubilizadas en micelas hinchadas. Sistema II: mezcla de micelas hinchadas y gotas de nanoemulsión. Sistema III: mayor parte de la fase oleosa en gotas de nanoemulsión (Imagen adaptada de McClements, 2012).	22
Figura 9. Estructura básica de los flavonoides (Tomada de Xiao et al., 2011).	24
Figura 10. Estructura química de las principales subclases de flavonoides (Tomada de Xiao et al., 2011).	25
Figura 11. Estructura química de la quercetina (Tomada de Ulusoy & Sanlier, 2019)	26
Figura 12. Estructura química de la rutina (tomada de Negahdari et al., 2021).....	27
Figura 13. Diagrama del procedimiento general utilizado para realizar los diagramas ternarios.	38

Figura 14. Diagrama de la exposición a la radiación UV-A de microemulsiones con quercetina o rutina. (Adaptado de Pavoni et al., 2020). 58

Figura 15. Diagrama ternario 1, el cual describe las fases obtenidas mediante la combinación de diversas concentraciones de lecitina y tween-40 (1:2) como surfactante, aceite de oliva extra virgen como fase oleosa y buffer de fosfatos (pH 7.0, 10 mM) como fase acuosa. 62

Figura 16. Diagrama ternario 2, el cual describe las fases obtenidas mediante la combinación de diversas concentraciones de lecitina y tween-40 (1:2) como surfactante, aceite de oliva extra virgen como fase oleosa y buffer de fosfatos (pH 7.0, 10 mM) con etanol al 10% como fase acuosa..... 63

Figura 17. Diagrama ternario y descriptivo de fases obtenidas mediante la combinación de diversas concentraciones de lecitina y tween-40 (1:2) como surfactante, aceite de oliva extra virgen como fase oleosa y buffer de fosfatos (pH 7.0, 10 mM) con sales biliares al 0.5% como fase acuosa..... 66

Figura 18. Diagrama ternario y descriptivo de fases obtenidas mediante la combinación de diversas concentraciones de lecitina y tween-40 (1:2) como surfactante, aceite de oliva extra virgen como fase oleosa y buffer de fosfatos (pH 7.0, 10 mM) con sales biliares al 1% como fase acuosa..... 67

Figura 19. Diagrama ternario y descriptivo de fases obtenidas mediante la combinación de diversas concentraciones de tween-80 como surfactante, aceite de oliva como fase oleosa y buffer de fosfatos (pH 7.0, 10 mM) como fase acuosa..... 68

Figura 20. Diagrama ternario y descriptivo de fases obtenidas mediante la combinación de diversas concentraciones de tween-80 y sales biliares (2:1) como surfactante, aceite de oliva como fase oleosa y buffer de fosfatos (pH 7.0, 10 mM) como fase acuosa. 69

Figura 21. Cambios en la turbidez con el tiempo cuando diferentes concentraciones de distintos aceites de emulsiones madre se titulan en soluciones de surfactante (y/o co-surfactante). A) Microemulsiones a partir de la emulsión madre B (aceite de coco) y titulados en tween-80 con ácido acético. B) Microemulsiones a partir de la emulsión madre C (aceite de oliva) y titulados en tween-80 con ácido acético. 76



Figura 22. Cambios en la turbidez con el tiempo cuando diferentes concentraciones de distintos aceites de emulsiones madre se titulan en soluciones de surfactante (y/o co-surfactante). A) Microemulsiones a partir de la emulsión madre D (limoneno) y titulados en sales biliares. B) Microemulsiones a partir de la emulsión madre E (limoneno) y titulados en tween-80 con ácido acético. 80

Figura 23. Capacidad de captación del radical libre DPPH por parte del ácido ascórbico antes (línea negra) y después de aplicar tratamientos de temperatura (100°C x 5 min, línea azul) y radiación UV-A (365 nm x 10 min, línea roja). 117



LISTA DE ABREVIATURAS

- BC: Bicontinuas
- CFR: Código de Regulaciones Federales
- CMC: Concentración micelar crítica
- DFTs: Diagrama de fases ternarias
- FDA: Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos
- FEMA: Agencia Federal para el Manejo de Emergencias de los Estados Unidos
- G': Módulo de almacenamiento o elástico
- G'': Módulo de pérdida o viscosa
- GRAS: Generalmente Reconocido como Seguro
- HLB: Balance hidrófilo-lipófilo
- LCT: Ácidos grasos de cadena larga
- Lim: Limoneno
- M: Molaridad
- MCT: Ácidos grasos de cadena mediana
- MEM: Microemulsiones
- MEM-GA: Microemulsiones de grado alimenticio
- mL: Mililitro
- mM: Milimolar
- η : Viscosidad
- nm: Nanómetros
- Nw: Newtoniano
- O/W/O: Aceite en agua en aceite
- O/W: Aceite en agua
- O: Fase oleosa
- p/v: peso/volumen
- PM: Peso molecular
- Pp: Pseudoplástico



RLV: Región lineal viscoelástica

rpm: Revoluciones por minuto

S: Surfactante

STC: Ácidos grasos de cadena corta

T: Temperatura

Tan δ : Tangente de pérdida

Tw-80: Tween-80

UV-A: Ultravioleta

W/O/W: Agua en aceite en agua

W/O: Agua en aceite

W: Fase acuosa

μL : Microlitros

μm : micrómetro

μM : micromolar



RESUMEN

Los flavonoides son compuestos bioactivos que al ser incorporados a los alimentos le confieren valor agregado, desarrollando alimentos funcionales que pueden aportar beneficios al consumidor. Sin embargo, flavonoides como la quercetina tienen baja polaridad y por consiguiente poca solubilidad en medios acuosos, haciendo difícil la incorporación de estos a sistemas alimentarios. Aunado a esto, los flavonoides pueden degradarse por calor durante el procesamiento de alimentos o por exposición a radiación UV durante su almacenamiento. Por otro lado, se ha observado que sistemas como las microemulsiones de grado alimenticio (MEM-GA) han mostrado eficacia al momento de desarrollar alimentos funcionales, ya que pueden incorporar o encapsular compuestos bioactivos y protegerlos de su degradación. Los sistemas de MEM son dispersiones termodinámicamente estables, transparentes e isotrópicas, con una micela de 5 a 100 nm de diámetro, que se forman espontáneamente al mezclar aceite, agua, surfactantes y co-surfactantes. En esta investigación se formularon y caracterizaron microemulsiones de grado alimenticio (MEM-GA), e incorporaron a estas, compuestos bioactivos de baja polaridad (quercetina y rutina). Además, se evaluó la utilidad de las MEM-GA para proteger a dichos compuestos bioactivos de la radiación UV-A y tratamientos térmicos. Se realizaron varias mezclas con fases oleosas (aceite de coco, oliva y limoneno), surfactantes (tween-80 y sales biliares) y ácido acético (co-surfactante), obteniendo 14 microemulsiones de grado alimenticio Winsor IV. Los resultados reológicos demostraron que estas microemulsiones presentaban un comportamiento pseudoplástico y una estabilidad termoreológica hasta los 150°C. Adicionalmente, se pudo observar que las microemulsiones estudiadas presentaron estabilidad ante la agitación mecánica (15 500 rpm x 2 min), y su tratamiento por ultrasonido (70 W, 40 KHz x 2 min). Finalmente, las MEM-GA formuladas fueron capaces de incorporar 12.5 mg/mL de quercetina y 25 mg/mL de rutina sin modificar significativamente sus propiedades físico-químicas o su termoestabilidad. Además, las MEM-GA ayudaron a proteger a la quercetina y a la rutina de su degradación por calor o por radiación UV.

ABSTRACT

Flavonoids are bioactive compounds that, when incorporated into foods, give added value, developing functional foods that benefit the consumer. However, flavonoids such as quercetin have low polarity and, therefore, low solubility in aqueous media, making their incorporation into food systems difficult. In addition, heat can degrade flavonoids during food processing or exposure to UV radiation during storage. On the other hand, it has been observed that food-grade microemulsions (FG-MEM) are effective when developing functional foods, as they can incorporate or encapsulate bioactive compounds and protect them from degradation. MEM systems are thermodynamically stable, transparent, and isotropic dispersions with a 5 to 100 nm micelle, forming spontaneously when oil, water, surfactants, and co-surfactants are mixed. In this research, food-grade microemulsions (FG-MEM) were formulated and characterized, and bioactive compounds of low polarity (quercetin and rutin) were incorporated into these. In addition, the usefulness of FG-MEMs to protect these bioactive compounds from UV-A radiation and heat treatments was evaluated. Several mixtures were made with oily phases (coconut oil, olive, and limonene), surfactants (tween-80 and bile salts), and acetic acid (co-surfactant), obtaining 14 microemulsions of food grade Winsor IV. The rheological results showed that these microemulsions had a non-Newtonian (pseudoplastic) behavior and a thermorheological stability up to 150°C. The studied microemulsions were also stable during mechanical agitation (15 500 rpm x 2 min) and ultrasound treatment (70 W, 40 KHz x 2 min). Finally, the formulated FG-MEMs could incorporate 12.5 /mL of quercetin and 25 mg/mL of rutin without modifying their physico-chemical properties or thermostability. Furthermore, the FG-MEMs aided the protection of quercetin and rutin against UV radiation or heat degradation.



1. INTRODUCCIÓN

Las microemulsiones son sistemas de dispersiones coloidales isotrópicos, termodinámicamente estables y transparentes. Estos sistemas se obtienen mediante la mezcla de dos fases líquidas inmiscibles, una acuosa y la otra oleosa. Una de estas fases se mantiene establemente dispersa en el otra. Lo anterior se logra, gracias a una película interfacial de surfactantes en ocasiones combinado con co-surfactantes con un balance hidrófilo-lipófilo (HLB) adecuado (Flanagan & Singh, 2006; Taylor et al., 2007). Es posible clasificar a las microemulsiones por su estructura y por las fases que estas presenten. Las microemulsiones tienen tres principales microestructuras de dispersión: micelas de agua en aceite, micelas de aceite en agua y estructuras bicontinuas. Por lo tanto, tales sistemas coloidales pueden incorporar sustancias tanto hidrofílicas como lipofílicas (Ezrahi et al., 2019). Las microemulsiones tienen diferentes proporciones de sus componentes, siendo posible que se presenten excedentes de aceite o de agua. Estos excesos de fase oleosa o acuosa pueden coexistir en equilibrio con las microemulsiones, presentándose transiciones de fases en sistemas coloidales. A estas fases se les conoce como Winsor I, II, III y IV (Gutierrez-mendez, 2018). Estabilidad termodinámica, tensión interfacial muy baja, tamaño pequeño de sus gotas (5-100 nm), formación con poco aporte energético y vida útil amplia son otras propiedades específicas que poseen las microemulsiones (Flanagan & Singh, 2006; Taylor et al., 2007). Debido a las características anteriormente mencionadas, las microemulsiones son altamente utilizadas como sistemas de encapsulación.

La encapsulación de compuestos activos en sistemas microemulsionados protege a estas moléculas contra la degradación, además de facilitar el suministro cuando se trata de compuestos farmacológicos. También, los sistemas de microemulsión poseen la capacidad de encapsular compuestos activos poco solubles en medios acuosos (Aboudzadeh et al., 2018; Xavier-Junior et al., 2017). Un ejemplo de estos compuestos poco solubles en medios acuosos son los flavonoides. Los flavonoides son responsables del color, sabor, prevención de la oxidación de grasas y protección de vitaminas y enzimas, en los alimentos. Estos compuestos se encuentran principalmente en frutas, verduras, nueces, semillas, flores y cortezas. La quercetina



es el flavonoide más abundante, se encuentra en la naturaleza como aglicona y glucósido (rutina) presente en muchas frutas y verduras, principalmente en cebolla y manzana (Xiao et al., 2011).

No obstante, todas las ventajas que presentan las microemulsiones, su formulación a partir de ingredientes alimenticios se ha explorado escasamente. Lo anterior, debido a que la formación de estos sistemas suele involucrar el uso de co-surfactantes o cosolventes tóxicos como el metanol, o bien surfactantes o fases oleosas no comestibles. Por lo tanto, el desarrollo y uso de microemulsiones predomina en otras áreas industriales como en el desarrollo de combustibles, recubrimientos textiles, lubricantes, detergentes, agroquímicos y cosméticos (Gutiérrez-Méndez et. Al., 2022). Por esta razón, este trabajo tuvo como objetivo el desarrollar microemulsiones a partir de ingredientes de grado alimenticio (MEM-GA), así como caracterizar las cinéticas de formación y la termo-estabilidad. También, esta investigación tuvo como objetivo evaluar si las MEM-GA formuladas eran capaces de incorporar y proteger moléculas bioactivas como la rutina y quercetina.

2. ANTECEDENTES

2.1. Emulsiones

Las emulsiones son sistemas de dispersión coloidales formados por dos fases líquidas inmiscibles (agua y aceite). En estas dispersiones uno de los líquidos está disperso en el otro como pequeñas gotas esféricas, las cuales están estabilizadas por una monocapa de surfactantes. Los surfactantes reducen la tensión superficial ayudando a la miscibilidad, por ser moléculas anfífilas. Las principales variantes de la emulsión son: macroemulsión, nanoemulsión y microemulsión (Callender et al., 2017). Las principales características de los 3 tipos emulsión se encuentran en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Comparación de las propiedades de los tres sistemas coloidales.

Propiedades	Macroemulsión	Nanoemulsión	Microemulsión
Apariencia visual	Opaco (lechoso)	Blanco azulado, semiopaco, hasta transparentes	Transparente
Tamaño de gota	>200 nm	20-200 nm	5-100 nm
Isotropía óptica	Anisotrópico	Isotrópico	Isotrópico
Clasificación	O/W, W/O, W/O/W, O/W/O	O/W, W/O	Winsor tipo I, II, III y IV (bicontinuas)
Estabilidad	Cinética	Cinética	Termodinámica
Concentración de surfactante	1 a 20% de la fase oleosa	3 a 10% de la fase oleosa	15 a 30% p/p de la fase oleosa
Tipos de co-surfactante	Ninguno	Alcohol de cadena larga	Alcohol de cadena corta
Formación	No espontánea	No espontánea	Espontánea
Viscosidad	Alta	Baja	Baja
Tensión interfacial	Alta	Baja	Muy baja
Fase	Bifásica	Monofásica	Monofásica
Costo de preparación	Alto	Alto	Bajo

Aceite en agua = O/W; agua en aceite = W/O; aceite en agua en aceite = O/W/O; y, agua en aceite en agua = W/O/W. (Callender et al., 2017; Flanagan & Singh, 2006; Kale & Deore, 2017; McClements, 2012; Santana et al., 2013; Singh et al., 2017; Taylor et al., 2007).

2.2. Tipos de emulsiones

2.2.1. Macroemulsión (emulsión convencional)

Una emulsión convencional es termodinámicamente inestable, es decir el tamaño de partícula o gota crece continuamente con el tiempo. Esta desestabilización de la emulsión induce floculación, coalescencia y sedimentación, para finalmente separar las dos fases de los líquidos gracias a la fuerza de gravedad. Estos sistemas al tener una estabilidad cinética y no termodinámica requieren una energía considerable para su formación. Por lo que se requieren equipos complejos de alto cizallamiento mecánico. Además, es necesario cantidades substanciales de emulsificantes que ayuden a reducir la tensión superficial y mejorar la miscibilidad entre ambos líquidos, gracias a su naturaleza anfífilica (Kale & Deore, 2017; Santana et al., 2013).

Las macroemulsiones al tener un tamaño de gota mayor a 200 nm de diámetro, son soluciones viscosas con un aspecto lechoso u opaco. Hay 4 tipos principales de microemulsiones: aceite en agua (O/W), agua en aceite (W/O), aceite en agua en aceite (O/W/O) y agua en aceite en agua (W/O/W). Las emulsiones O/W y O/W/O consisten en gotas de aceite dispersas en una fase continua de agua, mientras que las emulsiones W/O Y W/O/W consisten en gotas de agua dispersas en una fase continua de aceite. Gracias al tipo de surfactante utilizado, es el tipo de emulsión resultante. Por ejemplo, las emulsiones O/W son producidas por surfactantes que se disuelven mejor en agua que en aceite. Resumiendo lo anterior, la fase continua de cualquier emulsión depende de la fase en la que el emulsionante sea más soluble (Callender et al., 2017; Flanagan & Singh, 2006).

2.2.2. Nanoemulsión

A las nanoemulsiones también se les conoce como miniemulsiones o emulsiones ultrafinas. Estas están compuestas por una fase oleosa, una parte acuosa, un surfactante y en ocasiones un co-surfactante. Al tener un tamaño de gota menor a la de las macroemulsiones (20 a 200 nm) suelen ser de color blanco azulado, semiopaco, hasta transparentes (Callender et al., 2017; Flanagan & Singh, 2006).

Las nanoemulsiones comparten características tanto de macroemulsiones como de microemulsiones. Estas emulsiones ultrafinas son dispersiones dinámicas, ópticamente isotrópicas y de baja viscosidad, características también presentes en las microemulsiones. Las nanoemulsiones constantemente requieren el aporte de energía y agitación para su formación, de igual manera que las macroemulsiones. Las nanoemulsiones, al igual que las macroemulsiones pueden llegar a ser cinéticamente estables (sobre todo si se usan métodos de alta energía para su formación), pero ambas son termodinámicamente inestables. La inestabilidad termodinámica de estas emulsiones se debe a que la energía libre del sistema de dispersión coloidal es mayor a la energía libre de las fases oleosa y acuosa. Como consecuencia, las nanoemulsiones como las macroemulsiones con el paso del tiempo vuelven a sus fases originales. Sin embargo, la nanoemulsión por tener tamaños de gotas más pequeñas en referencia a los de la macroemulsión, existe una mayor resistencia a la coalescencia, retrasando significativamente la separación de fases. Finalmente, las nanoemulsiones pueden ser del tipo aceite en agua (O/W) o agua en aceite (W/O) (Callender et al., 2017; McClements, 2012; Singh et al., 2017).

2.2.3. *Microemulsión*

Las microemulsiones son dispersiones termodinámicamente estables, por lo que sus fases no tienden a separarse con el tiempo, manteniéndose estables hasta por años. Además, las microemulsiones son transparentes, de baja viscosidad e isotrópicas que contienen una fase oleosa, una fase acuosa, surfactante y co-surfactante. Los surfactantes y co-surfactantes ayudan a estabilizar a la microemulsión, ya que forman una película interfacial. Debido a su pequeño tamaño de gota (5-100 nm) obtienen el nombre de microemulsiones (Flanagan & Singh, 2006; Taylor et al., 2007). La formación de la microemulsión surge del autoensamblaje espontáneo de las partes hidrofóbicas e hidrofílicas de la molécula del surfactante, sin el aporte de energía. Esto sucede gracias a que los componentes de una microemulsión se encuentran en un estado energético superior al del producto final. Es por ello, que al querer disociar los

componentes originales de las microemulsiones, es necesario aplicar energía (Callender et al., 2017; Kale & Deore, 2017).

En comparación con las macroemulsiones (1-20% fase oleosa) y nanoemulsiones (3-10% fase oleosa), las microemulsiones (15-30% fase oleosa) requieren una mayor cantidad de surfactante y co-surfactante para reducir la tensión superficial lo suficiente para que sean termodinámicamente estables. Además, el co-surfactante utilizado en la formación de las microemulsiones debe tener una longitud de cadena de carbono más corta que la requerida en las nanoemulsiones (Callender et al., 2017; Kale & Deore, 2017).

De acuerdo con Winsor (1948), es posible clasificar a las microemulsiones en cuatro tipos: Winsor I, Winsor II, Winsor III y Winsor IV. En la sección 2.4 se explica a detalle la clasificación Winsor (Callender et al., 2017).

2.3. Teorías de formación de las microemulsiones

2.3.1. Teoría de la solubilización micelar

La solubilización micelar se refiere a la capacidad de solubilizar micelas O/W o W/O en una solución con exceso de surfactante, co-surfactante o ambos. En la etapa uno el surfactante y/o co-surfactante saturan las micelas, estas micelas se hinchan, aumentando la turbidez de la emulsión considerablemente. En una segunda etapa, se produce la ruptura de estas micelas. En este momento dentro de la emulsión coexisten moléculas de surfactante, moléculas de co-surfactante, micelas O/W o W/O hinchadas, micelas mixtas pequeñas de surfactante y co-surfactante. En la tercera etapa, todas las micelas O/W o W/O hinchadas se convierten en micelas mixtas de surfactante y co-surfactante (Figura 1). El proceso de solubilización tiene un tiempo de horas hasta días. A medida que avanza este proceso disminuye la turbidez y poco a poco la solución se vuelve ópticamente transparente (Gutiérrez- Méndez et al., 2022).

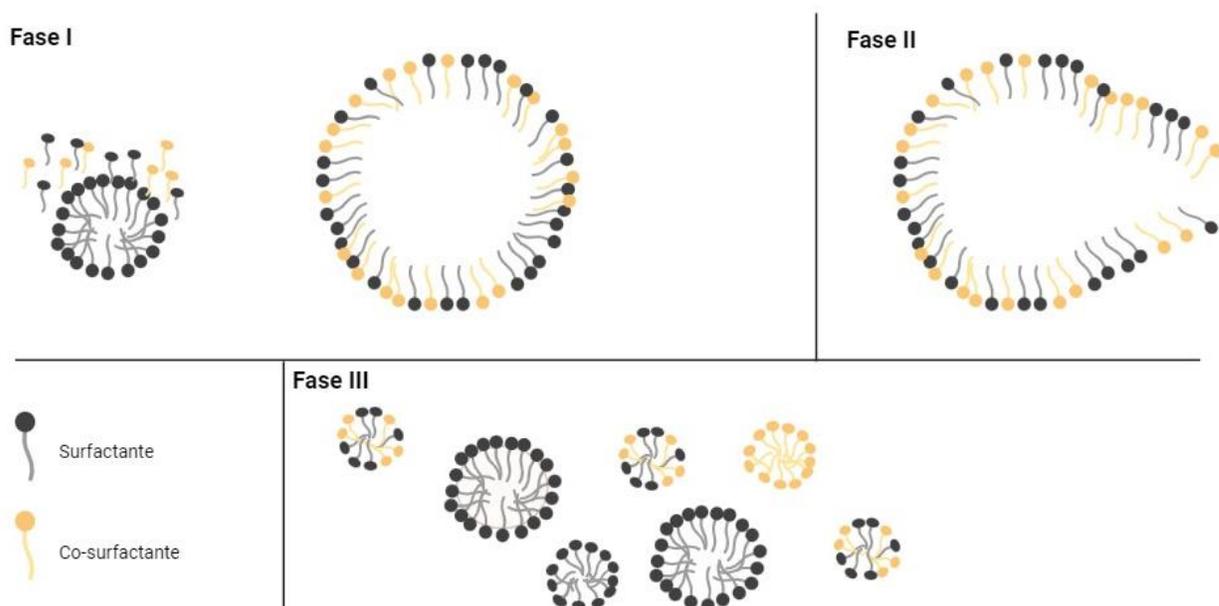


Figura 1. Etapas de solubilización de micelas O/W o O/W por incorporación del surfactante y/o co-surfactante (Imagen adaptada de Gutiérrez- Méndez et al., 2022).

2.3.2. Teoría interfacial

La estabilidad de una microemulsión se debe a la creación y mantenimiento de una película interfacial altamente organizada y termodinámicamente estable entre las fases dispersa y continua. Esto gracias a la capacidad de los surfactantes/co-surfactantes para reducir la tensión interfacial entre las fases inmiscibles. Esta película permite que las gotas se dispersen de manera uniforme y evita su coalescencia. La teoría interfacial considera factores como la hidrofobicidad/lipofobicidad del surfactante y del co-surfactante (Figura 2), la relación entre sus tamaños y geometrías moleculares, así como las interacciones específicas entre las moléculas del surfactante/ co-surfactante y los componentes de las fases dispersas y continuas (Sharma et al., 2016).

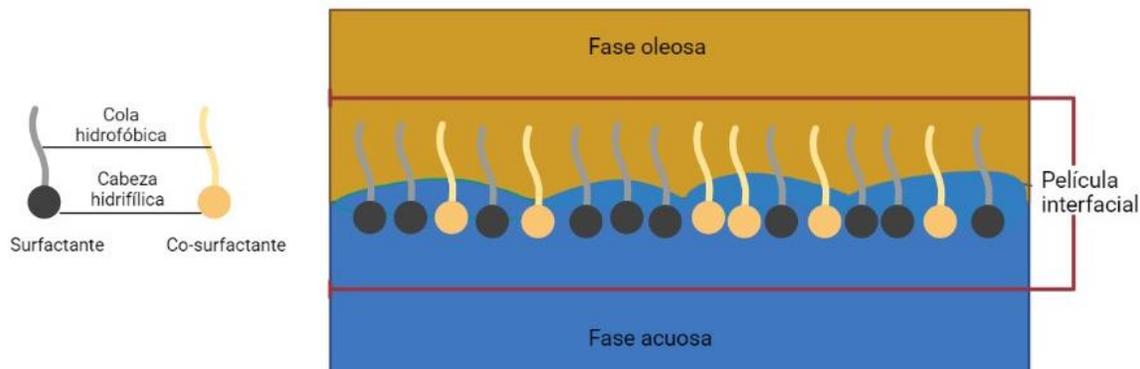


Figura 2. Orientación de los surfactantes y co-surfactantes en una película interfacial (Imagen adaptada de Ballesteros, 2020).

2.3.3. Teoría de la termodinámica

La teoría de la termodinámica en la formación de microemulsiones se basa en la minimización de la energía libre del sistema. La energía libre de Gibbs es una función termodinámica que nos indica si un sistema está en equilibrio. Los componentes de una microemulsión se encuentran en un estado energético superior a la microemulsión final (Figura 3). Esta teoría se resume con la ecuación 1, donde ΔG_f es la energía libre de formación, γ es la tensión superficial de la interfaz fase acuosa- fase oleosa, ΔA es el cambio en el área interfacial en la emulsificación, T es temperatura y ΔS es la variación en la entropía del sistema.

$$\Delta G_f = \gamma \Delta A - T \Delta S \quad (\text{Ec 1})$$

La ΔG_f puede adquirir valores negativos cuando se reduce considerablemente la tensión superficial y aumenta la entropía del sistema. Este escenario puede ocurrir al adicionarse en abundancia un surfactante o co-surfactante y por la generación de un gran número de gotitas de emulsión. En este sentido, cuando la ΔG_f es negativa, el ensamblaje de las emulsiones ocurre espontáneamente y además son termodinámicamente estables. Aunque en la práctica, se suele requerir de una mínima cantidad de energía para su formación, ya sea en forma de calentamiento o agitación.

Esta energía es utilizada para superar barreras cinéticas o para acelerar el ordenamiento de las moléculas del surfactante (Gutiérrez- Méndez et al., 2022; Lawrence & Rees, 2000; Pavoni et al., 2020).

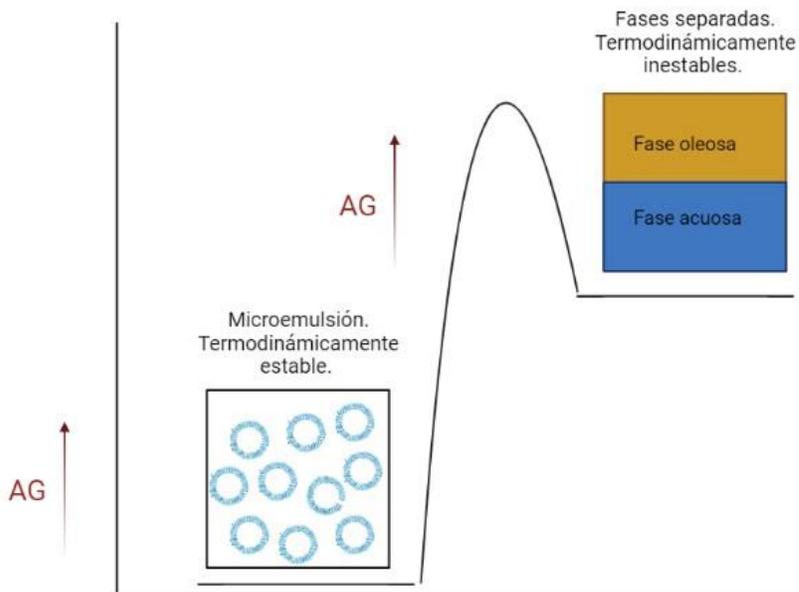


Figura 3. Esquema de la energía involucrada en un sistema típico de microemulsión, así como la energía de sus fases separadas (Imagen adaptada de Callender et al., 2017)

2.4. Microestructuras de las microemulsiones

De igual manera que sucede en otros tipos de emulsiones (macro, nano), el empleo de moléculas anfifílicas es fundamental en la formación de microemulsiones. Estas moléculas anfifílicas (surfactantes y/o co-surfactantes) tienen como objetivo reducir la tensión interfacial de dos líquidos comúnmente inmiscibles, por ejemplo, agua (W) y aceite (O). (Asgari et al., 2019).

Estructuralmente las microemulsiones suelen clasificarse en aceite en agua (O/W), agua en aceite (W/O), o bicontinuas (BC). En las microemulsiones O/W, el aceite sirve como fase dispersa y el agua se convierte en la fase continua. Las moléculas de surfactante se organizan en la interfase aceite-agua, formando una estructura estable

con pequeñas gotas de aceite dispersas por toda la fase acuosa. Por lo contrario, en las microemulsiones (W/O), el agua forma la fase dispersa, mientras que el aceite actúa como la fase continua. Las moléculas anfifílicas se orientan en la interfase aceite-agua, creando una estructura estable con pequeñas gotas de agua dispersas por toda la fase de aceite. Algo distinto ocurre en las microemulsiones bicontinuas, también conocidas como microemulsiones de fase intermedia, que son estructuras más complejas en las que las fases de aceite y agua son continuas. Las moléculas anfifílicas se organizan de una manera que crea una red continua de dominios de aceite y agua en toda la microemulsión. En esta microestructura las cantidades de las fases de aceite y agua son similares (Ezrahi et al., 2019). En la Figura 4 se muestran las microestructuras de las microemulsiones.

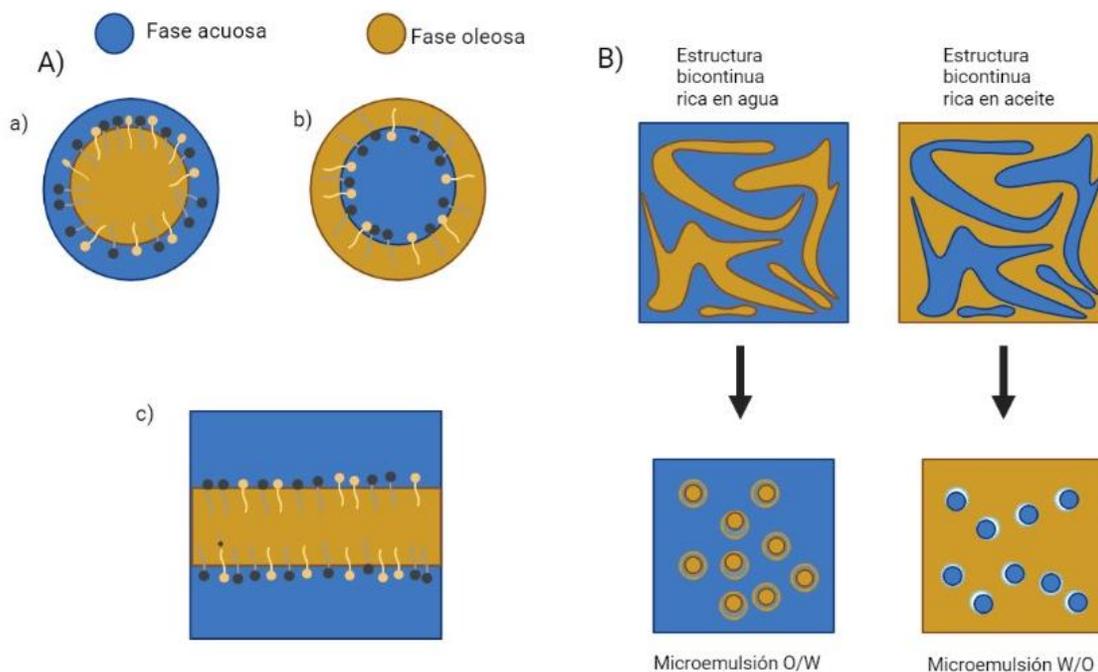


Figura 4. Microestructuras de las microemulsiones. A) Modelos básicos de las microestructuras de las microemulsiones estabilizadas por moléculas anfifílicas (surfactante y co-surfactante): gota de aceite (O/W) (a), gota de agua (W/O) (b) y estructura bicontinua.

Las microemulsiones se forman en diferentes proporciones de sus componentes, siendo posible que se presenten excedentes de aceite o de agua, estos excesos de fase oleosa o acuosa pueden coexistir en equilibrio con las microemulsiones. La aparición del exceso de las fases oleosa o acuosa ocurren cuando no hay suficiente concentración de surfactante en el sistema, presentándose transiciones entre las fases al agregar un nuevo componente, o cambios en la temperatura, a estas fases se les conoce como Fases de Winsor (Taylor et al., 2007). El término Fases de Winsor proviene del nombre del científico británico Robert Winsor, quien estudió estas transiciones de fases en sistemas coloidales en la década de 1950. Estos tipos de sistemas se conocen como Winsor tipo I, II, III y IV; como se ilustran en la Figura 5.

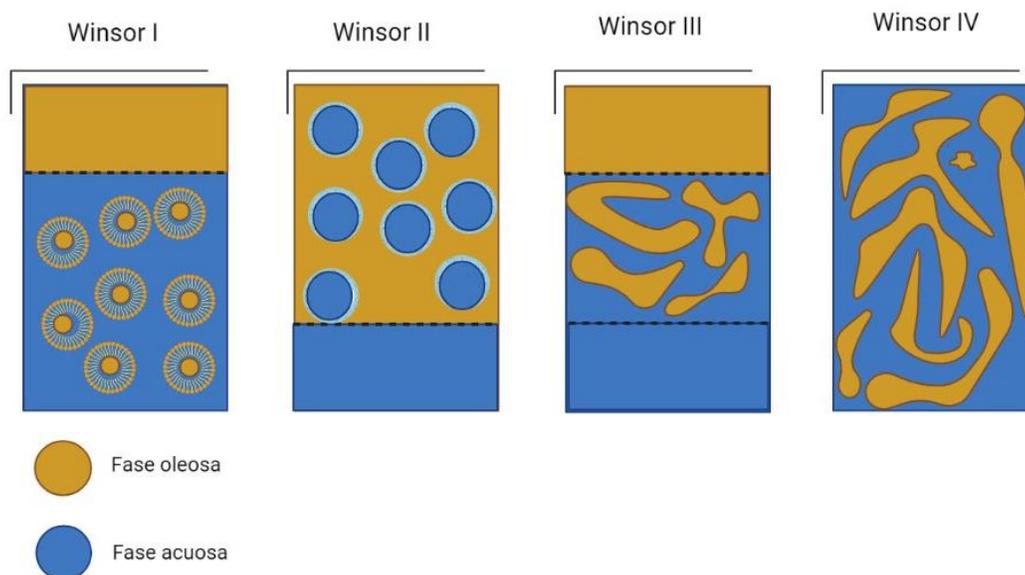


Figura 5. Sistema Winsor de las microemulsiones (Imagen adaptada de Ballesteros, 2020).

- ❖ **Winsor I** (sistema de dos fases): microemulsión en aceite en agua formada por micelas hinchadas de aceite dispersas en una fase acuosa, es decir la microemulsión inferior (O/W) se encuentra en equilibrio con una capa excedente de aceite en la parte superior.
- ❖ **Winsor II** (sistema de dos fases): la microemulsión superior (W/O) existe en equilibrio con el exceso de agua inferior, es decir es una microemulsión de agua

en aceite formada por micelas hinchadas de agua dispersas en una fase oleosa y que presentan un exceso de agua en el fondo.

- ❖ **Winsor III** (sistema trifásico): presenta una fase intermedia bicontinua de O/W y W/O la cual existe en equilibrio con la fase superior de aceite y la fase inferior de agua. Esto sucede cuando están presentes volúmenes iguales de aceite y agua en el sistema de microemulsión.
- ❖ **Winsor IV**: es un sistema macroscópicamente monofásico, siendo una mezcla homogénea de aceite, agua y surfactante (Gutiérrez- Méndez et al., 2022).

2.5. Parámetro del equilibrio hidrofílico-lipofílico (HLB)

Según la regla de Bancroft la fase continua de una emulsión será la fase en la que el surfactante es preferentemente soluble. Es decir, los surfactantes polares tienden a hacer emulsiones de aceite en agua (O/W) y los surfactantes solubles en aceite tienden a hacer emulsiones de agua en aceite (W/O). Conociendo la composición de la molécula del surfactante, es posible predecir el tipo de emulsión. En el año 1949, William C. Griffi introdujo el concepto del balance hidrófilo- lipófilo (HLB). Este concepto explica que existe un balance en los surfactantes que depende del tamaño (y fuerza en aquellos que son iónicos) de la porción polar (hidrofílica) y de la porción apolar (lipofílica). Desde la introducción del concepto HLB por Griffin, se han desarrollado métodos para determinar el parámetro HLB tanto experimental como computacionalmente. El más utilizado, es el método de Davies. Este método asume que el HLB es la suma de los grupos hidrofílicos y lipofílicos del surfactante, asignándoles un valor numérico a cada grupo hidrofílico y lipofílico. Lo anterior se resume con la ecuación 2 (Ec 2) y el Cuadro 2. (Davis, 1994; Taylor et al., 2007)

$$\text{HLB} = 7 + \sum(\text{números de grupos hidrófilos}) + \sum(\text{números de grupos lipófilos}) \quad (\text{Ec 2})$$

Cuadro 2. Valor numérico asignado a cada grupo funcional utilizado en el método de Davies para estimar el equilibrio hidrófilo-lipófilo (HLB)

GRUPO FUNCIONAL	NÚMERO DE CONTRIBUCIÓN AL GRUPO
Hidrófilo	
-OH	1.9
-O-	1.3
Lipófilo (o hidrofóbico)	
-CH ₂ -; CH ₂ -; -CH ₂ -; =CH	-0.475

(adaptado de Davis, 1994)

En este método se le asigna al surfactante un número HLB dependiendo de la estructura química, en una escala de 0 a 20; entre 3.5 a 6.0 los surfactantes son adecuados para emulsiones W/O y entre 8 a 18 los surfactantes son afines en emulsiones O/W, cual más larga sea la cadena de ácidos grasos y mayor sea el grado de esterificación el valor de HLB será menor (Davis, 1994).

2.6. Componentes de las microemulsiones

Los componentes involucrados en la formulación general de las microemulsiones incluyen: una fase oleosa, una fase acuosa, surfactantes, co-surfactantes y cosolventes.

2.6.1. Fase oleosa

La elección de la fase oleosa es de suma importancia en la formulación de la microemulsión, dado que solubiliza la molécula lipofílica que se busca encapsular dentro de las micelas y a la vez facilita la formación de la microemulsión. Actualmente, existen una gran variedad de aceites comestibles (principalmente de origen vegetal) que se pueden utilizar en la formulación de microemulsiones. Estos aceites contienen

una mezcla de ésteres de glicéridos de ácidos grasos, básicamente triglicéridos, diglicéridos y monoglicéridos. Dentro de estos, los ácidos grasos que contienen pueden ser de cadena larga (LCT C14-C20), cadena media (MTC C6–C12), cadena corta (STC <6C), insaturados, saturados o ramificados. Gracias a todas estas diferencias en las estructuras químicas de los ácidos grasos, las propiedades físicas de los aceites comestibles varían entre sí. A mayor longitud de la cadena de los ácidos grasos, es más alta la capacidad disolvente del aceite o lípido, aumentando su capacidad de formar microemulsiones. En contraste, aquellos aceites con ácidos grasos de cadena corta tienen mayor poder de penetración en las colas o regiones hidrofóbicas del surfactante. Por lo tanto, los MCT son los ácidos grasos que más comúnmente se utilizan para formular microemulsiones, ya que son resistentes a la oxidación, son buenos disolventes y fáciles de emulsionar. Finalmente, la selección del aceite se basa en el potencial de solubilización y la capacidad para facilitar la formación de microemulsión (Pouton & Porter, 2008; Prajapati et al., 2011)

2.6.2. Fase acuosa

Por lo general el agua es por excelencia la fase acuosa utilizada en la mayoría de las formulaciones de las microemulsiones. Actuando como medio de dispersión en microemulsiones O/W y solubilizando a cualquier molécula hidrofílica. Algunas soluciones amortiguadoras también se pueden utilizar como fase acuosa, sobre todo cuando se utilizan surfactantes iónicos o surfactantes que se ven influenciados por el pH y la fuerza iónica del medio.

2.6.3. Surfactante

Los surfactantes convencionales presentan una zona hidrofílica (cabeza polar) y una zona hidrofóbica (cola apolar). Estas moléculas anfífilas se sitúan en la interfase de la emulsión, reduciendo la tensión superficial de esta. En microemulsiones acuosas, los surfactantes más utilizados son aquellos que en su región hidrofóbica se encuentra un grupo hidrocarbonado de cadena larga. La clasificación química más utilizada de

los surfactantes se basa en la naturaleza del hidrófilo, presentándose 4 tipos de surfactantes:

1. Aniónico: la zona hidrófila es un grupo cargado negativamente como el carboxilo, sulfonato, sulfato o fosfato.
2. Catiónico: en este tipo de surfactante el hidrófilo tiene una carga positiva, por ejemplo, los haluros de amonio cuaternario.
3. No iónico: la región hidrofílica no presenta carga, sin embargo, tiene grupos altamente polares como los ésteres de ácidos grasos de sorbitán (spans), los ésteres de ácidos grasos de polioxietilensorbitán (tweens), los ésteres de azúcar y los monoglicéridos.
4. Anfótero (también llamado zwitteriónico): en este tipo de surfactante la zona hidrofílica puede ser una carga positiva como una carga negativa, por ejemplo, los fosfolípidos. (Myers, 2006; Narang et al., 2007).

Gracias a la baja toxicidad, los surfactantes no iónicos son utilizados ampliamente en formulaciones orales y farmacéuticas. Diferentes a los surfactantes iónicos que suelen ser considerados tóxicos (Taylor et al., 2007). En el cuadro 3 se muestran ejemplos de surfactantes utilizados en emulsiones de grado alimenticio.

Los tween o polisorbatos son ésteres del polioxietilen sorbitano esterificados con ácidos grasos superiores. La interacción hidrofóbica entre el surfactante y la fase oleosa es directamente proporcional a la longitud de la cadena hidrocarbonada. Los tweens 20, 40 y 60 presentan diferencias en la longitud de la cadena alquílica. Poseen 12, 16 y 18 carbonos saturados en la cadena de alquilo, respectivamente. El tween 80 posee 18 carbonos en la cadena de alquilo y está insaturado. Los tween son solubles en agua con un alto valor de equilibrio hidrofílico-lipofílico (Graca et al., 2007).

Los fosfolípidos son considerados surfactantes GRAS (generalmente reconocido como seguro), por ello se usan frecuentemente en microemulsiones de grado alimenticio. Un ejemplo de estos fosfolípidos son las lecitinas provenientes de productos vegetales como la soya y de productos animales como el huevo, las cuales contienen fosfatidilcolina como componente principal (Taylor et al., 2007).

Cuadro 3. Lista de surfactantes usados comúnmente en emulsiones de grado alimenticio.

Clase general	Ejemplos	Nombre comercial
	Monooleato de sorbitán POE (20)	Tween 80, Crillet 4
Polisorbatos	Monolaurato de sorbitán POE (20)	Tween 20, Crillet 1
	Monooleato de sorbitán	Span 80, Crill 4
Ésteres de sorbitán	Monolaurato de sorbitán	Span 20, Crill 1
	Monoestearato de sorbitán	Span 60, Crill 3
Aceite de ricino de POE	Aceite de ricino de POE	Cremophore EI, Etocas 35 HV
Aceite de ricino hidrogenado de POE	Aceite de ricino hidrogenado de POE	Cremophor RH 40, HCO-40, Croduret 40 LD
Vitamina E de POE	Tocoferil-PEG 1000-succinato	Vitamina E TPGS
Glicéridos poliglicolizados	Macroglicéridos de linoleoilo	Labrafil 2125 CS
	Macroglicéridos de oleoilo	Labrafil 1944 CS
	Macroglicéridos de caproilo Caproilo	Labrasol
Fosfolípidos	Lecitina de soya Lecitina de huevo	
Sales Biliares	Desoxicolato de sodio	

Nota, POE, polioxietileno;(adaptado de Ballesteros, 2020).

2.6.4. Co-surfactante

En ocasiones es necesaria la presencia de un co-surfactante para la formación de microemulsiones. La función de los co-surfactantes es reducir aún más la tensión interfacial, lo que aumenta la entropía del sistema; lo anterior gracias al aumento de la fluidez de la interfaz (Taylor et al., 2007). Básicamente, las moléculas del co-surfactante se incorporarán a la interfaz de la emulsión, lo que hace que las micelas

se hinchen. Posteriormente, las micelas hinchadas se rompen y dan lugar a pequeñas micelas mixtas formadas de surfactante, co-surfactante y lípidos. Cuando la cantidad de micelas mixtas es muy grande, estas tienden a tocarse, dando lugar a estructuras bicontinuas (Gutiérrez- Méndez et al., 2022). En algunas ocasiones no se forman estructuras bicontinuas, formándose micelas positivas (O/W) gracias a que los alcoholes de cadena corta hinchan la región polar más que la región no polar. Lo contrario sucede con los alcoholes de cadena más larga, hinchando la región no polar más que la región polar favoreciendo la micela inversa (W/O) (Yaghmur et al., 2002). Finalmente, una diferencia importante entre el surfactante y el co-surfactante se encuentra en la cantidad utilizada en la formulación de las microemulsiones, siendo menor la del co-surfactante (Sharma et al., 2016). En el cuadro 4 se presentan los co-surfactantes más utilizados en emulsiones alimenticias.

Cuadro 4. Lista de co-surfactantes utilizados frecuentemente en emulsiones de grado alimenticio

Clase General	Ejemplos
Alcoholes de cadena corta	Etanol, alcohol bencílico
Polietilenglicoles (PEG)	PEG 400
Éteres de glicol	Dietilenglicol monoetil éter (Transcutol)
Sales biliares	Desoxicolato de sodio
Ácidos y sales orgánicas	Ácido acético
	Ácido caprílico
	Caprilato de sodio
	Sorbato de potasio

(Adaptado de Ballesteros, 2020)

2.6.5. *Co-solvente*

Los cosolventes son solventes orgánicos miscibles con la fase acuosa, estos reducen la constante dieléctrica del agua, ayudando a que el medio sea menos hidrófilo. Facilitando las interacciones hidrofílicas de la región no polar del surfactante y de fase oleosa. Ejemplos de estos son propilenglicol, glicerina y alcohol (Gutiérrez- Méndez et al., 2022; Narang et al., 2007).

2.7. Métodos utilizados en la preparación de microemulsiones

Los estudios sobre la formación de microemulsiones suelen enfocarse en dos métodos, mediante el incremento gradual de alguna de las fases hasta encontrar la mezcla que induce una microemulsión (usualmente empleando diagramas ternarios), o utilizando el método de titulación que solubiliza una nanoemulsión en un medio con exceso de surfactante.

2.7.1. Diagramas ternarios

El uso del diagrama ternario durante la formación de microemulsiones es de gran ayuda, puesto que representa el comportamiento gráficamente de cada ingrediente que lo compone. El diagrama ternario es representado por medio de triángulo equilátero, en el cual cada vértice (A, B o C) es un componente (ver Figura 6). Cualquier punto dentro de este diagrama representa la mezcla de los 3 componentes.

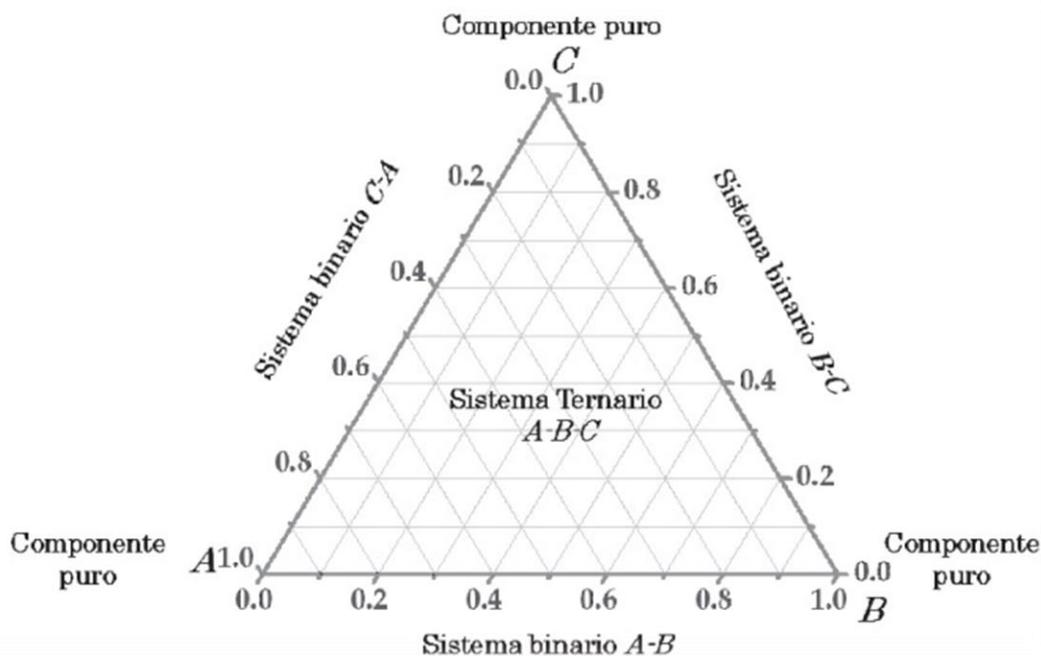


Figura 6. Constitución del diagrama ternario (Novelo-Torres & Gracia-Fadrique, 2010)

Estos diagramas son fáciles de realizar e interpretar. Los diagramas ternarios de agua, aceite y surfactante generalmente parten de una mezcla fija de aceite y surfactante. Posteriormente a esta mezcla se le va a adicionando gradualmente agua y se van registrando los cambios que se producen, hasta encontrar la formación de una microemulsión (Winsor IV). Cuando la zona de la microemulsión se encuentra cerca de la esquina de la fase oleosa (es decir poca cantidad de la fase acuosa) se presentan micelas inversas hinchadas. Es decir, la fase oleosa es continua y la fase acuosa la dispersa. A medida que se aumenta la cantidad de fase acuosa se obtienen micelas convencionales hinchadas (Figura 7). En la zona intermedia en la que las fases acuosa y oleosa existen casi en la misma calidad, el sistema existe como una fase bicontinua (Novelo-Torres & Gracia-Fadrique, 2010; Sharma et al., 2016).

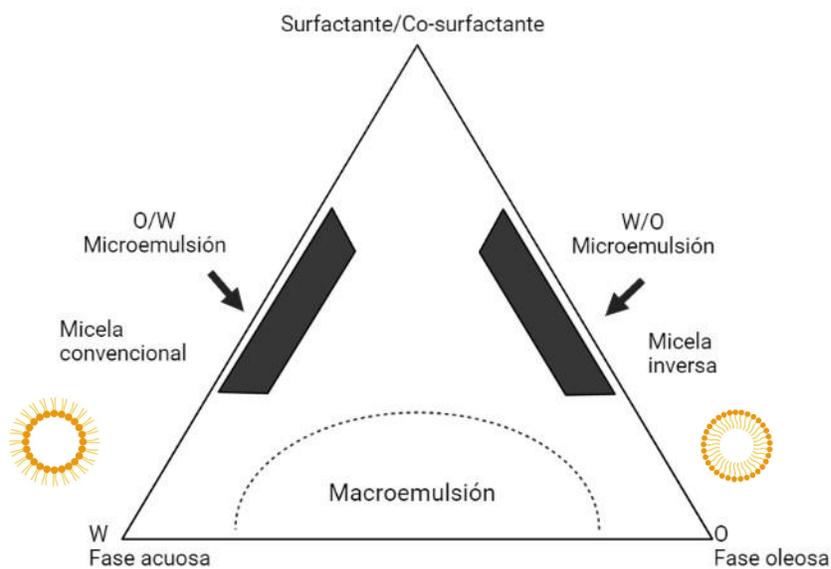


Figura 7. Diagrama de fases (obtenida de Kale & Deore, 2017)

2.7.2. Método de titulación acuosa

El método de titulación acuosa implica la realización de una nanoemulsión con una cantidad elevada de fase oleosa (10-20%). Posteriormente esta nanoemulsión se deja caer gota a gota en una solución con una elevada concentración de surfactante. Como resultado se obtienen mezclas de fase oleosa y surfactante en varias proporciones. Para realizar lo anterior, se utilizan viales transparentes con una alta concentración de surfactante. A cada vial se le adiciona gota a gota la nanoemulsión y se agita en un vortex (ver Figura 8). Durante el proceso, la inspección visual es importante para confirmar la formación de una microemulsión transparente (Buyuktimkin, 2020; Rao & McClements, 2012).

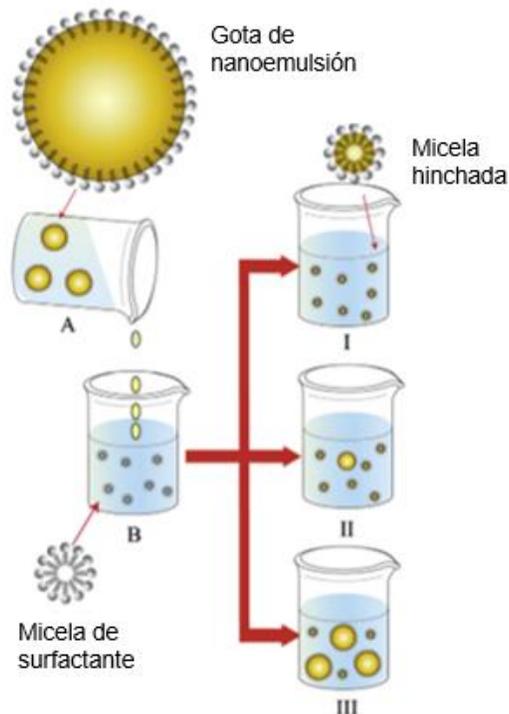


Figura 8. Representación esquemática del método de titulación acuosa. A: Nanoemulsión. B: Solución micelar de surfactante. Sistema I: gotas de nanoemulsión solubilizadas en micelas hinchadas. Sistema II: mezcla de micelas hinchadas y gotas de nanoemulsión. Sistema III: mayor parte de la fase oleosa en gotas de nanoemulsión (Imagen adaptada de McClements, 2012).

2.8. Microemulsiones alimentarias como sistemas de encapsulación de flavonoides

Las microemulsiones son las emulsiones más utilizadas como sistemas de encapsulación, debido a su alta estabilidad, formación de gotas pequeñas, facilidad de preparación y a su posible preparación con ingredientes de grado alimenticio. La encapsulación de compuestos activos mediante las micelas de microemulsiones hace posible la protección de compuestos bioactivos, así como su entrega de manera controlada dentro de un ambiente altamente estable. Además, dichos sistemas poseen la capacidad de realizar la encapsulación de activos poco solubles en medios acuosos (Aboudzadeh et al., 2018; Xavier-Junior et al., 2017).

2.8.1. Flavonoides

Los polifenoles son alrededor de 800 compuestos químicos naturales presentes en las plantas. Los polifenoles se dividen en flavonoides y no flavonoides, dentro de este último grupo se encuentran lignanos, estilbenos, ácidos fenólicos, metabolitos no fenólicos y otros polifenoles (Ulusoy & Sanlier, 2019). Los flavonoides son un grupo de componentes fenólicos, éstos son los polifenoles más abundantes en los alimentos. Muchos de estos compuestos son responsables del color, sabor, prevención de la oxidación de grasas y protección de vitaminas y enzimas, en los alimentos. Se encuentran principalmente en frutas, verduras, nueces, semillas, flores y cortezas. Generalmente están presentes en las plantas como glucósidos, enlazados con azúcares, y en menor cantidad como agliconas, sin azúcares enlazados. Las plantas los sintetizan como consecuencia de una infección microbiana, o como mecanismo de protección contra insectos o depredadores (Xiao et al., 2011).

La estructura del flavonoide está compuesta por un anillo de benceno (A) unido a un anillo heterocíclico de pirona (C), que se une en la posición 2 o 3 a un anillo de fenilo (B) como sustituyente (Figura 9). Con base en la posición que tome el sustituyente,

éstos pueden ser flavonoides (posición 2) e isoflavonoides (posición 3). En la naturaleza, la mayoría de los flavonoides se encuentran con uno o dos azúcares enlazados en su estructura. El enlace glucosídico por lo general se ubica en las posiciones 3 ó 7, y el carbohidrato puede ser L-ramnosa, D-glucosa, glucopiranos, galactosa o arabinosa. Las principales clases de flavonoides incluyen flavonas, flavonoles, flavanonas, catequinas (o flavanoles), antocianidinas, isoflavonas, dihidroflavonoles y chalconas. (Figura 10). La unión de grupos OH y azúcares añadidos dan como resultados los distintos tipos de flavonoides, siendo los flavonoles los más abundantes flavonoides en los alimentos (Veitch & Grayer, 2011; Xiao et al., 2011).

Los flavonoides se encuentran entre los fitoquímicos de origen natural que se les ha dado una mayor atención gracias a sus beneficios biológicos. Al ser fitoquímicos, los flavonoides no pueden ser sintetizados por mamíferos. Como componente dietético, los flavonoides tienen propiedades que ayudan a la salud debido a su alta capacidad antioxidante. Esta actividad antioxidante es gracias a los grupos hidroxilo funcionales, eliminando los radicales libres y/o quelando iones metálicos. La quelación de metales es de suma importancia en la prevención de generación de radicales que dañan las biomoléculas diana (Xiao et al., 2011).

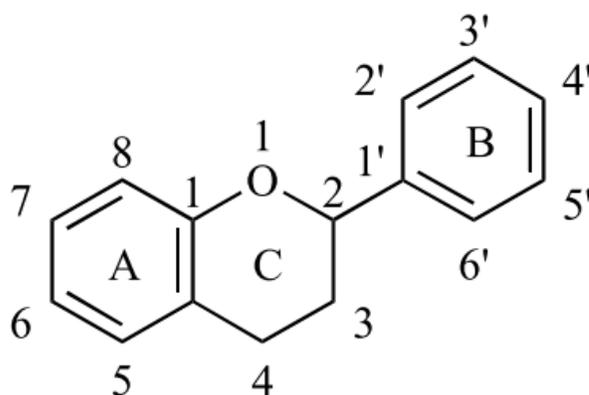


Figura 9. Estructura básica de los flavonoides (Tomada de Xiao et al., 2011).

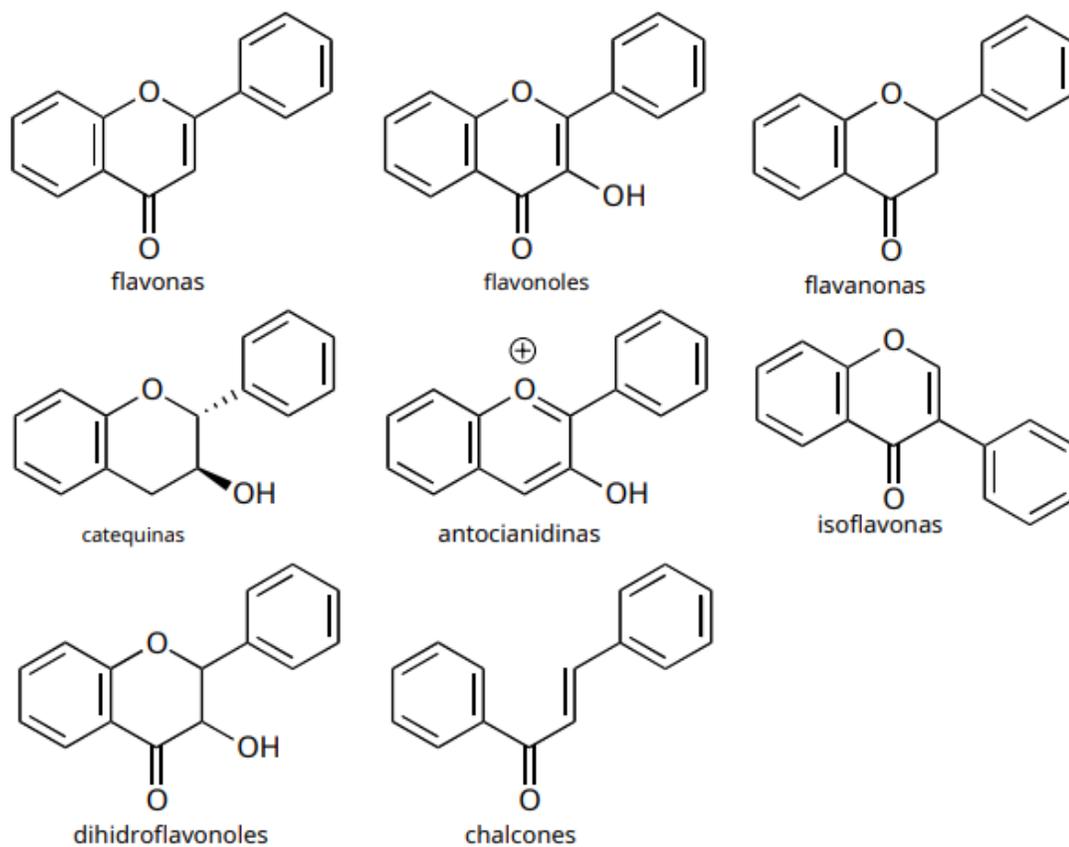


Figura 10. Estructura química de las principales subclases de flavonoides (Tomada de Xiao et al., 2011).

2.8.2. Quercetina y rutina

La quercetina (Figura 11) es un sólido cristalino amarillo, insoluble en agua y soluble en ácido acético glacial, perteneciente al grupo de los flavonoides, siendo el flavonoide más abundante y de mayor consumo por el humano. Se encuentra en la naturaleza como aglicona y glucósido, este último representa la forma más abundante, presente en muchas frutas y verduras, principalmente en cebolla y manzana. En forma de glucósido, sirve como pigmento, impartiendo color a una variedad de frutas y verduras. Los suplementos dietéticos con quercetina como ingrediente activo contienen principalmente la forma libre de quercetina, la aglicona. Algunos estudios sugieren que

la ingesta de quercetina constituye aproximadamente el 60-75% de los flavonoles totales (Andres et al., 2018; Ulusoy & Sanlier, 2019).

La estructura de glucósido en la quercetina se produce por la adición de un grupo glucósido (un azúcar, como glucosa, ramnosa) en la posición 3, en lugar de un grupo -OH. El grupo glucósido adicionado le brinda a la quercetina una mayor solubilidad en solventes polares como el agua, comparado con su forma aglicona (sin azúcar). Sin embargo, la forma gluconada de quercetina tiene aproximadamente la mitad de la actividad antioxidante de su forma aglicona. Por el contrario, el glucósido de quercetina presenta mayor acción antiinflamatoria que otras formas de la quercetina (Andres et al., 2018; Ulusoy & Sanlier, 2019)

Para llevar a cabo sus funciones antioxidantes de manera óptima, los flavonoides deben cumplir tres requisitos estructurales: a) la presencia en el anillo B de la estructura catecol u O-dihidroxi, b) la presencia de un doble enlace en posición 2,3, c) la presencia de grupos hidroxilo en posición 3 y 5. La quercetina los cumple todos estos supuestos (ver Figura 11). Gracias al grupo catecol en el anillo beta y al grupo -OH en la posición 3 del anillo AC, la quercetina presenta poder antioxidante (Ulusoy & Sanlier, 2019).

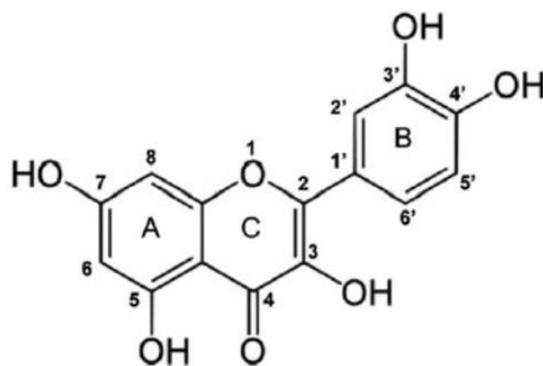


Figura 11. Estructura química de la quercetina (Tomada de Ulusoy & Sanlier, 2019)

La rutina es la forma glucosilada de la quercetina más abundante en la naturaleza. Este compuesto se conoce como quercetina-3-O-rutinósido o vitamina P, el cual se compone de quercetina (aglicona) y el disacárido rutinosa (Figura 12). La rutina se encuentra en una gran variedad de plantas, particularmente en *Fagopyrum esculentum*, *Sophora japónica*, y *Ruta graveolens*, (comúnmente conocida como *Ruda*). Este flavonoide se consume por lo general en frutas, verduras y bebidas de origen vegetal como el té y el vino. Se han atribuido una amplia variedad de efectos biológicos a la rutina, como, por ejemplo: actividad antiinflamatoria, antioxidante, neuroprotectora, nefroprotectora y hepatoprotectora. Estas actividades se atribuyen a su capacidad de eliminar especies oxidantes como los radicales $\cdot\text{OH}$, superóxido y peróxido. El principal inconveniente asociado a esta molécula es la escasa solubilidad en medios acuosos, siendo la razón de la limitada biodisponibilidad (Evaluation, 2013; Ghorbani, 2017; Negahdari et al., 2021).

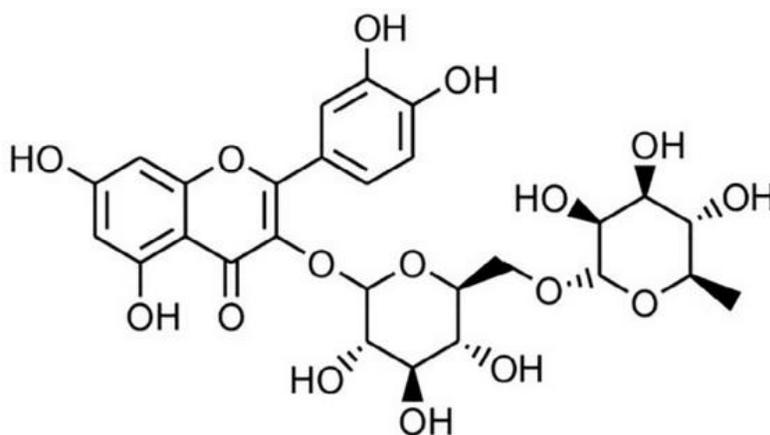


Figura 12. Estructura química de la rutina (tomada de Negahdari et al., 2021)

3. JUSTIFICACIÓN

Existen ciertas características en los alimentos que le confieren valor agregado y que son valoradas positivamente por los consumidores. La incorporación de compuestos bioactivos, como lo son los flavonoides, en sistemas alimentarios puede proporcionar un método simple para desarrollar alimentos funcionales que pueden aportar beneficios fisiológicos. La quercetina (3,3',4',5,7-pentahidroxi-flavona) es un flavonoide presente en frutas y verduras con fuerte carácter antioxidante. Los flavonoides ingeridos a través de la dieta se encuentran abundantemente en forma 3-O-glicosilada. El glicósido más abundante de la quercetina es la rutina, quercetina unida mediante enlace O-glicosídico a un disacárido glucosa-ramnosa. Dicha glicosilación aumenta su hidrosolubilidad, pero disminuye su poder antioxidante por lo que sería provechoso hacer llegar al organismo la forma aglicona (quercetina) de este flavonoide.

La problemática que existe para incorporar flavonoides como la quercetina en sistemas alimentarios, es la baja polaridad y por tanto solubilidad en agua o medio acuosos. Además, hay que proteger a los flavonoides ya que pueden degradarse por calor durante el procesamiento de alimentos o por exposición a radiación UV durante su almacenamiento. Sin embargo, las microemulsiones de grado alimenticio (MEM-GA) pueden ser un vehículo para incorporar flavonoides en sistemas alimentarios y protegerlos de su degradación durante el procesamiento o almacenamiento. Finalmente, el proceso de formación de microemulsiones es fácil, de bajo costo, no requiere de la adquisición de ningún equipo y fácilmente se podría implantar a escala industrial.

4. HIPÓTESIS

Es posible formular una microemulsión grado alimenticio (MEM-GA), la cual sea transparente y estable ante la agitación, sonicación y al calentamiento. Además, esta MEM-GA será capaz de incorporar compuestos bioactivos de baja polaridad como la quercetina o rutina sin perder su estabilidad o transparencia. Finalmente, la incorporación de quercetina y rutina en MEM-GA protegerá a estos flavonoides de la pérdida de su actividad antioxidante debido a la exposición de radiación UV-A o al calentamiento.

5. OBJETIVO

5.1. Objetivo general

Formular y caracterizar microemulsiones de grado alimenticio (MEM-GA), e incorporarles a estas, compuestos bioactivos de baja polaridad (quercetina y rutina). Además de evaluar la utilidad de las MEM-GA para proteger a dichos compuestos bioactivos de la radiación UV-A y del tratamiento térmico.

5.2. Objetivos particulares

1. Probar mediante sistemas ternarios, mezclas simples y por el método de titulación en exceso de surfactante la formación de MEM-GA a partir de ingredientes grado alimenticio como: surfactantes (tween 80, tween 40, sales biliares, lecitina), fases lipídicas o apolares (aceite de oliva, aceite de coco, y limoneno), y co-surfactantes (ácido acético, tween 80, sales biliares).
2. Describir las cinéticas de formación de MEM-GA al utilizar el método de titulación en exceso de surfactante.
3. Caracterizar las propiedades fisicoquímicas de las MEM-GA en cuanto a su pH, viscosidad, conductividad, turbidez, y densidad.
4. Describir la estabilidad de las MEM-GA al ser sometidas a agitación de alto esfuerzo (Ultraturrax), sonicación y cambios de temperatura (p.e., 5-75°C).
5. Describir las características y estabilidad de las MEM-GA al ser adicionadas con un compuesto bioactivo de baja polaridad como la quercetina o rutina.

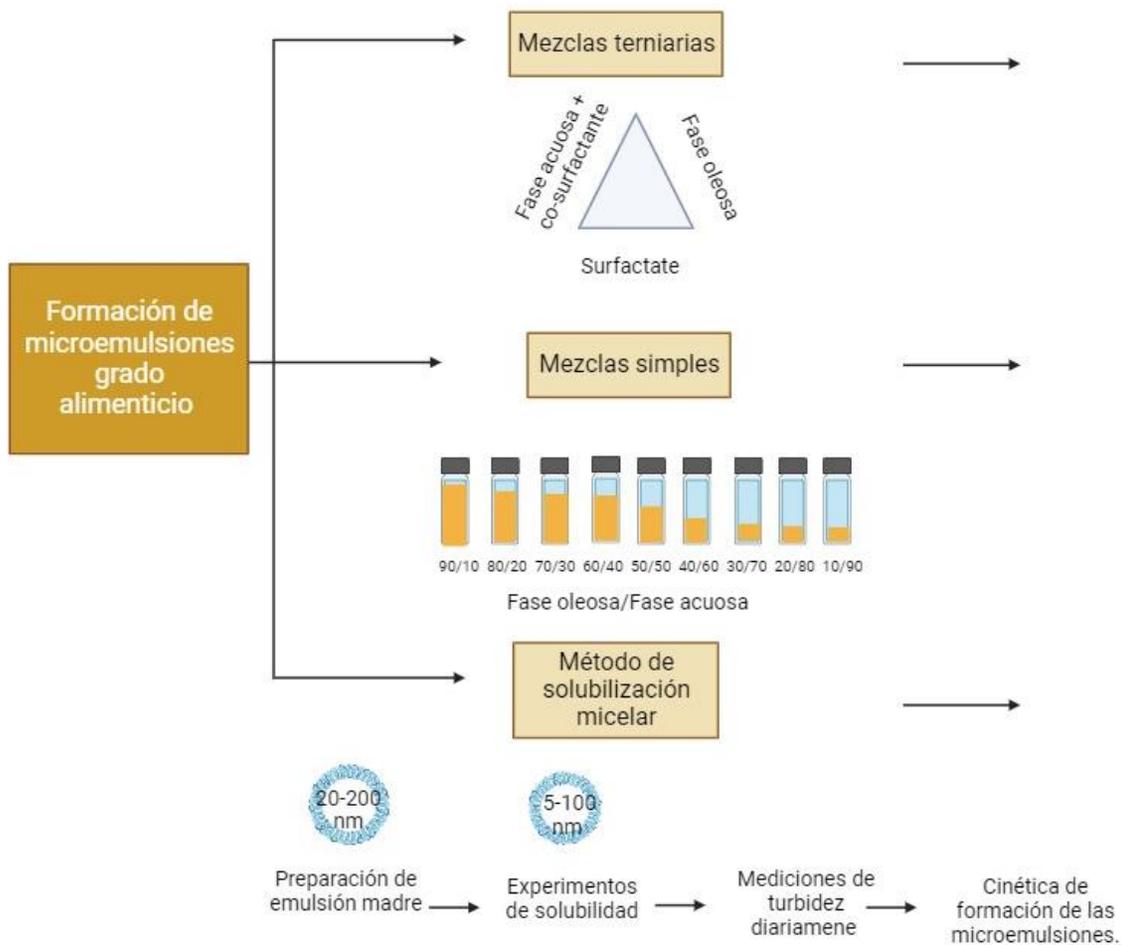


6. Evaluar si la MEM-GA protege a la quercetina y rutina de la fotodegradación de sus actividades antioxidante al ser irradiadas por 10 minutos con radiación UV-A (365 nm)
7. Evaluar si la MEM-GA protege a la quercetina y rutina de la pérdida de su actividad antioxidante al ser calentadas a temperaturas de 80°C y 100°C.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. Fase 1: Formación de microemulsiones grado alimenticio

6.1.1. Diagrama metodológico



Surfactantes	Co-surfactante	Fase oleosa	Fase acuosa
Tween-80	Etanol	Aceite de oliva extra virgen	Solución amortiguadora de fosfatos pH 7, 10 mM
Tween-40		Aceite de oliva	
Lecitina	Sales biliares	Aceite de oliva	

Surfactantes	Co-surfactante	Fase oleosa	Fase acuosa
Tween-80	Ácido acético	Aceite de oliva	Solución amortiguadora de fosfatos pH 7, 10 mM
Lecitina		Aceite de cadena mediana a base de coco.	
Sales biliares			

Surfactantes	Co-surfactante	Fase oleosa	Fase acuosa
Tween-80	Ácido acético	Aceite de oliva	Solución amortiguadora de fosfatos pH 7, 10 mM
Sales biliares		Limoneno	
		Aceite de cadena mediana a base de coco	



6.1.2. Reactivos

- Aceite de oliva extra virgen (Regina Toscana, España)
- Aceite de oliva clásico (Borges, España)
- D-Limoneno (Química Roar, México)
- Aceite de cadena mediana proveniente del coco (MCT OLI Bur-Chers Natural, México)
- Ácido acético glacial $\geq 99.5\%$ (CTR SCIENTIFIC- México)
- Tween-80 (Azumex- México)
- Tween-40 (Azumex- México)
- Alcohol etílico anhidro (Alcoholera de Zapopan, S,A de C.V., México)
- Hidrato de Colato de Sodio de bilis bovina (sales biliares) $\geq 99\%$ (Sigma- Aldrich- Nueva Zelanda)
- L- α -fosfatidilcolina tipo II de soya 14-29% (Sigma- Aldrich- Alemania)
- Fosfato de Sodio Monobásico Anhidro 98% (CTR SCIENTIFIC- México)
- Fosfato de Sodio Dibásico Anhidro 98% (Reactivos y Productos químicos Finos S.A DE C.V.- México)

6.1.3. Equipos

- Potenciómetro HANNA Instruments Woonsocket RI USA (Made in Romania)
- Lector de absorbancia para microplacas (BioTek instruments® ELx808, Vermont, USA)
- Homogenizador de alta cizalla (IKA T18 basic Ultraturrax, Alemania)
- Ultrasonido (Branson® CPX1800H ultrasonic bath 70 W, 40 kHz, Branson Ultrasonics Corporation, Danbury CT, USA).
- Incubadora (SHEL LAB Sheldon Manufacturing, INC. 300 N, 26TH Cornelius Modelo: 1535, USA).
- Desionizador Barnstead (Termo Scientific, USA, Modelo: D8611, USA)

6.1.4. Estructura química de los principales ingredientes utilizados en la formulación de MEM-GA.

Cuadro 5. Estructura química de los principales ingredientes utilizados en la elaboración de las microemulsiones grado alimenticio MEM-GA.

Molécula	Estructura química
<p>Tween 80 (Monooleato de sorbitán polioxietilenado o polisorbato 80) Surfactante no iónico PM: 1310 g mol⁻¹ HLB: 15.0 CMC: 0.015 mM CODEX 01.1.4 3000 mg/kg de producto</p>	
<p>Tween 40 (Monopalmitato de polioxietilen sorbitano o polisorbato 40) Surfactante no iónico PM: 1283.63 g mol⁻¹ HLB: 15.6 CMC: 0.033 CODEX 01.1.4 3000 mg/kg de producto</p>	
<p>Sales biliares (Hidrato de colato de sodio) Surfactante iónico PM: 448.6 g mol⁻¹ HLB: 18 CMC: 9-15 mM FDA-CFR 184.1560: GRAS</p>	<p>H₂O</p>
<p>Lecithin from soybean (α- Fosfatidilcolina) Surfactante iónico PM: 782.1 g mol⁻¹ HLB: 7.95 CMC: 200 mM FDA-CFR 184.14: GRAS</p>	
<p>D-Limoneno (Terpenos de limón -Citrus limón L.) Terpeno (grupo 19) Aliphatic and aromatic hydrocarbons FEMA 4848 GRAS</p>	
<p>Ácido acético (Ácido etanoico o vinagre) PM: 60.052 g mol⁻¹ FDA-CFR 184.1005: GRAS</p>	

CFR = US Código de Regulaciones Federales; CMC = Concentración micelar crítica; FDA = US Administración de Alimentos y Medicamentos; FEMA = Agencia Federal para el manejo de emergencias; GRAS = Generalmente reconocido como seguro; HLB = Balance hidrofílico-lipofílico; PM = Peso Molecular. (Cohen et al., 2019; Gutiérrez- Méndez et al., 2022; Tikanadze et al., 2020; Walde et al., 1999)

6.1.5. Explorando la formación de MEM-GA a partir de Diagramas de Fases Ternarios (DFTs)

Con la finalidad de encontrar los ingredientes grado alimenticio que permiten la formación de ME-GA, en una primera instancia se ejecutaron seis DFTs utilizando diferentes ingredientes, los cuales se describen en el Cuadro 6.

Cuadro 6. Diagramas de fases ternarios (DFTs) usados para generar microemulsiones

Diagramas	Surfactante (1:2)	Fase oleosa	Fase acuosa	
	1	Lecitina / Tween 40	Aceite de oliva extra virgen	Solución amortiguadora de fosfatos
	2	Lecitina / Tween 40	Aceite de oliva extra virgen	Solución amortiguadora de fosfatos + etanol 10%
	3	Lecitina / Tween 40	Aceite de oliva extra virgen	Solución amortiguadora de fosfatos + sales biliares 0.5%
	4	Lecitina / Tween 40	Aceite de oliva extra virgen	Solución amortiguadora de fosfatos + sales biliares 1%
	5	Tween 80	Aceite de oliva	Solución amortiguadora de fosfatos
	6	Tween 80 / sales biliares	Aceite de oliva	Solución amortiguadora de fosfatos

Solución amortiguadora de fosfatos= pH 7, 10 mM. Lecitina = fosfatidilcolina. Sales biliares = hidrato de colato de sodio.

Los DFTs se generaron de la siguiente forma. Primero, se mezcló surfactante (S) con fase oleosa (O) en nueve tubos de plástico de 50 mL con fondo cónico en las siguientes proporciones S/O: 10/90, 20/80, 30/70, 40/60, 50/50, 60/40, 70/30, 80/20, 90/10. Sin importar la mezcla, todos los tubos tenían en este punto un volumen de dos mililitros. Posteriormente, las mezclas se homogenizaron a temperatura ambiente (25°C) usando un agitador mecánico de alta cizalla (IKA T18 basic Ultraturrax) a 15,500 rpm durante 2 minutos. Después de homogenizadas las mezclas, se dejaron reposar por 24 horas a 40°C. Posteriormente, se adicionó a cada tubo 0.25 mL de fase acuosa (W), se homogenizó e incubó nuevamente a 40°C por 24 horas. Después de este



tiempo, se repitió sucesivamente la adición de agua, homogenización, e incubación hasta alcanzar un volumen final de 12 mL (aproximadamente 10 días). De esta manera se logró obtener una amplia variedad de combinaciones de S/O/W (ver Cuadro 7 y Figura 13). Finalmente, en cada paso de adición de agua y después del periodo de incubación, los tubos fueron inspeccionados y fotografiados para describir el número de fases formadas. Las fases se clasificaron como: Winsor I (exceso de aceite arriba y emulsión abajo), Winsor II (emulsión arriba y exceso de agua abajo), Winsor III (exceso de aceite arriba, exceso de agua abajo y en medio una fase bicontinua transparente), y Winsor IV (una sola fase bicontinua transparente).

En el Anexo A se muestran a detalle todas las proporciones usadas en cada sistema ternario. De estos ingredientes, es importante describir que los surfactantes líquidos tweens se adicionaron directamente en las mezclas, mientras que los surfactantes sólidos (lecitina y sales biliares) se disolvieron según la regla de Bancroft, donde el surfactante se disuelve en la fase acuosa u oleica según su balance hidrófilo-lipófilo (HLB). Por lo que la lecitina se disolvió en la fase oleosa y las sales biliares en la fase acuosa, previo a la elaboración de las mezclas.

Cuadro 7. Cantidades generales de surfactante, fase oleosa y fase acuosa utilizadas para realizar los diagramas ternarios.

	Tubo	Proporción S/O	Surfactante (S) g o mL	Fase oleosa (O) mL
Día 1 (Preparación de mezcla de surfactante/ aceite)	1	10/90	0.2	1.8
	2	20/80	0.4	1.6
	3	30/70	0.6	1.4
	4	40/60	0.8	1.2
	5	50/50	1	1
	6	60/40	1.2	0.8
	7	70/30	1.4	0.6
	8	80/20	1.6	0.4
	9	90/10	1.8	0.2
	Tubo	Surfactante (S) %	Fase oleosa (O) %	Fase acuosa (W) %
Día 2 (a todos los tubos se les añadió 0.25 mL de fase acuosa*)	1	8.9	80	11.1
	2	17.8	71.1	11.1
	3	26.7	62.2	11.1
	4	35.6	53.3	11.1
	5	44.4	44.4	11.1
	6	53.3	35.6	11.1
	7	62.2	26.7	11.1
	8	71.1	17.8	11.1
	9	80	8.9	11.1
Día 3 (a todos los tubos se les añadió 0.25 mL de fase acuosa*)	1	8	72	20
	2	16	64	20
	3	24	56	20
	4	32	48	20
	5	40	40	20
	6	48	32	20
	7	56	24	20
	8	64	16	20
	9	72	8	20
Día 4 (a todos los tubos se les añadió 0.5 mL de fase acuosa*)	1	6.7	60	33.3
	2	13.3	53.3	33.3
	3	20	46.7	33.3
	4	26.7	40	33.3
	5	33.3	33.3	33.3
	6	40	26.7	33.3
	7	46.7	20	33.3
	8	53.3	13.3	33.3
	9	60	6.7	33.3
Día 5 (a todos los tubos se les añadió 0.35 mL de fase acuosa*)	1	6	53.7	40.3
	2	11.9	47.8	40.3
	3	17.9	41.8	40.3
	4	23.9	35.8	40.3
	5	29.9	29.9	40.3
	6	35.8	23.9	40.3
	7	41.8	17.9	40.3
	8	47.8	11.9	40.3
	9	53.7	6	40.3



Día 6 (a todos los tubos se les añadió 0.65 mL de fase acuosa*)	1	5	45	50
	2	10	40	50
	3	15	35	50
	4	20	30	50
	5	25	25	50
	6	30	20	50
	7	35	15	50
	8	40	10	50
	9	45	5	50
Día 7 (a todos los tubos se les añadió 1 mL de fase acuosa*)	1	4	36	60
	2	8	32	60
	3	12	28	60
	4	16	24	60
	5	20	20	60
	6	24	16	60
	7	28	12	60
	8	32	8	60
	9	36	4	60
Día 8 (a todos los tubos se les añadió 1.75 mL de fase acuosa*)	1	3	26.7	70.4
	2	5.9	23.7	70.4
	3	8.9	20.7	70.4
	4	11.9	17.8	70.4
	5	14.8	14.8	70.4
	6	17.8	11.9	70.4
	7	20.7	8.9	70.4
	8	23.7	5.9	70.4
	9	26.7	3	70.4
Día 9 (a todos los tubos se les añadió 3.25 mL de fase acuosa*)	1	2	18	80
	2	4	16	80
	3	6	14	80
	4	8	12	80
	5	10	10	80
	6	12	8	80
	7	14	6	80
	8	16	4	80
	9	18	2	80
Día 10 (a todos los tubos se les añadió 10 mL de fase acuosa*)	1	1	9	90
	2	2	8	90
	3	3	7	90
	4	4	6	90
	5	5	5	90
	6	6	4	90
	7	7	3	90
	8	8	2	90
	9	9	1	90

*Solución amortiguadora de fosfatos 10mM, pH 7

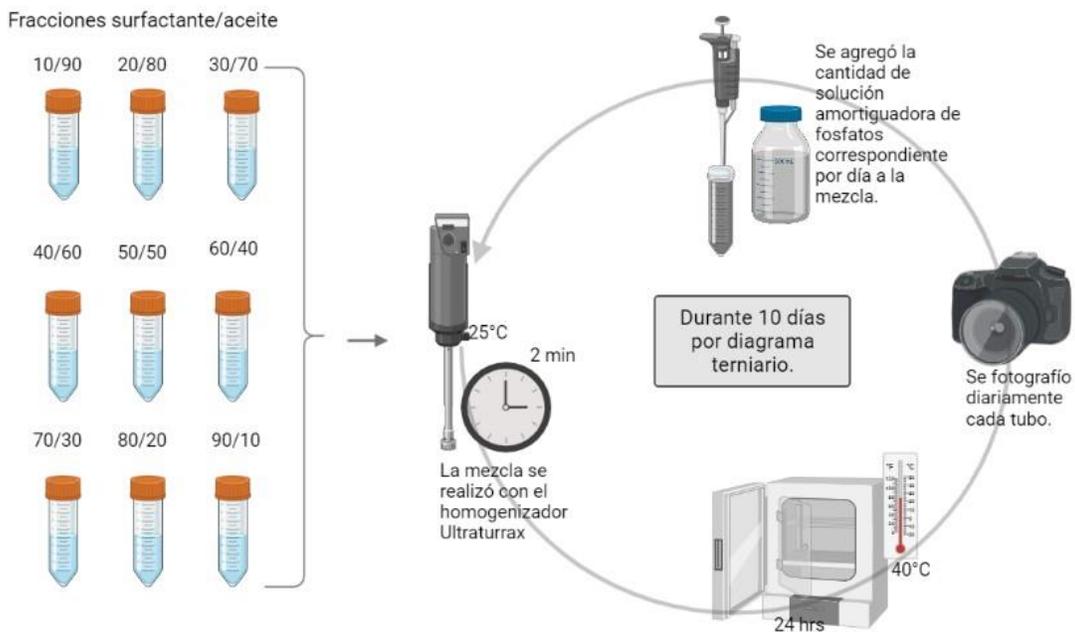


Figura 13. Diagrama del procedimiento general utilizado para realizar los diagramas ternarios.

6.1.6. Explorando la formación de MEM-GA a partir de mezclas simples y concentración fija de surfactante

Para crear las mezclas se utilizó como surfactantes ya sea lecitina, Tween 80, o sales biliares a una concentración fija del 1% (p/v). Además, se fijó la concentración de todos los surfactantes al 1%. También se utilizó como fase acuosa (W) buffer de fosfato pH 7.0, 10 mM, y en algunas mezclas se adicionó ácido acético como co-surfactante (Cuadro 8). Como fase oleosa (O) se utilizó aceite de oliva o aceite de coco de cadena mediana. En cada mezcla se creó una serie de proporciones W/O, las cuales fueron: 90:10, 80:20, 70:30, 60:40, 50:50, 40:60, 30:70, 20:80 y 10:90. En total, se crearon ocho mezclas, las cuales se muestran en el Cuadro 8. A continuación se describe la forma general de elaboración de las mezclas. Primero se pesaron o midieron 0.1 gramos o mililitros de surfactante y se disolvió en la fase acuosa (Tween 80 y sales biliares) o en la fase oleosa (lecitina). Posteriormente se homogenizó por 2 minutos a 15,500 rpm (IKA T18 basic Ultraturrax). El volumen final de todas las

mezclas fue de 10 mL. Las mezclas se realizaron en tubos para centrifuga de fondo cónico de 50 mL, pasándose después de formadas a tubos de vidrio (1.8 x 9.5 cm y 1.6 x 5.5 cm) con tapa, dónde fueron almacenados en una incubadora a 40°C por 24 horas (SHEL LAB Sheldon Manufacturing, INC. 300 N, 26TH Cornelius Modelo: 1535, USA). Los tubos fueron inspeccionados y fotografiados para describir el número de fases formadas y si se generaban las microemulsiones.

Cuadro 8. Ingredientes utilizados para realizar las mezclas simples, manteniendo constante la concentración de surfactante al 1% y el uso de buffer de fosfatos pH 7, 10 mM como fase acuosa.

	Surfactante	Co-surfactante	Fase oleosa
1	Sales biliares	Ninguno	Aceite de oliva
2	Tween-80	Ninguno	Aceite de oliva
3	Lecitina	Ninguno	Aceite de oliva
4	Sales biliares	Ninguno	Aceite de coco
5	Tween-80	Ácido acético al 20%	Aceite de coco
6	Tween-80	Ácido acético al 40%	Aceite de coco
7	Lecitina	Ácido acético al 20%	Aceite de coco
8	Lecitina	Ácido acético al 40%	Aceite de coco

Aceite de coco de cadena mediana.

6.1.7. *Formulación de MEM-GA por solubilización micelar en una solución con exceso de surfactante (método de titulación)*

Debido a que en los anteriores dos métodos de formulación de MEM-GA solo se logró llegar a microemulsiones Winsor I, II y III, se plantearon las siguientes posibilidades: a) el tiempo de formación de las ME es mayor a 24 horas, b) la cantidad de surfactante usado en los anteriores experimentos fue insuficiente para inducir la formación de MEM, y c) los lípidos de las fases oleosas usadas previamente son muy grandes, por lo que no se forman las microemulsiones. Con base en lo anterior, se decidió usar el método de titulación en el cual se emplearon los ingredientes que a continuación se describen. Fases oleosas (O): aceite de coco de cadena mediana, aceite de oliva, o



limoneno; fase acuosa (W): buffer de fosfatos 10 mM pH 7; surfactantes (S): tween 80 o sales biliares; co-surfactante (C-S): ácido acético para comprobar las teorías previamente planteadas.

El método de titulación consistió en preparar primero una emulsión madre O/W, en total se probaron seis diferentes emulsiones madre (ver Cuadro 9), cada una con diferente tipo de surfactante (S) y fase oleosa (O). La preparación de dicha emulsión madre fue de la siguiente forma: primero se agregó en un tubo cónico de plástico de 50 mL la fase acuosa (buffer de fosfato pH 7, 10 mM), seguido de la adición del surfactante (S). Una vez que el surfactante se hubiese disuelto por completo, se procedió a adicionar la fase oleosa. Ya con todos los ingredientes adicionados, se procedió a homogenizar la mezcla a 15,500 rpm por 2 minutos a temperatura ambiente (IKA T18 basic Ultraturrax, Alemania). Posteriormente, la mezcla se sonicó en un baño ultrasónico a 70 W y 40 kHz durante 5 minutos (Branson CPX1800H ultrasonic bath, Branson Ultrasonics Corporation, Danbury CT, USA). Al final del proceso, y según las microscopías tomadas la emulsión madre presentó una micela con un tamaño entre 2,500 y 4,500 nm.

Una vez preparada la emulsión madre, se procedió al proceso de solubilización micelar, adicionando gota a gota la emulsión madre sobre un buffer de fosfatos (10 mM y pH 7) adicionado con exceso de surfactante (solución solubilizadora de micelas) y en algunos casos con la adición de co-surfactante. En el Cuadro 10, se muestran los ingredientes utilizados en estas soluciones solubilizadoras, así como los detalles de las 56 mezclas estudiadas en esta parte del trabajo. El proceso general de titulación fue como sigue: un volumen entre 0.5 a 5 mL de la emulsión madre (ver Cuadro 9) se colocó en una bureta volumétrica. Aparte, en un vaso de precipitado se depositó entre 5.0 a 9.5 mL de buffer de fosfato con el correspondiente surfactante/co-surfactante (solución solubilizadora). Posteriormente, la emulsión madre se dejó caer lentamente {gota a gota} sobre la solución solubilizadora, y enseguida se transfirió la mezcla a un tubo de vidrio con tapa (2.0 x 3.5 cm) donde se agitó por unos segundos con un agitador de vórtice. Finalmente, los tubos se incubaron a 40°C por un periodo entre 14 a 30 días (SHEL LAB Sheldon Manufacturing, INC. 300 N, 26TH Cornelius Modelo:

1535). Durante el periodo de incubación los tubos fueron inspeccionados y fotografiados para describir el número de fases y si las emulsiones caían dentro de la clasificación de Winsor para microemulsiones (Winsor I, II, III, y IV).

Cuadro 9. Formulaciones usadas en la elaboración de emulsiones madre para el método de solubilización micelar en exceso de surfactante.

Emulsiones madre		A	B	C	D	E
% Surfactantes	Sales biliares	1			1	
	Tween 80		1	1		1
% Co-surfactantes	Ácido acético					
	Aceite de coco	10	1			
% Fase oleica	Aceite de oliva			1		
	Limoneno				10	10
	Buffer	89	98	98	89	89

Buffer = solución amortiguadora de fosfato pH 7, 10 mM. Sales biliares = colato de sodio hidratado. Tween 80 = polisorbato 80. Aceite de coco de cadena corta.

Cuadro 10. Formulaciones utilizadas en la preparación de MEM-GA por el método de solubilización micelar en una solución con exceso de surfactante (método de titulación).

Mezcla	Emulsión madre	Solución surfactante	Fase oleosa	Surfactante	Co-surfactante	Fase acuosa	Tipo de emulsión formada
	mL	mL	%	%	%	%	
Emulsión madre A ↘ solubilizada en buffer con 10% de sales biliares							
1	0.5	9.5	0.50	9.55	0	89.95	Winsor I
2	1	9	1.00	9.1	0	89.9	Winsor I
3	2	8	2.00	8.2	0	89.8	Winsor I
4	3	7	3.00	7.3	0	89.7	Winsor I
5	4	6	4.00	6.4	0	89.6	Winsor I
6	5	5	5.00	5.5	0	89.5	Winsor I
Emulsión madre B ↘ solubilizada en buffer con 10% de tween 80							
7	1	9	0.1	9.1	0	90.8	Emulsión
8	2	8	0.2	8.2	0	91.6	Emulsión
9	3	7	0.3	7.3	0	92.4	Emulsión
10	4	6	0.4	6.4	0	93.2	Emulsión
11	5	5	0.5	5.5	0	94.0	Emulsión
Emulsión madre B ↘ solubilizada en buffer con 40% de ácido acético							
12	1	9	0.1	0.1	36.0	63.8	Winsor I
13	2	8	0.2	0.2	32.0	67.6	Winsor I
14	3	7	0.3	0.3	28.0	71.4	Winsor I
15	4	6	0.4	0.4	24.0	75.2	Winsor I
16	5	5	0.5	0.5	20.0	79.0	Winsor I
Emulsión madre B ↘ solubilizada en buffer con 10% de tween 80 y 40% ácido acético							
17	1	9	0.1	9.1	36.0	54.8	Winsor IV
18	2	8	0.2	8.2	32.0	59.6	Winsor IV
19	3	7	0.3	7.3	28.0	64.4	Winsor I
20	4	6	0.4	6.4	24.0	69.2	Winsor I
21	5	5	0.5	5.5	20.0	74.0	Winsor I
Emulsión madre C ↘ solubilizada en buffer con 10% de tween 80							
22	1	9	0.1	9.1	0	90.8	Emulsión
23	2	8	0.2	8.2	0	91.6	Emulsión
24	3	7	0.3	7.3	0	92.4	Emulsión
25	4	6	0.4	6.4	0	93.2	Emulsión
26	5	5	0.5	5.5	0	94.0	Emulsión
Emulsión madre C ↘ solubilizada en buffer con 40% de ácido acético							
27	1	9	0.1	0.1	36.0	63.8	Winsor I
28	2	8	0.2	0.2	32.0	67.6	Winsor I
29	3	7	0.3	0.3	28.0	71.4	Winsor I
30	4	6	0.4	0.4	24.0	75.2	Winsor I
31	5	5	0.5	0.5	20.0	79.0	Winsor I
Emulsión madre C ↘ solubilizada en buffer con 10% de tween 80 y 40% de ácido acético							
32	1	9	0.1	9.1	36.0	54.8	Winsor IV
33	2	8	0.2	8.2	32.0	59.6	Winsor I
34	3	7	0.3	7.3	28.0	64.4	Winsor I
35	4	6	0.4	6.4	24.0	69.2	Winsor I
36	5	5	0.5	5.5	20.0	74.0	Winsor I

Emulsión madre D ↘ solubilizada en buffer con 10% de sales biliares							
37	0.5	9.5	0.5	9.55	0	89.95	Winsor IV
38	1	9	1.0	9.1	0	89.9	Winsor IV
39	2	8	2.0	8.2	0	89.8	Winsor IV
40	3	7	3.0	7.3	0	89.7	Winsor I
41	4	6	4.0	6.4	0	89.6	Winsor I
42	5	5	5.0	5.5	0	89.5	Winsor I
Emulsión madre E ↘ solubilizada en buffer con 10% de tween 80							
43	2	8	2.0	8.2	0	89.8	Winsor IV
44	3	7	3.0	7.3	0	89.7	Winsor IV
45	4	6	4.0	6.4	0	89.6	Emulsión
46	5	5	5.0	5.5	0	89.5	Emulsión
Emulsión madre E ↘ solubilizada en buffer con 40% de ácido acético							
47	2	8	2.0	0.2	32	65.8	Winsor IV
48	3	7	3.0	0.3	28	68.7	Winsor I
49	4	6	4.0	0.4	24	71.6	Winsor I
50	5	5	5.0	0.5	20	74.5	Emulsión
Emulsión madre E ↘ solubilizada en buffer con 10% de tween 80 y 40% de ácido acético							
51	2	8	2.0	8.2	32	57.8	Winsor IV
52	3	7	3.0	7.3	28	61.7	Winsor IV
53	4	6	4.0	6.4	24	65.6	Winsor IV
54	5	5	5.0	5.5	20	69.5	Emulsión
Emulsión madre E ↘ solubilizada en buffer con 1% de tween 80							
55	2	8	2.0	1.0	0	97	Winsor IV
Emulsión madre E ↘ solubilizada en buffer con 1% de tween 80 y 40% de ácido acético							
56	2	8	2.0	1.0	32	65	Winsor IV

Winsor I = exceso de aceite arriba y MEM en el fondo; Winsor II = MEM arriba y exceso de agua en el fondo; Winsor III = exceso de aceite arriba y exceso de agua en el fondo, con MEM en medio; Winsor IV = una fase MEM. Fase acuosa: solución amortiguadora de fosfatos a 7 pH, 10 mM.

6.1.8. Cinéticas de la formación de las microemulsiones

Después de realizadas las mezclas para obtener microemulsiones por el método de solubilización micelar, se observó que 14 de las 56 mezclas generaban una microemulsión de una sola fase tipo Winsor IV (Cuadro 10). Por lo que en éstas 14 mezclas: 17, 18, 32, 37, 38, 39, 43, 44, 47, 51, 52, 53, 55, 56 (Cuadro 11) se monitoreó el proceso de formación a partir de mediciones de turbidez. Brevemente, las mezclas se prepararon como se describió previamente (ver sección 6.1.6) y se incubaron a 40°C por un periodo entre 14 a 30 días. Durante el periodo de incubación se tomaron alícuotas de 250 µL diariamente, aunque en algunos casos los intervalos de muestreo fueron de horas debido a que el equilibrio se alcanzaba en menos de un día. Las alícuotas se depositaron en una microplaca de fondo plano de 96 pozos, para posteriormente ser leídas a 595 nm en un microlector de placas (Biotek Elx808, USA).



Las lecturas de absorbancia obtenidas se transformaron a unidades de turbidez usando las ecuaciones 3, 4 y 5. Donde, τ es turbidez, b es el espesor del pozo, T es la transmitancia y b es el espesor de la celda (altura del pozo de la microplaca = 1 cm). Finalmente, los valores de turbidez se graficaron contra el tiempo. La formación de microemulsión se consideró completada cuando se alcanzaban valores de turbidez menores al 0.5 % y cuando este valor se mantenía constante por varios días.

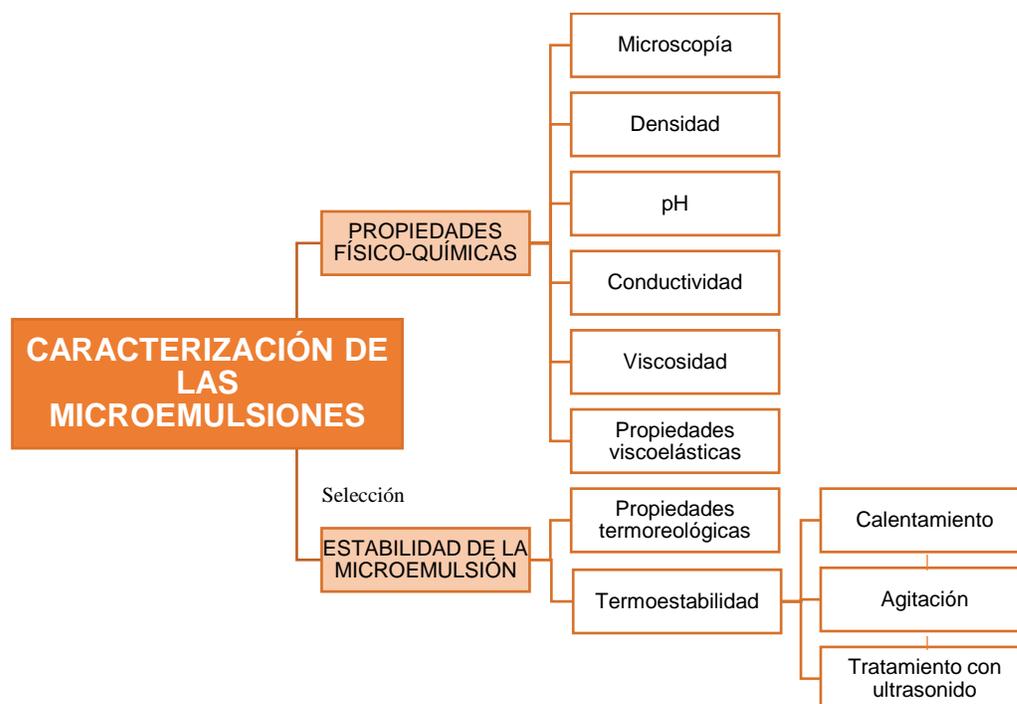
$$\tau = \left(-\frac{1}{b}\right) \ln (T) \quad \text{(Ec 3)}$$

$$\text{Abs} = -\log_{10} (T) \quad \text{(Ec 4)}$$

$$\tau = \left(-\frac{1}{b}\right) \ln (10^{-\text{Abs}}) \quad \text{(Ec 5)}$$

6.2. Fase 2: Caracterización de las microemulsiones

6.2.1. Diagrama metodológico



6.2.2. Equipos

- Microscopio óptico (Bx41 Olympus Optical Co. Ltd., Tokio)
- Reómetro AR 2000 ex TA Instruments (New Castle, DE, USA)
- Conductímetro (CORNING PINNACLE Corning Incorporated, NY 14831, USA)
- Potenciómetro HANNA Instruments Woonsocket RI USA (Made in Romania)



6.2.3. Microscopía

Las 14 microemulsiones obtenidas previamente a partir de diversas mezclas de ingredientes grado alimenticio (Cuadro 10 y 11) también se analizaron mediante microscopía óptica. Para este fin, una muestra de 10 μL de cada microemulsión (ya en equilibrio) fue colocada entre un cubreobjetos y un portaobjetos de vidrio. Posteriormente, estas muestras se observaron con un microscopio óptico (Bx41 Olympus Optical Co. Ltd., Tokyo) con cámara digital integrada (KP-D50, Hitachi Kokusai Electronic Inc., Tokyo). Las microemulsiones fueron fotografiadas para ser analizadas posteriormente con el Software Image Pro-Plus v.7.0 (Media Cybernetics, Inc., USA), para estimar el tamaño de micela de aceite presente. A la par, y con la finalidad de comparar el tamaño de micela, fueron analizadas cada una de las emulsiones madre de donde fueron obtenidas cada microemulsiones (Cuadro 11).

Cuadro 11. Resumen de las mezclas que produjeron microemulsiones (MEM), así como de las emulsiones madres de donde se originaron dichas MEM.

Mezcla	Emulsión madre de origen	O	S	C-S	W
		%			
		Coco	tw-80	acético	buffer
17	B	0.1	9.1	36.0	54.8
18		0.2	8.2	32.0	59.6
32	C	Oliva	tw-80	acético	buffer
		0.1	9.1	36.0	54.8
		Lim	SB	-	buffer
37	D	0.5	9.6	-	90.0
38		1.0	9.1	-	89.9
39		2.0	8.2	-	89.8
		Lim	tw-80	acético	buffer
43	E	2.0	8.2	-	89.8
44		3.0	7.3	-	89.7
47		2.0	0.2	32.0	65.8
51		2.0	8.2	32.0	57.8
52		3.0	7.3	28.0	61.7
53		4.0	6.4	24.0	65.6
55	E	2.0	1.0	8.0	89.0
56		2.0	1.0	40.0	57.0

O = fase oleosa, S = surfactante, C-S = co-surfactante, W = fase acuosa, Coco = aceite de coco de cadena mediana, Oliva = aceite de oliva, tw-80 = tween 80, acético = ácido acético, Lim = limoneno, SB = sales biliares, buffer = solución amortiguadora de fosfato pH 7, 10 mM.

6.2.4. Densidad de las microemulsiones

La densidad de cada microemulsión (ver cuadro 11) se midió con el uso de un picnómetro de 5 mL. Brevemente, se midió la masa del picnómetro vacío (m_p) en una balanza analítica (Adventurer™ OHAUS, AR2140, China). Posteriormente se agregaron al picnómetro 5 mL de la microemulsión, se colocó el tapón para remover el excedente de líquido y se pesó nuevamente el picnómetro (m_{p+m}). De la misma forma, se llenó el picnómetro con 5 mL de agua destilada-desionizada y se pesó (m_{p+w}), obtenida esta información y conociendo la densidad del agua ($\rho_w = 1\text{ g mL}^{-1}$) se procedió a calcular la densidad de las microemulsiones (ρ_m) con la ecuación 6 (Ec 6). Las mediciones se realizaron por triplicado para cada microemulsión.

$$\rho_m = \frac{m_{p+m} - m_p}{m_{p+w} - m_p} \rho_w \quad (\text{Ec 6})$$

6.2.5. pH

Se determinó el pH de cada microemulsión (ver cuadro 11) por medio de un Potenciómetro HANNA (Instruments Woonsocket RI USA). Previamente se calibró el potenciómetro utilizando estándares de buffer de pH 4, 7 y 10 (HANNA, USA). Posteriormente, se realizó la medición de pH utilizando 10 mL de microemulsión depositados en un tubo. La lectura de pH se realizó a temperatura ambiente y por triplicado.

6.2.6. Conductividad

La conductividad eléctrica de cada microemulsión (ver cuadro 11) se determinó mediante un conductímetro (CORNING PINNACLE Corning Incorporated, NY 14831, USA). Para este fin, el electrodo del equipo se colocó dentro de la microemulsión y se esperó a que se estabilizara para tomar la lectura. Previo a la lectura de las muestras, el sensor de conductividad fue calibrado colocándolo al aire y asegurándose que la medición fuera de 0. La conductividad de las microemulsiones se expresó como mS cm^{-1} .

6.2.7. Viscosidad

Se tomó una alícuota de 1.3 mL de cada microemulsión (ver cuadro 11) y se colocó entre la plataforma de un reómetro AR 2000 ex TA Instruments (New Castle, DE, USA) y un plato plano (ángulo) 40 mm. La distancia entre el plato y la muestra se fijó en 1,000 μm . Posteriormente, se colocó la trampa de vapor para prevenir la evaporación de la muestra. Enseguida se programó una prueba de flujo a 25°C bajo las siguientes condiciones: rampa de velocidad de corte de 1 a 200^s con un tiempo de duración de 2 minutos. Durante este tiempo se midieron y graficaron los cambios en esfuerzo cortante con respecto a los cambios en velocidad de corte. Las gráficas se analizaron para determinar el tipo de comportamiento (Newtoniano o no-newtoniano) y estimar la viscosidad (η) o viscosidad aparente (η_a), utilizando la ecuación 7 (Ec 7) donde, η_a es la viscosidad aparente, **b** es índice de consistencia, $\dot{\gamma}$ es la velocidad de corte (la cual se eligió arbitrariamente a 100 Pa s), y **s** es índice de flujo. La viscosidad se expresó como mPa s. Estos cálculos se organizaron con el software Rheology Advantage Data Analysis Program, TA. Todas las mediciones se realizaron por triplicado.

$$\eta_a = b\dot{\gamma}^{s-1} \quad (\text{Ec 7})$$

6.2.8. Propiedades viscoelásticas

A las 14 microemulsiones resultantes (ver cuadro 11) se les realizó mediciones oscilatorias no destructivas que permitieron obtener los principales parámetros reológicos como el módulo de almacenamiento o elástico (G'), el módulo de pérdida o viscoso (G'') y la tangente de pérdida ($\tan \delta$). El análisis se realizó con un reómetro AR 2000 ex TA Instruments (New Castle, DE, USA) y un plato de aluminio paralelo (40 mm diámetro). Entre la plataforma del equipo y el plato se colocaron aproximadamente 1.3 mL de muestra a 10°C, dejando entre ambos platos un espacio (gap) de 1000 μm . Una vez colocada la muestra, se colocó la trampa de vapor, la cual en la parte superior contenía aceite mineral para evitar que se evapore la muestra durante el análisis. Posteriormente, se ejecutó un barrido de deformación oscilante entre 5 a 25%, a 25°C y a una frecuencia de 7 Hz. Bajo estas condiciones se pudo obtener una región lineal

donde los valores de G' y G'' se mantienen estables independientemente del % de deformación. A esta región se le denomina región lineal viscoelástica (RLV). Los valores de G' y G'' reportados son el promedio de los valores obtenidos en la RLV. Las mediciones se realizaron por triplicado y los datos obtenidos fueron analizados con el software TA Rheology Advantage Data Analysis (TA Instruments, New Castle, DE, USA).

6.2.9. *Propiedades termoreológicas de microemulsiones selectas*

De las 14 microemulsiones resultantes se seleccionaron las microemulsiones con mayor cantidad de fase oleosa, siendo un total de 8 mezclas a las que se les analizó sus propiedades termoreológicas. Las mezclas seleccionadas fueron: 18, 32, 39, 44, 47, 53, 55, y 56 (ver detalles de las fórmulas en Cuadro 10 y 11). Las propiedades termoreológicas se midieron usando un reómetro modelo AR 2000 ex TA Instruments (New Castle, DE, USA) y plato plano de 40 mm diámetro. Entre la plataforma del equipo y el plato se colocaron aproximadamente 1.3 mL de muestra a 10°C, dejando entre ambos platos un espacio (gap) de 1000 μm . Una vez colocada la muestra, se colocó la trampa de vapor, la cual en la parte superior contenía aceite mineral para evitar que se evapore la muestra durante el análisis. Las pruebas se ejecutaron bajo las siguientes condiciones: deformación = 15% (valor dentro de la RLV), frecuencia múltiple = 1 a 7 Hz, barrido de temperatura = 5 a 150°C, y velocidad de calentamiento = 5 °C min⁻¹. Posterior al análisis se graficaron los módulos G' , G'' así como $\tan \delta$ versus la temperatura, para identificar una posible ruptura o inversión de la emulsión. Todas las mediciones se realizaron por triplicado y los datos obtenidos fueron analizados con el software TA Rheology Advantage Data Analysis (TA Instruments, New Castle, DE, USA).

6.2.10. *Estabilidad de las microemulsiones al calentamiento, agitación y sonicación*

A las 8 microemulsiones seleccionadas anteriormente (mezclas 18, 32, 39, 44, 47, 53, 55, y 56, ver detalles de las fórmulas en Cuadro 10 y 11), también se les analizó su



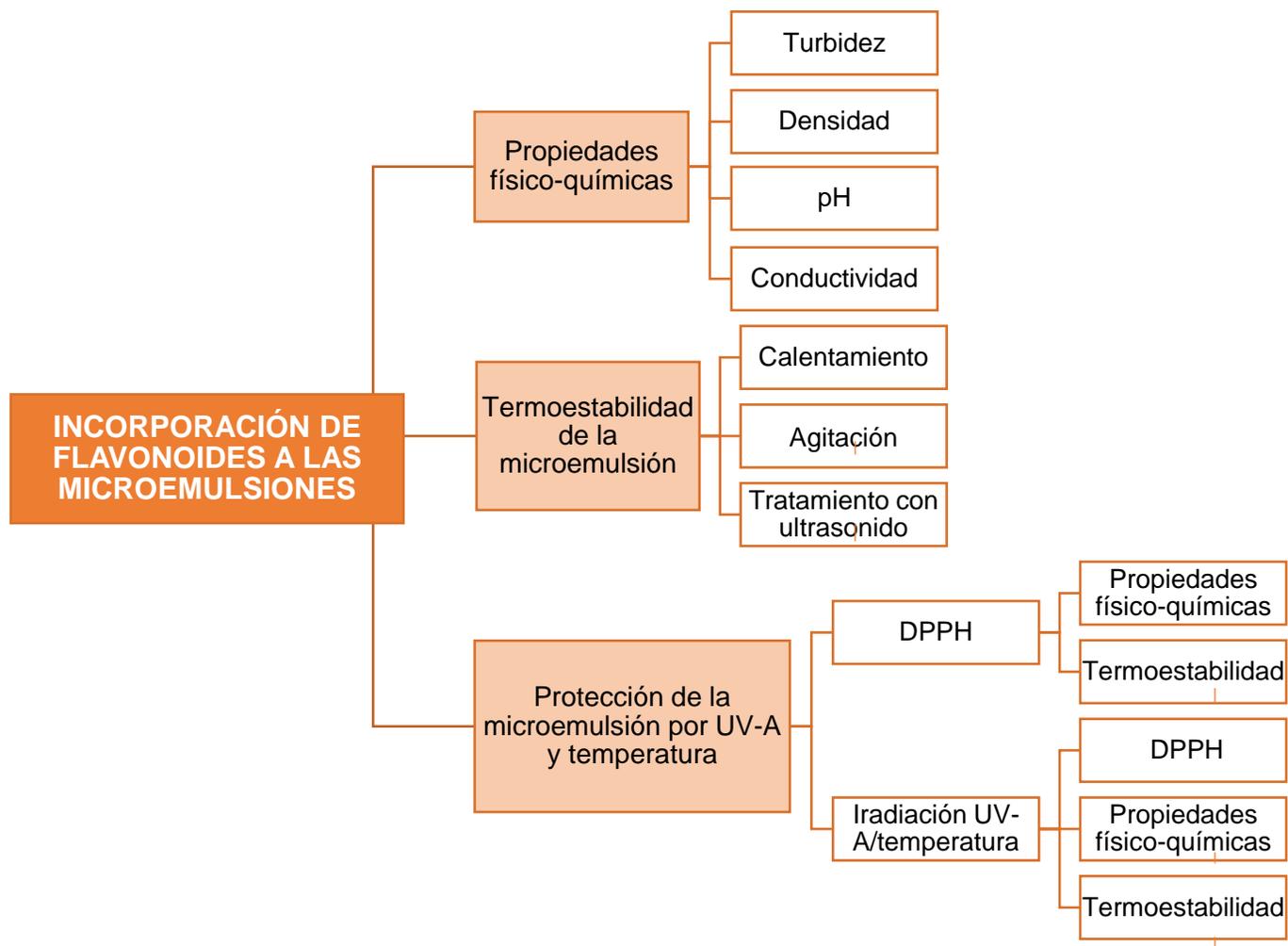
estabilidad ante el calentamiento, agitación mecánica y tratamiento con ultrasonido. Para este fin, se colocó una alícuota de 10 mL de cada microemulsión en un tubo de vidrio con tapa. Posteriormente, el tubo con la microemulsión se calentó a 75°C en baño de agua por 5 minutos. Pasado este tiempo, se enfrió la microemulsión a 25°C con agua fría y se midió la turbidez (ver 6.2.3), densidad (ver 6.2.5), conductividad (ver 6.2.7), pH (ver 6.2.6) y se realizó un registro fotográfico de la microemulsión. Acto seguido, a esta misma microemulsión se le aplicó agitación a 15,500 rpm, utilizando un homogenizador de alta cizalla con una punta S18-10G (IKA T18 basic Ultraturrax) por 2 minutos a 25°C. Después del tratamiento de agitación la muestra se dejó reposar entre 5 a 10 minutos a temperatura ambiente y las microemulsiones se analizaron nuevamente en los parámetros antes descritos. Finalmente, a la misma microemulsión se le aplicó un tratamiento de sonicación, utilizando un baño ultrasónico (Bransonic® CPX1800H ultrasonic bath Branson Ultrasonics Corporation, Danbury CT, USA) a 70 W y 40 kHz, por 2 minutos. Nuevamente, se midieron a las microemulsiones las propiedades antes descritas. Cada una de las microemulsiones se analizó por triplicado.

6.2.11. *Análisis estadístico*

Se utilizó un diseño de un solo factor, para evaluar las diferencias entre los tratamientos o factores fijos (microemulsiones) respecto a las variables de respuesta (densidad, pH, conductividad, viscosidad, termoestabilidad). Los datos obtenidos se analizaron mediante un análisis de varianza utilizando un nivel de confianza del 0.05 (α). Además, los datos fueron sujetos a análisis de comparación múltiple de medias utilizando el método de Tukey-Kramer ($\alpha = 0.05$). Dicho análisis estadístico se realizó en el software estadístico Minitab 19 (Minitab® LLC, USA).

6.3. Fase tres: Incorporación de flavonoides a las microemulsiones.

6.3.1. Diagrama metodológico





6.3.2. *Reactivos*

- Hidrato de Rutina $\geq 94\%$ (Sigma Aldrich-China), ver estructura en la Figura 14.
- Quercetina $\geq 95\%$ (Sigma Aldrich-India) ver estructura en la Figura 14.
- 1,1-difenil-2-picril-hidrolizado -DPPH- (Aldrich-Alemania.)
- Alcohol etílico anhidro (Alcoholera de Zapopan, S.A de C.V.)

6.3.3. *Equipos*

- Lámpara ultravioleta (modelo UVL-21, Ultraviolet Products, Inc., Upland, EE. UU.)
- Conductímetro (CORNING PINNACLE Corning Incorporated, NY 14831, USA)
- Potenciómetro HANNA Instruments Woonsocket RI USA (Made in Romania)
- Lector de absorbancia para microplacas (BioTek instruments® ELx808, Vermont, USA)

6.3.4. Estructura química de los flavonoides agregados a las MEM-GA.

Cuadro 12. Estructura química de la quercetina y rutina agregadas a las MEM-GA.

Flavonoide	Estructura química
Quercetina	
Rutina	

6.3.5. Método de preparación de las microemulsiones y de la incorporación de flavonoides a las mismas.

Se prepararon las microemulsiones 18, 32, 39, 44, 47, 53, 55 y 56, a partir de las emulsiones madre B, C, D, E, como se describe en el apartado 6.1.7. Las cantidades utilizadas de las emulsiones madre, así como las de las soluciones con surfactante y/o co-surfactante se encuentra el cuadro 13.

Cuadro 13. Formulaciones empleadas en la preparación de MEM-GA por el método de titulación, así como la emulsión madre utilizada.

Microemulsión	Emulsión madre	Volumen (mL)	Solución surfactante solubilizadora	Volumen (mL)
18	B	2	Buffer con 10% de tween 80 y 40% ácido acético	8
32	C	1	Buffer con 10% de tween 80 y 40% ácido acético	9
39	D	2	Buffer con 10% de sales biliares	8
44	E	3	Buffer con 10% de tween 80	7
47	E	2	Buffer con 40% ácido acético	8
53	E	4	Buffer con 10% de tween 80 y 40% ácido acético	6
55	E	2	Buffer con 1% de tween 80	8
56	E	2	Buffer con 1% de tween 80 y 40% ácido acético	8

Después del tiempo de incubación a 40°C, requerido para que se formara cada microemulsión (Cuadro 14), se les agregó por separado los flavonoides (quercetina y rutina) a una concentración de 0.4 mM. Para este fin, se pesó 1.25 mg de quercetina y 2.5 de rutina en vasos de precipitado de 50 mL, agregando 10 mL de macroemulsión. Después la mezcla se transfirió a un tubo de vidrio con tapa (2.0 x 3.5 cm) donde se agitó por unos segundos con un agitador de vórtice. Posteriormente se le aplicó el tratamiento de ultrasonido durante 5 minutos.

Cuadro 14. Tiempo de incubación a 40°C, requerido para la formación de las MEM-GA.

Fórmula de microemulsión usada	Tiempo requerido para la formación (días)
18	10
32	11
39	13
44	18
47	17
53	30
55	26
56	22

6.3.6. Propiedades fisicoquímicas de las microemulsiones adicionadas con flavonoides

Una vez presentes los flavonoides en las 8 microemulsiones seleccionadas (18, 32, 39, 44, 47, 53, 55 y 56), se les realizó mediciones de turbidez. Para ello se tomaron lecturas de absorbancia a 595 nm, estas se transformaron a % de turbidez. Lo anterior se describe en la sección 6.2.3. Se consideró que las microemulsiones seguían estables si tenían valores de turbidez menores al 0.5%. Posteriormente, a las mismas 8 microemulsiones se les midió densidad, pH y conductividad, como se describe en las secciones 6.2.5, 6.2.6 y 6.2.7, respectivamente. Cada una de las microemulsiones se analizó por triplicado.

6.3.7. Estabilidad térmica y a la agitación de las microemulsiones adicionadas con flavonoides

Las 8 microemulsiones antes trabajadas, también se les analizó su estabilidad entre el calentamiento y la agitación mecánica (ver apartado 6.2.11). Se realizó un registro fotográfico a cada microemulsión. Cada microemulsión se analizó por triplicado.

6.3.8. Estabilidad antioxidante de los flavonoides emulsionados antes y después de ser expuestos a radiación UV-A

Se analizó la actividad antioxidante a las 8 microemulsiones seleccionadas, con una concentración de 0.40 mM de los flavonoides (rutina y quercetina). Para ello se procedió a hacer diluciones 1:2, 1:5, 1:10, 1:15, 1:25, 1:30, 1:50, 1:75, 1:100 de cada microemulsión con agua desionizada. Se preparó una solución de DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrolizado) con una concentración 0.2 mM y se mantuvo en un matraz cubierto con papel aluminio. La prueba consistió en mezclar 500 μ L de cada dilución de las microemulsiones con 500 μ L de la solución de DPPH en oscuridad. Como blanco se trabajó con 500 μ L de agua desionizada y 500 μ L de solución de DPPH. Una vez mezcladas las soluciones, se incubó en oscuridad por media hora a temperatura ambiente. Posterior al tiempo de incubación, se tomó una alícuota de 250 μ L y se depositaron en un pozo de una placa de fondo plano de 96 pozos y se realizó la lectura un microlector de placas (Biotek Elx808, USA), a 490 nm. Como control se trabajó con etanol y agua desionizada en concentraciones de 2, 2.66, 4, 6.66, 8, 13.33, 20, 40, 200 μ M para ambos flavonoides, quercetina y rutina. Estas mismas 8 microemulsiones, se expusieron a radiación UV-A (365 nm). Para ello, 5 mL de cada microemulsión se colocaron en una placa Petri de plástico con un diámetro de 9.7 cm, ocupando una altura de 0.3 cm de la placa Petri, la cual se introdujo en una caja de espuma de poliestireno (30x15x15 cm). Dentro de esta caja, se colocó una lámpara ultravioleta (modelo UVL-21, Ultraviolet Products, Inc., Upland, EE. UU.) a 10 cm de la placa Petri (Figura 14). Posteriormente, la caja se cerró herméticamente y la muestra se irradió con UV-A (365 nm) durante 10 min. Cada microemulsión se analizó por triplicado.



Figura 14. Diagrama de la exposición a la radiación UV-A de microemulsiones con quercetina o rutina. (Adaptado de Pavoni et al., 2020).

El porcentaje de inhibición del radical DPPH se calculó con la ecuación 8 (Ec. 8). Donde A_0 es la absorbancia del blanco y A_C es la absorbancia registrada de la muestra.

$$\%Inhibición = \frac{100(A_0 - A_C)}{A_0} \quad \text{(Ec.8)}$$

Posteriormente, se calculó el valor de concentración eficiente (EC_{50}), el cual representa la concentración del flavonoide que disminuye el 50% de la actividad del DPPH. La concentración de quercetina o rutina requerida para inhibir en un 50% de la concentración inicial del radical libre DPPH se calculó ajustando los datos a una función hiperbólica (single rectangular, two parameters; ecuación 9). Posterior a obtener la ecuación de ajuste, se buscó el valor de x (concentración de quercetina o rutina μm) que permite obtener un valor de y (% inhibición) = 50.

$$y = \frac{ax}{b+x} \quad \text{(Ec. 9)}$$



Las microemulsiones irradiadas con UV-A se les analizaron las propiedades fisicoquímicas: densidad, pH, conductividad y turbidez, como se describe anteriormente en las secciones 6.2.4, 6.2.5, 6.2.6 y 6.2.7.

6.3.9. Estabilidad antioxidante de los flavonoides emulsionados antes y después de ser expuestos a temperaturas de 80 y 100°C.

Las 8 microemulsiones antes mencionadas, sin tratamiento alguno, se expusieron a temperaturas de 80 y 100°C. Para ello, se colocó una alícuota de 20 mL de cada microemulsión en un vaso de precipitado. Posteriormente, el vaso con la microemulsión se calentó a 80°C en baño de agua por 5 minutos. De la misma manera se realizó lo anterior a una temperatura de 100°C. Pasado este tiempo, la microemulsión se enfrió a 25°C con un baño de agua fría. Después de calentar las microemulsiones, se evaluó su actividad antioxidante, como se describió en el apartado 6.3.7. Finalmente, a estas microemulsiones expuestas a temperaturas de 80 y 100°C se les realizó la caracterización fisicoquímica evaluando densidad, pH, conductividad y turbidez, descritos anteriormente en las secciones 6.2.4, 6.2.5, 6.2.6 y 6.2.7.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1. Fase 1: Formación de microemulsiones de grado alimenticio.

7.1.1. Uso de diagramas ternarios en la formación de emulsiones

Cada una de las diferentes mezclas generadas para cada diagrama ternario (ver Cuadros 6 y 7) se evaluaron visualmente para ser clasificadas por el número de fases que formaban. De esa manera, fue posible la construcción de los 6 diagramas e identificar las mezclas de ingredientes que inducían la formación 1, 2, o 3 fases. En la Figura 15 se muestran los resultados del diagrama 1 (Cuadro 6) que incluía la mezcla lecitina:tween-40 (2:1) como surfactante, la fase oleosa aceite de oliva extra virgen y como fase acuosa el buffer de fosfatos (pH 7, 10 mM). En dicho diagrama, fue posible identificar una combinación de mezclas que formaba una sola fase (zona azul, Figura 15), aunque esta fase resultó ser blanquecina u opaca, características típicas de una emulsión, no de una microemulsión. Adicionalmente, se pudo observar que una alta concentración de surfactante (50-75%) y una baja concentración de aceite y buffer, generaba emulsiones opacas y viscosas de dos fases. Por el contrario, la mezcla de altas concentraciones de aceite y buffer con una concentración baja de surfactante (25-50%), generaba emulsiones lechosas y opacas de dos fases, pero sin ser viscosas. Conociendo la alta viscosidad del tween-40 (2055.59 mPa*s) es entendible que las emulsiones con una mayor concentración de surfactante sean más viscosas en comparación con aquellas con concentraciones más bajas de surfactante. Componentes de emulsiones como la lecitina, tween-40, así como la del aceite de oliva, presentan la característica de ser moléculas relativamente grandes (Cuadro 5). Por lo que estas características tendrían influencia directa sobre el tamaño de micela de la emulsión, y como consecuencia en la turbidez. En consecuencia, a bajas concentraciones de surfactante, las micelas formadas suelen ser grandes, es decir, las emulsiones tienen una apariencia opaca y lechosa. A diferencia de valores más altos de surfactante se producen emulsiones con gotas pequeñas, dando como resultado emulsiones opacas y viscosas (Ostertag et al., 2012).

En el diagrama 2 (Cuadro 6, Figura 16) se le adicionó a la fase acuosa, etanol al 10% como co-surfactante. En este diagrama fue posible observar que la mayoría de las mezclas formaban dos fases. Con una concentración mayor al 50% de surfactante y concentraciones de 10% de buffer y 30% de aceite se forman emulsiones de dos fases, opacas, viscosas y lechosas. Al Incrementar la concentración del surfactante al 75% y del aceite (25-50%), se forman emulsiones de una fase, en una pequeña área del diagrama. Estas emulsiones eran opacas y viscosas, por lo que tampoco se consideraron como microemulsiones. No obstante, cabe resaltar que las emulsiones resultantes en este segundo diagrama presentan menor turbidez que las resultantes del diagrama anterior que no tenían alcohol como co-surfactante. Otros autores han reportado que con el uso de etanol en la fase acuosa al 40%, se observa un área mayoritaria en el diagrama ternario de una sola fase (área isotrópica) y también se reporta una disminución en el tamaño de las micelas. El efecto del etanol se atribuye a que este co-surfactante aumenta la fluidez interfacial (Wu et al., 2010). Lo cual concuerda parcialmente con nuestros resultados, ya que, si bien no se logró formar las microemulsiones, si se observaron emulsiones isotrópicas y menos lechosas.

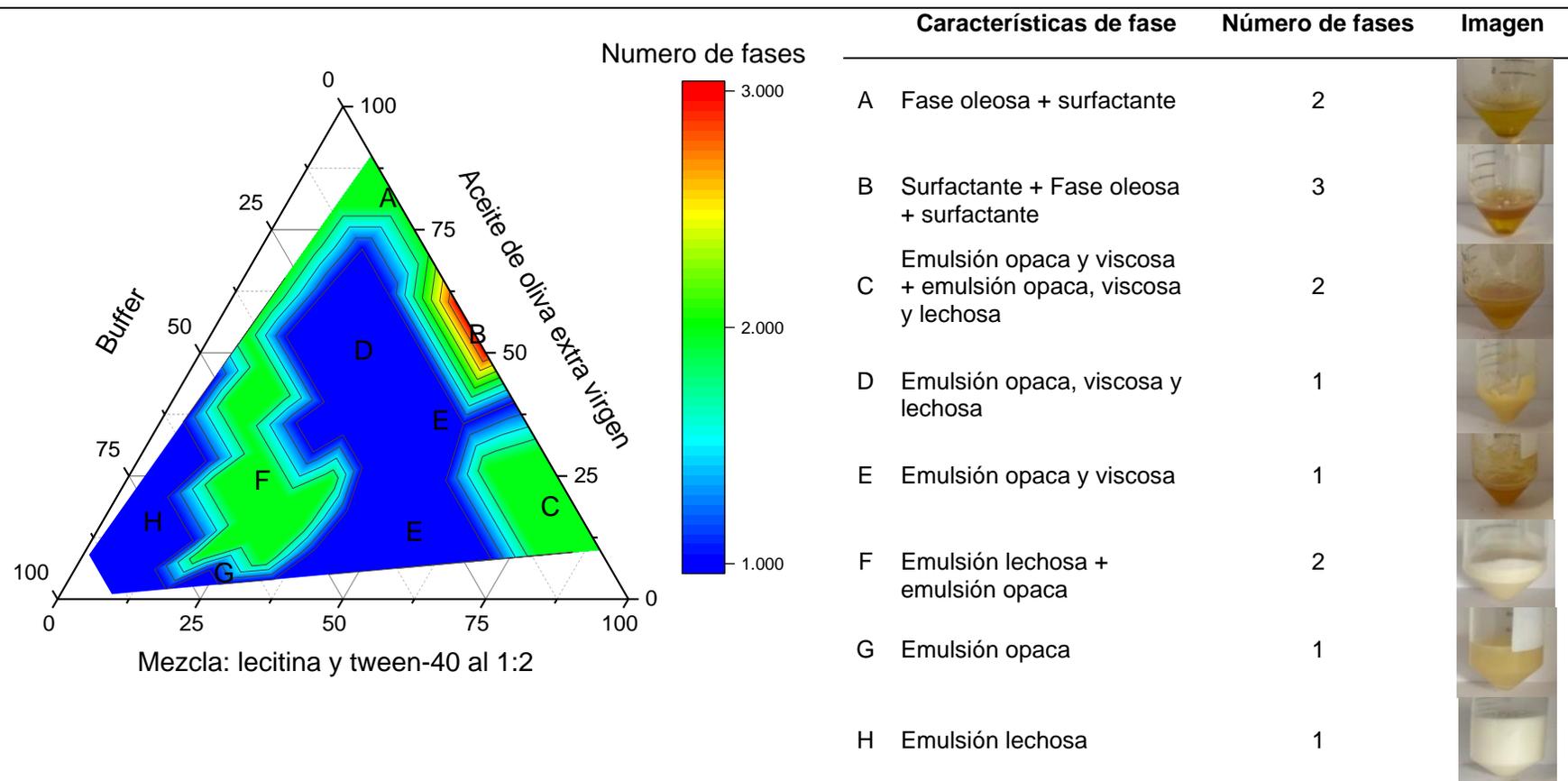
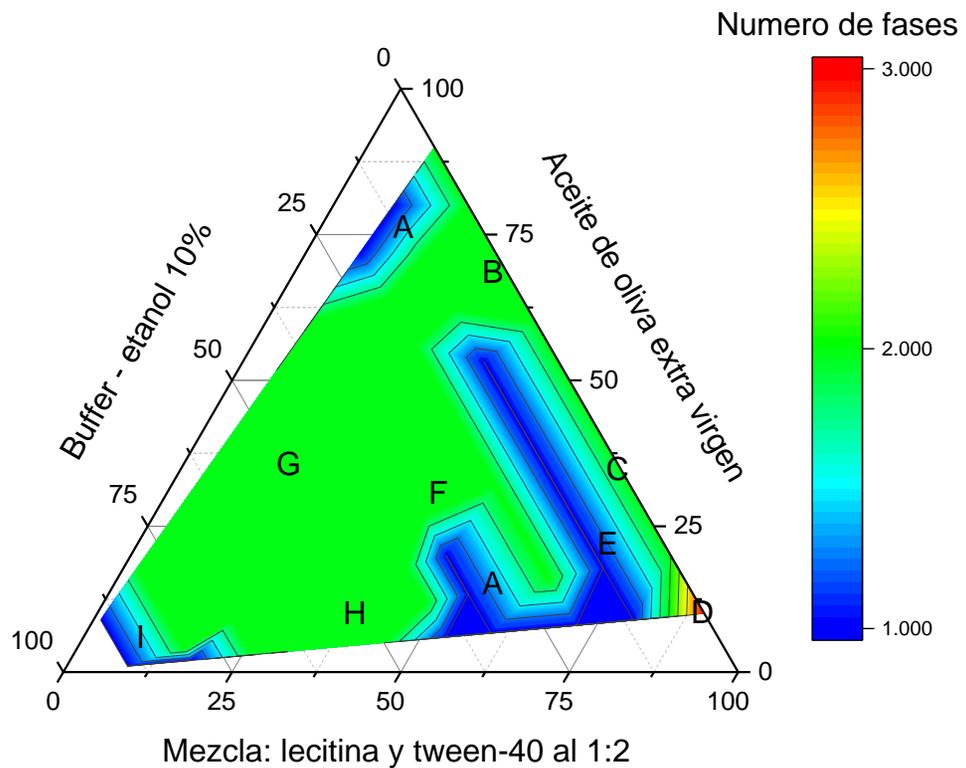


Figura 15. Diagrama ternario 1, el cual describe las fases obtenidas mediante la combinación de diversas concentraciones de lecitina y tween-40 (1:2) como surfactante, aceite de oliva extra virgen como fase oleosa y buffer de fosfatos (pH 7.0, 10 mM) como fase acuosa.



	Características de fase	Número de fases	Imagen
A	Emulsión opaca, viscosa y lechosa	1	
B	Emulsión oleosa	1	
C	Surfactante + fase oleosa	2	
D	Surfactante + emulsión opaca y viscosa + surfactante	3	
E	Emulsión opaca y viscosa	1	
F	Emulsión opaca, y viscosa + emulsión opaca, viscosa y lechosa	2	
G	Emulsión lechosa + emulsión opaca	2	
H	Emulsión lechosa + emulsión opaca y viscosa	2	
I	Emulsión lechosa	1	

Figura 16. Diagrama ternario 2, el cual describe las fases obtenidas mediante la combinación de diversas concentraciones de lecitina y tween-40 (1:2) como surfactante, aceite de oliva extra virgen como fase oleosa y buffer de fosfatos (pH 7.0, 10 mM) con etanol al 10% como fase acuosa.

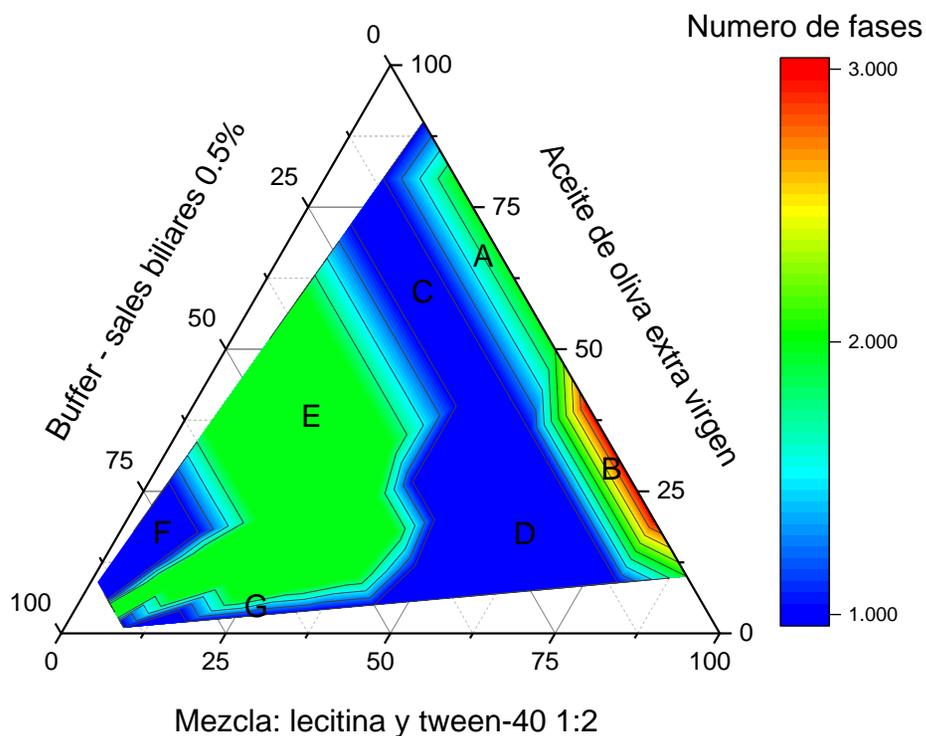
En las Figuras 17 y 18 se observan los diagramas 3 y 4, (ver detalle en el Cuadro 6) en donde se agrega al buffer 0.5 y 1% de sales biliares respectivamente. En ambos diagramas es posible percibir una cantidad similar de emulsiones de una y dos fases. La formación de dos fases en las emulsiones se obtuvo en concentraciones de 10-40 % de surfactante, 15-60 % de aceite y 25-60 % de buffer, obteniendo emulsiones lechosas y opacas. Lo contrario sucedió al aumentar el porcentaje de surfactante (50-75%) y bajar la concentración de buffer, formando emulsiones de una sola fase opaca y viscosa. No obstante, estas mezclas de una sola fase tampoco se consideraron microemulsiones al ser opacas. Por otra parte, cuando se emplearon las sales biliares al 1% (Figura 18) se generaron dos fases, con una pequeña zona lechosa. En esta zona se tiene el 18 % de surfactante, 41 % de aceite y buffer. Al incrementar las sales biliares de 0.5 a 1% es posible observar una mayor cantidad de mezclas que formaban emulsiones de una fase (zona azul Figuras 17 y 18), aunque estas emulsiones no presentaban características típicas de las microemulsiones.

En los dos últimos diagramas (Figuras 19 y 20), se realizaron algunos cambios en la composición del surfactante y de la fase oleosa. La interacción hidrofóbica entre los surfactantes de polisorbato (tweens) y la fase oleosa es directamente proporcional a la longitud de la cadena hidrocarbonada. Los polisorbatos (tweens) 20, 40 y 60 presentan diferencias en la longitud de la cadena alquílica. Poseen 12, 16 y 18 carbonos saturados en la cadena de alquilo, respectivamente. El tween-80 posee 18 carbonos en la cadena de alquilo y está insaturado (Graca et al., 2007). Es decir que el tween-80 tiene mayor interacción hidrofóbica con el aceite, por esta razón se tomó la decisión de realizar el cambio de surfactante. Se tomó la decisión de realizar el cambio de aceite de oliva extra virgen a aceite de oliva virgen, ya que el aceite de oliva virgen tiene una acidez libre de 2 g por 100 g como máximo. En comparación del aceite de oliva extra virgen, que cuenta con una acidez libre de 0.8 g por 100g como máximo. Esta acidez libre es expresada en ácidos grasos libre de ácido oleico. Estos ácidos grasos en estado libre se encuentran en muy bajas cantidades, ya que en su mayoría se encuentran formando parte de la estructura de otros lípidos, pero en el aceite de oliva virgen se encuentra en una mayor cantidad comprado con el aceite de oliva extra

virgen (CEE, 2016). De esta manera es más sencillo que el surfactante trabaje en ácidos grasos que desde triglicéridos. Logrando con mayor facilidad la formación de la emulsión.

En el diagrama 5 (Figura 19, Cuadro 5) se utilizó tween-80 como surfactante, aceite de oliva virgen como la fase oleosa y nuevamente buffer de fosfatos (pH 7, 10mM) como fase acuosa. En este diagrama existió una mayor cantidad de emulsiones de una sola fase, aunque sin llegar a la transparencia. A una concentración alta de surfactante (50-80%) y baja de buffer, encontramos emulsiones de una fase viscosa. Lo contrario pasó a una concentración menor de surfactante (25-40%) y alta de buffer, en donde se observaron emulsiones lechosas.

En el último diagrama 6 (Figura 20, Cuadro 5) se realizó la mezcla de tween-80, sales biliares (2:1) y aceite de oliva. Los surfactantes o anfífilos convencionales son hidrófobos (parte de la cola) e hidrófilos (parte del grupo de la cabeza). Por otro lado, las sales biliares son anfífilos faciales formados por una cara o lado polares comúnmente llamado lado α y una cara no polar o lado hidrofóbico también llamado lado β . En el agua, las sales biliares forman micelas principalmente por interacciones hidrofóbicas sobre sus lados hidrofóbico. Se supone que en la fase hidrófoba (líquida), las sales biliares forman micelas (micelas inversas) mediante la formación de enlaces de hidrógeno. Las micelas mixtas se forman cuando se agregan sales biliares con otros anfífilos (Malik, 2016). Al adicionar las sales biliares junto con el tween-80 se observa una mayor zona de dos fases en el diagrama ternario (zona verde Figura 20). Sin embargo, y a diferencia de los otros diagramas, estas dos fases si formaban una microemulsión transparente tipo Winsor I (microemulsión y exceso de aceite arriba). Esta zona se observó en una concentración de 25-50% de surfactante y en prácticamente todo el rango de aceite y buffer. A una concentración mayor de surfactante (50-75%) y a concentración no mayores del 30% de aceite y buffer, se formaron microemulsiones viscosas de tipo Winsor II (microemulsión y exceso de agua abajo) y Winsor III (microemulsión con exceso de aceite arriba y exceso de agua abajo).



	Características de fase	Número de fases	Imagen
A	Fase oleosa + surfactante	2	
B	Surfactante + fase oleosa + surfactante	3	
C	Emulsión opaca, viscosa y lechosa	1	
D	Emulsión opaca y viscosa	1	
E	Emulsión lechosa + emulsión opaca	2	
F	Emulsión lechosa	1	
G	Emulsión opaca	1	

Figura 17. Diagrama ternario y descriptivo de fases obtenidas mediante la combinación de diversas concentraciones de lecitina y tween-40 (1:2) como surfactante, aceite de oliva extra virgen como fase oleosa y buffer de fosfatos (pH 7.0, 10 mM) con sales biliares al 0.5% como fase acuosa.

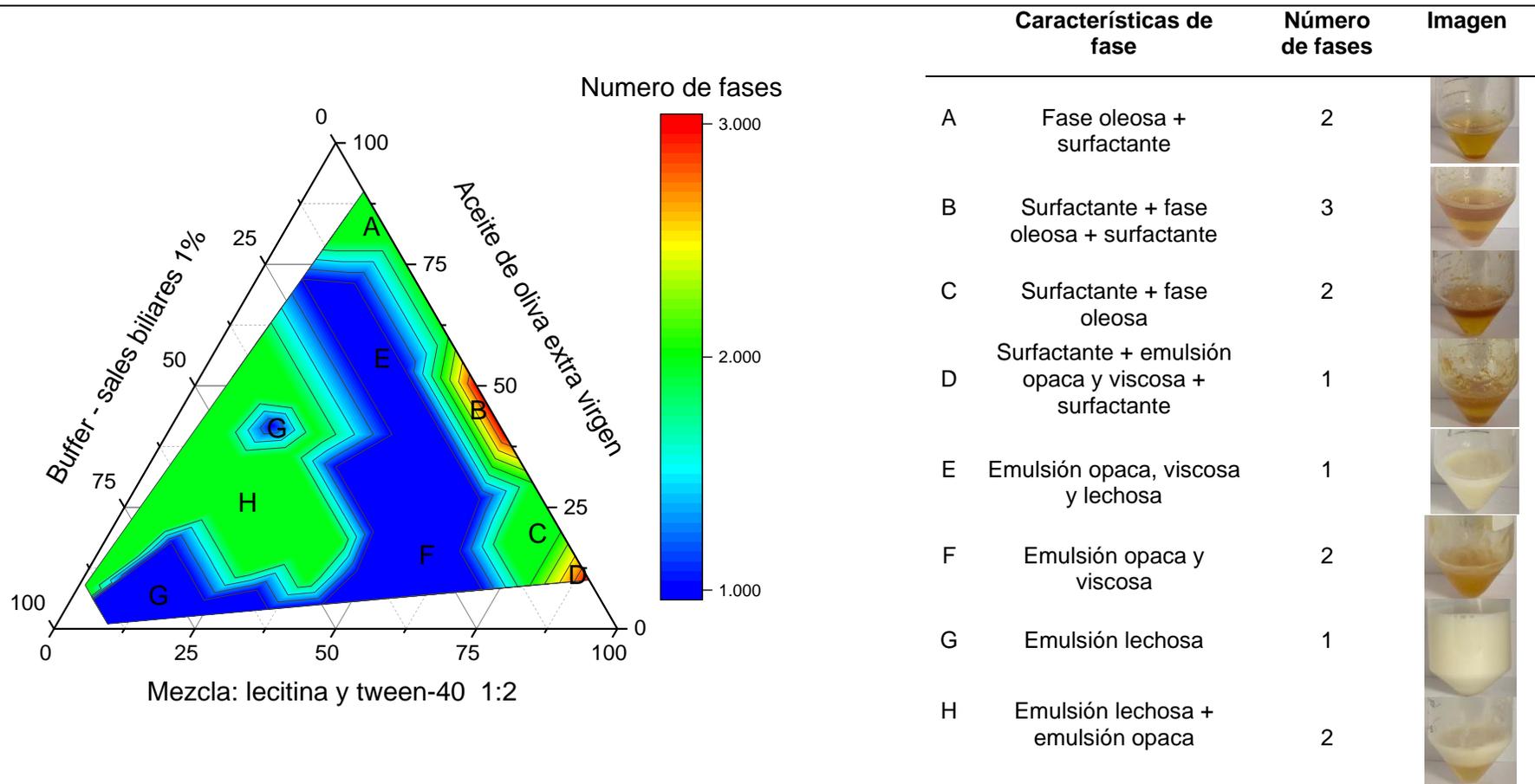
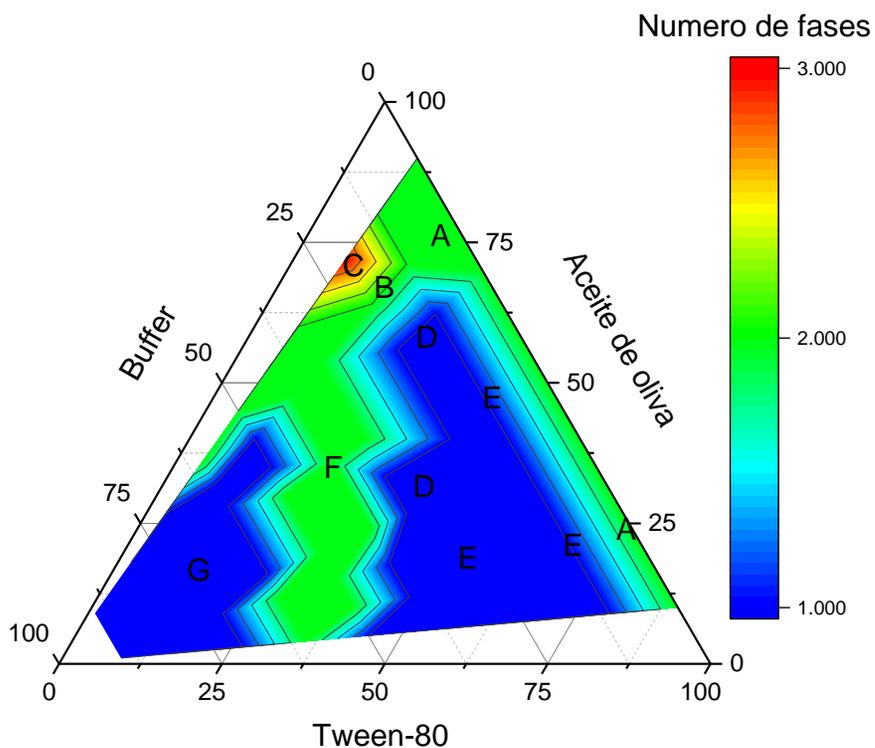


Figura 18. Diagrama ternario y descriptivo de fases obtenidas mediante la combinación de diversas concentraciones de lecitina y tween-40 (1:2) como surfactante, aceite de oliva extra virgen como fase oleosa y buffer de fosfatos (pH 7.0, 10 mM) con sales biliaries al 1% como fase acuosa.



	Características de fase	Número de fases	Imagen
A	Fase oleosa + surfactante	2	
B	Fase oleosa + emulsión lechosa	2	
C	Fase oleosa + emulsión lechosa + fase acuosa	3	
D	Emulsión opaca, viscosa y lechosa	1	
E	Emulsión opaca y viscosa	1	
F	Emulsión opaca y lechosa + fase acuosa	2	
G	Emulsión opaca y lechosa	1	

Figura 19. Diagrama ternario y descriptivo de fases obtenidas mediante la combinación de diversas concentraciones de tween-80 como surfactante, aceite de oliva como fase oleosa y buffer de fosfatos (pH 7.0, 10 mM) como fase acuosa.

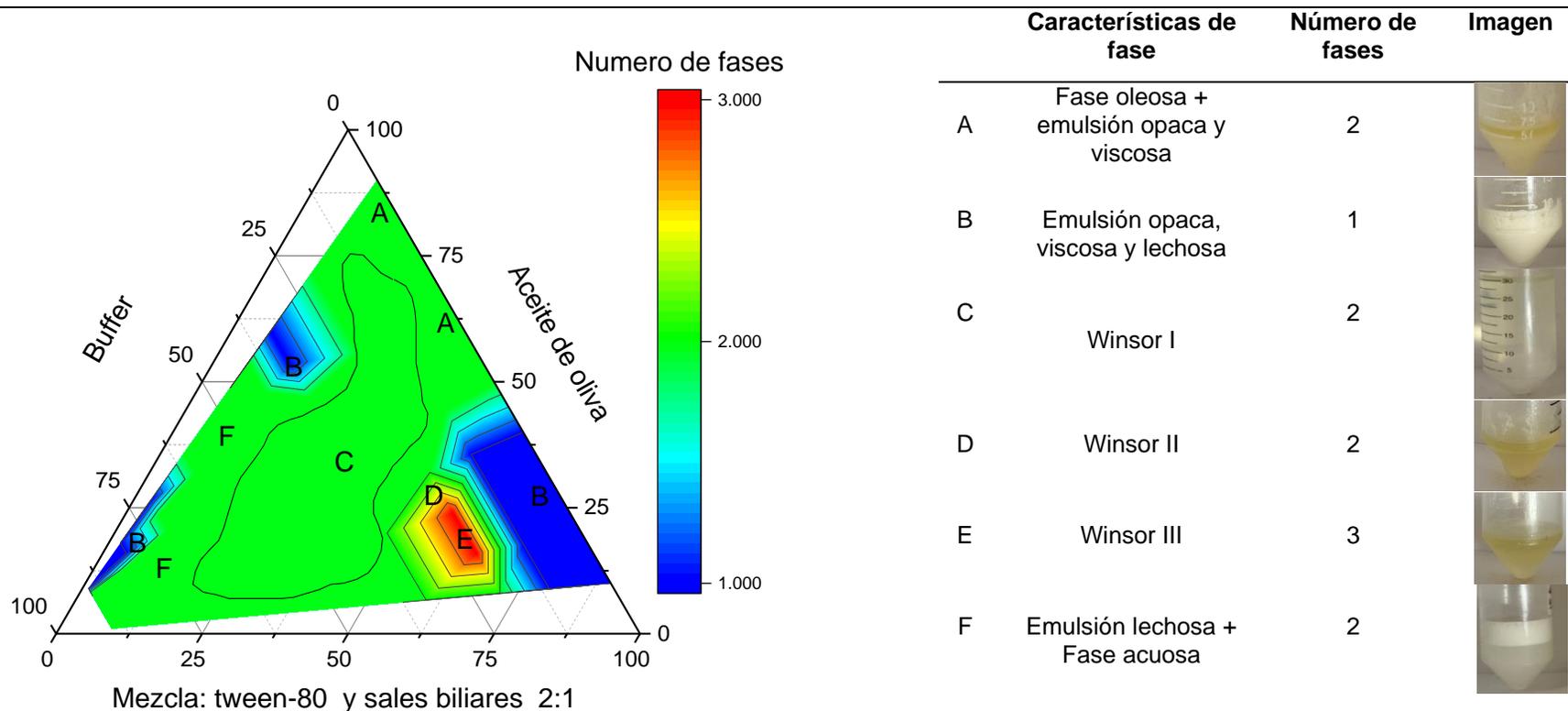


Figura 20. Diagrama ternario y descriptivo de fases obtenidas mediante la combinación de diversas concentraciones de tween-80 y sales biliares (2:1) como surfactante, aceite de oliva como fase oleosa y buffer de fosfatos (pH 7.0, 10 mM) como fase acuosa.



7.1.2. *Uso de mezclas simples en la formación de emulsiones*

La formación de emulsiones, en este caso, se realizó utilizando proporciones de fase oleosa (O) y fase acuosa (W) de un 10 a un 90%, con 1% de surfactante. En general, en el Cuadro 15 se observa que no se mezclaron la fase oleosa y la fase acuosa, formando dos fases separadas. En la mezcla 1 se observó en las proporciones (W/O) 40:60, 30:70, 20:80 y 10:90 una pequeña parte de emulsión lechosa, junto con excesos de aceite y buffer. En la mezcla 2, fue posible notar que a menor concentración de aceite se producía una emulsión lechosa con un exceso de fase acuosa lechosa. A mayor concentración de aceite (80 y 90%) se observó la formación de una emulsión lechosa con un exceso de fase oleosa. En la mezcla 3 se observó la separación de fase oleosa y fase acuosa (turbia). Mientras que en la mezcla 4 fue posible obtener, a menores concentraciones de aceite (10, 20 y 30%), microemulsiones Winsor I, es decir con un halo de aceite en la parte superior de la microemulsión transparente. Lo mismo sucedió en las mezclas 6 y 8, donde también se observan Winsor I, en concentraciones bajas de la fase oleosa. A estas mezclas (6 y 8) también se le agregó a la fase acuosa 40 % de ácido acético como co-surfactante, ayudando al surfactante (tween-80 o lecitina) a emulsificar la mezcla.

Cuadro 15. Cuadro descriptivo de mezclas simples utilizando como surfactante lecitina, tween-80, o sales biliares en una concentración fija del 1% (p/v), aceite de oliva o aceite de coco de cadena mediana como fase oleosa (O), buffer de fosfatos pH 7.0, 10 mM como fase acuosa (W), con o sin ácido acético como co-surfactante, a diferentes proporciones.

	Componentes			Imagen								
	Surfactante 1%	Fase oleosa (O)	Fase acuosa (W)	Proporción W/O								
				90:10	80:20	70:30	60:40	50:50	40:60	30:70	20:80	10:90
Mezcla 1	Sales biliares	Aceite de oliva	Buffer									
Mezcla 2	Tween-80	Aceite de oliva	Buffer									
Mezcla 3	Lecitina	Aceite de oliva	Buffer									
Mezcla 4	Sales biliares	Aceite de coco de cadena mediana	Buffer									

Continuación

Mezcla 5	Tween-80	Aceite de coco de cadena mediana	Buffer con ácido acético 20%	
Mezcla 6	Tween-80	Aceite de coco de cadena mediana	Buffer con ácido acético 40%	
Mezcla 7	Lecitina	Aceite de coco cadena mediana	Buffer con ácido acético 20%	
Mezcla 8	Lecitina	Aceite de coco de cadena media a base de coco	Buffer con ácido acético 40%	

7.1.3. Formación de microemulsiones por el método de solubilización micelar

En esta sección se determinó la capacidad de las fases oleosas {aceite de oliva, aceite de coco de cadena mediana y limoneno} para formar microemulsiones, utilizando un protocolo de solubilización de la emulsión madre (Rao & McClements, 2012). Para ello se tituló la emulsión madre en una solución de surfactante y se monitoreó el cambio en la turbidez, respecto al tiempo. De esta manera se obtuvo cinéticas turbidez vs tiempo de cantidades fijas de los distintos aceites. Las distintas combinaciones de emulsiones madre con las 6 soluciones de surfactantes, así como la cantidad de fase oleosa, surfactante, co-surfactante y buffer, utilizados se muestran en el Cuadro 9 y 10. En total, se realizaron 56 emulsiones, obteniendo 14 microemulsiones Winsor IV, 28 microemulsiones Winsor I y 14 emulsiones. Las microemulsiones Winsor IV son emulsiones transparentes e isotrópicas. A diferencia de las microemulsiones Winsor IV, las microemulsiones Winsor I son transparentes con un halo (exceso) de aceite en la parte superior. Las emulsiones restantes son macroemulsiones ya que no llegan a la transparencia, siendo emulsiones lechosas. En el anexo B se observan las cinéticas turbidez vs tiempo de las 56 emulsiones realizadas, en las cuales se observan que las emulsiones Winsor tipo I y IV tienen un porcentaje de turbidez menor al 0.5%. A diferencia de otros autores que han reportado como microemulsiones, aquellas que tienen un porcentaje menor al 1% (Cho et al., 2008). En general, fue posible observar que al inicio los valores de turbidez aumentaron a medida que incrementó la concentración del aceite en la mezcla. Algunas emulsiones obtuvieron la transparencia con un exceso de aceite en la parte superior (Winsor I) y en otros casos más las emulsiones tuvieron porcentajes por arriba del 1% de turbidez, presentando un color lechoso. Esto se observa en las mezclas 7, 8, 9, 10, 11, 22, 23, 24, 25, 26, 45, 46, 50 y 54 (Figuras 21 y 22). En estas mezclas se utilizaron los tres tipos de aceite y tuvieron el surfactante tween-80 y no tuvieron co-surfactante. Caso contrario sucedió con las mezclas 12, 13, 14, 27, 28, 29, 30, 31, 47, 48, 49 y 50, las cuales fueron microemulsiones Winsor I (Figuras 21 y 22). En este caso se utilizaron los tres tipos de aceite y ácido acético glacial como co-surfactante.

En las Figuras 21 y 22 es posible observar las cinéticas de las 14 microemulsiones Winsor IV. En la Figura 21, inciso A, se muestra las cinéticas de las emulsiones 18 y 32, provenientes de la emulsión madre B y solubilizados en buffer con tween-80 al 10% y ácido acético glacial al 40%. Se observa que la turbidez inicial de las microemulsiones, fue mayor al incrementar la concentración de aceite de coco. La concentración máxima de aceite de coco, que fue posible emulsionar formando microemulsiones, fue del 0.2%. Otros autores han reportado distintas formulaciones alcanzando una mayor concentración emulsionante de aceite de coco de cadena mediana, con el uso de tween-80 de surfactante, usando la formulación: 80 % de agua, 18% de tween-80 y 2% de aceite de coco de cadena mediana (Tao et al., 2018). Esta misma formulación se replicó sin obtener el mismo resultado, es decir solo se obtuvo una emulsión no una microemulsión. En el Cuadro 16, se expone el tiempo necesario para que las emulsiones lleguen a la transparencia, siendo Winsor I y el tiempo requerido para pasar de Winsor I a Winsor IV. En algunos casos, las emulsiones pasaron directamente a Winsor IV, sin llegar a ser Winsor I.

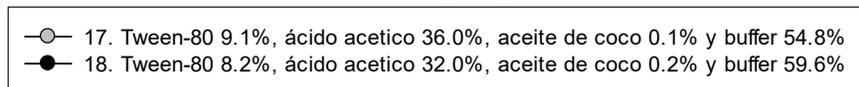
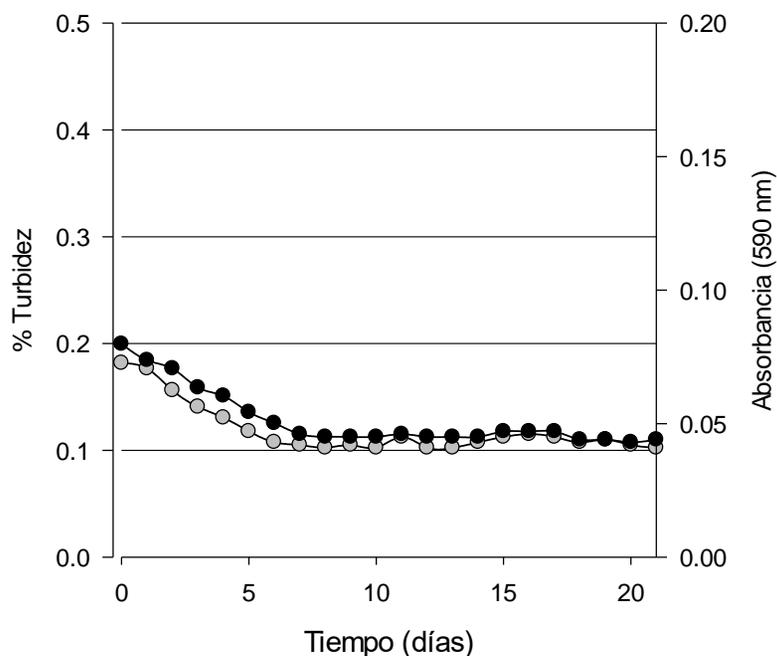
Cuadro 16. Tiempo necesario para la formación de las microemulsiones, pasando de macroemulsión – Winsor I - Winsor IV o macroemulsión - Winsor IV.

Microemulsión	Tiempo requerido para pasar de macroemulsión a Winsor I	Tiempo requerido para pasar de Winsor I a IV.
17	2 días	6 días
18	3 días	7 días
32	4 días	7 días
37	10 horas	2 días
38	10 horas	2 días
39	12 horas	2 días
Tiempo requerido para pasar de macroemulsión a Winsor IV.		
43		24 días
44		26 días
47		24 días
51		22 días
52		25 días
53		30 días
55		29 días
56		26 días

En la Figura 21, inciso B, se muestra la cinética de la microemulsión 32 obtenida de la emulsión madre C, solubilizados en buffer con tween-80 al 10% y ácido acético glacial al 40%. Esta microemulsión llegó a la transparencia el cuarto día, pero presentaba un exceso de aceite en la parte superior llegando a ser Winsor I, 7 días después desapareció el halo de aceite convirtiéndose en Winsor IV.

A)

Emulsión madre B
(Tween-80 1%, aceite de coco 1% y buffer 98%)



B)

Emulsión madre C
(Tween-80 1%, aceite de oliva 1% y buffer 98%)

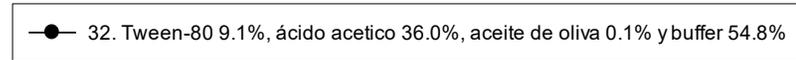
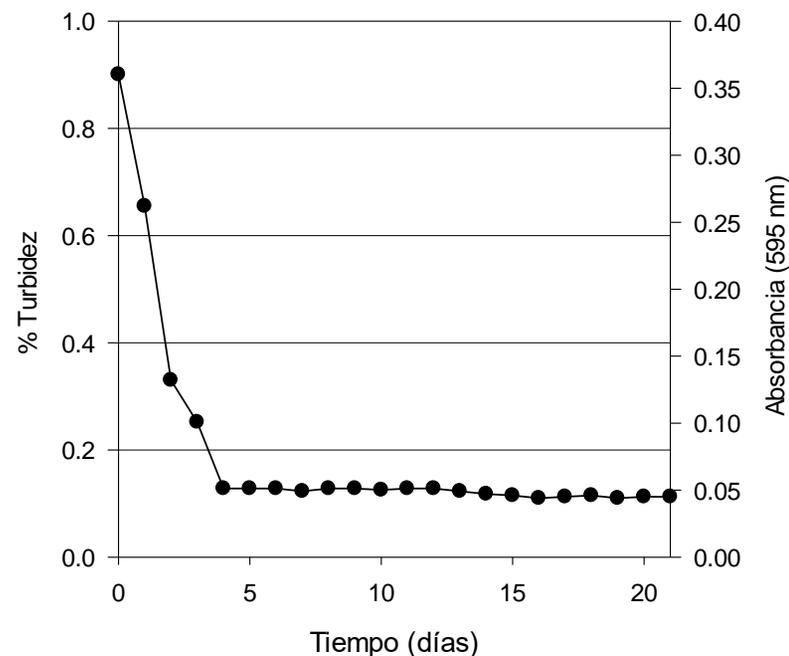


Figura 21. Cambios en la turbidez con el tiempo cuando diferentes concentraciones de distintos aceites de emulsiones madre se titulan en soluciones de surfactante (y/o co-surfactante). A) Microemulsiones a partir de la emulsión madre B (aceite de coco) y titulados en tween-80 con ácido acético. B) Microemulsiones a partir de la emulsión madre C (aceite de oliva) y titulados en tween-80 con ácido acético.

En la Figura 22, inciso A, se observan las cinéticas de las microemulsiones 37, 38 y 39. Estas emulsiones se obtuvieron a partir de la emulsión madre D, solubilizadas en buffer con sales biliares al 10%. La fase oleosa utilizada en estas emulsiones fue limoneno a concentraciones de 0.5, 1 y 2%. La diferencia al trabajar con sales biliares como surfactante y no con tween-80 fue el tiempo que necesitaban las micelas de la emulsión para solubilizarse. Es decir, a las 10 horas de preparar las emulsiones 37 y 38, estas ya presentaban transparencia. A diferencia de la emulsión 39 que presentó la transparencia a las 12 horas. Por lo que las primeras 12 horas de la cinética de estas tres microemulsiones se monitoreo a intervalos de 2 horas, posteriormente las mediciones se hicieron cada 24 horas por 14 días.

En la misma Figura 22 inciso B, se observan las cinéticas de las microemulsiones 43, 44, 47, 51, 52, 53, 55 y 56, formadas a partir de la emulsión madre E, la cual fue solubilizada con tween-80 y ácido acético glacial en distintas concentraciones. Las microemulsiones 43 y 44 contenían tween-80 como surfactante, 2 y 3% de limoneno respectivamente, pero sin co-surfactante. La microemulsión 43 tuvo una turbidez menor al inicio de prepararse en comparación con la 44. Estas emulsiones llegaron a ser microemulsiones Winsor IV a los 24 y 26 días, respectivamente. La microemulsión 47 solo contenía ácido acético glacial y 2% de limoneno. Esta microemulsión a los 24 días llegó a ser Winsor IV. En comparación con la microemulsión 43, la microemulsión 47 tuvo una turbidez que descendía lentamente durante el paso del tiempo, aunque ambas llegaron a la transparencia el mismo día. Las microemulsiones 51, 52 y 53 se prepararon con tween-80 de surfactante y ácido acético glacial como co-surfactante, utilizando 2, 3 y 4 % de limoneno, respectivamente. En la microemulsión 51, la turbidez disminuyó apreciablemente los primeros 9 días, luego disminuyó ligeramente los próximos días hasta el día 24. En donde se obtuvo una microemulsión Winsor IV, permaneciendo constante la absorbancia los próximos días. En las microemulsiones 52 y 53 fue posible observar un aumento en los primeros días de la preparación, esto es posible explicarlo con la teoría de la solubilización. Esta teoría consta de tres etapas. La etapa 1 presenta interacciones entre el surfactante y los lípidos de la fase oleosa, aquí no se producen estructuras micelares. En la etapa 2 las bicapas de los lípidos

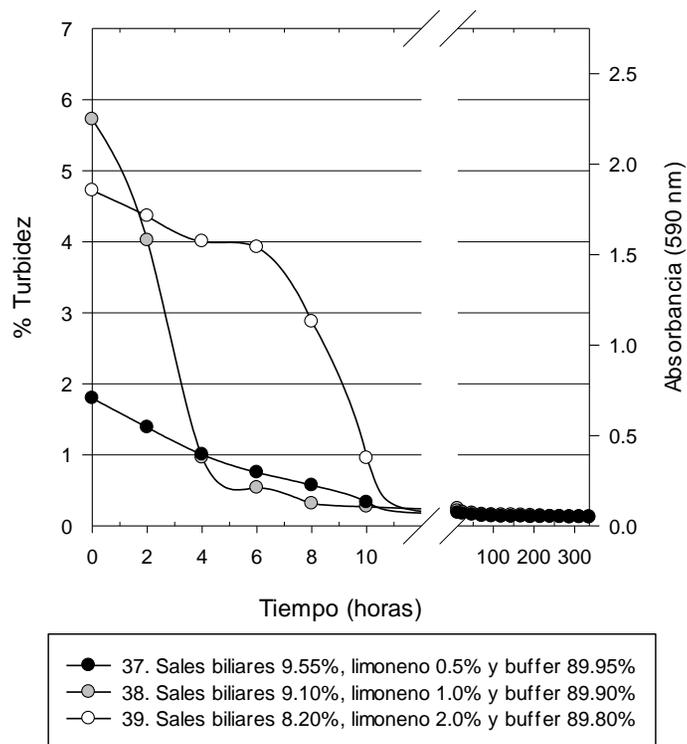
saturados de surfactante se convierten en grandes micelas mixtas. Mientras que en la etapa 3 se reduce el tamaño de las micelas grandes mixtas en micelas mixtas de menor tamaño (Lichtenberg et al., 2013). En el caso de la microemulsión 52 fue posible notar una disminución lenta en la turbidez durante 12 días, para después observar una disminución apreciable. De esta manera a los 25 días se obtuvo una microemulsión Winsor IV. A diferencia de la microemulsión 53, donde después de aumentar la turbidez los primeros días, se apreció que la turbidez se mantuvo constante durante los 12 días próximos. Después se observó una caída en la turbidez seguido nuevamente de algunos días de cambios constantes de turbidez, obteniendo una microemulsión Winsor IV a los 30 días. Las dos últimas microemulsiones (55 y 56) contenían solamente 1% de tween-80 y la emulsión 56 contenía también co-surfactante (ácido acético). El ácido acético ayudó a tener una menor turbidez al inicio de la preparación de la emulsión y en menor tiempo una microemulsión. En ambas microemulsiones hubo una disminución lineal en la turbidez, para después caer bruscamente y lograr la transparencia. Claro está que la emulsión 56 llegó a ser Winsor IV tres días antes que la emulsión 55.

La cantidad mayor de fase oleosa que fue posible emulsionar dependió del tipo de aceite, del tamaño de molécula del aceite y del tiempo que se dejó estabilizar a la emulsión. Es decir, el máximo porcentaje a emulsionar para el aceite de oliva fue de 0.1%, para el aceite de coco de cadena mediana fue 0.2% y para el limoneno fue del 4%. En investigaciones previas se han realizado solubilizaciones de emulsión madre (tween-80 1%, limoneno 10% y agua 89%) en soluciones surfactante (tween 1%). Estableciendo un rango de concentraciones finales de limoneno de 0.1 a 2% y realizando cinéticas turbidez vs tiempo, en un máximo de 25 minutos. Obteniendo como única microemulsión aquella que tiene 1% de tween-80, 0.1 % de limoneno y 98.9 de agua. (Rao & McClements, 2012). Es decir, un porcentaje muy pequeño de fase oleosa. La razón de esta cantidad tan pequeña de limoneno fue el tiempo que se dejó estabilizar a la emulsión. Con las cinéticas realizadas anteriormente se puede sostener que el tiempo que se deja a la emulsión estabilizar para lograr tener una Winsor IV es de suma importancia, ya que un mayor tiempo de estabilización permite



obtener microemulsiones aceite en agua (O/W) con un porcentaje mayor de fase oleosa. En el Cuadro 17 se observa el cambio del color con el paso de los días de las emulsiones recién preparadas, llegando a ser microemulsiones Winsor IV. Es decir, observando una transparencia total en ellas.

A) **Emulsión madre D**
(Sales biliares 1%, limoneno 10% y buffer 89%)



B) **Emulsión madre E**
(Tween-80 1%, limoneno 10% y buffer 89%)

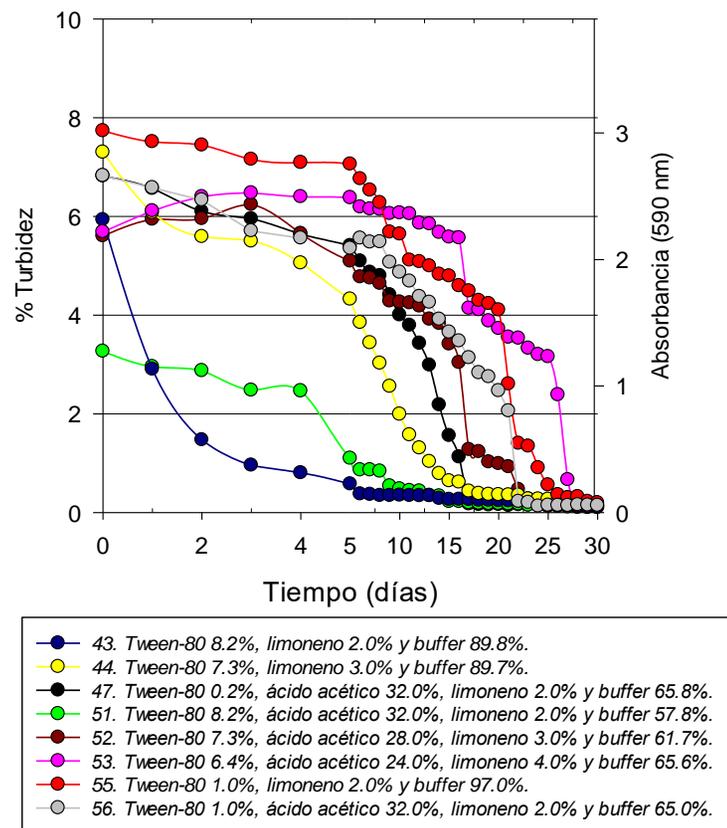


Figura 22. Cambios en la turbidez con el tiempo cuando diferentes concentraciones de distintos aceites de emulsiones madre se titulan en soluciones de surfactante (y/o co-surfactante). A) Microemulsiones a partir de la emulsión madre D (limoneno) y titulados en sales biliares. B) Microemulsiones a partir de la emulsión madre E (limoneno) y titulados en tween-80 con ácido acético.

Cuadro 17. Fotografías de las emulsiones en función del tiempo.

		Días de almacenamiento (40 °C)								
Microemulsión	Inicio	1	2	3	4	5	6	7	21	
17										
32										

Continuación

Horas de almacenamiento (40 °C)

Microemulsión	Inicio	2	4	6	8	10	12	24	336
37									
38									
39									

Continuación

Días de almacenamiento (40 °C)

Microemulsión	Inicio	1	2	3	5	6	14	24	30		
43											
	Inicio	2	5	8	12	14	18	26	30		
	44										
		Inicio	4	7	10	13	15	17	22	30	
		47									
			Inicio	4	7	10	13	15	17	22	30

Continuación

Días de almacenamiento (40 °C)

Microemulsión	Inicio	2	5	8	12	16	22	26	30		
51											
	Inicio	3	5	10	13	15	17	25	30		
	52										
		Inicio	3	5	10	13	15	17	22	30	
		53									
			Inicio	3	5	10	13	15	17	22	30

Continuación

Días de almacenamiento (40 °C)

Microemulsión	Inicio	6	9	13	16	21	23	25	30
55									
	Inicio	3	10	14	18	21	26	28	30
56									
	Inicio	3	10	14	18	21	23	25	30

7.2. Fase 2: Caracterización de las microemulsiones

7.2.1. Morfología y tamaño de gota en las emulsiones madre y las microemulsiones.

Inicialmente se realizaron las emulsiones madre (modificando el tipo de fase oleosa y el surfactante) y a partir de estas se obtuvieron las microemulsiones. Justo después de ser elaboradas se observó la morfología y el tamaño de gota de las emulsiones madre en un microscopio óptico (Bx41 Olympus Optical Co. Ltd., Tokio) con un objetivo 10x. Morfológicamente todas las emulsiones presentaban gotas esféricas con distintos tamaños de gota, por lo que se denominaron emulsiones polidispersas; característica normal de las emulsiones alimentarias (McClements, 2016). El diámetro de gota de cada una de las emulsiones se muestra en el Cuadro 18, donde se aprecia una mayor dispersión de gotas en las emulsiones madre B y C. Este resultado se puede deber a que fueron elaboradas con una menor concentración de fase oleosa (1%), en comparación con las emulsiones madre D y E (10 % de fase oleosa). Balcanes et al. (2020) reportan emulsiones elaboradas con lecitina de soya y girasol con tamaños de gota entre 30,000-70,000 nm. Estas emulsiones fueron elaboradas con el homogenizador Ultraturrax. Al combinar este método de homogenización con el ultrasonido, estas emulsiones tuvieron tamaños de gota de 3,000-6.000 nm. Es decir, al utilizar adicionalmente el ultrasonido se logró disminuir el tamaño de gota formado con el homogenizador Ultraturrax. Esta disminución se relaciona también con la viscosidad de la fase oleosa utilizada, ya que, a mayor viscosidad, mayor agregación de las gotas en la emulsión (Balcaen et al., 2021). Por ello, en la presente investigación se utilizó la homogenización, mediante el uso de Ultraturrax en conjunto con el ultrasonido. Sin embargo, la potencia de ultrasonido que se usó en ésta investigación fue muy baja, por lo que no fue suficiente para disminuir lo suficiente los tamaños de gota de las emulsiones madre.

Cuadro 18. Diámetro de gota presente en cada emulsión madre.

Emulsión madre	Diámetro de gota (nm)
B	2,300.00 ± 38.62
C	3,234.00 ± 38.00
D	4,491.66 ± 26.50
E	3,579.66 ± 34.93

*Media ± desviación estándar (n=3)

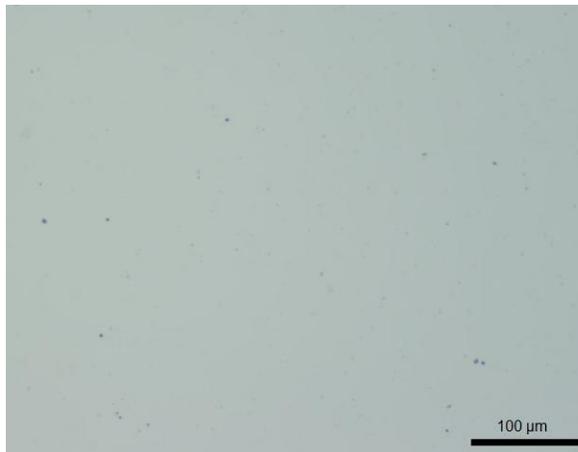
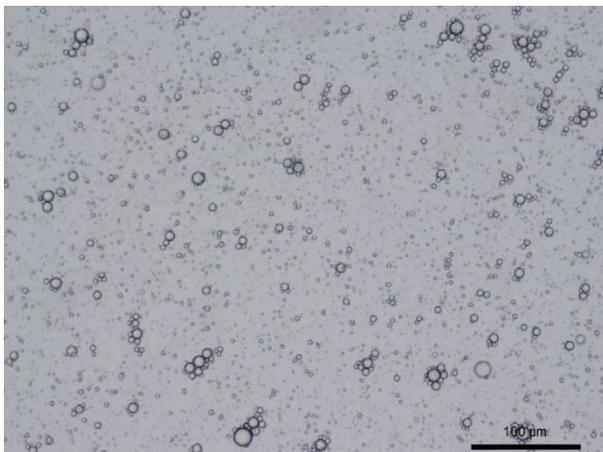
Se ha reportado que el tamaño de gota o micela de las microemulsiones es de 5-100 nm (Flanagan & Singh, 2006; Taylor et al., 2007), es por ello que no fue posible observar la morfología y el tamaño de la gota de las microemulsiones en un microscopio óptico. El tamaño de las gotas en las microemulsiones disminuyó significativamente cuando aumentó la concentración de surfactante y disminuyó la concentración de la fase oleosa. Gracias a este tamaño de gota es posible obtener transparencia en las microemulsiones. En los cuadros, 19, 20, 21 y 22 es posible observar imágenes de microscopía óptica de cada una de las emulsiones madre, junto con las microemulsiones que se obtienen de cada una de ellas. De esta manera es fácil el cambio en el tamaño de gota de una emulsión madre a una microemulsión.

Cuadro 19. Imágenes microscópicas de la emulsión madre B y de las microemulsiones obtenidas a partir de esta misma microemulsión madre. Las barras de escala indican 100 micrómetros.

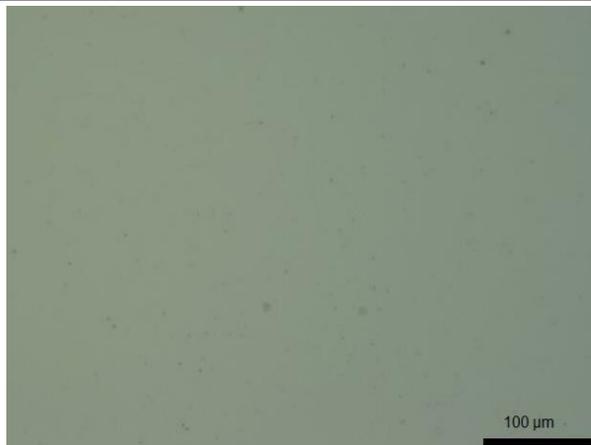
Emulsiones madre B y microemulsiones 17 y 18

B) Tween-80 1%, aceite de coco 1% y buffer 98%

17) Tween-80 9.1%, ácido acético 36%, aceite de coco 0.1% y buffer 54.8%



18) Tween-80 8.2%, ácido acético 32%, aceite de coco 0.2% y buffer 59.6%

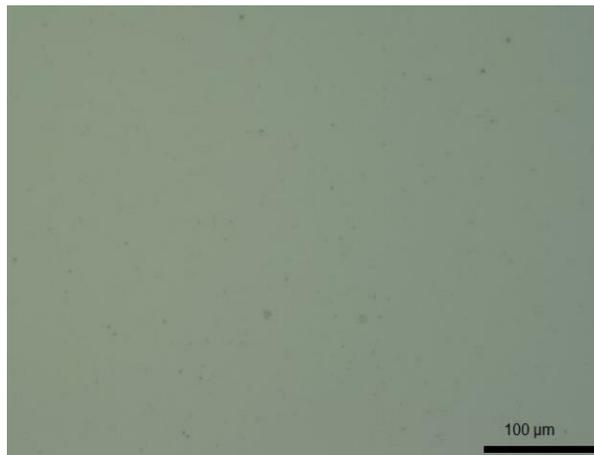
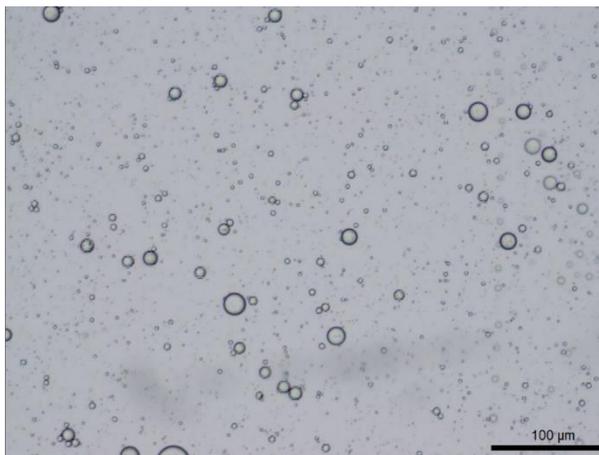


Cuadro 20. Imágenes microscópicas de la emulsión madre C y de las microemulsiones obtenidas a partir de esta misma microemulsión madre. Las barras de escala indican 100 micrómetros.

Emulsiones madre C y microemulsión 32

C) Tween-80 1%, aceite de oliva 1% y buffer 98%

32) Tween-80 9.1%, ácido acético 36%, aceite de oliva 0.1% y buffer 54.8%

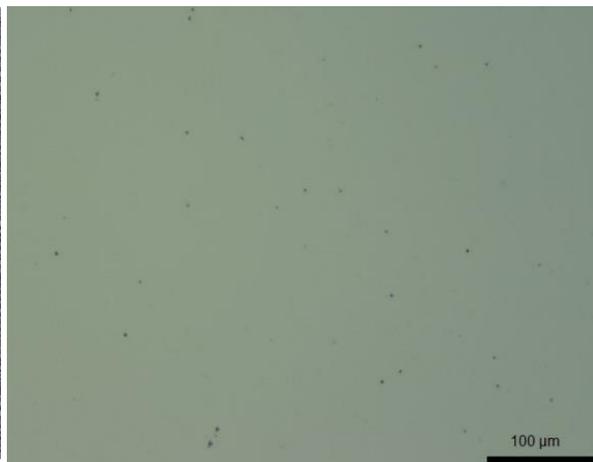
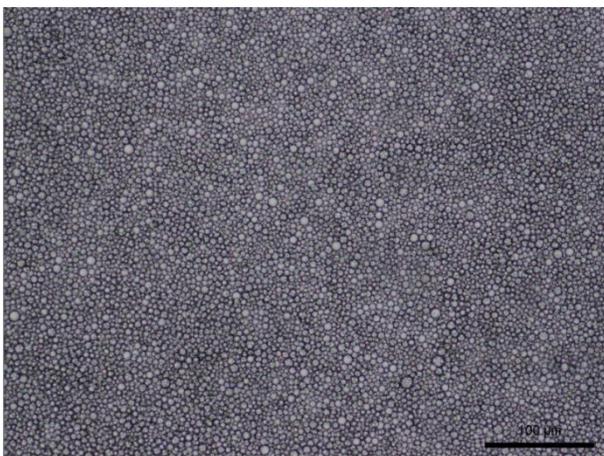


Cuadro 21. Imágenes microscópicas de la emulsión madre D y de las microemulsiones obtenidas a partir de esta misma microemulsión madre. Las barras de escala indican 100 micrómetros.

Emulsión madre D y microemulsiones 37, 38 y 39

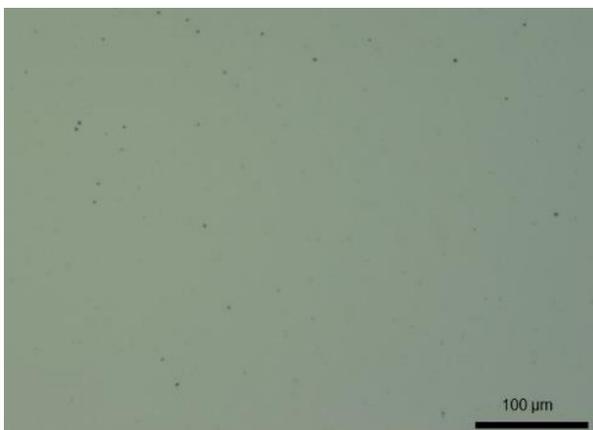
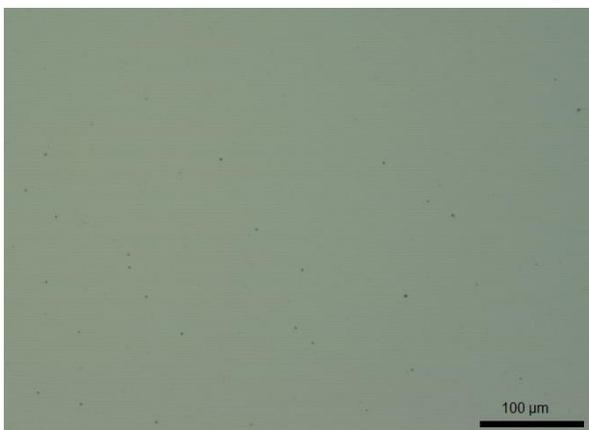
D) Sales biliares 1%, limoneno 10% y buffer 89%

37) Sales biliares 9.55%, limoneno 0.5% y buffer 89.95%



38) Sales biliares 9.1%, limoneno 1% y buffer 89.9%

39) Sales biliares 8.2%, limoneno 2% y buffer 89.8%

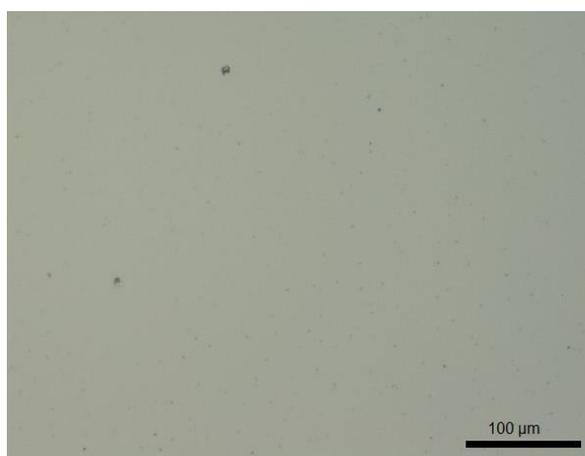
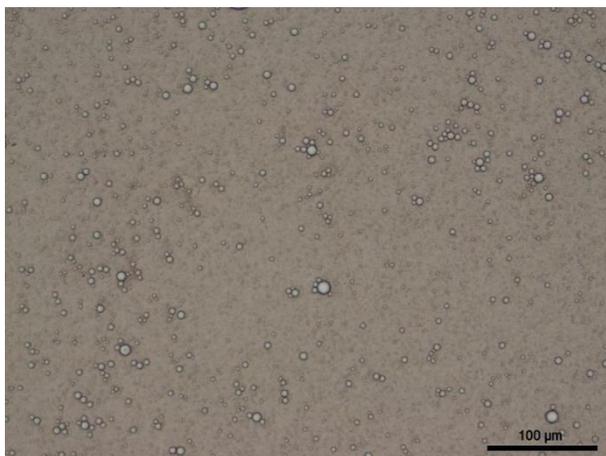


Cuadro 22. Imágenes microscópicas de la emulsión madre E y de las microemulsiones obtenidas a partir de esta misma microemulsión madre. Las barras de escala indican 100 micrómetros.

Emulsiones madre E y microemulsiones 43, 44, 47, 53, 55 y 56

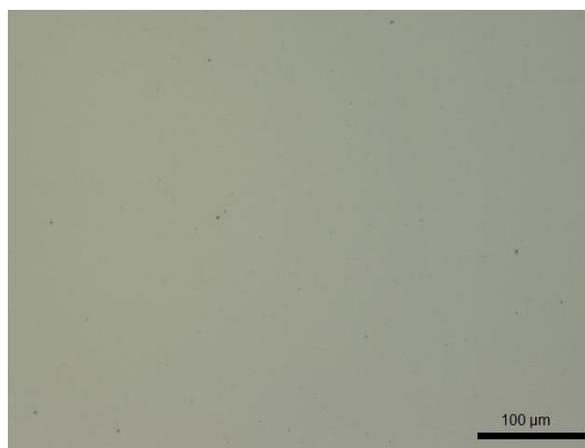
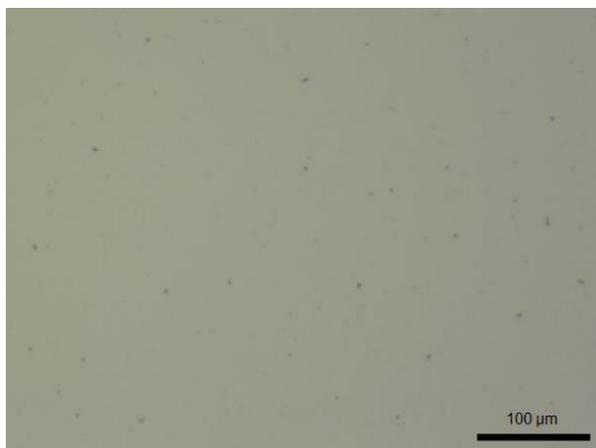
E) Tween-80 1%, limoneno 10% y buffer 89%

43) Tween-80 8.2%, limoneno 2% y buffer 89.8%



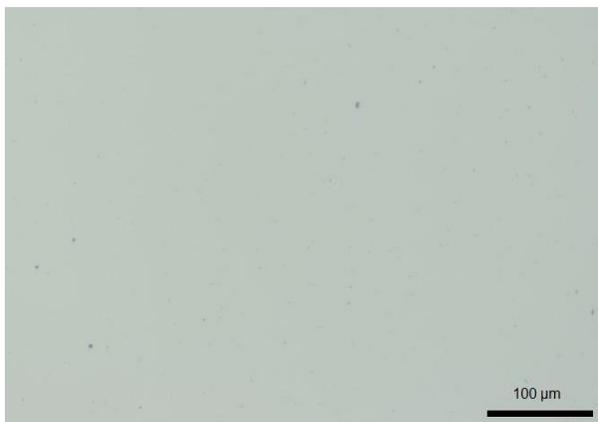
44) Tween-80 7.3%, limoneno 3% y buffer 89.7%

47) Ácido acético 32%, tween-80 0.2%, limoneno 2% y buffer 65.8%

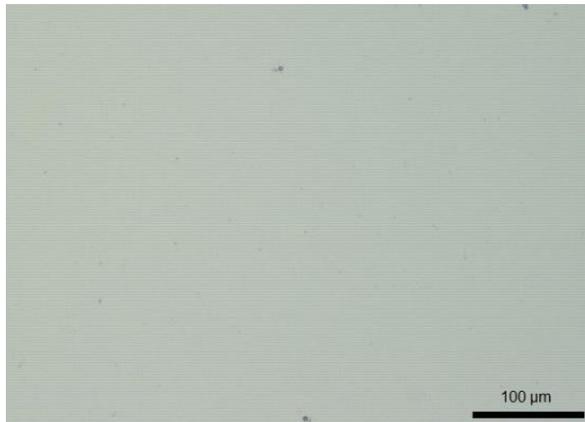


Continuación

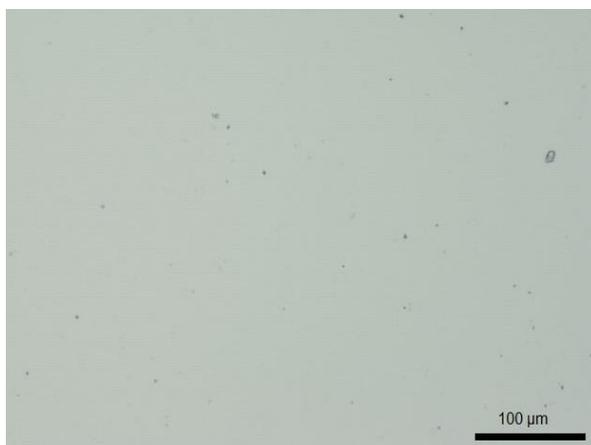
51) Tween-80 8.2%, ácido acético 32%,
limoneno 2% y buffer 67.8%



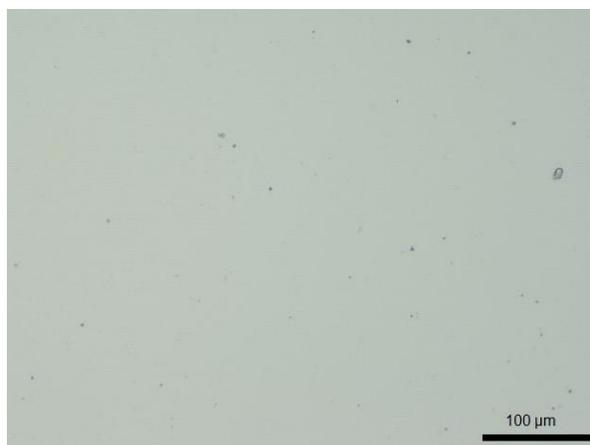
52) Tween-80 7.3%, ácido acético 28%,
limoneno 3% y buffer 61.7%



53) Tween-80 6.4%, ácido acético 24%,
limoneno 4% y buffer 65.6%

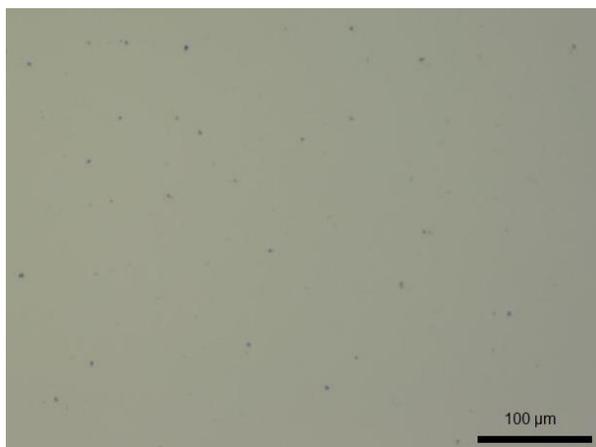


55) Tween-80 1%, limoneno 2% y buffer 97%



Continuación

**56) Tween-80 1%, ácido acético 40%, limoneno
2% y buffer 65 %**



7.2.2. Análisis reológico de las microemulsiones

Para obtener la viscosidad de las emulsiones analizadas, se sometieron a un barrido de velocidades de corte (1 a 200 s^{-1}) a 25°C . A partir de este barrido se determinó el índice de flujo y de esta manera fue posible conocer el tipo de fluido para las microemulsiones y emulsiones madre. Un índice de fluido menor a uno representa un fluido no newtoniano, específicamente a un fluido pseudoplástico. Un índice de fluido igual a uno establece que es un líquido newtoniano. Se determinó que tanto las emulsiones madre como las microemulsiones corresponden a fluidos pseudoplásticos, fluidos que disminuyen su viscosidad al aumentar la velocidad de corte (Cuadros 23 y 24). Se ha reportado que el comportamiento de ciertas emulsiones, es un comportamiento no newtoniano o pseudoplástico, con un índice de flujo menor a uno (Wong et al., 2015). La reducción de la viscosidad en las emulsiones al estar sometidas a un esfuerzo de corte (o cizalla) se atribuye a la formación de aglomerados. A bajas velocidades de corte, las fuerzas hidrodinámicas no son suficientemente grandes para romper los enlaces que mantienen a las partículas juntas. Por lo tanto, los aglomerados actúan como gotas de gran tamaño y forma definida, que resulta en una viscosidad constante. Sin embargo, cuando la velocidad de corte incrementa las fuerzas hidrodinámicas podrían volverse lo suficientemente grande como para causar que los aglomerados se deformen y finalmente se rompan. La deformación de estos aglomerados podría resultar en que se elonguen y se alineen con el campo de cizalla (Shear field), provocando una reducción de la viscosidad (Floury et al., 2000). El aceite de oliva, el ácido acético, el buffer y el tween-80 son fluidos newtonianos o bien fluidos cuya viscosidad no se vea afectada por la velocidad de corte aplicada (Cuadro 25). La baja interacción entre partícula-partícula en estas emulsiones parece ser la responsable del comportamiento newtoniano de estos fluidos (Floury et al., 2000). En cambio, el aceite de coco y el limoneno presentaron un comportamiento no newtoniano o pseudoplástico (Cuadro 25).

Fue posible determinar la viscosidad aparente con la ecuación 7, esto gracias al índice de consistencia y al índice de flujo. La viscosidad se puede interpretar como la resistencia que ofrecen los fluidos a ser deformados, cuando son sometidos a un esfuerzo. Es decir, la viscosidad de un fluido se puede cuantificar midiendo su resistencia al flujo. Los fluidos no newtonianos no pueden describirse mediante un único valor de viscosidad ya que tienen una viscosidad que depende de la velocidad de deformación y, como tales, tienen propiedades de flujo más complejas. En resumen, la viscosidad aparente disminuyó a medida que aumentó la velocidad de corte (O'Leary et al., 2011) Las microemulsiones que presentaron los mayores valores de viscosidad fueron aquellos que presentaban en su formulación tween 80. Esto se debe a que el tween 80 presentaba una muy alta viscosidad (513.297 mPa*s), seguido del aceite de oliva (80.291 mPa*s) y del aceite de coco (23.653 mPa*s) (Cuadro 25). Como consecuencia, las microemulsiones que contenían una concentración elevada de tween-80 (9-6%) presentaron una viscosidad mayor que aquellas que contenían sales biliares como surfactante (Cuadro 23). Lo mismo sucedió con las emulsiones madre, al presentar una concentración del 1% de tween-80, tuvieron una viscosidad menor a las viscosidades de las microemulsiones (Cuadro 24).

Además del análisis de flujo utilizado para obtener información como tipo de fluido y la viscosidad aparente de las microemulsiones y emulsiones madre, también se ejecutó un análisis de deformación oscilante. La prueba de barrido de deformación oscilante (5-25%) se utilizó para determinar la región lineal viscoelástica (RLV). En el cuadro 25 se observan las propiedades dinámicas viscoelásticas (módulo de almacenamiento G' y módulo de pérdida G'') de los ingredientes utilizados en la formación de las emulsiones. Para el limoneno, ácido acético y el buffer se estableció que el valor de G' es mayor que G'' , por lo tanto, dichos ingredientes tienen una característica predominante elástica. Por otra parte, el aceite de coco, aceite de oliva y el tween-80 tienen el efecto contrario ($G'' > G'$) ya que demostraron tener características más viscosas que elásticas. Lo anterior permite concluir que, al tener una mayor concentración de fase acuosa sobre la fase oleosa y el surfactante, las microemulsiones y las emulsiones madre tendrán valores mayores del módulo elástico

que del módulo viscoso (ángulo de fase menor a 45°). Al tener un comportamiento mayormente elástico las microemulsiones y las emulsiones madre tienen la capacidad de absorber cierta cantidad de energía al ser sometidas a un esfuerzo o flujo. Tan δ nos muestra la relación que existe entre los módulos G' y G'' . Dichos valores se muestran en los Cuadros 23 y 24.

Cuadro 23. Propiedades viscoelásticas de las microemulsiones estudiadas a temperatura ambiente.

MEM	Índice de consistencia (mPa)	Índice de flujo	Tipo de fluido	Viscosidad aparente (mPa*s)	G' Modulo elástico (Pa)	G'' Modulo viscoso (Pa)	Tan (delta)	Ángulo de fase (delta)
17	13.823	0.795	Pp	5.287 ^{a,b}	1.750 ^{a,b}	0.682 ^{a,b}	0.392 ^{d,e,f,g}	21.403 ^{c,d,e,f}
18	9.410	0.748	Pp	2.924 ^e	1.168 ^{f,g}	0.705 ^a	0.606 ^a	31.173 ^a
32	11.636	0.843	Pp	5.658 ^a	1.717 ^{a,b,c}	0.741 ^a	0.433 ^{b,c,d,e,f,g}	23.400 ^{b,c,d,e}
37	2.327	0.881	Pp	1.322 ^f	1.259 ^{e,f}	0.652 ^{a,b,c}	0.520 ^{a,b,c}	27.470 ^{a,b}
38	3.674	0.795	Pp	1.399 ^f	1.453 ^{d,e}	0.660 ^{a,b,c}	0.461 ^{b,c,d,e,f}	24.757 ^{b,c,d,e}
39	2.518	0.873	Pp	1.380 ^f	1.405 ^{d,e}	0.705 ^a	0.505 ^{a,b,c,d}	26.753 ^{a,b,c}
43	6.921	0.900	Pp	4.367 ^{b,c,d}	1.783 ^a	0.571 ^{b,c,d}	0.322 ^g	17.863 ^f
44	9.405	0.863	Pp	4.328 ^{c,d}	1.570 ^{b,c,d}	0.578 ^{b,c,d}	0.369 ^{f,g}	20.277 ^{e,f}
47	9.902	0.834	Pp	3.523 ^{d,e}	1.076 ^{f,g}	0.524 ^{d,e}	0.491 ^{a,b,c,d,e}	26.133 ^{a,b,c,d}
51	7.172	0.894	Pp	4.339 ^{c,d}	1.102 ^{f,g}	0.444 ^e	0.404 ^{c,d,e,f,g}	22.033 ^{c,d,e,f}
52	9.587	0.841	Pp	4.574 ^{b,c}	1.173 ^{f,g}	0.425 ^e	0.365 ^{f,g}	20.033 ^{e,f}
53	8.175	0.872	Pp	4.509 ^{b,c}	1.123 ^{f,g}	0.427 ^e	0.382 ^{e,f,g}	20.917 ^{d,e,f}
55	5.279	0.957	Pp	4.321 ^{c,d}	1.525 ^{c,d}	0.491 ^{d,e}	0.322 ^g	17.887 ^f
56	5.265	0.956	Pp	4.306 ^{c,d}	1.050 ^g	0.562 ^{c,d}	0.539 ^{a,b}	28.227 ^{a,b}
Error estándar	2.126	0.053	N/A	0.234	0.062	0.032	0.032	1.526
Valor-P	N/A	N/A	N/A	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

MEM= microemulsión, Pp= pseudoplastico. La media se representa como el promedio de tres repeticiones (n). Medias que no comparten la misma letra dentro de una columna son significativamente diferentes (ANOVA de una vía, prueba de Tukey-Kramer $p > 0.05$).

Cuadro 24. Propiedades viscoelásticas de las emulsiones madre estudiadas a temperatura ambiente.

Emulsión madre	Índice de consistencia (mPa)	Índice de flujo	Tipo de fluido	Viscosidad aparente (mPa*s)	G' Modulo elástico (Pa)	G'' Modulo viscoso (Pa)	Tan (delta)	Ángulo de fase (delta)
B	0.013	0.640	Pp	2.246 ^b	1.715 ^a	0.757 ^a	0.442 ^b	23.845 ^b
C	0.015	0.709	Pp	3.598 ^a	1.224 ^b	0.502 ^b	0.412 ^b	21.600 ^b
D	0.006	0.817	Pp	2.533 ^b	1.245 ^b	0.749 ^a	0.604 ^a	31.043 ^a
E	0.013	0.673	Pp	2.719 ^b	1.269 ^b	0.541 ^b	0.428 ^b	23.150 ^b
Error estándar	0.005	0.117	N/A	0.224	0.091	0.058	0.066	1.831
Valor-P	N/A	N/A	N/A	0.000	0.000	0.001	0.008	0.006

Pp= pseudoplastico. La media se representa como el promedio de tres repeticiones (n). Medias que no comparten la misma letra dentro de una columna son significativamente diferentes (ANOVA de una vía, prueba de Tukey-Kramer $p > 0.05$).

Cuadro 25. Propiedades viscoelásticas de los ingredientes utilizados en la formación de las emulsiones.

Ingredientes	Índice de consistencia (mPa)	Índice de flujo	Tipo de fluido	Viscosidad/ viscosidad aparente (mPa*s)	G' Modulo elástico (Pa)	G'' Modulo viscoso (Pa)	Tan (delta)	Ángulo de fase (delta)
Aceite de coco	41.181	0.879	Pp	23.653 ^c	0.861 ^{a,b}	1.618 ^c	1.888 ^b	61.997 ^c
Aceite de oliva	80.291	0.989	Nw	80.291 ^b	0.664 ^b	3.186 ^b	4.831 ^b	78.230 ^b
Limoneno	1.515	0.869	Pp	0.850 ^d	1.065 ^a	0.527 ^d	0.500 ^b	26.500 ^e
Ácido acético	1.543	0.984	Nw	1.543 ^d	0.970 ^a	0.629 ^d	0.651 ^b	33.033 ^d
Buffer 0.01 M, pH 7	0.834	1.015	Nw	0.834 ^d	0.918 ^a	0.553 ^d	0.592 ^b	31.107 ^d
Tween 80	513.297	0.993	Nw	513.297 ^a	0.650 ^b	24.510 ^a	40.447 ^a	88.480 ^a
Error estándar	3.442	0.013	N/A	3.409	0.063	0.057	1.855	0.891
Valor-P	N/A	N/A	N/A	0.000	0.001	0.000	0.000	0.000

Pp= pseudoplastico, Nw= newtoniano. La media se representa como el promedio de tres repeticiones (n). Medias que no comparten la misma letra dentro de una columna son significativamente diferentes (ANOVA de una vía, prueba de Tukey-Kramer $p > 0.05$).

7.2.3. Análisis físico-químico de las microemulsiones

En el Cuadro 28 es posible observar que el pH del aceite de coco, aceite de oliva y del buffer fue neutro, mientras que el pH del ácido acético fue de 0.5. La mayoría de los ingredientes usados tuvieron una conductividad muy baja (<0.01 mS/cm), mientras que la del buffer al contener sales presentó un alto valor de conductividad (1 ms/cm). En el



caso de la densidad se observó que los aceites tenían una densidad menor que la del agua. El ácido acético y el tween-80 tuvieron una densidad un poco mayor a la del agua (1.025 y 1.086 g/cm³ respectivamente). En el caso de las microemulsiones se observaron pH's extremadamente ácidos cuando se incluía ácido acético en la formulación (Cuadro 26). En el caso de las microemulsiones que utilizaron sales biliares como surfactante, estas presentaron valores de pH muy cercanos a la neutralidad. También, estas microemulsiones presentaron una alta conductividad (8-9 ms/cm) que aquellas que no utilizan sales biliares. La densidad de las microemulsiones fue muy similar a la del agua, esto ya que tienen una mayor proporción de buffer en su formulación (Cuadro 26). Por otra parte, las emulsiones madre B, C y E presentaron pH's similares a los del limoneno (pH 5). En contraste, la emulsión madre D, presentó un pH 7, debido a la adición de sales biliares. Este surfactante también tuvo impacto en la conductividad, ya que la emulsión madre D tuvo la mayor conductividad. La densidad para estas emulsiones fue más baja que la reportada para el agua, esto debido a que estas emulsiones se prepararon con una concentración del 10% de fase oleosa (Cuadro 27).

Cuadro 26. Propiedades fisicoquímicas, realizadas a temperatura ambiente, de las microemulsiones estudiadas.

Microemulsión	pH	Conductividad (mS/cm)	Densidad (g/cm ³)
17	0.792 ⁱ	1.095 ^j	1.051 ^a
18	0.854 ^h	1.234 ^{g,h,i}	1.046 ^c
32	0.750 ^j	1.105 ^j	1.043 ^{b,c}
37	7.922 ^a	9.152 ^a	1.027 ^{e,f,g}
38	7.838 ^b	8.930 ^b	1.026 ^{f,g}
39	7.756 ^c	8.500 ^c	1.025 ^g
43	6.160 ^d	1.166 ^{h,i,j}	1.031 ^{d,e,f}
44	5.890 ^e	1.155 ^{i,j}	1.025 ^g
47	0.666 ^{k,l}	1.497 ^d	1.036 ^d
51	0.588 ^m	1.317 ^{f,g}	1.050 ^{a,b}
52	0.650 ^l	1.356 ^{e,f}	1.042 ^c
53	0.904 ^g	1.426 ^{d,e}	1.032 ^{d,e}
55	5.214 ^f	1.144 ^j	1.003 ^h
56	0.690 ^k	1.252 ^{g,h}	1.044 ^c
Error estándar	0.016	0.021	0.002
Valor-P	0.000	0.000	0.000

La media se representa como el promedio de cinco repeticiones (n). Medias que no comparten la misma letra dentro de una columna son significativamente diferentes (ANOVA de una vía, prueba de Tukey-Kramer $p > 0.05$).

Cuadro 27. Propiedades fisicoquímicas, realizadas a temperatura ambiente, de las emulsiones madre estudiadas.

Emulsión madre	pH	Conductividad (mS/cm)	Densidad (g/cm ³)
B	5.498 ^c	0.044 ^d	0.970 ^c
C	5.656 ^b	0.052 ^c	0.978 ^b
D	7.978 ^d	1.068 ^a	0.984 ^a
E	4.844 ^a	0.060 ^b	0.976 ^b
Error estándar	0.071	0.002	0.001
Valor-P	0.000	0.000	0.000

La media se representa como el promedio de cinco repeticiones (n). Medias que no comparten la misma letra dentro de una columna son significativamente diferentes (ANOVA de una vía, prueba de Tukey-Kramer $p > 0.05$).

Cuadro 28. Propiedades fisicoquímicas de los ingredientes utilizados en la formación de las emulsiones.

Ingredientes	pH	Conductividad (mS/cm)	Densidad (g/cm ³)
Aceite de coco	7.040 ^a	0.0086 ^b	0.937 ^d
Aceite de oliva	7.013 ^a	0.0001 ^d	0.911 ^e
Limoneno	5.306 ^c	0.0012 ^d	0.802 ^f
Ácido acético	0.501 ^d	0.0002 ^d	1.025 ^b
Buffer 0.01 M, pH 7	7.000 ^a	1.0143 ^a	0.997 ^c
Tween 80	6.35 ^b	0.0061 ^c	1.086 ^a
Error estándar	0.045	0.0003	0.002
P value	0.000	0.000	0.000

La media se representa como el promedio de cinco repeticiones (n). Medias que no comparten la misma letra dentro de una columna son significativamente diferentes (ANOVA de una vía, prueba de Tukey-Kramer $p > 0.05$).

7.2.4. Estabilidad de las microemulsiones

7.2.4.1. Termoestabilidad

En el Cuadro 29 se observa el cambio en la turbidez de las microemulsiones después de aplicarles calor (75°C x 5 min), enfriarlas a 25°C, agitarlas mecánicamente (15,500 rpm x 2 min), y aplicarles ultrasonido (70W, 40 KHz, x 2 min). Ciertamente es que las microemulsiones presentaron cambios en la turbidez. En general, los valores de turbidez aumentaron después de cada tratamiento aplicado. Sin embargo, ninguna microemulsión se tornó turbia o existió separación de las fases. Como se mencionó anteriormente, a una turbidez menor de 0.5% se obtienen microemulsiones transparentes. Es por ello que se puede decir que, aunque se presentó un cambio en la turbidez, este cambio no afectó en la transparencia de las microemulsiones. Lo anterior se observa en el Cuadro 30, donde se puede notar que no se presentaron cambios en la transparencia de las microemulsiones después de los tratamientos.

De igual forma que la turbidez, el pH, la conductividad y la densidad de las microemulsiones no cambiaron significativamente después de ser sometidos a calor (75°C x 5 min), agitación mecánica (15,500 rpm x 2 min), y ultrasonido (70W, 40 KHz, x 2 min). Estos valores se pueden consultar en los Cuadros 31, 32 y 33. Ya que no se

presentaron cambios en color, pH, conductividad y densidad, se afirma que las microemulsiones son estables al aumentarles la temperatura a 75°C, agitarlas mecánicamente y al aplicarles ultrasonido.

Cuadro 29. Efecto del aumento de la temperatura (75°C, 5 min), la agitación mecánica (15, 500 rpm, 2 min), y el ultrasonido (70 W, 40 KHz, 2 min) sobre la turbidez de las microemulsiones estudiadas.

Microemulsión	Turbidez (%)					
	Sin tratamiento	Aumento T	Agitación	Ultrasonido	Error estándar	Valor-P
18	0.115 ^c	0.124 ^{b,c}	0.135 ^b	0.155 ^a	0.005	0.000
32	0.118 ^b	0.128 ^{a,b}	0.136 ^{a,b}	0.155 ^a	0.009	0.015
39	0.148 ^a	0.154 ^a	0.150 ^a	0.157 ^a	0.012	0.827
44	0.170 ^a	0.180 ^a	0.177 ^a	0.191 ^a	0.007	0.094
47	0.120 ^a	0.127 ^a	0.133 ^a	0.134 ^a	0.011	0.485
53	0.144 ^a	0.158 ^a	0.164 ^a	0.158 ^a	0.009	0.532
55	0.144 ^a	0.151 ^{a,b}	0.163 ^b	0.164 ^b	0.005	0.013
56	0.122 ^c	0.131 ^{b,c}	0.143 ^{a,b}	0.153 ^a	0.004	0.000

La agitación mecánica se realizó con un homogenizador de alta cizalla con una punta S18-10G (IKA T18 basic Ultraturrax). La media se representa como el promedio de tres repeticiones (n). Medias que no comparten la misma letra dentro de una fila son significativamente diferentes (ANOVA de una vía, prueba de Tukey-Kramer $p > 0.05$).

Cuadro 30. Efecto del aumento en temperatura (75°C, 5 min), agitación mecánica (15, 500 rpm, 2 min), y ultrasonido (70 W, 40 KHz, 2 min) sobre la transparencia de las microemulsiones estudiadas.

Microemulsión	Imágenes de microemulsiones después de cada tratamiento			
	Sin tratamiento	Aumento T	Agitación	Ultrasonido
18		 Coco 0.2% Tween 10% Acido 40%	 Coco 0.2% Tween 10% Acido 40%	 Coco 0.2% Tween 10% Acido 40%
32		 Oliva 0.1% Tween 10% Acido 40%	 Oliva 0.1% Tween 10% Acido 40%	 Oliva 0.1% Tween 10% Acido 40%
39		 Limoneno 2% Sales 10%	 Limoneno 2% Sales 10%	 Limoneno 2% Sales 10%
44		 Limoneno 3% Tween 10%	 Limoneno 3% Tween 10%	 Limoneno 3% Tween 10%
47		 Limoneno 2% Acido 40%	 Limoneno 2% Acido 40%	 Limoneno 2% Acido 40%
53		 Limoneno 4% Tween 10% Acido 40%	 Limoneno 4% Tween 10% Acido 40%	 Limoneno 4% Tween 10% Acido 40%



Cuadro 31. Efecto del aumento de la temperatura (75°C, 5 min), la agitación mecánica (15, 500 rpm, 2 min), y el ultrasonido (70 W, 40 KHz, 2 min) sobre el pH de las microemulsiones estudiadas.

Microemulsión	pH					Error estándar	Valor-P
	Sin tratamiento	Aumento T	Agitación	Ultrasonido			
18	0.85 ^a	0.85 ^a	0.87 ^a	0.87 ^a	0.010	0.157	
32	0.76 ^a	0.76 ^a	0.76 ^a	0.76 ^a	0.010	0.863	
39	7.76 ^a	7.77 ^a	7.76 ^a	7.75 ^a	0.012	0.391	
44	5.90 ^a	5.89 ^a	5.90 ^a	5.89 ^a	0.011	0.815	
47	0.59 ^a	0.59 ^a	0.60 ^a	0.59 ^a	0.011	0.723	
53	0.90 ^a	0.90 ^a	0.90 ^a	0.90 ^a	0.009	0.986	
55	5.22 ^a	5.20 ^a	5.21 ^a	5.22 ^a	0.009	0.153	
56	0.69 ^a	0.69 ^a	0.70 ^a	0.69 ^a	0.012	0.482	

La agitación mecánica se realizó con un homogenizador de alta cizalla con una punta S18-10G (IKA T18 basic Ultraturrax). La media se representa como el promedio de tres repeticiones (n). Medias que no comparten la misma letra dentro de una fila son significativamente diferentes (ANOVA de una vía, prueba de Tukey-Kramer $p > 0.05$).

Cuadro 32. Efecto del aumento de la temperatura (75°C, 5 min), la agitación mecánica (15, 500 rpm, 2 min), y el ultrasonido (70 W, 40 KHz, 2 min) sobre la conductividad de las microemulsiones estudiadas.

Microemulsión	Conductividad (mS/cm)					Error estándar	Valor-P
	Sin tratamiento	Aumento T	Agitación	Ultrasonido			
18	1.094 ^a	1.096 ^a	1.093 ^a	1.090 ^a	0.007	0.855	
32	1.096 ^a	1.108 ^a	1.108 ^a	1.107 ^a	0.006	0.502	
39	8.497 ^a	8.500 ^a	8.490 ^a	8.483 ^a	0.010	0.311	
44	1.156 ^{a,b}	1.154 ^b	1.159 ^a	1.160 ^a	0.001	0.011	
47	1.499 ^a	1.496 ^a	1.500 ^a	1.487 ^a	0.007	0.238	
53	1.168 ^a	1.169 ^a	1.168 ^a	1.170 ^a	0.001	0.343	
55	1.268 ^a	1.270 ^a	1.267 ^a	1.268 ^a	0.001	0.521	
56	1.425 ^{a,b}	1.423 ^a	1.427 ^b	1.424 ^{a,b}	0.002	0.044	

La agitación mecánica se realizó con un homogenizador de alta cizalla con una punta S18-10G (IKA T18 basic Ultraturrax). La media se representa como el promedio de tres repeticiones (n). Medias que no comparten la misma letra dentro de una fila son significativamente diferentes (ANOVA de una vía, prueba de Tukey-Kramer $p > 0.05$).

Cuadro 33. Efecto del aumento de la temperatura (75°C, 5 min), la agitación mecánica (15, 500 rpm, 2 min), y el ultrasonido (70 W, 40 KHz, 2 min) sobre la densidad de las microemulsiones estudiadas.

Microemulsión	Densidad (g/cm ³)					Error estándar	Valor-P
	Sin tratamiento	Aumento T	Agitación	Ultrasonido			
18	1.051 ^a	1.051 ^a	1.052 ^a	1.051 ^a	0.001	0.738	
32	1.049 ^a	1.050 ^a	1.049 ^a	1.037 ^a	0.001	0.370	
39	1.026 ^a	1.025 ^a	1.026 ^a	1.025 ^a	0.001	0.740	
44	1.025 ^a	1.026 ^a	1.026 ^a	1.030 ^a	0.001	0.764	
47	1.034 ^a	1.034 ^a	1.034 ^a	1.020 ^a	0.001	0.937	
53	1.004 ^a	1.003 ^a	1.004 ^a	1.025 ^a	0.001	0.041	
55	1.044 ^a	1.045 ^a	1.045 ^a	1.039 ^a	0.001	0.344	
56	1.030 ^a	1.030 ^a	1.033 ^a	1.032 ^a	0.001	0.153	

La agitación mecánica se realizó con un homogenizador de alta cizalla con una punta S18-10G (IKA T18 basic Ultraturrax). La media se representa como el promedio de tres repeticiones (n). Medias que no comparten la misma letra dentro de una fila son significativamente diferentes (ANOVA de una vía, prueba de Tukey-Kramer $p > 0.05$).

7.2.4.2. Propiedades termoreológicas

Con la información obtenida en la prueba de barrido de deformación oscilante (5-25%), se estableció que a una deformación del 15% los valores de G' y G'' se mantuvieron constantes (región lineal viscoelástica, RLV). Las pruebas termoreológicas se realizaron en un rango de 5 a 150°C (rampa a 5°C min⁻¹). En el Cuadro 34 y 35 se muestra la evolución de las propiedades viscoelásticas (G' y G'') en función de la temperatura de las microemulsiones. También se incluye la comparación de las emulsiones madre a partir de las cuales se formaron las microemulsiones. Entre los principales resultados se encontró una clara diferencia entre la termoestabilidad de las emulsiones madre y sus correspondientes microemulsiones. Los resultados nos muestran que las emulsiones madre pierden su estabilidad a temperaturas de 80 a 95°C. Mientras que las microemulsiones se mantienen estables hasta temperaturas de 150°C. La inversión de fases se consideró cuando los valores de G' y G'' se igualan o alcanzan la mínima diferencia entre ambos parámetros (Cuadro 34). En éste punto, las emulsiones cambian de fase ($\tan(\delta)=1$), lo que refleja un cambio en la composición de la dispersión.

Cuadro 34. Temperaturas de desestabilización de las emulsiones madre utilizadas en la formulación de microemulsiones.

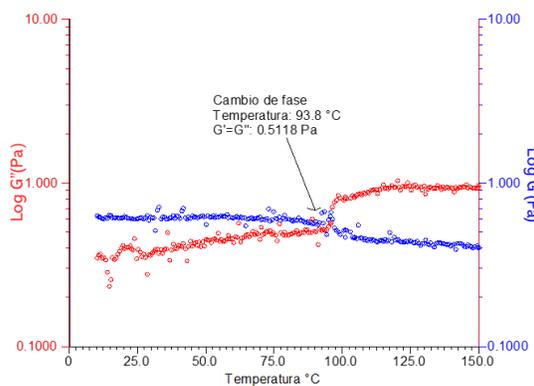
Emulsión madre	Temperatura de inversión de fase (°C)	Valor de G' y G'' en su entrecruce (Pa)
B	93.0 ± 0.70	0.534 ± 0.024
C	80.8 ± 0.55	0.618 ± 0.016
D	95.1 ± 0.20	0.586 ± 0.004
E	95.6 ± 0.41	0.576 ± 0.004

*Media ± desviación estándar (n=3)

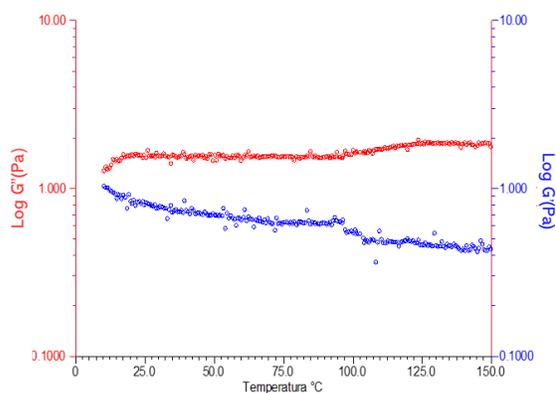
Cuadro 35. Propiedades dinámicas viscoelásticas: módulo elástico G' y módulo viscoso G'' en función de la temperatura (5-150°C) de las emulsiones madre y las microemulsiones realizadas a partir de estas.

Propiedades dinámicas viscoelásticas

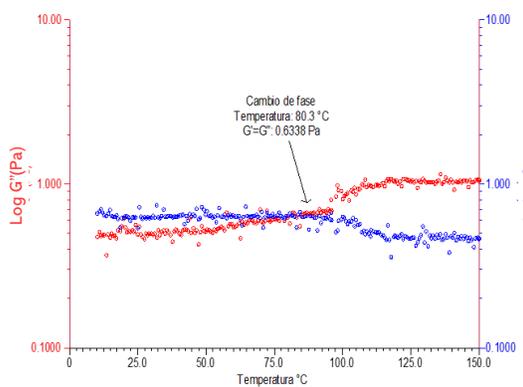
Emulsión madre B



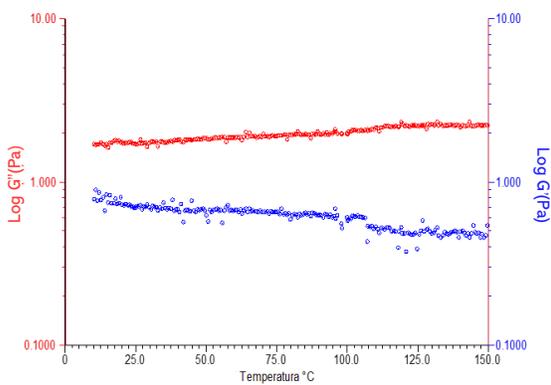
Microemulsión 18



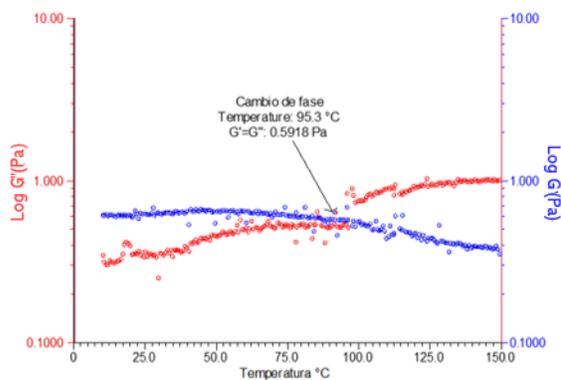
Emulsión madre C



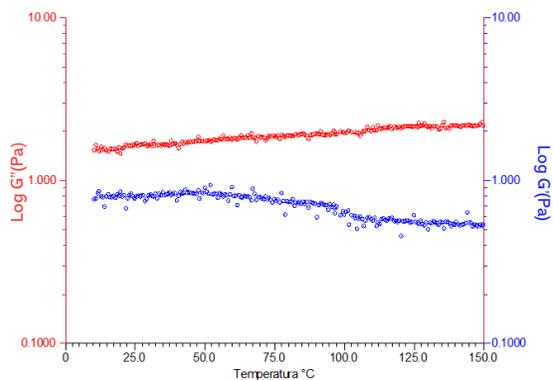
Microemulsión 32



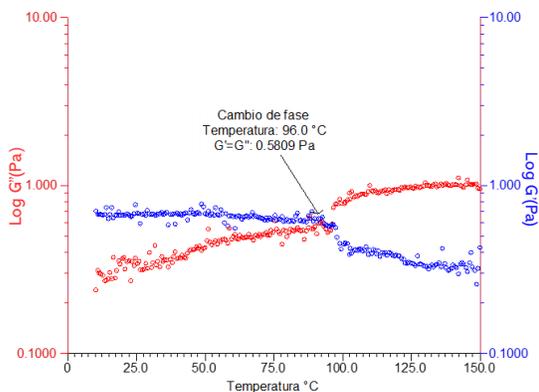
Emulsión madre D



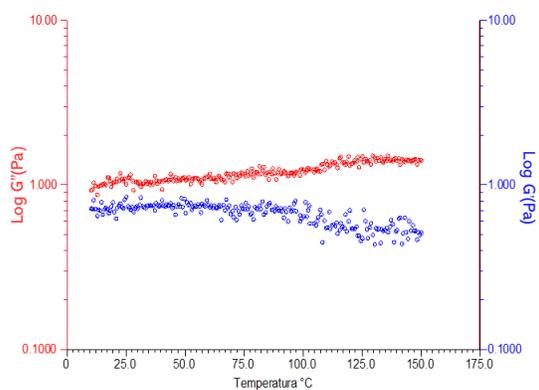
Microemulsión 39



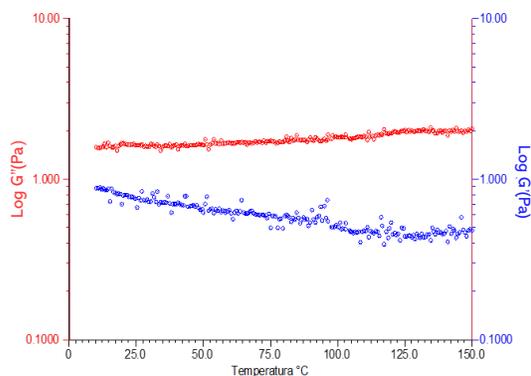
Emulsión madre E



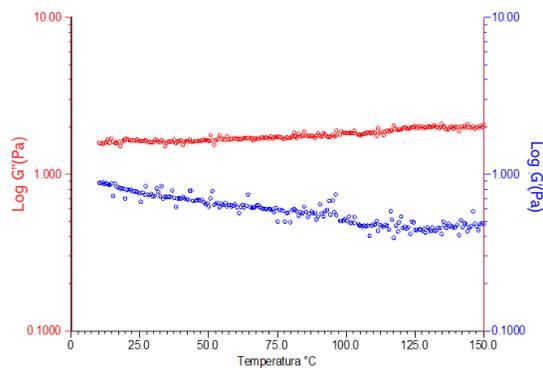
Microemulsión 44



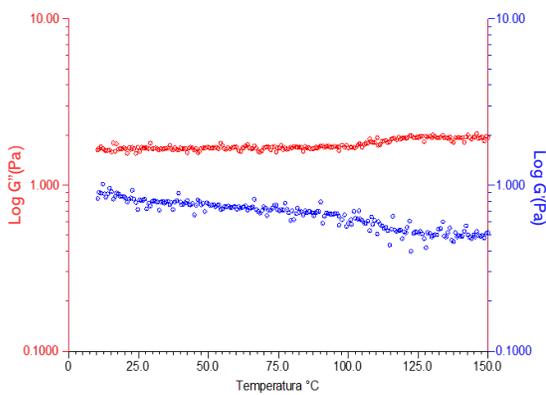
Microemulsión 47



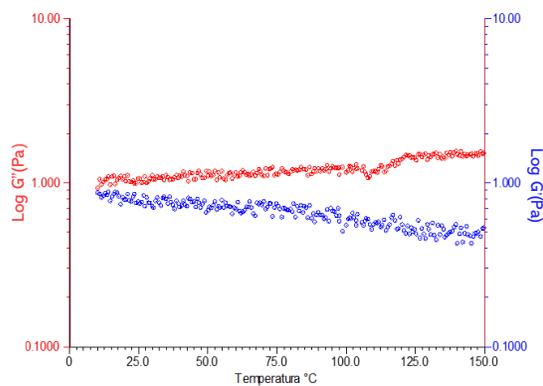
Microemulsión 53



Microemulsión 55



Microemulsión 56



7.3. Fase 3: Incorporación de flavonoides a las microemulsiones

7.3.1. Estabilidad de los las microemulsiones en presencia de los flavonoides quercetina y rutina

Una vez presentes los flavonoides en las microemulsiones en una concentración de 0.4 mM (12.5 mg/mL y 25 mg/mL para quercetina y rutina), se les realizaron mediciones fisicoquímicas de turbidez, pH, conductividad y densidad. Los resultados obtenidos fueron comparados con los resultados de las microemulsiones, pero sin flavonoides añadidos. En el Cuadro 36 es posible observar que se presentaron cambios significativos en la turbidez de las microemulsiones en presencia de los flavonoides en comparación con las microemulsiones sin la presencia de estos; aunque es importante mencionar que las microemulsiones no dejaron de ser transparentes, ya que presentaron una turbidez menor al 0.5%. Por el contrario, la conductividad, la densidad y el pH no presentaron cambios significativos al adicionarse los flavonoides (Cuadros 37, 38 y 39).

Cuadro 36. Cambios en la turbidez de las microemulsiones adicionadas con quercetina (12.5 mg/mL) o rutina (25 mg/mL).

Microemulsión	%Turbidez			Error estándar	Valor-P
	Sin flavonoide adicionado	Con Quercetina	Con Rutina		
18	0.115 ^c	0.178 ^a	0.150 ^b	0.003	0.000
32	0.118 ^c	0.168 ^a	0.134 ^b	0.003	0.000
39	0.148 ^c	0.198 ^a	0.170 ^b	0.004	0.000
44	0.170 ^b	0.191 ^a	0.179 ^{a,b}	0.005	0.015
47	0.120 ^b	0.161 ^a	0.134 ^b	0.007	0.002
53	0.1444 ^b	0.209 ^a	0.153 ^b	0.004	0.000
55	0.144 ^c	0.218 ^a	0.160 ^b	0.004	0.000
56	0.122 ^c	0.171 ^a	0.139 ^b	0.004	0.000

La media se representa como el promedio de tres repeticiones (n). Medias que no comparten la misma letra dentro de una fila son significativamente diferentes (ANOVA de una vía, prueba de Tukey-Kramer $p > 0.05$).

Cuadro 37. Cambio en la densidad de las microemulsiones adicionadas con quercetina (12.5 mg/mL) o rutina (25 mg/mL).

Microemulsión	Densidad (g/cm ³)				Error estándar	Valor-P
	Sin flavonoide adicionado	Con Quercetina	Con Rutina			
18	1.051 ^a	1.050 ^a	1.051 ^a		0.001	0.587
32	1.049 ^a	1.049 ^a	1.048 ^a		0.001	0.770
39	1.025 ^a	1.025 ^a	1.026 ^a		0.000	0.225
44	1.024 ^a	1.026 ^a	1.025 ^a		0.001	0.596
47	1.034 ^a	1.035 ^a	1.034 ^a		0.001	0.844
53	1.030 ^a	1.032 ^a	1.030 ^a		0.001	0.173
55	1.003 ^a	1.003 ^a	1.004 ^a		0.000	0.548
56	1.044 ^a	1.044 ^a	1.045 ^a		0.001	0.587

La media se representa como el promedio de tres repeticiones (n). Medias que no comparten la misma letra dentro de una fila son significativamente diferentes (ANOVA de una vía, prueba de Tukey-Kramer $p > 0.05$).

Cuadro 38. Cambio en el pH de las microemulsiones adicionadas con quercetina (12.5 mg/mL) o rutina (25 mg/mL).

Microemulsión	pH				Error estándar	Valor-P
	Sin flavonoide adicionado	Con Quercetina	Con Rutina			
18	0.85 ^a	0.87 ^a	0.87 ^a		0.01	0.336
32	0.76 ^a	0.77 ^a	0.76 ^a		0.01	0.562
39	7.76 ^a	7.76 ^a	7.77 ^a		0.01	0.780
44	5.90 ^a	5.90 ^a	5.89 ^a		0.02	0.296
47	0.59 ^a	0.60 ^a	0.58 ^a		0.01	0.196
53	0.91 ^a	0.90 ^a	0.90 ^a		0.01	0.954
55	5.22 ^a	5.21 ^a	5.21 ^a		0.02	0.228
56	0.69 ^a	0.69 ^a	0.69 ^a		0.01	0.870

La media se representa como el promedio de tres repeticiones (n). Medias que no comparten la misma letra dentro de una fila son significativamente diferentes (ANOVA de una vía, prueba de Tukey-Kramer $p > 0.05$).

Cuadro 39. Cambios en la conductividad de las microemulsiones adicionadas con quercetina (12.5 mg/mL) o rutina (25 mg/mL).

Microemulsión	Conductividad (mS/cm)				Valor-P
	Sin flavonoide adicionado	Con Quercetina	Con Rutina	Error estándar	
18	1.094 ^a	1.090 ^a	1.097 ^a	0.006	0.444
32	1.095 ^a	1.108 ^a	1.095 ^a	0.014	0.630
39	8.496 ^a	8.496 ^a	8.486 ^a	0.012	0.579
44	1.156 ^{a,b}	1.158 ^a	1.154 ^b	0.001	0.054
47	1.499 ^a	1.495 ^a	1.486 ^a	0.006	0.169
53	1.425 ^a	1.424 ^a	1.424 ^a	0.001	0.924
55	1.168 ^a	1.169 ^a	1.169 ^a	0.001	0.816
56	1.267 ^a	1.268 ^a	1.267 ^a	0.001	0.587

La media se representa como el promedio de tres repeticiones (n). Las medias que no comparten la misma letra dentro de una fila son significativamente diferentes (ANOVA de una vía, prueba de Tukey-Kramer ($p > 0.05$)).

7.3.2. Termoestabilidad de la microemulsión en presencia de quercetina o rutina

Visualmente es posible observar en los Cuadros 43 y 44 a las microemulsiones en presencia del flavonoide (quercetina o rutina) tras aplicarles tratamientos consecutivos de aumento de temperatura 75°C, agitación y ultrasonido. Ciertamente es que al añadirles el flavonoide cambian de color, pero siguen siendo transparentes aun cuando se les aplicó los 3 tratamientos. Nuevamente se puede afirmar que estas microemulsiones siguen manteniendo su estabilidad.

Cuadro 40. Efecto del aumento en temperatura (75°C, 5 min), agitación mecánica (15, 500 rpm, 2 min), y ultrasonido (70 W, 40 KHz, 2 min) sobre la transparencia de las microemulsiones en presencia del flavonoide quercetina.

Microemulsión	Imágenes de microemulsiones después de cada tratamiento			
	Sin tratamiento	Aumento T	Agitación	Ultrasonido
18				
32				
39				
44				
47				
53				



Cuadro 41. Efecto del aumento en temperatura (75°C, 5 min), agitación mecánica (15, 500 rpm, 2 min), y ultrasonido (70 W, 40 KHz, 2 min) sobre la transparencia de las microemulsiones en presencia del flavonoide rutina.

Microemulsión	Imágenes de microemulsiones después de cada tratamiento			
	Sin tratamiento	Aumento T	Agitación	Ultrasonido
18				
32				
39				
44				
47				
53				



7.3.3. Protección de la actividad antioxidante de microemulsiones adicionadas con flavonoides al aplicarles UV-A (365 nm) y temperaturas de 80 y 100°C

La actividad antiradical se expresa como una disminución relativa o absoluta del DPPH y generalmente se expresa como IC₅₀ (concentración del compuesto que inhibe un 50% de radicales libres). En este estudio se probaron las 8 microemulsiones estudiadas adicionadas con quercetina y rutina con el fin de determinar el IC₅₀ de cada una de ellas. Adicionalmente, a estas microemulsiones se les aplicó temperaturas de 80 y 100°C y radiación ultravioleta, realizándoles nuevamente la medición del IC₅₀. Todos los datos se ajustaron en función de una hipérbola y los valores de IC₅₀ fueron predichos de la ecuación obtenida con software SigmaPlot V.11. Se utilizó ácido ascórbico como control general, en el que se obtuvo un IC₅₀ de 6.76 µM, como se observa en la Figura 21. Otros autores han reportado valores de IC₅₀ para el ácido ascórbico 13.96 µM, y de 11.5 µM (Mendoza-López et al., 2018). El porcentaje de reducción de radicales (DPPH) o %RSA (radical scavenging activity) del ácido ascórbico fue del 75% a una concentración de 50 µM. Otros autores han reportado para el ácido ascórbico un %RSA del 94.8 a una concentración de 50 µM (Abbas et al., 2017). Sin embargo, el número IC₅₀ se incrementó en un 337% (29.6 µM) después de irradiar la solución de ácido ascórbico con UV-A. Al llevar la temperatura a 100 °C el IC₅₀ se incrementó a un 780%. Estos datos corroboran por un lado la actividad antioxidante del ácido ascórbico, pero también demuestran que este al ser expuesto a radiación UV o al aplicársele calor disminuyen notablemente su actividad antioxidante.

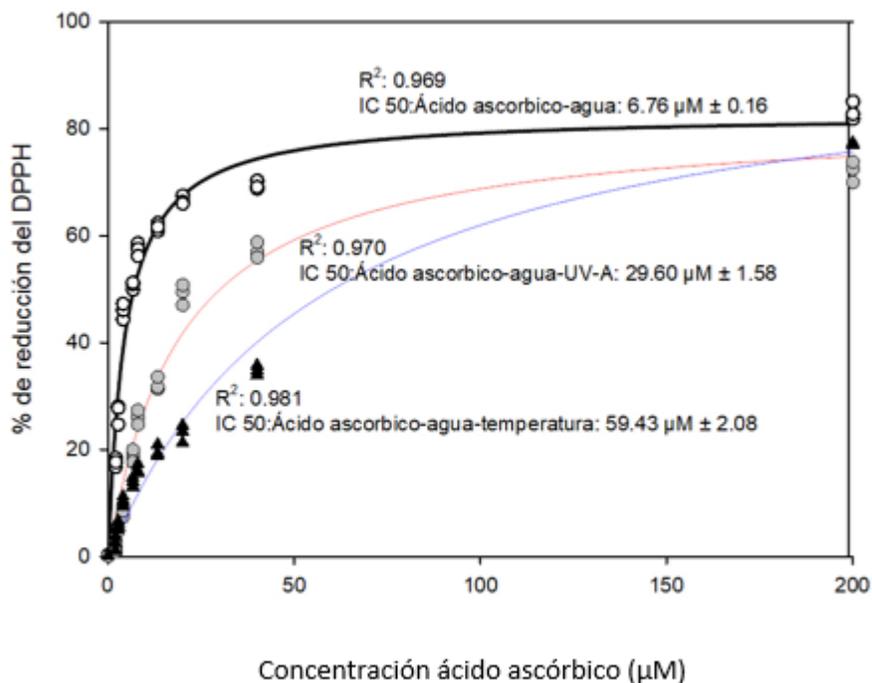


Figura 23. Capacidad de captación del radical libre DPPH por parte del ácido ascórbico antes (línea negra) y después de aplicar tratamientos de temperatura (100°C x 5 min, línea azul) y radiación UV-A (365 nm x 10 min, línea roja).

Los flavonoides, quercetina y rutina al ser poco polares, es fácil su disolución en etanol, es por ello que, se utilizó como control interno para ser comparable la actividad antioxidante en etanol y en microemulsión, frente a tratamientos térmicos y radiación ultravioleta. Los resultados obtenidos para los valores de IC₅₀ para las microemulsiones con los flavonoides añadidos y al aplicarles temperaturas de 80 y 100°C se muestran en los Cuadros 42 y 43, respectivamente. En ellos se puede observar que al tener etanol como matriz, se obtienen los menores valores de IC₅₀ con 4.73 µM y 12.27 µM para quercetina y rutina, respectivamente. Otros autores han informado valores de IC₅₀ similares para quercetina (8,9 µM) y rutina (11,1 µM) (Okawam M, Kinjo J, Nohara T, 2001). Estos datos indican que la quercetina requiere una concentración menor que la del ácido ascórbico para disminuir el 50% de la actividad eliminadora de radicales DPPH. La microemulsión 53 adicionada con quercetina tiene los valores más bajos de IC₅₀ (9.59 µM). Esto quiere decir que se necesita solamente 9.59 µM para lograr el 50% de inhibición de radicales libres, en comparación con las distintas microemulsiones los cuales necesitan concentraciones

que van desde 10.16 a 17.36 μM . La microemulsión 47 adicionada con rutina muestra los valores más bajos de IC_{50} sobre las demás microemulsiones. En el cuadro 44 se observa que los IC_{50} de las microemulsiones sin exposición de temperatura fue muy similar a los IC_{50} después del tratamiento con ambos flavonoides. La misma situación sucedió con “la adición” de etanol, observándose un máximo de aumento de 4% en el IC_{50} de las muestras expuestas a una temperatura de 80°C. En el cuadro 43 se muestran los cambios en los IC_{50} de las microemulsiones añadidas con flavonoides al aplicarles temperaturas de 100°C. La quercetina disuelta en etanol al ser calentada a 100°C aumentó 549% el valor de IC_{50} , en comparación con las microemulsiones que solo incrementaron de 5 a 70% el valor de IC_{50} . La microemulsión 32 tuvo el menor incremento (5%). Por otra parte, el etanol en presencia de rutina mostró un aumento del IC_{50} del 151%. En las microemulsiones con rutina los aumentos de IC_{50} fueron de 12 a 34%, presentando el menor aumento la microemulsión 39. Esto nos indica que las microemulsiones brindan una protección antioxidante tanto a la quercetina como a la rutina al aplicarles una temperatura de 100°C.

Cuadro 42. Efecto termo protector (80°C x 5 min) de la actividad antioxidante de flavonoides contenidos dentro de microemulsiones.

Matriz	Quercetina			Rutina		
	IC_{50}	IC_{50} después de la exposición	ΔIC_{50}	IC_{50}	IC_{50} después de la exposición	ΔIC_{50}
	μM	μM	%	μM	%	
Etanol	4.73 ^f	4.88 ^f	3.17 ^a	12.27 ^e	12.56 ^d	2.36 ^a
18	15.94 ^c	16.17 ^c	1.44 ^a	16.09 ^{c,d}	16.41 ^{b,c}	1.96 ^a
32	19.18 ^a	19.43 ^a	1.32 ^a	17.82 ^{a,b}	18.55 ^a	4.18 ^a
39	10.16 ^e	10.39 ^e	2.26 ^a	19.13 ^a	19.47 ^a	1.77 ^a
44	17.36 ^b	17.88 ^b	3.03 ^a	16.74 ^{b,c,d}	17.12 ^b	2.28 ^a
47	11.75 ^d	11.97 ^d	1.84 ^a	15.14 ^d	15.34 ^c	1.31 ^a
53	9.59 ^e	9.84 ^e	2.65 ^a	16.28 ^{b,c,d}	16.55 ^b	1.69 ^a
55	10.34 ^e	10.76 ^e	3.85 ^a	16.55 ^{b,c,d}	17.26 ^b	4.42 ^a
56	11.8 ^d	11.96 ^d	1.41 ^a	16.98 ^{b,c}	17.31 ^b	1.95 ^a
Error estándar	0.24	0.20	1.39	0.48	0.38	1.42 ^a
Valor-P	0.000	0.000	0.666	0.000	0.000	0.339

La media se representa como el promedio de tres repeticiones (n). Medias que no comparten la misma letra dentro de una columna son significativamente diferentes (ANOVA de una vía, prueba de Tukey-Kramer $p > 0.05$).

Cuadro 43. Efecto termo protector (100°C x 5 min) de la actividad antioxidante de flavonoides contenidos dentro de microemulsiones.

Matriz	Quercetina			Rutina		
	IC ₅₀	IC ₅₀ después de la exposición	Δ IC ₅₀	IC ₅₀	IC ₅₀ después de la exposición	Δ IC ₅₀
	μM	μM	%	μM	μM	%
Etanol	4.73 ^f	30.71 ^a	549.26 ^a	12.27 ^e	35.07 ^a	151.01 ^a
18	15.94 ^c	16.87 ^c	5.83 ^d	16.09 ^{c,d}	18.96 ^d	17.83 ^{b,c}
32	19.18 ^a	20.14 ^b	5.00 ^d	17.82 ^{a,b}	23.98 ^b	34.56 ^b
39	10.16 ^e	11.1 ^{d,e}	9.25 ^d	19.13 ^a	21.44 ^c	12.07 ^c
44	17.36 ^b	19.45 ^b	12.03 ^d	16.74 ^{b,c,d}	19.60 ^{c,d}	17.08 ^{b,c}
47	11.75 ^d	16.71 ^c	42.21 ^c	15.14 ^d	20.28 ^{c,d}	33.94 ^b
53	9.59 ^e	10.35 ^e	07.92 ^d	16.28 ^{b,c,d}	18.47 ^d	13.45 ^c
55	10.34 ^e	17.53 ^c	69.53 ^b	16.55 ^{b,c,d}	18.88 ^d	14.07 ^c
56	11.8 ^d	12.44 ^d	5.423 ^d	16.98 ^{b,c}	20.32 ^{c,d}	19.67 ^{b,c}
Error estándar	0.24	0.40	5.25	0.48	0.53	5.70
Valor-P	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

La media se representa como el promedio de tres repeticiones (n). Medias que no comparten la misma letra dentro de una columna son significativamente diferentes (ANOVA de una vía, prueba de Tukey-Kramer p > 0.05).

En el Cuadro 44 se muestra el efecto que tiene la radiación ultravioleta tanto en etanol como en las microemulsiones adicionadas con quercetina y rutina. Estos resultados muestran aumentos del 320% con quercetina y 185% con rutina en el IC₅₀ en los tratamientos con etanol. El estándar de quercetina tuvo una mayor actividad inhibidora de los radicales DPPH y tanto los estándares de quercetina y rutina fueron menos sensibles a la irradiación UV-A que los ascórbicos. Por otra parte, en las microemulsiones se observó que los mayores aumentos del IC₅₀ fueron del 88% y 90%, con quercetina y rutina, respectivamente. En la microemulsión 27 adicionada con quercetina tan solo mostró el 27% de aumento del IC₅₀. En el caso de la rutina, la microemulsión 45 tiene el menor aumento del IC₅₀ (45%). Es posible afirmar que las microemulsiones brindan una protección antioxidante tanto a la quercetina como a la rutina al aplicarles una temperatura de 100°C y una radiación ultravioleta. En mayor medida esta protección antioxidante es mayor en el tratamiento térmico, en comparación con radiación ultravioleta, ya que se muestran porcentajes menores de

aumento del IC₅₀. Los IC₅₀ de las microemulsiones en presencia de quercetina y rutina sin tratamiento, con tratamiento térmico y tratamiento de UV-A, se muestran en el Cuadro 47.

Cuadro 44. Efecto protector a radiación ultra ultravioleta (365 nm x 10 min) de la actividad antioxidante de flavonoides contenidos dentro de microemulsiones.

Matriz	Quercetina			Rutina		
	IC ₅₀	IC ₅₀ después de la exposición	Δ IC ₅₀	IC ₅₀	IC ₅₀ después de la exposición	Δ IC ₅₀
	μM	μM	%	μM	μM	%
Etanol	4.73 ^f	19.89 ^d	320.50 ^a	12.27 ^e	30.8 ^{a,b}	185.81 ^a
18	15.94 ^c	30.07 ^b	88.64 ^d	16.09 ^{c,d}	27.41 ^d	70.35 ^{c,d}
32	19.18 ^a	28.47 ^b	48.43 ^{e,f}	17.82 ^{a,b}	28.56 ^{c,d}	60.26 ^{d,e}
39	10.16 ^e	15.19 ^e	49.50 ^{e,f}	19.13 ^a	28.33 ^d	48.09 ^e
44	17.36 ^b	26.93 ^c	55.12 ^{e,f}	16.74 ^{b,c,d}	31.03 ^a	85.36 ^{b,c}
47	11.75 ^d	26.70 ^c	27.23 ^c	15.14 ^d	28.81 ^{b,c,d}	90.29 ^b
53	9.59 ^e	15.67 ^e	63.39 ^{d,e}	16.28 ^{b,c,d}	23.76 ^e	45.94 ^e
55	10.34 ^e	34.15 ^a	230.27 ^b	16.55 ^{b,c,d}	30.62 ^{a,b,c}	85.01 ^{b,c}
56	11.8 ^d	16.05 ^e	36.01 ^f	16.98 ^{b,c}	30.85 ^{a,b}	81.68 ^{b,c}
Error estándar	0.24	0.56	7.99	0.48	0.64	5.50
Valor-P	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

La media se representa como el promedio de tres repeticiones (n). Medias que no comparten la misma letra dentro de una columna son significativamente diferentes (ANOVA de una vía, prueba de Tukey-Kramer p > 0.05).

El porcentaje de reducción de radicales (DPPH) o %RSA (radical scavenging activity) antes y después de la aplicación de los tratamientos térmicos, de la radiación ultravioleta en etanol y en las microemulsiones en presencia de flavonoides se muestra en los Cuadros 45 y 46. En el Cuadro 45 se muestra el %RSA que se obtuvo al aplicar el tratamiento térmico. El etanol con quercetina (200 μM) tuvo un cambio decreciente del 36.90% del RSA, a diferencia de la rutina (200 μM) que presentó una disminución del 19%. Por lo contrario, al utilizar la mayoría de las microemulsiones como matriz, la disminución del %RSA fue menor. Esto no ocurrió con la microemulsión 32 al tener un aumento del 1%, esto en uso de quercetina. Otro caso similar ocurrió con la microemulsión 55 al mostrar un aumento del 4.5% con el uso de rutina al aumentar la temperatura.

Cuadro 45. Efecto térmico (100°C x 5 min) en el %RSA en microemulsiones adicionadas con quercetina y rutina a una concentración de 200 µM.

Matriz	Sin tratamiento (Control)		Tratamiento temperatura 100°C		Cambio por efecto de tratamiento con respecto al control	
	Quercetina	Rutina	Quercetina	Rutina	Quercetina	Rutina
Etanol	85.78 ^a	78.28 ^b	62.67 ^e	66.75 ^d	-36.91 ^d	-19.19 ^d
18	80.00 ^{c,d}	77.59 ^b	74.64 ^{c,d}	72.12 ^c	-7.21 ^{b,c}	-3.58 ^b
32	74.17 ^e	78.55 ^b	74.42 ^c	72.41 ^c	1.63 ^a	-4.91 ^{b,c}
39	83.53 ^{a,b}	72.29 ^c	82.39 ^a	79.45 ^a	-1.41 ^{a,b}	-3.39 ^b
44	82.99 ^{a,b,c}	80.67 ^b	79.28 ^{a,b}	75.85 ^b	-4.68 ^{a,b,c}	-7.46 ^{b,c}
47	77.09 ^{d,e}	85.26 ^a	75.65 ^c	75.48 ^b	-1.92 ^{a,b}	-11.66 ^c
53	82.21 ^{b,c}	78.85 ^b	77.33 ^{b,c}	79.11 ^a	-6.32 ^{b,c}	-4.51 ^b
55	78.45 ^d	71.12 ^c	71.31 ^d	79.98 ^a	-10.01 ^c	4.50 ^a
56	79.80 ^{c,d}	80.30 ^b	76.84 ^{b,c}	70.50 ^c	-3.88 ^{a,b,c}	-6.51 ^{b,c}
Error estándar	1.019	1.064	1.179	0.672	2.23	2.311
Valor-P	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

La media se representa como el promedio de tres repeticiones (n). Medias que no comparten la misma letra dentro de una columna son significativamente diferentes (ANOVA de una vía, prueba de Tukey-Kramer $p > 0.05$).

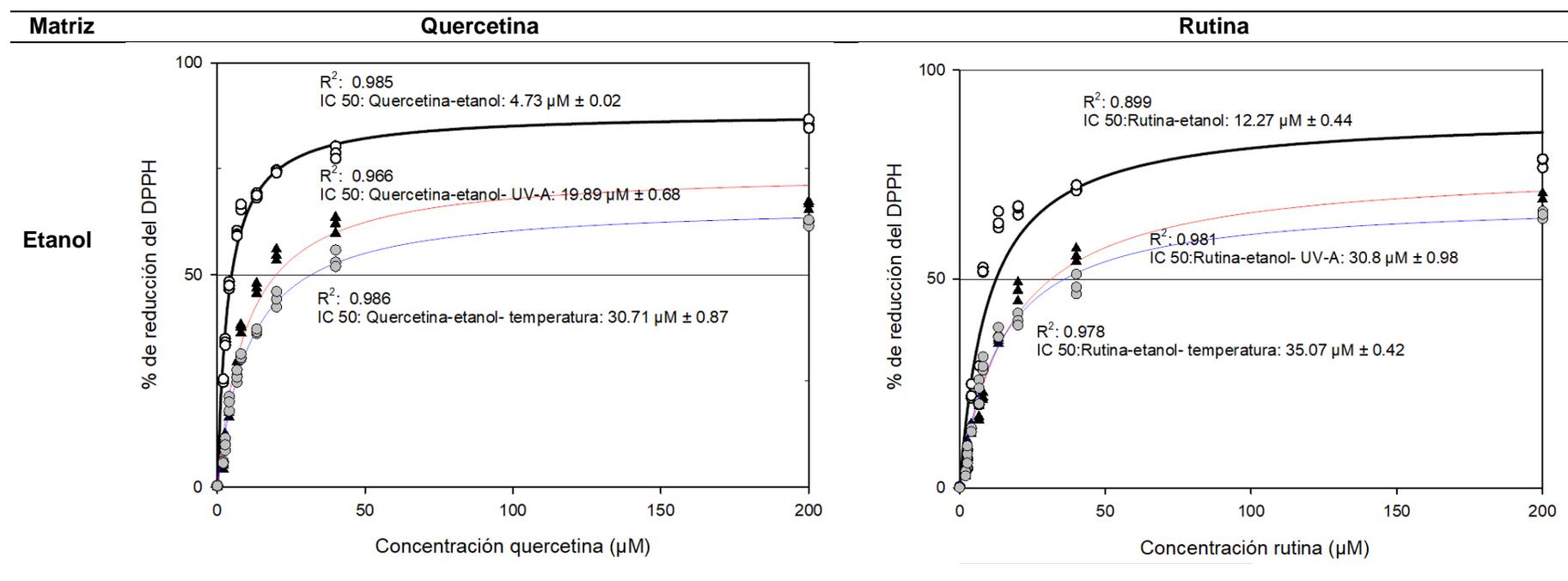
En el Cuadro 46 al igual que en el 45 se muestra el %RSA, pero al aplicar radiación ultravioleta. El etanol con quercetina en presencia de UV-A tuvo un porcentaje decreciente de 28%. Comparando con el uso de microemulsiones ese porcentaje fue menor, obteniendo porcentajes del 2 al 13%. Con el uso de etanol y rutina se obtuvo un porcentaje decreciente de RSA del 13.5%. Si se compara con los porcentajes resultantes con el uso de microemulsiones, se obtienen porcentajes con una mayor y menor disminución del RSA. La microemulsión 55 se mostró con un aumento del 1.9 y 4% en RSA en quercetina y rutina respectivamente con el tratamiento de radiación UV.

Cuadro 46. Efecto de la radiación ultravioleta (365 nm x 10 min) en el %RSA en microemulsiones adicionadas con quercetina y rutina a una concentración de 200 µM.

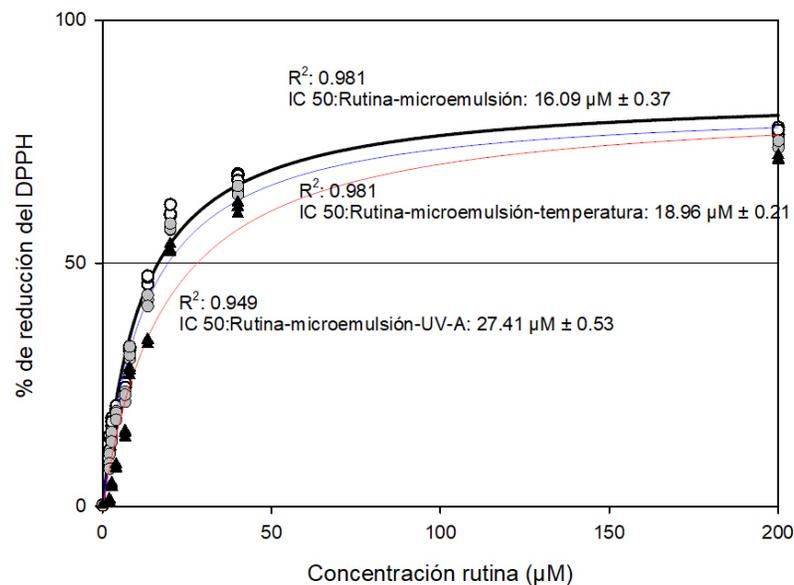
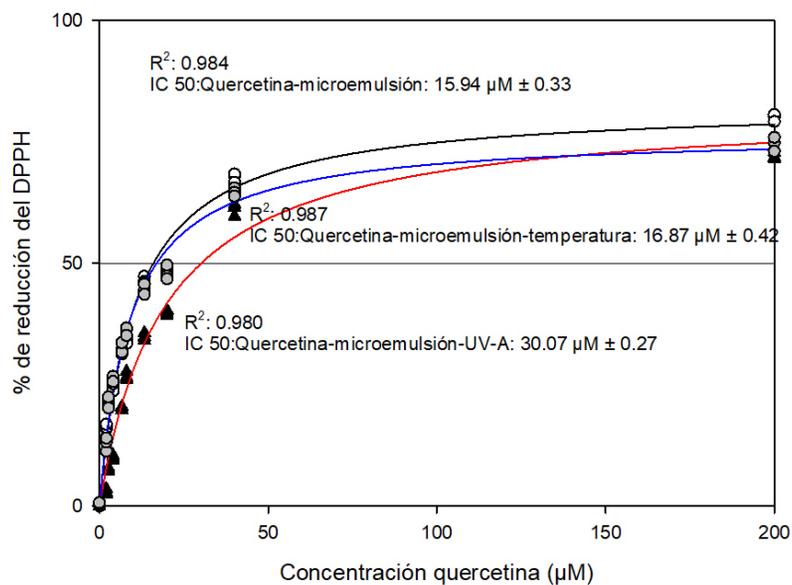
Matriz	Sin tratamiento (Control)		Tratamiento radiación UV-A		Cambio por efecto de tratamiento con respecto al control	
	Quercetina	Rutina	Quercetina	Rutina	Quercetina	Rutina
Etanol	85.78 ^a	78.28 ^b	66.75 ^d	69.01 ^{c,d}	-28.52 ^e	-13.51 ^b
18	80.00 ^{c,d}	77.59 ^b	72.12 ^c	71.91 ^{a,b,c}	-10.92 ^d	-7.89 ^b
32	74.17 ^e	78.55 ^b	72.41 ^c	72.15 ^{a,b,c}	-2.44 ^{a,b}	-8.87 ^b
39	83.53 ^{a,b}	72.29 ^c	79.45 ^a	67.38 ^d	-5.16 ^{b,c}	-7.28 ^b
44	82.99 ^{a,b,c}	80.67 ^b	75.85 ^b	71.06 ^{a,b,c}	-9.41 ^{c,d}	-13.57 ^b
47	77.09 ^{d,e}	85.26 ^a	75.48 ^b	74.00 ^a	-2.14 ^{a,b}	-15.20 ^b
53	82.21 ^{b,c}	78.85 ^b	79.11 ^a	72.68 ^{a,b}	-3.92 ^b	-8.50 ^b
55	78.45 ^d	71.12 ^c	79.98 ^a	74.32 ^a	1.90 ^a	4.26 ^a
56	79.80 ^{c,d}	80.30 ^b	70.50 ^c	70.38 ^{b,c,d}	-13.19 ^d	-14.16 ^b
Error estándar	1.019	1.064	0.672	1.079	1.711	2.509
Valor-P	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

La media se representa como el promedio de tres repeticiones (n). Medias que no comparten la misma letra dentro de una columna son significativamente diferentes (ANOVA de una vía, prueba de Tukey-Kramer $p > 0.05$).

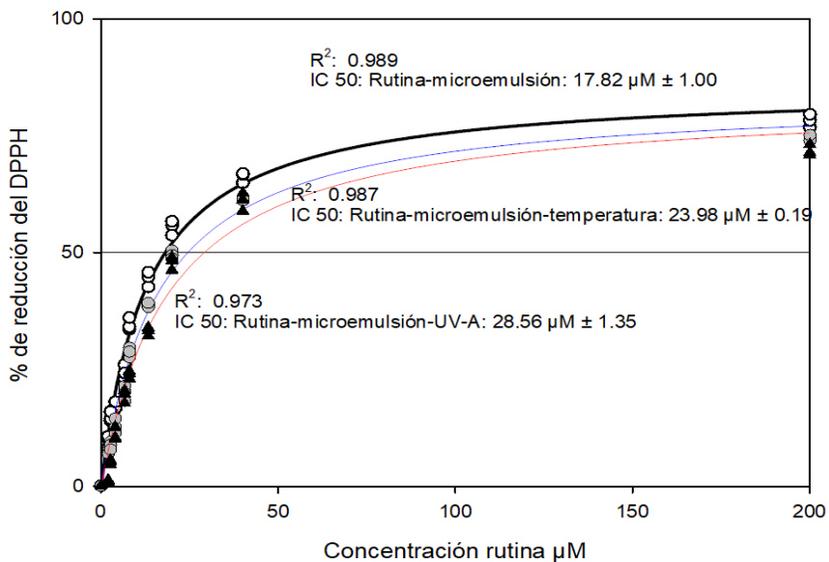
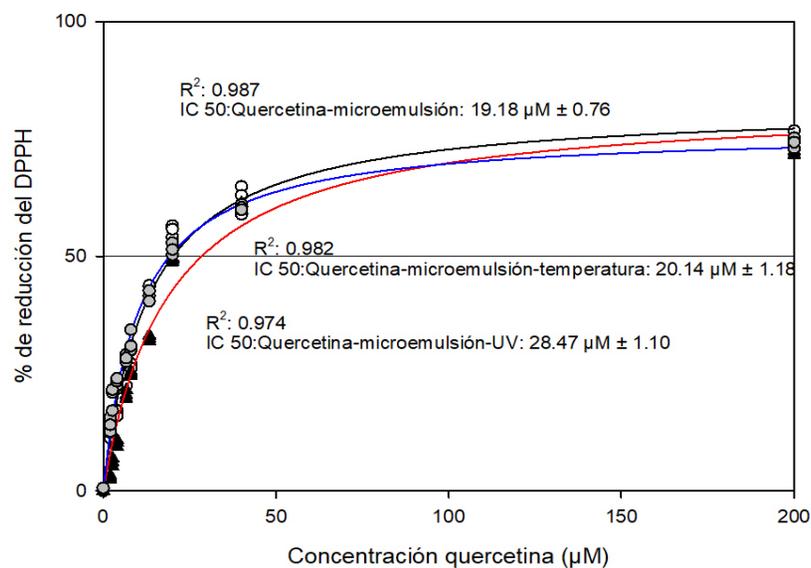
Cuadro 47. Capacidad de captación del radical libre DPPH por parte del etanol con flavonoides (quercetina y rutina) como control y de las microemulsiones con ambos flavonoides antes (línea negra) y después de aplicar tratamientos de temperatura (100°C x 5 min, línea azul) y radiación UV-A (365 nm x 10 min, línea roja).



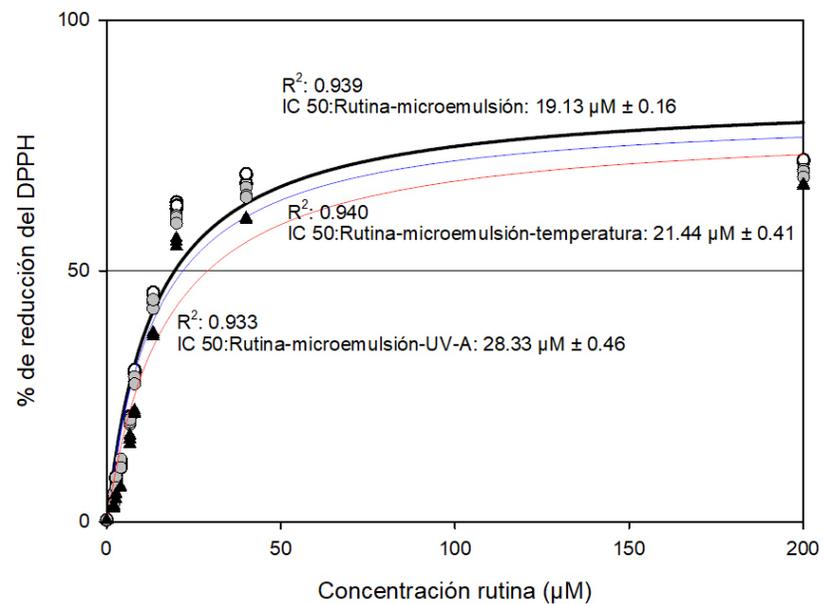
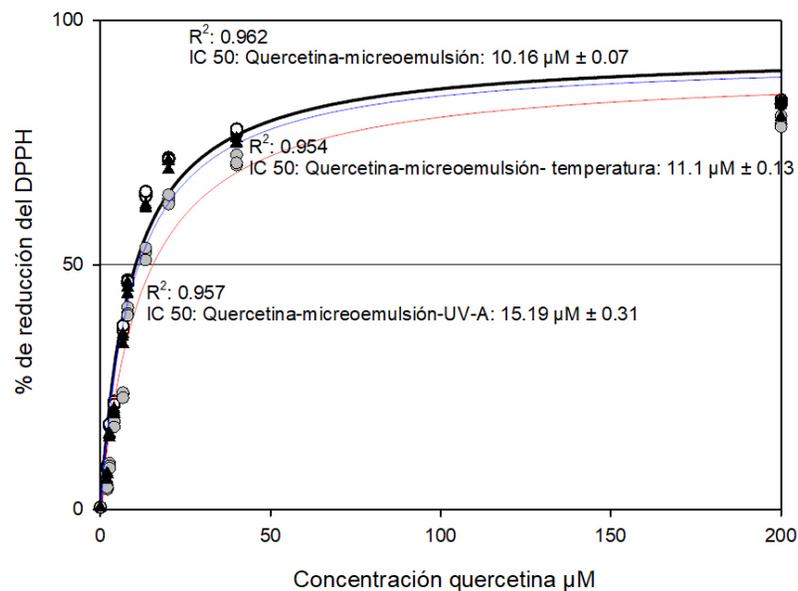
MEM-18



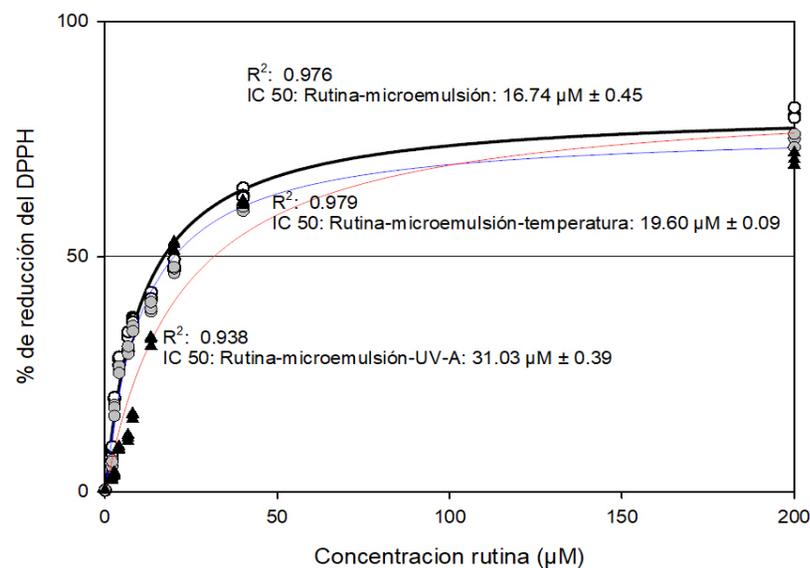
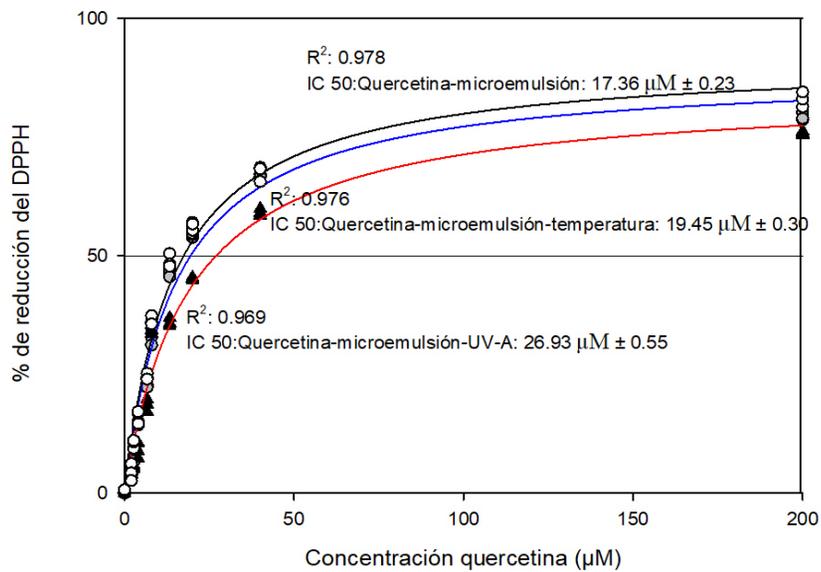
MEM-32



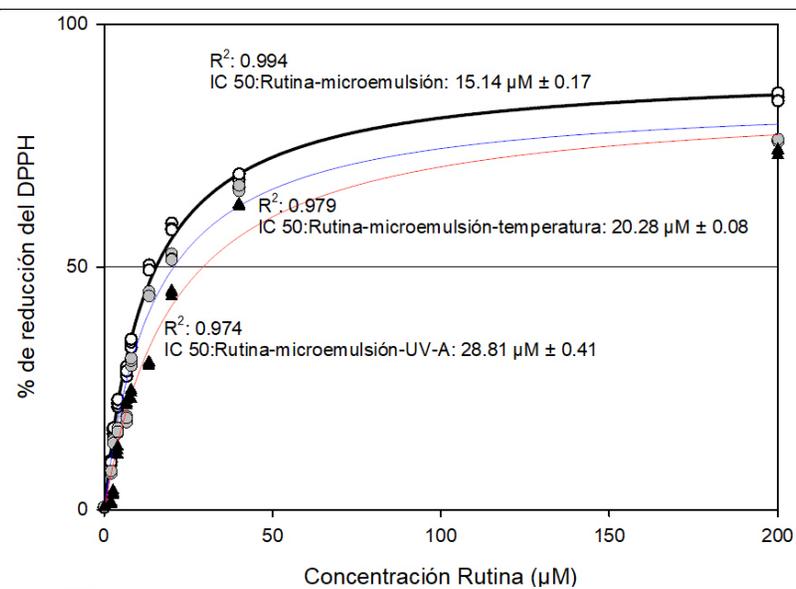
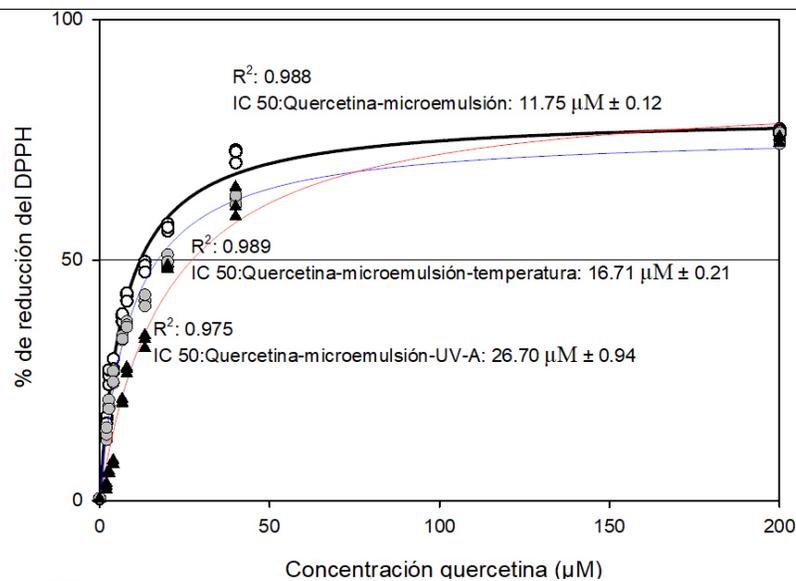
MEM-39



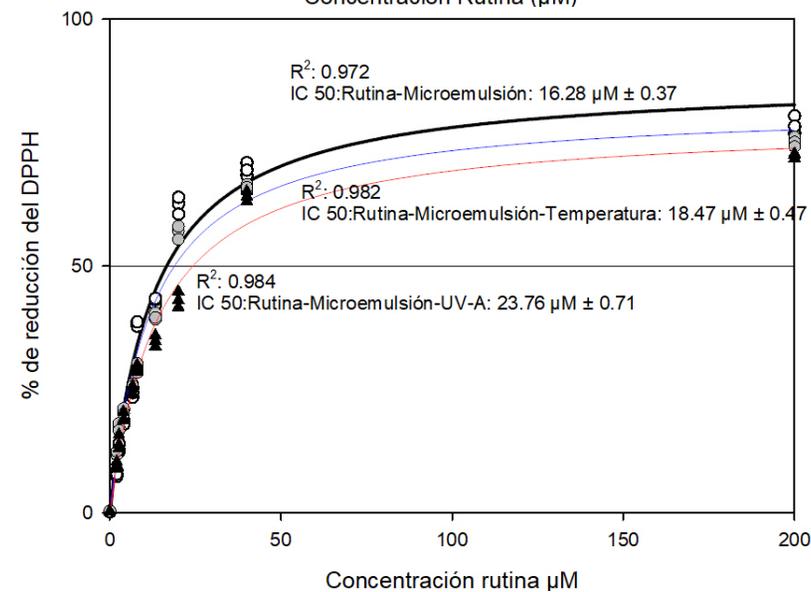
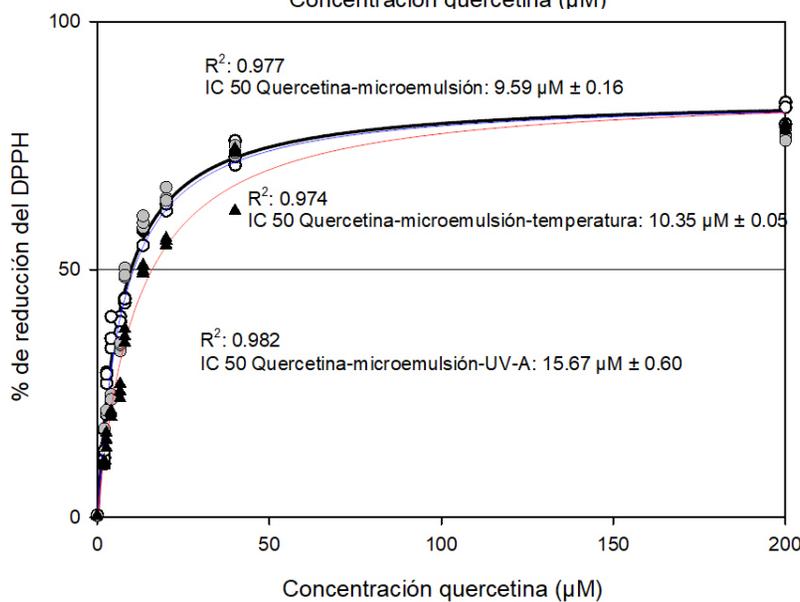
MEM-44



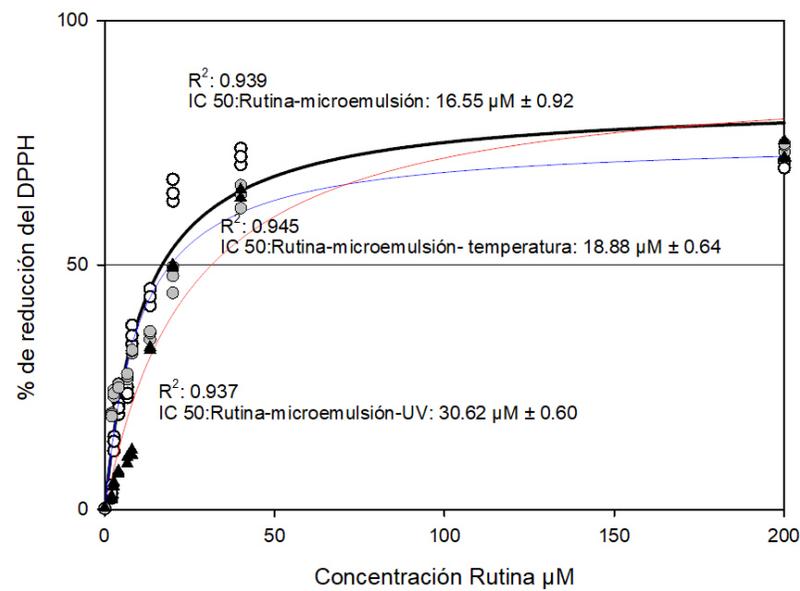
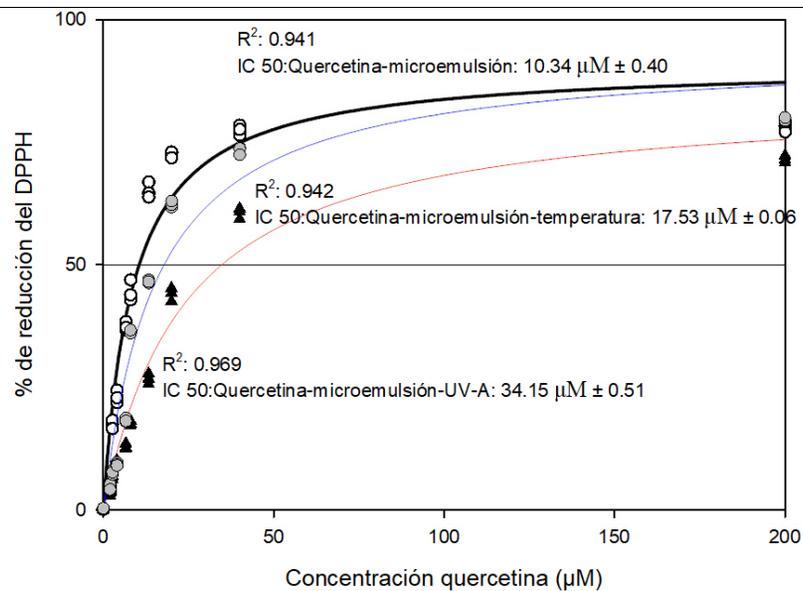
MEM-47



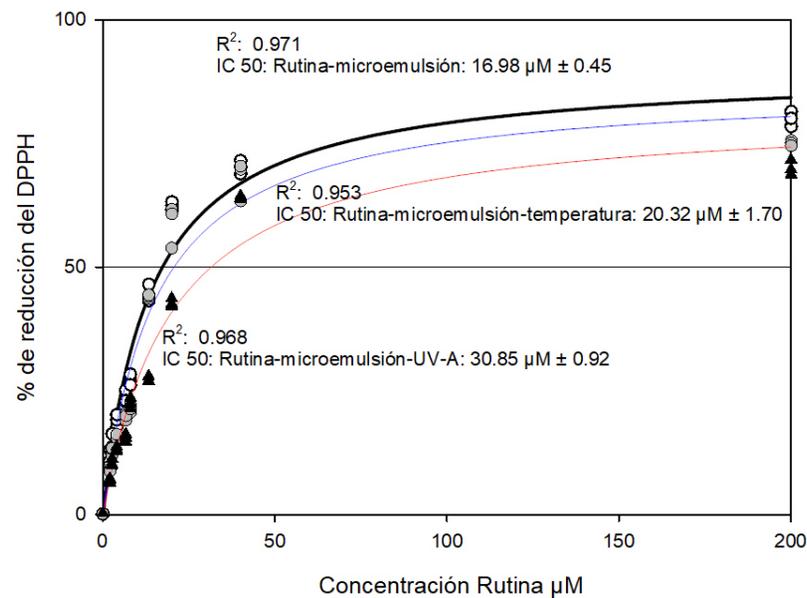
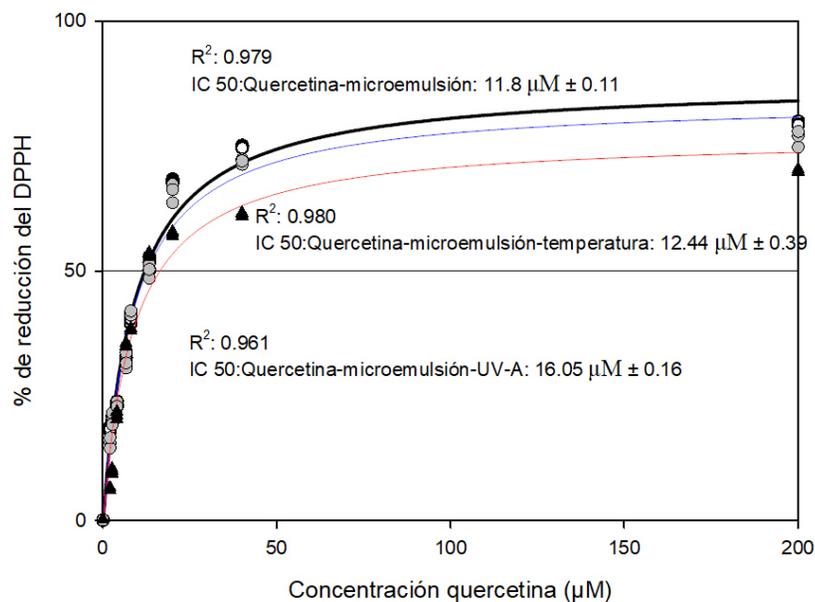
MEM-53



MEM-55



MEM-56





FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

8. CONCLUSIÓN

Se utilizaron 3 métodos para la obtención de microemulsiones grado alimenticias (MEM-GA): mezclas ternarias, mezclas simples y método de solubilización micelar. Con los métodos de mezclas ternarias y mezclas simples fue posible obtener microemulsiones del tipo Winsor I, pero no se alcanzó la transparencia total de las microemulsiones tipo Winsor IV. Por otro lado, el método de solubilización micelar permitió obtener 14 fórmulas distintas que generaron microemulsiones tipo Winsor IV. Fue posible solubilizar 0.1% de aceite de oliva, 0.2% de aceite de coco y 4% de limoneno en soluciones que contenían diferentes concentraciones de tween-80 y ácido acético. Este efecto pudo observarse con mayor rapidez (7 días) cuando el aceite de oliva o coco fueron empleados en comparación con la utilización del limoneno (30 días). Sin embargo, la utilización de sales biliares como surfactante (8%) y limoneno como fase oleosa (2%), agilizaban aún más la formación y estabilización de la microemulsión (2 días). Las 14 MEM-GA presentaron una alta estabilidad cuando fueron sometidas a temperaturas de hasta 150°C, a procesos de agitación mecánica (15 500 rpm x 2 min) y al tratamiento de ultrasonido (70 W, 40 KHz x 2 min). Esta estabilidad pudo ser observada igualmente cuando los flavonoides como la quercetina y la rutina fueron incorporados a una concentración de 0.4Mm en la formulación. Finalmente, las MEM-GA mostraron un efecto protector a los flavonoides preservando la mayor parte de sus propiedades antioxidantes aun y cuando estas se sometieron a altas temperaturas (100°C) e irradiación de luz ultravioleta. Con la información obtenida en la presente investigación se puede corroborar que los sistemas de MEM-GA podrían ser una herramienta útil para incorporar compuestos bioactivos, principalmente no polares, en matrices alimentarias, generando alimentos funcionales e innovadores con beneficios al consumidor. Esto se debe a que las microemulsiones ayudarían a evitar la degradación de los compuestos bioactivos ocasionado por la aplicación de procesos térmicos o radiación UV que podrían emplearse durante el procesamiento o el almacenamiento de alimentos.

9. BIBLIOGRAFÍA

- Abbas, M., Saeed, F., Anjum, F. M., Afzaal, M., Tufail, T., Bashir, M. S., Ishtiaq, A., Hussain, S., & Suleria, H. A. R. (2017). Natural polyphenols: An overview. *International Journal of Food Properties*, 20(8), 1689–1699. <https://doi.org/10.1080/10942912.2016.1220393>
- Aboudzadeh, M. A., Mehravar, E., Fernandez, M., Lezama, L., & Tomovska, R. (2018). Low-Energy Encapsulation of α -Tocopherol Using Fully Food Grade Oil-in-Water Microemulsions [Research-article]. *ACS Omega*, 3(9), 10999–11008. <https://doi.org/10.1021/acsomega.8b01272>
- Andres, S., Pevny, S., Ziegenhagen, R., Bakhiya, N., Schäfer, B., Hirsch-Ernst, K. I., & Lampen, A. (2018). Safety Aspects of the Use of Quercetin as a Dietary Supplement. *Molecular Nutrition and Food Research*, 62(1), 1–15. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201700447>
- Asgari, S., Saberi, A. H., McClements, D. J., & Lin, M. (2019). Microemulsions as nanoreactors for synthesis of biopolymer nanoparticles. *Trends in Food Science and Technology*, 86(June 2018), 118–130. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.02.008>
- Balcaen, M., Steyls, J., Schoeppe, A., Nelis, V., & Van der Meeren, P. (2021). Phosphatidylcholine-depleted lecithin: A clean-label low-HLB emulsifier to replace PGPR in w/o and w/o/w emulsions. *Journal of Colloid and Interface Science*, 581, 836–846. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2020.07.149>
- Ballesteros, C. J. A. (2020). LAS MICROEMULSIONES Y SU APLICACIÓN COMO SISTEMAS DE ADMINISTRACIÓN DE EXTRACTOS VEGETALES. 1–80.
- Buyuktimkin, T. (2020). Journal of Drug Delivery Science and Technology Water titration studies on microemulsions with a nonionic surfactant derived from castor oil and a series of polar oils. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 56(January), 101521. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2020.101521>
- Callender, S. P., Mathews, J. A., Kobernyk, K., & Wettig, S. D. (2017). Microemulsion utility in pharmaceuticals: Implications for multi-drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, 526(1–2), 425–442.

<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.05.005>

- CEE. (2016). Reglamento 2016/2095 de la comisión de 26 de septiembre de 2016, que modifica el Reglamento (CEE) n°2568/91, relativo a las características de los aceites de oliva y de los aceites de orujo de oliva y sobre sus métodos de análisis. *Diario Oficial de La Unión Europea*, 6. <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/PDF/?uri=CELEX:32016R2095&from=ES>
- Cho, Y. H., Kim, S., Bae, E. K., Mok, C. K., & Park, J. (2008). Formulation of a cosurfactant-free O/W microemulsion using nonionic surfactant mixtures. *Journal of Food Science*, 73(3), 115–121. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2008.00688.x>
- Cohen, S. M., Eisenbrand, G., Fukushima, S., Gooderham, N. J., Guengerich, F. P., Hecht, S. S., Rietjens, I. M. C. M., Bastaki, M., Davidsen, J. M., Harman, C. L., McGowen, M., & Taylor, S. V. (2019). FEMA GRAS assessment of natural flavor complexes: Citrus-derived flavoring ingredients. *Food and Chemical Toxicology*, 124, 192–218. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.11.052>
- Davis, H. T. (1994). Factors determining emulsion type: Hydrophile-lipophile balance and beyond. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 91(C), 9–24. [https://doi.org/10.1016/0927-7757\(94\)02929-6](https://doi.org/10.1016/0927-7757(94)02929-6)
- Evaluation, D. (2013). *Rutin : therapeutic potential and recent advances in drug delivery*. 1–17.
- Ezrahi, S., Aserin, A., & Garti, N. (2019). Basic principles of drug delivery systems – the case of paclitaxel. *Advances in Colloid and Interface Science*, 263, 95–130. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2018.11.004>
- Flanagan, J., & Singh, H. (2006). Microemulsions: A potential delivery system for bioactives in food. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46(3), 221–237. <https://doi.org/10.1080/10408690590956710>
- Floury, J., Desrumaux, A., & Lardières, J. (2000). Effect of high-pressure homogenization on droplet size distributions and rheological properties of model oil-in-water emulsions. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 1(2), 127–134. [https://doi.org/10.1016/S1466-8564\(00\)00012-6](https://doi.org/10.1016/S1466-8564(00)00012-6)
- Ghorbani, A. (2017). Mechanisms of antidiabetic effects of flavonoid rutin.



- Biomedicine and Pharmacotherapy*, 96(October), 305–312.
<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.10.001>
- Graca, M., Bongaerts, J. H. H., Stokes, J. R., & Granick, S. (2007). *Friction and adsorption of aqueous polyoxyethylene (Tween) surfactants at hydrophobic surfaces*. 315, 662–670. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2007.06.057>
- Gutiérrez- Méndez, N., Chavez- Garay, D. R., & Leal- Ramos, M. Y. (2022). *Lecithins : A comprehensive review of their properties and their use in formulating microemulsions*. March, 1–22. <https://doi.org/10.1111/jfbc.14157>
- Gutierrez-mendez, N. (2018). *Estigmas de maíces autóctonos Mexicanos y su capacidad para inhibir alfa- glucosidasas intestinales . February 2017*.
<https://doi.org/10.13140/RG.2.2.25541.55522>
- Kale, S. N., & Deore, S. L. (2017). *Emulsion Micro Emulsion and Nano Emulsion : A Review*. 8(1), 39–47.
- Lawrence, M. J., & Rees, G. D. (2000). *Microemulsion-based media as novel drug delivery systems*. 45, 89–121.
- Lichtenberg, D., Ahyayauch, H., & Goñi, F. M. (2013). The mechanism of detergent solubilization of lipid bilayers. *Biophysical Journal*, 105(2), 289–299.
<https://doi.org/10.1016/j.bpj.2013.06.007>
- Malik, N. A. (2016). *Solubilization and Interaction Studies of Bile Salts with Surfactants and Drugs : a Review*. <https://doi.org/10.1007/s12010-016-1987-x>
- McClements, D. J. (2012). Nanoemulsions versus microemulsions: Terminology, differences, and similarities. *Soft Matter*, 8(6), 1719–1729.
<https://doi.org/10.1039/c2sm06903b>
- Mendoza-López, M. L., Alvarado-Díaz, C. S., Pérez-Vega, S. B., Leal-Ramos, M. Y., & Gutiérrez-Méndez, N. (2018). Propiedades de composición y captación de radicales de las inflorescencias femeninas de Zea mays (sedas del maíz) de razas nativas de maíces mexicanos. *CYTA - Journal of Food*, 16(1), 96–104.
<https://doi.org/10.1080/19476337.2017.1343866>
- Myers, D. (2006). *Myers (2006) - Surfactant science and technology*.
- Narang, A. S., Delmarre, D., & Gao, D. (2007). Stable drug encapsulation in micelles and microemulsions. *International Journal of Pharmaceutics*, 345(1–2), 9–25.

<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2007.08.057>

- Negahdari, R., Bohlouli, S., Sharifi, S., Maleki Dizaj, S., Rahbar Saadat, Y., Khezri, K., Jafari, S., Ahmadian, E., Gorbani Jahandizi, N., & Raeesi, S. (2021). Therapeutic benefits of rutin and its nanoformulations. *Phytotherapy Research*, 35(4), 1719–1738. <https://doi.org/10.1002/ptr.6904>
- Novelo-Torres, A. M., & Gracia-Fadrique, J. (2010). Ternary diagrams paths. *Educacion Quimica*, 21(4), 300–305. [https://doi.org/10.1016/s0187-893x\(18\)30099-5](https://doi.org/10.1016/s0187-893x(18)30099-5)
- O'Leary, M., Hanson, B., & Smith, C. H. (2011). Variation of the apparent viscosity of thickened drinks. *International Journal of Language and Communication Disorders*, 46(1), 17–29. <https://doi.org/10.3109/13682822.2010.484846>
- Okawam M, Kinjo J, Nohara T, O. M. (2001). Atividade de eliminação do radical DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil) de flavonóides obtidos de algumas plantas medicinais. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 24(10), 1202–1205.
- Ostertag, F., Weiss, J., & McClements, D. J. (2012). Low-energy formation of edible nanoemulsions: Factors influencing droplet size produced by emulsion phase inversion. *Journal of Colloid and Interface Science*, 388(1), 95–102. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2012.07.089>
- Pavoni, L., Perinelli, D. R., Bonacucina, G., Cespi, M., & Palmieri, G. F. (2020). An overview of micro-and nanoemulsions as vehicles for essential oils: Formulation, preparation and stability. *Nanomaterials*, 10(1). <https://doi.org/10.3390/nano10010135>
- Pouton, C. W., & Porter, C. J. H. (2008). Formulation of lipid-based delivery systems for oral administration: Materials, methods and strategies. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 60(6), 625–637. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2007.10.010>
- Prajapati, H. N., Patel, D. P., Patel, N. G., Dalrymple, D. M., & Serajuddin, A. T. M. (2011). Effect of difference in fatty acid chain lengths of medium-chain lipids on lipid/surfactant/water phase diagrams and drug solubility. *Journal of Excipients and Food Chemicals*, 2(3), 73–88.
- Rao, J., & McClements, D. J. (2012). Food-grade microemulsions and nanoemulsions: Role of oil phase composition on formation and stability. *Food*



- Hydrocolloids*, 29(2), 326–334. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.04.008>
- Santana, R. C., Perrechil, F. A., & Cunha, R. L. (2013). *High- and Low-Energy Emulsifications for Food Applications : A Focus on Process Parameters*. 107–122. <https://doi.org/10.1007/s12393-013-9065-4>
- Sharma, A. K., Garg, T., Goyal, A. K., & Rath, G. (2016). Role of microemulsions in advanced drug delivery. *Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology*, 44(4), 1177–1185. <https://doi.org/10.3109/21691401.2015.1012261>
- Singh, Y., Meher, J. G., Raval, K., Khan, F. A., Chaurasia, M., Jain, N. K., & Chourasia, M. K. (2017). Nanoemulsion: Concepts, development and applications in drug delivery. *Journal of Controlled Release*, 252, 28–49. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2017.03.008>
- Tao, J., Zheng, Z. P., Guo, F., & Chen, J. (2018). Formulation of a 7,2',4'-trihydroxyflavanone oil-in-water microemulsion using aqua coconut oil: Characterization, stability, and antibrowning effects on fresh apple juice. *Lwt*, 93(August 2017), 181–188. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.03.039>
- Taylor, P., Flanagan, J., & Singh, H. (2007). *Microemulsions : A Potential Delivery System for Bioactives in Food* *Microemulsions : A Potential Delivery System for Bioactives in Food*. May 2013, 37–41. <https://doi.org/10.1080/10408690590956710>
- Tikanadze, I., Kurtanidze, M., Rukhadze, M., Nanobashvili, K., Toidze, P., Bezarashvili, G., & Sigua, K. (2020). Structure of Mixed Reverse Microemulsions Based on Sodium Bis (2-Ethylhexyl) Sulfosuccinate and Sodium Cholate. *Journal of Surfactants and Detergents*, 23(2), 339–346. <https://doi.org/10.1002/jsde.12381>
- Ulusoy, H. G., & Sanlier, N. (2019). A minireview of quercetin : from its metabolism to possible mechanisms of its biological activities. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 0(0), 1–14. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1683810>
- Veitch, N. C., & Grayer, R. J. (2011). Flavonoids and their glycosides, including anthocyanins. *Natural Product Reports*, 28(10), 1626–1695. <https://doi.org/10.1039/c1np00044f>
- Walde, P., Blöchliger, E., & Morigaki, K. (1999). Circular dichroic properties of



- phosphatidylcholine micelles. *Langmuir*, 15(7), 2346–2350.
<https://doi.org/10.1021/la9810814>
- Wong, S. F., Law, M. C., Samyudia, Y., & Dol, S. S. (2015). Rheology study of water-in-crude oil emulsions. *Chemical Engineering Transactions*, 45(December 2019), 1411–1416. <https://doi.org/10.3303/CET1545236>
- Wu, P. C., Lin, Y. H., Chang, J. S., Huang, Y. Bin, & Tsai, Y. H. (2010). The effect of component of microemulsion for transdermal delivery of nicardipine hydrochloride. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 36(12), 1398–1403. <https://doi.org/10.3109/03639045.2010.485277>
- Xavier-Junior, F. H., Vauthier, C., Morais, A. R. V., Alencar, E. N., & Egito, E. S. T. (2017). Microemulsion systems containing bioactive natural oils: an overview on the state of the art. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 43(5), 700–714. <https://doi.org/10.1080/03639045.2016.1235186>
- Xiao, Z.-P., Peng, Z.-Y., Peng, M.-J., Yan, W.-B., Ouyang, Y.-Z., & Zhu, H.-L. (2011). Flavonoids Health Benefits and Their Molecular Mechanism. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 11(2), 169–177. <https://doi.org/10.2174/138955711794519546>
- Yaghmur, A., Aserin, A., & Garti, N. (2002). *Phase behavior of microemulsions based on food-grade nonionic surfactants : effect of polyols and short-chain alcohols*. 209, 71–81.

ANEXO I: Proporciones de los ingredientes utilizadas en cada sistema ternario.

DIAGRAMA 1

	Surfactantes agregados		Fase oleosa agregada	Fase acuosa agregada	Volumen total (mL)	Porcentajes		
	Lecitina (gr)	Tween-40 (mL)	Aceite de oliva extra virgen (mL)	Solución amortiguadora de fosfatos (mL)		Surfactante/s	Fase oleosa	Fase acuosa
Día 1	0.06	0.13	1.8	0	2	10	90	0
	0.13	0.26	1.6	0	2	20	80	0
	0.2	0.4	1.4	0	2	30	70	0
	0.26	0.53	1.2	0	2	40	60	0
	0.33	0.66	1	0	2	50	50	0
	0.4	0.8	0.8	0	2	60	40	0
	0.46	0.93	0.6	0	2	70	30	0
	0.53	1.06	0.4	0	2	80	20	0
Día 2	0.06	0.13	1.8	0.25	2.25	8.9	80	11.1
	0.13	0.26	1.6	0.25	2.25	17.8	71.2	11.1
	0.2	0.4	1.4	0.25	2.25	26.7	62.2	11.1
	0.26	0.53	1.2	0.25	2.25	35.6	53.3	11.1
	0.33	0.66	1	0.25	2.25	44.4	44.4	11.1
	0.4	0.8	0.8	0.25	2.25	53.3	35.6	11.1
	0.46	0.93	0.6	0.25	2.25	62.2	26.7	11.1
	0.53	1.06	0.4	0.25	2.25	71.1	17.8	11.1
Día 3	0.06	0.13	1.8	0.25	2.5	8	72	20
	0.13	0.26	1.6	0.25	2.5	16	64	20
	0.2	0.4	1.4	0.25	2.5	24	56	20
	0.26	0.53	1.2	0.25	2.5	32	48	20
	0.33	0.66	1	0.25	2.5	40	40	20
	0.4	0.8	0.8	0.25	2.5	48	32	20
	0.46	0.93	0.6	0.25	2.5	56	24	20
	0.53	1.06	0.4	0.25	2.5	64	16	20
	0.6	1.2	0.2	0.25	2.5	72	8	20

	Surfactantes agregados		Fase oleosa agregada	Fase acuosa agregada	Volumen total (mL)	Porcentajes		
	Lecitina (gr)	Tween-40 (mL)	Aceite de oliva extra virgen (mL)	Solución amortiguadora de fosfatos (mL)		Surfactante/s	Fase oleosa	Fase acuosa
Día 4	0.06	0.13	1.8	0.5	3	6.7	60	33.3
	0.13	0.26	1.6	0.5	3	13.3	53.3	33.3
	0.2	0.4	1.4	0.5	3	20	46.7	33.3
	0.26	0.53	1.2	0.5	3	26.7	40	33.3
	0.33	0.66	1	0.5	3	33.3	33.3	33.3
	0.4	0.8	0.8	0.5	3	40	26.7	33.3
	0.46	0.93	0.6	0.5	3	46.7	20	33.3
	0.53	1.06	0.4	0.5	3	53.3	13.3	33.3
Día 5	0.6	1.2	0.2	0.5	3	60	6.7	33.3
	0.06	0.13	1.8	0.35	3.35	6	53.7	40.3
	0.13	0.26	1.6	0.35	3.35	11.9	47.8	40.3
	0.2	0.4	1.4	0.35	3.35	17.9	41.8	40.3
	0.26	0.53	1.2	0.35	3.35	23.9	35.8	40.3
	0.33	0.66	1	0.35	3.35	29.9	29.9	40.3
	0.4	0.8	0.8	0.35	3.35	35.8	23.9	40.3
	0.46	0.93	0.6	0.35	3.35	41.8	17.9	40.3
Día 6	0.53	1.06	0.4	0.35	3.35	47.8	11.9	40.3
	0.6	1.2	0.2	0.35	3.35	53.7	6	40.3
	0.06	0.13	1.8	0.65	4	5	45	50
	0.13	0.26	1.6	0.65	4	10	40	50
	0.2	0.4	1.4	0.65	4	15	35	50
	0.26	0.53	1.2	0.65	4	20	30	50
	0.33	0.66	1	0.65	4	25	25	50
	0.4	0.8	0.8	0.65	4	30	20	50
Día 7	0.46	0.93	0.6	0.65	4	35	15	50
	0.53	1.06	0.4	0.65	4	40	10	50
	0.6	1.2	0.2	0.65	4	45	5	50
	0.06	0.13	1.8	1	5	4	36	60
	0.13	0.26	1.6	1	5	8	32	60
	0.2	0.4	1.4	1	5	12	28	60
	0.26	0.53	1.2	1	5	16	24	60
	0.33	0.66	1	1	5	20	20	60
Día 7	0.4	0.8	0.8	1	5	24	16	60
	0.46	0.93	0.6	1	5	28	12	60
	0.53	1.06	0.4	1	5	32	8	60
	0.6	1.2	0.2	1	5	36	4	60

	Surfactantes agregados		Fase oleosa agregada	Fase acuosa agregada	Volumen total (mL)	Porcentajes		
	Lecitina (gr)	Tween-40 (mL)	Aceite de oliva extra virgen (mL)	Solución amortiguadora de fosfatos (mL)		Surfactante/s	Fase oleosa	Fase acuosa
Día 8	0.06	0.13	1.8	1.75	6.75	3	26.7	70.4
	0.13	0.26	1.6	1.75	6.75	5.9	23.7	70.4
	0.2	0.4	1.4	1.75	6.75	8.9	20.7	70.4
	0.26	0.53	1.2	1.75	6.75	11.9	17.8	70.4
	0.33	0.66	1	1.75	6.75	14.8	14.8	70.4
	0.4	0.8	0.8	1.75	6.75	17.8	11.9	70.4
	0.46	0.93	0.6	1.75	6.75	20.7	8.9	70.4
	0.53	1.06	0.4	1.75	6.75	23.7	5.9	70.4
Día 9	0.6	1.2	0.2	1.75	6.74	26.7	3	70.4
	0.06	0.13	1.8	3.25	10	2	18	80
	0.13	0.26	1.6	3.25	10	4	16	80
	0.2	0.4	1.4	3.25	10	6	14	80
	0.26	0.53	1.2	3.25	10	8	12	80
	0.33	0.66	1	3.25	10	10	10	80
	0.4	0.8	0.8	3.25	10	12	8	80
	0.46	0.93	0.6	3.25	10	14	6	80
Día 10	0.53	1.06	0.4	3.25	10	16	4	80
	0.6	1.2	0.2	3.25	10	18	2	80
	0.06	0.13	1.8	10	20	1	9	90
	0.13	0.26	1.6	10	20	2	8	90
	0.2	0.4	1.4	10	20	3	7	90
	0.26	0.53	1.2	10	20	4	6	90
	0.33	0.66	1	10	20	5	5	90
	0.4	0.8	0.8	10	20	6	4	90
Día 10	0.46	0.93	0.6	10	20	7	3	90
	0.53	1.06	0.4	10	20	8	2	90
	0.6	1.2	0.2	10	20	9	1	90

DIAGRAMA 2

	Surfactantes agregados		Fase oleosa agregada	Fase acuosa agregada	Volumen total (mL)	Porcentajes		
	Lecitina (gr)	Tween-40 (mL)	Aceite de oliva extra virgen (mL)	Solución amortiguadora de fosfatos-etanol al 10% (mL)		Surfactante/s	Fase oleosa	Fase acuosa
Día 1	0.06	0.13	1.8	0	2	10	90	0
	0.13	0.26	1.6	0	2	20	80	0
	0.2	0.4	1.4	0	2	30	70	0
	0.26	0.53	1.2	0	2	40	60	0
	0.33	0.66	1	0	2	50	50	0
	0.4	0.8	0.8	0	2	60	40	0
	0.46	0.93	0.6	0	2	70	30	0
	0.53	1.06	0.4	0	2	80	20	0
Día 2	0.6	1.2	0.2	0	2	90	10	0
	0.06	0.13	1.8	0.25	2.25	8.9	80	11.1
	0.13	0.26	1.6	0.25	2.25	17.8	71.2	11.1
	0.2	0.4	1.4	0.25	2.25	26.7	62.2	11.1
	0.26	0.53	1.2	0.25	2.25	35.6	53.3	11.1
	0.33	0.66	1	0.25	2.25	44.4	44.4	11.1
	0.4	0.8	0.8	0.25	2.25	53.3	35.6	11.1
	0.46	0.93	0.6	0.25	2.25	62.2	26.7	11.1
Día 3	0.53	1.06	0.4	0.25	2.25	71.1	17.8	11.1
	0.6	1.2	0.2	0.25	2.25	80	8.9	11.1
	0.06	0.13	1.8	0.25	2.5	8	72	20
	0.13	0.26	1.6	0.25	2.5	16	64	20
	0.2	0.4	1.4	0.25	2.5	24	56	20
	0.26	0.53	1.2	0.25	2.5	32	48	20
	0.33	0.66	1	0.25	2.5	40	40	20
	0.4	0.8	0.8	0.25	2.5	48	32	20
Día 4	0.46	0.93	0.6	0.25	2.5	56	24	20
	0.53	1.06	0.4	0.25	2.5	64	16	20
	0.6	1.2	0.2	0.25	2.5	72	8	20
	0.06	0.13	1.8	0.5	3	6.7	60	33.3
	0.13	0.26	1.6	0.5	3	13.3	53.3	33.3
	0.2	0.4	1.4	0.5	3	20	46.7	33.3
	0.26	0.53	1.2	0.5	3	26.7	40	33.3
	0.33	0.66	1	0.5	3	33.3	33.3	33.3
Día 4	0.4	0.8	0.8	0.5	3	40	26.7	33.3
	0.46	0.93	0.6	0.5	3	46.7	20	33.3
	0.53	1.06	0.4	0.5	3	53.3	13.3	33.3
	0.6	1.2	0.2	0.5	3	60	6.7	33.3

	Surfactantes agregados		Fase oleosa agregada	Fase acuosa agregada	Volumen total (mL)	Porcentajes		
	Lecitina (gr)	Tween-40 (mL)	Aceite de oliva extra virgen (mL)	Solución amortiguadora de fosfatos-etanol al 10% (mL)		Surfactante/s	Fase oleosa	Fase acuosa
Día 5	0.06	0.13	1.8	0.35	3.35	6	53.7	40.3
	0.13	0.26	1.6	0.35	3.35	11.9	47.8	40.3
	0.2	0.4	1.4	0.35	3.35	17.9	41.8	40.3
	0.26	0.53	1.2	0.35	3.35	23.9	35.8	40.3
	0.33	0.66	1	0.35	3.35	29.9	29.9	40.3
	0.4	0.8	0.8	0.35	3.35	35.8	23.9	40.3
	0.46	0.93	0.6	0.35	3.35	41.8	17.9	40.3
	0.53	1.06	0.4	0.35	3.35	47.8	11.9	40.3
Día 6	0.6	1.2	0.2	0.35	3.35	53.7	6	40.3
	0.06	0.13	1.8	0.65	4	5	45	50
	0.13	0.26	1.6	0.65	4	10	40	50
	0.2	0.4	1.4	0.65	4	15	35	50
	0.26	0.53	1.2	0.65	4	20	30	50
	0.33	0.66	1	0.65	4	25	25	50
	0.4	0.8	0.8	0.65	4	30	20	50
	0.46	0.93	0.6	0.65	4	35	15	50
Día 7	0.53	1.06	0.4	0.65	4	40	10	50
	0.6	1.2	0.2	0.65	4	45	5	50
	0.06	0.13	1.8	1	5	4	36	60
	0.13	0.26	1.6	1	5	8	32	60
	0.2	0.4	1.4	1	5	12	28	60
	0.26	0.53	1.2	1	5	16	24	60
	0.33	0.66	1	1	5	20	20	60
	0.4	0.8	0.8	1	5	24	16	60
Día 8	0.46	0.93	0.6	1	5	28	12	60
	0.53	1.06	0.4	1	5	32	8	60
	0.6	1.2	0.2	1	5	36	4	60
	0.06	0.13	1.8	1.75	6.75	3	26.7	70.4
	0.13	0.26	1.6	1.75	6.75	5.9	23.7	70.4
	0.2	0.4	1.4	1.75	6.75	8.9	20.7	70.4
	0.26	0.53	1.2	1.75	6.75	11.9	17.8	70.4
	0.33	0.66	1	1.75	6.75	14.8	14.8	70.4
0.4	0.8	0.8	1.75	6.75	17.8	11.9	70.4	
0.46	0.93	0.6	1.75	6.75	20.7	8.9	70.4	
0.53	1.06	0.4	1.75	6.75	23.7	5.9	70.4	
0.6	1.2	0.2	1.75	6.74	26.7	3	70.4	

	Surfactantes agregados		Fase oleosa agregada	Fase acuosa agregada	Volumen total (mL)	Porcentajes		
	Lecitina (gr)	Tween-40 (mL)	Aceite de oliva extra virgen (mL)	Solución amortiguadora de fosfatos-etanol al 10% (mL)		Surfactante/s	Fase oleosa	Fase acuosa
Día 9	0.06	0.13	1.8	3.25	10	2	18	80
	0.13	0.26	1.6	3.25	10	4	16	80
	0.2	0.4	1.4	3.25	10	6	14	80
	0.26	0.53	1.2	3.25	10	8	12	80
	0.33	0.66	1	3.25	10	10	10	80
	0.4	0.8	0.8	3.25	10	12	8	80
	0.46	0.93	0.6	3.25	10	14	6	80
	0.53	1.06	0.4	3.25	10	16	4	80
Día 10	0.6	1.2	0.2	3.25	10	18	2	80
	0.06	0.13	1.8	10	20	1	9	90
	0.13	0.26	1.6	10	20	2	8	90
	0.2	0.4	1.4	10	20	3	7	90
	0.26	0.53	1.2	10	20	4	6	90
	0.33	0.66	1	10	20	5	5	90
	0.4	0.8	0.8	10	20	6	4	90
	0.46	0.93	0.6	10	20	7	3	90
0.53	1.06	0.4	10	20	8	2	90	
0.6	1.2	0.2	10	20	9	1	90	

DIAGRAMA 3

	Surfactantes agregados		Fase oleosa agregada	Fase acuosa agregada	Volumen total (mL)	Porcentajes		
	Lecitina (gr)	Tween-40 (mL)	Aceite de oliva extra virgen (mL)	Solución amortiguadora de fosfatos-Sales biliares al 0.5% (mL)		Surfactante/s	Fase oleosa	Fase acuosa
Día 1	0.06	0.13	1.8	0	2	10	90	0
	0.13	0.26	1.6	0	2	20	80	0
	0.2	0.4	1.4	0	2	30	70	0
	0.26	0.53	1.2	0	2	40	60	0
	0.33	0.66	1	0	2	50	50	0
	0.4	0.8	0.8	0	2	60	40	0
	0.46	0.93	0.6	0	2	70	30	0
	0.53	1.06	0.4	0	2	80	20	0
0.6	1.2	0.2	0	2	90	10	0	

	Surfactantes agregados		Fase oleosa agregada	Fase acuosa agregada	Volumen total (mL)	Porcentajes		
	Lecitina (gr)	Tween-40 (mL)	Aceite de oliva extra virgen (mL)	Solución amortiguadora de fosfatos-Sales biliares al 0.5% (mL)		Surfactante/s	Fase oleosa	Fase acuosa
Día 2	0.06	0.13	1.8	0.25	2.25	8.9	80	11.1
	0.13	0.26	1.6	0.25	2.25	17.8	71.2	11.1
	0.2	0.4	1.4	0.25	2.25	26.7	62.2	11.1
	0.26	0.53	1.2	0.25	2.25	35.6	53.3	11.1
	0.33	0.66	1	0.25	2.25	44.4	44.4	11.1
	0.4	0.8	0.8	0.25	2.25	53.3	35.6	11.1
	0.46	0.93	0.6	0.25	2.25	62.2	26.7	11.1
	0.53	1.06	0.4	0.25	2.25	71.1	17.8	11.1
Día 3	0.6	1.2	0.2	0.25	2.25	80	8.9	11.1
	0.06	0.13	1.8	0.25	2.5	8	72	20
	0.13	0.26	1.6	0.25	2.5	16	64	20
	0.2	0.4	1.4	0.25	2.5	24	56	20
	0.26	0.53	1.2	0.25	2.5	32	48	20
	0.33	0.66	1	0.25	2.5	40	40	20
	0.4	0.8	0.8	0.25	2.5	48	32	20
	0.46	0.93	0.6	0.25	2.5	56	24	20
Día 4	0.53	1.06	0.4	0.25	2.5	64	16	20
	0.6	1.2	0.2	0.25	2.5	72	8	20
	0.06	0.13	1.8	0.5	3	6.7	60	33.3
	0.13	0.26	1.6	0.5	3	13.3	53.3	33.3
	0.2	0.4	1.4	0.5	3	20	46.7	33.3
	0.26	0.53	1.2	0.5	3	26.7	40	33.3
	0.33	0.66	1	0.5	3	33.3	33.3	33.3
	0.4	0.8	0.8	0.5	3	40	26.7	33.3
Día 5	0.46	0.93	0.6	0.5	3	46.7	20	33.3
	0.53	1.06	0.4	0.5	3	53.3	13.3	33.3
	0.6	1.2	0.2	0.5	3	60	6.7	33.3
	0.06	0.13	1.8	0.35	3.35	6	53.7	40.3
	0.13	0.26	1.6	0.35	3.35	11.9	47.8	40.3
	0.2	0.4	1.4	0.35	3.35	17.9	41.8	40.3
	0.26	0.53	1.2	0.35	3.35	23.9	35.8	40.3
	0.33	0.66	1	0.35	3.35	29.9	29.9	40.3
Día 5	0.4	0.8	0.8	0.35	3.35	35.8	23.9	40.3
	0.46	0.93	0.6	0.35	3.35	41.8	17.9	40.3
	0.53	1.06	0.4	0.35	3.35	47.8	11.9	40.3
	0.6	1.2	0.2	0.35	3.35	53.7	6	40.3

	Surfactantes agregados		Fase oleosa agregada	Fase acuosa agregada	Volumen total (mL)	Porcentajes		
	Lecitina (gr)	Tween-40 (mL)	Aceite de oliva extra virgen (mL)	Solución amortiguadora de fosfatos-Sales biliares al 0.5% (mL)		Surfactante/s	Fase oleosa	Fase acuosa
Día 6	0.06	0.13	1.8	0.65	4	5	45	50
	0.13	0.26	1.6	0.65	4	10	40	50
	0.2	0.4	1.4	0.65	4	15	35	50
	0.26	0.53	1.2	0.65	4	20	30	50
	0.33	0.66	1	0.65	4	25	25	50
	0.4	0.8	0.8	0.65	4	30	20	50
	0.46	0.93	0.6	0.65	4	35	15	50
	0.53	1.06	0.4	0.65	4	40	10	50
Día 7	0.6	1.2	0.2	0.65	4	45	5	50
	0.06	0.13	1.8	1	5	4	36	60
	0.13	0.26	1.6	1	5	8	32	60
	0.2	0.4	1.4	1	5	12	28	60
	0.26	0.53	1.2	1	5	16	24	60
	0.33	0.66	1	1	5	20	20	60
	0.4	0.8	0.8	1	5	24	16	60
	0.46	0.93	0.6	1	5	28	12	60
Día 8	0.53	1.06	0.4	1	5	32	8	60
	0.6	1.2	0.2	1	5	36	4	60
	0.06	0.13	1.8	1.75	6.75	3	26.7	70.4
	0.13	0.26	1.6	1.75	6.75	5.9	23.7	70.4
	0.2	0.4	1.4	1.75	6.75	8.9	20.7	70.4
	0.26	0.53	1.2	1.75	6.75	11.9	17.8	70.4
	0.33	0.66	1	1.75	6.75	14.8	14.8	70.4
	0.4	0.8	0.8	1.75	6.75	17.8	11.9	70.4
Día 9	0.46	0.93	0.6	1.75	6.75	20.7	8.9	70.4
	0.53	1.06	0.4	1.75	6.75	23.7	5.9	70.4
	0.6	1.2	0.2	1.75	6.74	26.7	3	70.4
	0.06	0.13	1.8	3.25	10	2	18	80
	0.13	0.26	1.6	3.25	10	4	16	80
	0.2	0.4	1.4	3.25	10	6	14	80
	0.26	0.53	1.2	3.25	10	8	12	80
	0.33	0.66	1	3.25	10	10	10	80
	0.4	0.8	0.8	3.25	10	12	8	80
	0.46	0.93	0.6	3.25	10	14	6	80
	0.53	1.06	0.4	3.25	10	16	4	80
	0.6	1.2	0.2	3.25	10	18	2	80

	Surfactantes agregados		Fase oleosa agregada	Fase acuosa agregada	Volumen total (mL)	Porcentajes		
	Lecitina (gr)	Tween-40 (mL)	Aceite de oliva extra virgen (mL)	Solución amortiguadora de fosfatos-Sales biliares al 0.5% (mL)		Surfactante/s	Fase oleosa	Fase acuosa
Día 10	0.06	0.13	1.8	10	20	1	9	90
	0.13	0.26	1.6	10	20	2	8	90
	0.2	0.4	1.4	10	20	3	7	90
	0.26	0.53	1.2	10	20	4	6	90
	0.33	0.66	1	10	20	5	5	90
	0.4	0.8	0.8	10	20	6	4	90
	0.46	0.93	0.6	10	20	7	3	90
	0.53	1.06	0.4	10	20	8	2	90
	0.6	1.2	0.2	10	20	9	1	90

DIAGRAMA 4

	Surfactantes agregados		Fase oleosa agregada	Fase acuosa agregada	Volumen total (mL)	Porcentajes		
	Lecitina (gr)	Tween-40 (mL)	Aceite de oliva extra virgen (mL)	Solución amortiguadora de fosfatos-Sales biliares al 1% (mL)		Surfactante/s	Fase oleosa	Fase acuosa
Día 1	0.06	0.13	1.8	0	2	10	90	0
	0.13	0.26	1.6	0	2	20	80	0
	0.2	0.4	1.4	0	2	30	70	0
	0.26	0.53	1.2	0	2	40	60	0
	0.33	0.66	1	0	2	50	50	0
	0.4	0.8	0.8	0	2	60	40	0
	0.46	0.93	0.6	0	2	70	30	0
	0.53	1.06	0.4	0	2	80	20	0
	0.6	1.2	0.2	0	2	90	10	0
Día 2	0.06	0.13	1.8	0.25	2.25	8.9	80	11.1
	0.13	0.26	1.6	0.25	2.25	17.8	71.2	11.1
	0.2	0.4	1.4	0.25	2.25	26.7	62.2	11.1
	0.26	0.53	1.2	0.25	2.25	35.6	53.3	11.1
	0.33	0.66	1	0.25	2.25	44.4	44.4	11.1
	0.4	0.8	0.8	0.25	2.25	53.3	35.6	11.1
	0.46	0.93	0.6	0.25	2.25	62.2	26.7	11.1
	0.53	1.06	0.4	0.25	2.25	71.1	17.8	11.1
	0.6	1.2	0.2	0.25	2.25	80	8.9	11.1

	Surfactantes agregados		Fase oleosa agregada	Fase acuosa agregada	Volumen total (mL)	Porcentajes		
	Lecitina (gr)	Tween-40 (mL)	Aceite de oliva extra virgen (mL)	Solución amortiguadora de fosfatos-Sales biliars al 1% (mL)		Surfactante/s	Fase oleosa	Fase acuosa
Día 3	0.06	0.13	1.8	0.25	2.5	8	72	20
	0.13	0.26	1.6	0.25	2.5	16	64	20
	0.2	0.4	1.4	0.25	2.5	24	56	20
	0.26	0.53	1.2	0.25	2.5	32	48	20
	0.33	0.66	1	0.25	2.5	40	40	20
	0.4	0.8	0.8	0.25	2.5	48	32	20
	0.46	0.93	0.6	0.25	2.5	56	24	20
	0.53	1.06	0.4	0.25	2.5	64	16	20
Día 4	0.6	1.2	0.2	0.25	2.5	72	8	20
	0.06	0.13	1.8	0.5	3	6.7	60	33.3
	0.13	0.26	1.6	0.5	3	13.3	53.3	33.3
	0.2	0.4	1.4	0.5	3	20	46.7	33.3
	0.26	0.53	1.2	0.5	3	26.7	40	33.3
	0.33	0.66	1	0.5	3	33.3	33.3	33.3
	0.4	0.8	0.8	0.5	3	40	26.7	33.3
	0.46	0.93	0.6	0.5	3	46.7	20	33.3
Día 5	0.53	1.06	0.4	0.5	3	53.3	13.3	33.3
	0.6	1.2	0.2	0.5	3	60	6.7	33.3
	0.06	0.13	1.8	0.35	3.35	6	53.7	40.3
	0.13	0.26	1.6	0.35	3.35	11.9	47.8	40.3
	0.2	0.4	1.4	0.35	3.35	17.9	41.8	40.3
	0.26	0.53	1.2	0.35	3.35	23.9	35.8	40.3
	0.33	0.66	1	0.35	3.35	29.9	29.9	40.3
	0.4	0.8	0.8	0.35	3.35	35.8	23.9	40.3
Día 6	0.46	0.93	0.6	0.35	3.35	41.8	17.9	40.3
	0.53	1.06	0.4	0.35	3.35	47.8	11.9	40.3
	0.6	1.2	0.2	0.35	3.35	53.7	6	40.3
	0.06	0.13	1.8	0.65	4	5	45	50
	0.13	0.26	1.6	0.65	4	10	40	50
	0.2	0.4	1.4	0.65	4	15	35	50
	0.26	0.53	1.2	0.65	4	20	30	50
	0.33	0.66	1	0.65	4	25	25	50
Día 6	0.4	0.8	0.8	0.65	4	30	20	50
	0.46	0.93	0.6	0.65	4	35	15	50
	0.53	1.06	0.4	0.65	4	40	10	50
	0.6	1.2	0.2	0.65	4	45	5	50

	Surfactantes agregados		Fase oleosa agregada	Fase acuosa agregada	Volumen total (mL)	Porcentajes		
	Lecitina (gr)	Tween-40 (mL)	Aceite de oliva extra virgen (mL)	Solución amortiguadora de fosfatos-Sales biliars al 1% (mL)		Surfactante/s	Fase oleosa	Fase acuosa
Día 7	0.06	0.13	1.8	1	5	4	36	60
	0.13	0.26	1.6	1	5	8	32	60
	0.2	0.4	1.4	1	5	12	28	60
	0.26	0.53	1.2	1	5	16	24	60
	0.33	0.66	1	1	5	20	20	60
	0.4	0.8	0.8	1	5	24	16	60
	0.46	0.93	0.6	1	5	28	12	60
	0.53	1.06	0.4	1	5	32	8	60
Día 8	0.6	1.2	0.2	1	5	36	4	60
	0.06	0.13	1.8	1.75	6.75	3	26.7	70.4
	0.13	0.26	1.6	1.75	6.75	5.9	23.7	70.4
	0.2	0.4	1.4	1.75	6.75	8.9	20.7	70.4
	0.26	0.53	1.2	1.75	6.75	11.9	17.8	70.4
	0.33	0.66	1	1.75	6.75	14.8	14.8	70.4
	0.4	0.8	0.8	1.75	6.75	17.8	11.9	70.4
	0.46	0.93	0.6	1.75	6.75	20.7	8.9	70.4
Día 9	0.53	1.06	0.4	1.75	6.75	23.7	5.9	70.4
	0.6	1.2	0.2	1.75	6.74	26.7	3	70.4
	0.06	0.13	1.8	3.25	10	2	18	80
	0.13	0.26	1.6	3.25	10	4	16	80
	0.2	0.4	1.4	3.25	10	6	14	80
	0.26	0.53	1.2	3.25	10	8	12	80
	0.33	0.66	1	3.25	10	10	10	80
	0.4	0.8	0.8	3.25	10	12	8	80
Día 10	0.46	0.93	0.6	3.25	10	14	6	80
	0.53	1.06	0.4	3.25	10	16	4	80
	0.6	1.2	0.2	3.25	10	18	2	80
	0.06	0.13	1.8	10	20	1	9	90
	0.13	0.26	1.6	10	20	2	8	90
	0.2	0.4	1.4	10	20	3	7	90
	0.26	0.53	1.2	10	20	4	6	90
	0.33	0.66	1	10	20	5	5	90
Día 10	0.4	0.8	0.8	10	20	6	4	90
	0.46	0.93	0.6	10	20	7	3	90
	0.53	1.06	0.4	10	20	8	2	90
	0.6	1.2	0.2	10	20	9	1	90

DIAGRAMA 5

	Surfactante agregado	Fase oleosa agregada	Fase acuosa agregada	Volumen total (mL)	Porcentajes		
	Tween-80	Aceite de oliva (mL)	Solución amortiguadora de fosfatos (mL)		Surfactante/s	Fase oleosa	Fase acuosa
Día 1	0.20	1.8	0	2	10	90	0
	0.40	1.6	0	2	20	80	0
	0.60	1.4	0	2	30	70	0
	0.80	1.2	0	2	40	60	0
	0.99	1	0	2	50	50	0
	1.20	0.8	0	2	60	40	0
	1.40	0.6	0	2	70	30	0
	1.60	0.4	0	2	80	20	0
Día 2	1.80	0.2	0	2	90	10	0
	0.20	1.8	0.25	2.25	8.9	80	11.1
	0.40	1.6	0.25	2.25	17.8	71.2	11.1
	0.60	1.4	0.25	2.25	26.7	62.2	11.1
	0.80	1.2	0.25	2.25	35.6	53.3	11.1
	0.99	1	0.25	2.25	44.4	44.4	11.1
	1.20	0.8	0.25	2.25	53.3	35.6	11.1
	1.40	0.6	0.25	2.25	62.2	26.7	11.1
Día 3	1.60	0.4	0.25	2.25	71.1	17.8	11.1
	1.80	0.2	0.25	2.25	80	8.9	11.1
	0.20	1.8	0.25	2.5	8	72	20
	0.40	1.6	0.25	2.5	16	64	20
	0.60	1.4	0.25	2.5	24	56	20
	0.80	1.2	0.25	2.5	32	48	20
	0.99	1	0.25	2.5	40	40	20
	1.20	0.8	0.25	2.5	48	32	20
Día 4	1.40	0.6	0.25	2.5	56	24	20
	1.60	0.4	0.25	2.5	64	16	20
	1.80	0.2	0.25	2.5	72	8	20
	0.20	1.8	0.5	3	6.7	60	33.3
	0.40	1.6	0.5	3	13.3	53.3	33.3
	0.60	1.4	0.5	3	20	46.7	33.3
	0.80	1.2	0.5	3	26.7	40	33.3
	0.99	1	0.5	3	33.3	33.3	33.3
Día 4	1.20	0.8	0.5	3	40	26.7	33.3
	1.40	0.6	0.5	3	46.7	20	33.3
	1.60	0.4	0.5	3	53.3	13.3	33.3
	1.80	0.2	0.5	3	60	6.7	33.3

	Surfactantes agregados	Fase oleosa agregada	Fase acuosa agregada	Volumen total (mL)	Porcentajes		
		Aceite de oliva (mL)	Solución amortiguadora de fosfatos (mL)		Surfactante/s	Fase oleosa	Fase acuosa
Día 5	0.20	1.8	0.35	3.35	6	53.7	40.3
	0.40	1.6	0.35	3.35	11.9	47.8	40.3
	0.60	1.4	0.35	3.35	17.9	41.8	40.3
	0.80	1.2	0.35	3.35	23.9	35.8	40.3
	0.99	1	0.35	3.35	29.9	29.9	40.3
	1.20	0.8	0.35	3.35	35.8	23.9	40.3
	1.40	0.6	0.35	3.35	41.8	17.9	40.3
	1.60	0.4	0.35	3.35	47.8	11.9	40.3
Día 6	1.80	0.2	0.35	3.35	53.7	6	40.3
	0.20	1.8	0.65	4	5	45	50
	0.40	1.6	0.65	4	10	40	50
	0.60	1.4	0.65	4	15	35	50
	0.80	1.2	0.65	4	20	30	50
	0.99	1	0.65	4	25	25	50
	1.20	0.8	0.65	4	30	20	50
	1.40	0.6	0.65	4	35	15	50
Día 7	1.60	0.4	0.65	4	40	10	50
	1.80	0.2	0.65	4	45	5	50
	0.20	1.8	1	5	4	36	60
	0.40	1.6	1	5	8	32	60
	0.60	1.4	1	5	12	28	60
	0.80	1.2	1	5	16	24	60
	0.99	1	1	5	20	20	60
	1.20	0.8	1	5	24	16	60
Día 8	1.40	0.6	1	5	28	12	60
	1.60	0.4	1	5	32	8	60
	1.80	0.2	1	5	36	4	60
	0.20	1.8	1.75	6.75	3	26.7	70.4
	0.40	1.6	1.75	6.75	5.9	23.7	70.4
	0.60	1.4	1.75	6.75	8.9	20.7	70.4
	0.80	1.2	1.75	6.75	11.9	17.8	70.4
	0.99	1	1.75	6.75	14.8	14.8	70.4
Día 8	1.20	0.8	1.75	6.75	17.8	11.9	70.4
	1.40	0.6	1.75	6.75	20.7	8.9	70.4
	1.60	0.4	1.75	6.75	23.7	5.9	70.4
	1.80	0.2	1.75	6.74	26.7	3	70.4

	Surfactantes agregados		Fase oleosa agregada	Fase acuosa agregada	Volumen total (mL)	Porcentajes		
	Tween-80		Aceite de oliva (mL)	Solución amortiguadora de fosfatos (mL)		Surfactante/s	Fase oleosa	Fase acuosa
Día 9	0.20		1.8	3.25	10	2	18	80
	0.40		1.6	3.25	10	4	16	80
	0.60		1.4	3.25	10	6	14	80
	0.80		1.2	3.25	10	8	12	80
	0.99		1	3.25	10	10	10	80
	1.20		0.8	3.25	10	12	8	80
	1.40		0.6	3.25	10	14	6	80
	1.60		0.4	3.25	10	16	4	80
Día 10	1.80		0.2	3.25	10	18	2	80
	0.20		1.8	10	20	1	9	90
	0.40		1.6	10	20	2	8	90
	0.60		1.4	10	20	3	7	90
	0.80		1.2	10	20	4	6	90
	0.99		1	10	20	5	5	90
	1.20		0.8	10	20	6	4	90
	1.40		0.6	10	20	7	3	90
1.60		0.4	10	20	8	2	90	
1.80		0.2	10	20	9	1	90	

DIAGRAMA 6

	Surfactantes agregados		Fase oleosa agregada	Fase acuosa agregada	Volumen total (mL)	Porcentajes		
	Sales biliares (gr)	Tween-80 (mL)	Aceite de oliva (mL)	Solución amortiguadora de fosfatos (mL)		Surfactante/s	Fase oleosa	Fase acuosa
Día 1	0.06	0.13	1.8	0	2	10	90	0
	0.13	0.26	1.6	0	2	20	80	0
	0.2	0.4	1.4	0	2	30	70	0
	0.26	0.53	1.2	0	2	40	60	0
	0.33	0.66	1	0	2	50	50	0
	0.4	0.8	0.8	0	2	60	40	0
	0.46	0.93	0.6	0	2	70	30	0
	0.53	1.06	0.4	0	2	80	20	0
0.6	1.2	0.2	0	2	90	10	0	

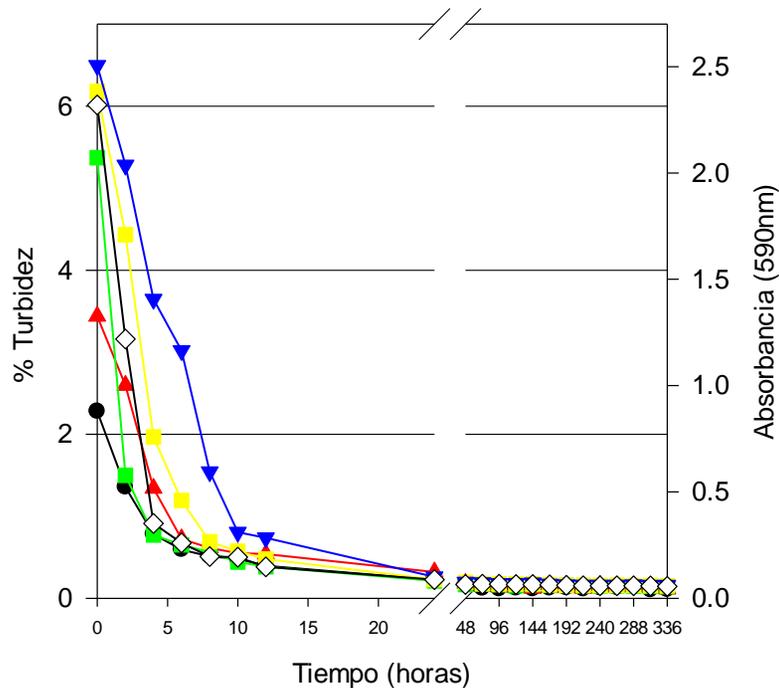
	Surfactantes agregados		Fase oleosa agregada	Fase acuosa agregada	Volumen total (mL)	Porcentajes		
	Sales biliares (gr)	Tween-80 (mL)	Aceite de oliva (mL)	Solución amortiguadora de fosfatos (mL)		Surfactante/s	Fase oleosa	Fase acuosa
Día 2	0.06	0.13	1.8	0.25	2.25	8.9	80	11.1
	0.13	0.26	1.6	0.25	2.25	17.8	71.2	11.1
	0.2	0.4	1.4	0.25	2.25	26.7	62.2	11.1
	0.26	0.53	1.2	0.25	2.25	35.6	53.3	11.1
	0.33	0.66	1	0.25	2.25	44.4	44.4	11.1
	0.4	0.8	0.8	0.25	2.25	53.3	35.6	11.1
	0.46	0.93	0.6	0.25	2.25	62.2	26.7	11.1
	0.53	1.06	0.4	0.25	2.25	71.1	17.8	11.1
Día 3	0.6	1.2	0.2	0.25	2.25	80	8.9	11.1
	0.06	0.13	1.8	0.25	2.5	8	72	20
	0.13	0.26	1.6	0.25	2.5	16	64	20
	0.2	0.4	1.4	0.25	2.5	24	56	20
	0.26	0.53	1.2	0.25	2.5	32	48	20
	0.33	0.66	1	0.25	2.5	40	40	20
	0.4	0.8	0.8	0.25	2.5	48	32	20
	0.46	0.93	0.6	0.25	2.5	56	24	20
Día 4	0.53	1.06	0.4	0.25	2.5	64	16	20
	0.6	1.2	0.2	0.25	2.5	72	8	20
	0.06	0.13	1.8	0.5	3	6.7	60	33.3
	0.13	0.26	1.6	0.5	3	13.3	53.3	33.3
	0.2	0.4	1.4	0.5	3	20	46.7	33.3
	0.26	0.53	1.2	0.5	3	26.7	40	33.3
	0.33	0.66	1	0.5	3	33.3	33.3	33.3
	0.4	0.8	0.8	0.5	3	40	26.7	33.3
Día 5	0.46	0.93	0.6	0.5	3	46.7	20	33.3
	0.53	1.06	0.4	0.5	3	53.3	13.3	33.3
	0.6	1.2	0.2	0.5	3	60	6.7	33.3
	0.06	0.13	1.8	0.35	3.35	6	53.7	40.3
	0.13	0.26	1.6	0.35	3.35	11.9	47.8	40.3
	0.2	0.4	1.4	0.35	3.35	17.9	41.8	40.3
	0.26	0.53	1.2	0.35	3.35	23.9	35.8	40.3
	0.33	0.66	1	0.35	3.35	29.9	29.9	40.3
Día 5	0.4	0.8	0.8	0.35	3.35	35.8	23.9	40.3
	0.46	0.93	0.6	0.35	3.35	41.8	17.9	40.3
	0.53	1.06	0.4	0.35	3.35	47.8	11.9	40.3
	0.6	1.2	0.2	0.35	3.35	53.7	6	40.3

	Surfactantes agregados		Fase oleosa agregada	Fase acuosa agregada	Volumen total (mL)	Porcentajes		
	Sales biliares (gr)	Tween-80 (mL)	Aceite de oliva (mL)	Solución amortiguadora de fosfatos (mL)		Surfactante/s	Fase oleosa	Fase acuosa
Día 6	0.06	0.13	1.8	0.65	4	5	45	50
	0.13	0.26	1.6	0.65	4	10	40	50
	0.2	0.4	1.4	0.65	4	15	35	50
	0.26	0.53	1.2	0.65	4	20	30	50
	0.33	0.66	1	0.65	4	25	25	50
	0.4	0.8	0.8	0.65	4	30	20	50
	0.46	0.93	0.6	0.65	4	35	15	50
	0.53	1.06	0.4	0.65	4	40	10	50
Día 7	0.6	1.2	0.2	0.65	4	45	5	50
	0.06	0.13	1.8	1	5	4	36	60
	0.13	0.26	1.6	1	5	8	32	60
	0.2	0.4	1.4	1	5	12	28	60
	0.26	0.53	1.2	1	5	16	24	60
	0.33	0.66	1	1	5	20	20	60
	0.4	0.8	0.8	1	5	24	16	60
	0.46	0.93	0.6	1	5	28	12	60
Día 8	0.53	1.06	0.4	1	5	32	8	60
	0.6	1.2	0.2	1	5	36	4	60
	0.06	0.13	1.8	1.75	6.75	3	26.7	70.4
	0.13	0.26	1.6	1.75	6.75	5.9	23.7	70.4
	0.2	0.4	1.4	1.75	6.75	8.9	20.7	70.4
	0.26	0.53	1.2	1.75	6.75	11.9	17.8	70.4
	0.33	0.66	1	1.75	6.75	14.8	14.8	70.4
	0.4	0.8	0.8	1.75	6.75	17.8	11.9	70.4
Día 9	0.46	0.93	0.6	1.75	6.75	20.7	8.9	70.4
	0.53	1.06	0.4	1.75	6.75	23.7	5.9	70.4
	0.6	1.2	0.2	1.75	6.74	26.7	3	70.4
	0.06	0.13	1.8	3.25	10	2	18	80
	0.13	0.26	1.6	3.25	10	4	16	80
	0.2	0.4	1.4	3.25	10	6	14	80
	0.26	0.53	1.2	3.25	10	8	12	80
	0.33	0.66	1	3.25	10	10	10	80
Día 9	0.4	0.8	0.8	3.25	10	12	8	80
	0.46	0.93	0.6	3.25	10	14	6	80
	0.53	1.06	0.4	3.25	10	16	4	80
	0.6	1.2	0.2	3.25	10	18	2	80

	Surfactantes agregados		Fase oleosa agregada	Fase acuosa agregada	Volumen total (mL)	Porcentajes		
	Sales biliares (gr)	Tween-80 (mL)	Aceite de oliva (mL)	Solución amortiguadora de fosfatos (mL)		Surfactante/s	Fase oleosa	Fase acuosa
Día 10	0.06	0.13	1.8	10	20	1	9	90
	0.13	0.26	1.6	10	20	2	8	90
	0.2	0.4	1.4	10	20	3	7	90
	0.26	0.53	1.2	10	20	4	6	90
	0.33	0.66	1	10	20	5	5	90
	0.4	0.8	0.8	10	20	6	4	90
	0.46	0.93	0.6	10	20	7	3	90
	0.53	1.06	0.4	10	20	8	2	90
	0.6	1.2	0.2	10	20	9	1	90

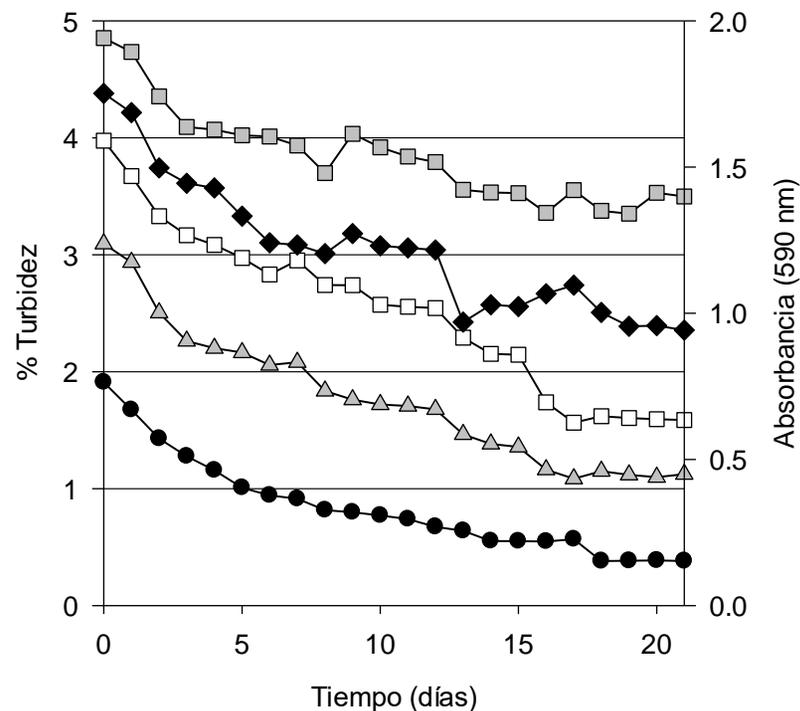
ANEXO II: Cinéticas de la turbidez vs tiempo de las 56 emulsiones realizadas.

Sales biliares y aceite de coco de cadena mediana (MCT)



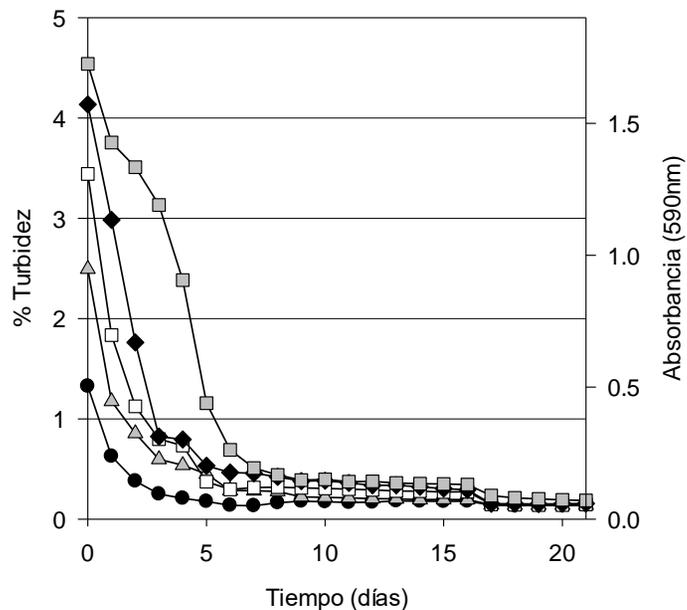
- Sales biliares 9.55%, MCT 0.50% y buffer 89.95%. (1)
- ▲ Sales biliares 9.10%, MCT 1.00% y buffer 89.90%. (2)
- Sales biliares 8.20%, MCT 2.00% y buffer 89.80%. (3)
- ◇ Sales biliares 7.30%, MCT 3.00% y buffer 89.70%. (4)
- Sales biliares 6.40%, MCT 4.00% y buffer 89.60%. (5)
- ▼ Sales biliares 5.50%, MCT 5.00% y buffer 89.50%. (6)

Tween-80 y aceite de coco de cadena mediana (MCT)



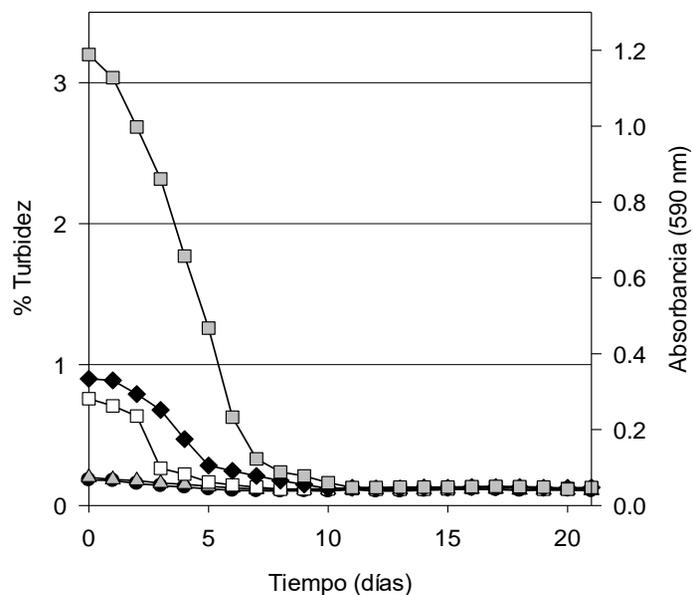
- Tween-80 9.1%, MCT 0.1% y buffer 90.8%. (7)
- ▲ Tween-80 8.2%, MCT 0.2% y buffer 91.6%. (8)
- Tween-80 7.3%, MCT 0.3% y buffer 92.4%. (9)
- ◆ Tween-80 6.4%, MCT 0.4% y buffer 93.2%. (10)
- Tween-80 5.5%, MCT 0.5% y buffer 94.0%. (11)

Ácido acético glacial y aceite de coco de cadena mediana (MCT)



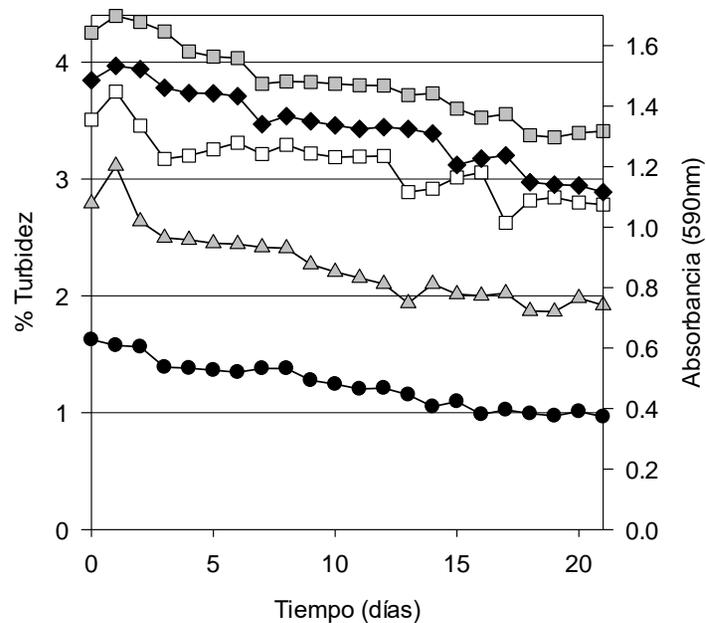
- Tween-80 0.1%, MCT 0.1%, ácido acético glacial 36.0% y buffer 63.8%. (12)
- ▲ Tween-80 0.2%, MCT 0.2%, ácido acético glacial 32.0% y buffer 67.6%. (13)
- Tween-80 0.3%, MCT 0.3%, ácido acético glacial 28.0% y buffer 71.4%. (14)
- ◆ Tween-80 0.4%, MCT 0.4%, ácido acético glacial 24.0% y buffer 75.2%. (15)
- Tween-80 0.5%, MCT 0.5%, ácido acético glacial 20.0% y buffer 79.0%. (16)

Tween-80, aceite de coco de cadena mediana (MCT) y ácido acético glacial



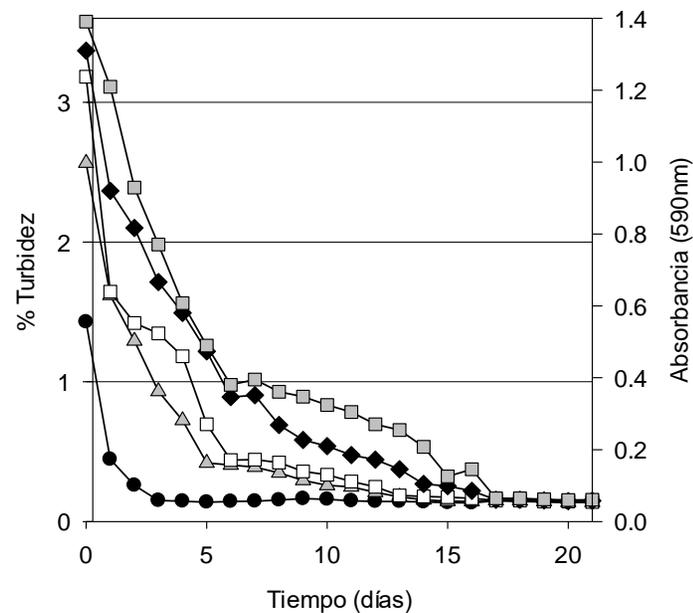
- Tween-80 9.1%, MCT 0.1%, ácido acético glacial 36% y buffer 54.8%. (17) ✓
- ▲ Tween-80 8.2%, MCT 0.2%, ácido acético glacial 32% y buffer 59.6%. (18) ✓
- Tween-80 7.3%, MCT 0.3%, ácido acético glacial 28% y buffer 64.4%. (19)
- ◆ Tween-80 6.4%, MCT 0.4%, ácido acético glacial 24% y buffer 69.2%. (20)
- Tween-80 5.5%, MCT 0.5%, ácido acético glacial 20% y buffer 74.0%. (21)

Tween-80 y aceite de olivo



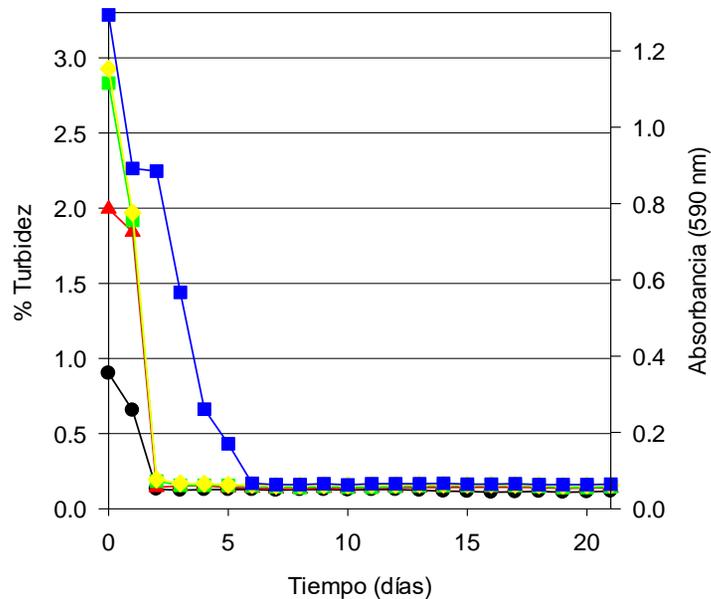
- Tween-80 9.1%, aceite de olivo 0.1% y buffer 90.8%. (22)
- ▲ Tween-80 8.2%, aceite de olivo 0.2% y buffer 91.6%. (23)
- Tween-80 7.3%, aceite de olivo 0.3% y buffer 92.4%. (24)
- ◆ Tween-80 6.4%, aceite de olivo 0.4% y buffer 93.2%. (25)
- Tween-80 5.5%, aceite de olivo 0.5% y buffer 94.0%. (26)

Ácido acético glacial y aceite de olivo



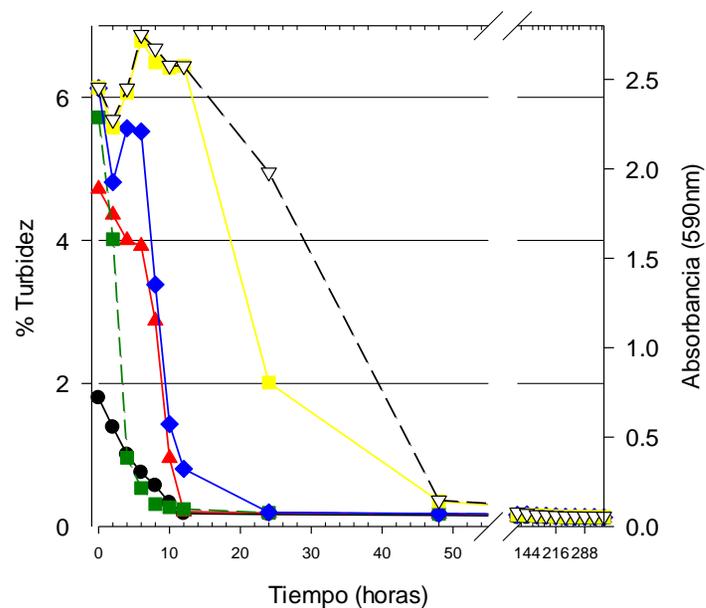
- Tween-80 0.1%, aceite de olivo 0.1%, ácido acético glacial 36.0% y buffer 63.8%. (27)
- ▲ Tween-80 0.2%, aceite de olivo 0.2%, ácido acético glacial 32.0% y buffer 67.6%. (28)
- Tween-80 0.3%, aceite de olivo 0.3%, ácido acético glacial 28.0% y buffer 71.4%. (29)
- ◆ Tween-80 0.4%, aceite de olivo 0.4%, ácido acético glacial 24.0% y buffer 75.2%. (30)
- Tween-80 0.5%, aceite de olivo 0.5%, ácido acético glacial 20.0% y buffer 79.0%. (31)

Tween-80, aceite de oliva y ácido acético glacial



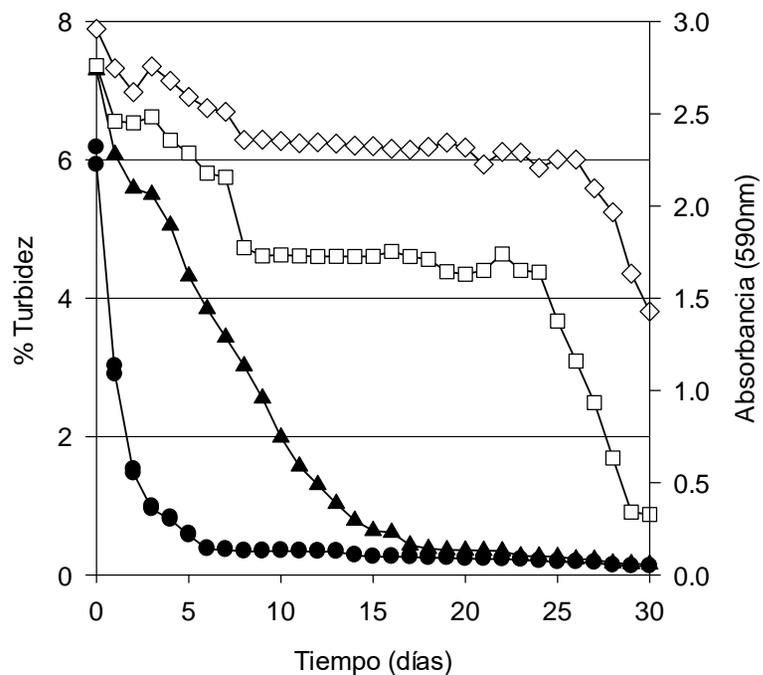
- Tween-80 9.1%, aceite de oliva 0.1%, ácido acético glacial 36.0% y buffer 54.8%. (32) ✓
- ▲ Tween-80 8.2%, aceite de oliva 0.2%, ácido acético glacial 32.0% y buffer 59.6%. (33)
- Tween-80 7.3%, aceite de oliva 0.3%, ácido acético glacial 28.0% y buffer 64.4%. (34)
- ◆ Tween-80 6.4%, aceite de oliva 0.4%, ácido acético glacial 24.0% y buffer 69.2%. (35)
- Tween-80 5.5%, aceite de oliva 0.5%, ácido acético glacial 20.0% y buffer 74.0%. (36)

Sales biliares y limoneno



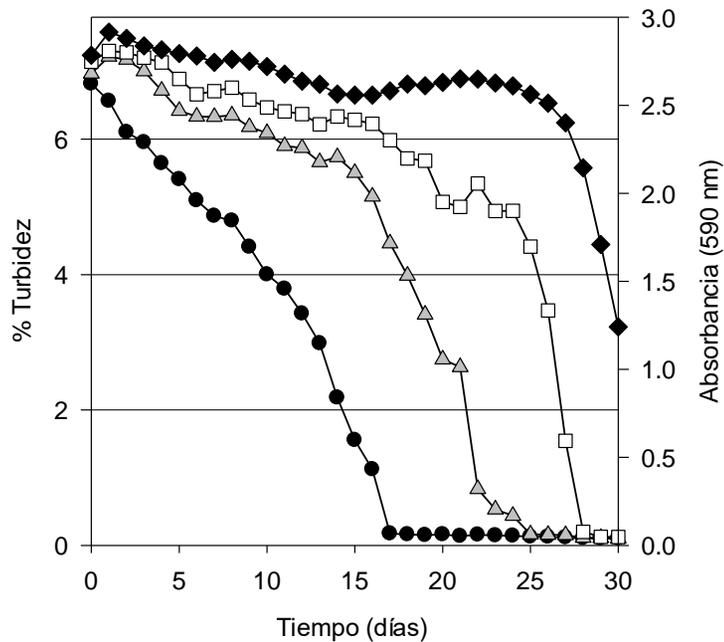
- Sales biliares 9.55%, limoneno 0.50% y buffer 90.95%. (37) ✓
- ▲ Sales biliares 9.10%, limoneno 1.00% y buffer 89.90%. (38) ✓
- Sales biliares 8.20%, limoneno 2.00% y buffer 89.80%. (39) ✓
- ◆ Sales biliares 7.30%, limoneno 3.00% y buffer 89.70%. (40)
- Sales biliares 6.40%, limoneno 4.00% y buffer 89.60%. (41)
- ▽ — Sales biliares 5.50%, limoneno 5.00% y buffer 89.50%. (42)

Tween-80 y limoneno



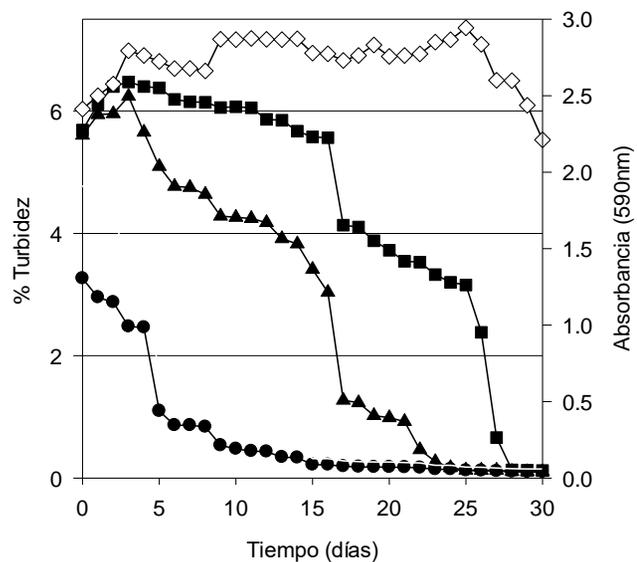
- Tween-80 8.2%, limoneno 2.0% y buffer 89.8%. (43) ✓
- ▲ Tween-80 7.3%, limoneno 3.0% y buffer 89.7%. (44) ✓
- Tween-80 6.4%, limoneno 4.0% y buffer 89.6%. (45)
- ◇ Tween-80 5.5%, limoneno 5.0% y buffer 89.5%. (46)

Ácido acético y limoneno



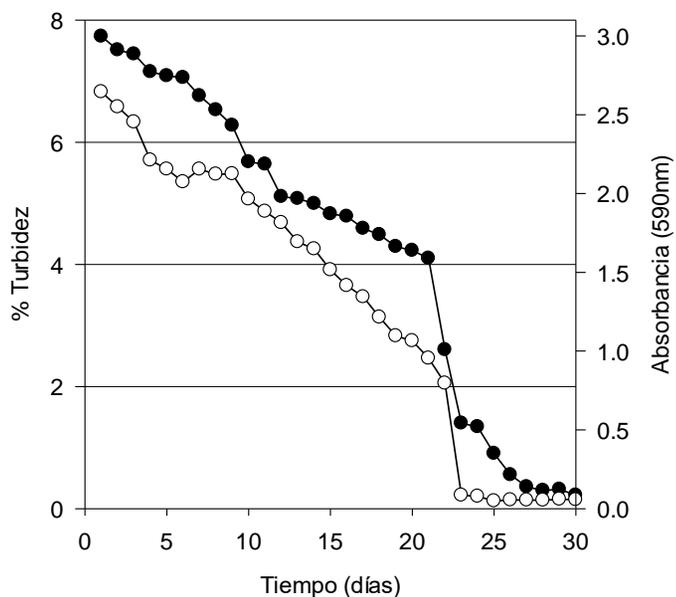
- Tween-80 0.2%, limoneno 2%, ácido acético glacial 32.0% y buffer 65.8%. (47) ✓
- ▲ Tween-80 0.3%, limoneno 3%, ácido acético glacial 28.0% y buffer 68.7%. (48)
- Tween-80 0.4%, limoneno 4%, ácido acético glacial 24.0% y buffer 71.6%. (49)
- ◆ Tween-80 0.5%, limoneno 5%, ácido acético glacial 20.0% y buffer 74.5%. (50)

Tween-80, limoneno y ácido acético glacial



- Tween-80 8.2%, limoneno 2.0%, ácido acético glacial 32.0% y buffer 57.8%. (51) ✓
- ▲ Tween-80 7.3%, limoneno 3.0%, ácido acético glacial 28.0% y buffer 61.7%. (52) ✓
- Tween-80 6.4%, limoneno 4.0%, ácido acético glacial 24.0% y buffer 65.6%. (53) ✓
- ◇ Tween-80 5.5%, limoneno 5.0%, ácido acético glacial 20.0% y buffer 69.5%. (54) ✓

Tween-80, limoneno y ácido acético glacial



- Tween-80 1%, limoneno 2% y buffer 97%. (55) ✓
- Tween-80 1%, limoneno 2%, ácido acético glacial 32.0% y buffer 65.0%. (56) ✓

ANEXO III: Análisis de varianza

ANOVA de un solo factor: Viscosidad vs. Microemulsión

Método

Hipótesis nula Todas las medias son iguales
 Hipótesis alterna No todas las medias son iguales
 Nivel de significancia $\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
Microemulsión	14	17; 18; 32; 37; 38; 39; 43; 44; 47; 51; 52; 53; 55; 56

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Microemulsión	13	80.171	6.16700	62.89	0.000
Error	28	2.745	0.09805		
Total	41	82.916			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0.313133	96.69%	95.15%	92.55%

Medias

Microemulsión	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
17	3	5.287	0.426	(4.917; 5.658)
18	3	2.9243	0.0750	(2.5540; 3.2947)
32	3	5.658	0.238	(5.287; 6.028)
37	3	1.3215	0.0647	(0.9512; 1.6919)
38	3	1.3989	0.0503	(1.0286; 1.7692)
39	3	1.3799	0.0669	(1.0095; 1.7502)
43	3	4.3670	0.1384	(3.9966; 4.7373)
44	3	4.328	0.791	(3.958; 4.698)
47	3	3.523	0.378	(3.153; 3.893)
51	3	4.3385	0.0757	(3.9682; 4.7089)
52	3	4.574	0.211	(4.204; 4.944)
53	3	4.509	0.492	(4.138; 4.879)
55	3	4.3207	0.1084	(3.9504; 4.6911)
56	3	4.3060	0.1627	(3.9357; 4.6763)

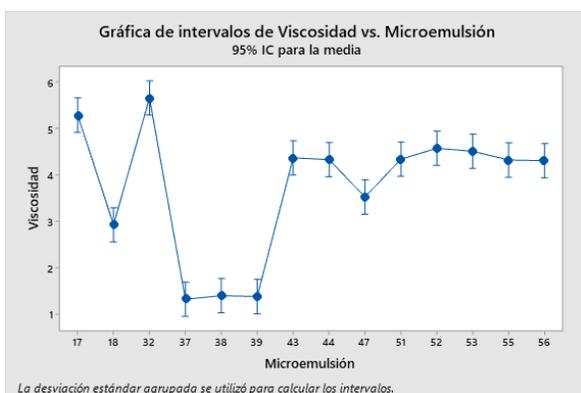
Desv.Est. agrupada = 0.313133

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Microemulsión	N	Media	Agrupación
32	3	5.658	A
17	3	5.287	A B
52	3	4.574	B C
53	3	4.509	B C
43	3	4.3670	B C D
51	3	4.3385	C D
44	3	4.328	C D
55	3	4.3207	C D
56	3	4.3060	C D
47	3	3.523	D E
18	3	2.9243	E
38	3	1.3989	F
39	3	1.3799	F
37	3	1.3215	F

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



ANOVA de un solo factor: G' Modulo elástico (Pa) vs. Microemulsión

Método

Hipótesis nula Todas las medias son iguales
 Hipótesis alterna No todas las medias son iguales
 Nivel de significancia $\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
Microemulsión	14	17; 18; 32; 37; 38; 39; 43; 44; 47; 51; 52; 53; 55; 56

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Microemulsión	13	2.7415	0.210883	44.95	0.000
Error	28	0.1314	0.004692		
Total	41	2.8728			



Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0.0684968	95.43%	93.30%	89.71%

Medias

Microemulsión	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
17	3	1.7453	0.0179	(1.6643; 1.8263)
18	3	1.1683	0.0404	(1.0873; 1.2493)
32	3	1.7167	0.0466	(1.6357; 1.7977)
37	3	1.2587	0.0366	(1.1777; 1.3397)
38	3	1.4347	0.0431	(1.3537; 1.5157)
39	3	1.4063	0.0657	(1.3253; 1.4873)
43	3	1.7827	0.1184	(1.7017; 1.8637)
44	3	1.5697	0.1035	(1.4887; 1.6507)
47	3	1.0757	0.0777	(0.9947; 1.1567)
51	3	1.1023	0.0465	(1.0213; 1.1833)
52	3	1.1737	0.0739	(1.0927; 1.2547)
53	3	1.1227	0.0322	(1.0417; 1.2037)
55	3	1.5250	0.0619	(1.4440; 1.6060)
56	3	1.0503	0.1037	(0.9693; 1.1313)

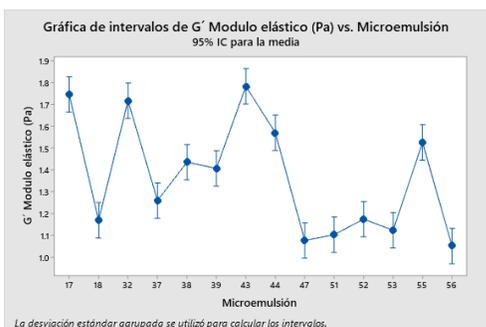
Desv.Est. agrupada = 0.0684968

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Microemulsión	N	Media	Agrupación
43	3	1.7827	A
17	3	1.7453	A B
32	3	1.7167	A B C
44	3	1.5697	B C D
55	3	1.5250	C D
38	3	1.4347	D E
39	3	1.4063	D E
37	3	1.2587	E F
52	3	1.1737	F G
18	3	1.1683	F G
53	3	1.1227	F G
51	3	1.1023	F G
47	3	1.0757	F G
56	3	1.0503	G

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



ANOVA de un solo factor: G'' Modulo viscoso (Pa) vs. Microemulsión

Método

Hipótesis nula Todas las medias son iguales
 Hipótesis alterna No todas las medias son iguales
 Nivel de significancia $\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles Valores
Microemulsión	14 17; 18; 32; 37; 38; 39; 43; 44; 47; 51; 52; 53; 55; 56

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Microemulsión	13	0.46807	0.036005	23.51	0.000
Error	28	0.04289	0.001532		
Total	41	0.51096			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0.0391361	91.61%	87.71%	81.12%

Medias

Microemulsión	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
17	3	0.68233	0.01124	(0.63605; 0.72862)
18	3	0.7047	0.0488	(0.6584; 0.7510)
32	3	0.7407	0.0351	(0.6944; 0.7870)
37	3	0.65200	0.01587	(0.60572; 0.69828)
38	3	0.65967	0.01474	(0.61338; 0.70595)
39	3	0.7053	0.0793	(0.6590; 0.7516)
43	3	0.57100	0.01127	(0.52472; 0.61728)
44	3	0.5780	0.0487	(0.5317; 0.6243)
47	3	0.52400	0.01039	(0.47772; 0.57028)
51	3	0.44433	0.01620	(0.39805; 0.49062)
52	3	0.4253	0.0268	(0.3790; 0.4716)
53	3	0.4273	0.0303	(0.3810; 0.4736)

55	3	0.4909	0.0186	(0.4446; 0.5372)
56	3	0.5620	0.0781	(0.5157; 0.6083)

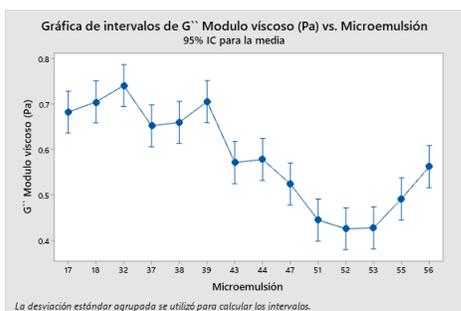
Desv.Est. agrupada = 0.0391361

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Microemulsión	N	Media	Agrupación
32	3	0.7407	A
39	3	0.7053	A
18	3	0.7047	A
17	3	0.68233	A B
38	3	0.65967	A B C
37	3	0.65200	A B C
44	3	0.5780	B C D
43	3	0.57100	B C D
56	3	0.5620	C D
47	3	0.52400	D E
55	3	0.4909	D E
51	3	0.44433	E
53	3	0.4273	E
52	3	0.4253	E

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



ANOVA de un solo factor: Tan (δ) vs. Microemulsión

* NOTA * No es posible dibujar la gráfica de intervalo para el procedimiento de Tukey. Las gráficas de intervalo para las comparaciones son ilegibles con más de 45 intervalos.

Método

Hipótesis nula	Todas las medias son iguales
Hipótesis alterna	No todas las medias son iguales
Nivel de significancia	$\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
Microemulsión	14	17; 18; 32; 37; 38; 39; 43; 44; 47; 51; 52; 53; 55; 56

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Microemulsión	13	0.28882	0.022217	14.49	0.000
Error	28	0.04293	0.001533		
Total	41	0.33175			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0.0391572	87.06%	81.05%	70.88%

Medias

Microemulsión	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
17	3	0.39167	0.00513	(0.34536; 0.43798)
18	3	0.6060	0.0386	(0.5597; 0.6523)
32	3	0.4327	0.0320	(0.3864; 0.4790)
37	3	0.52033	0.00814	(0.47402; 0.56664)
38	3	0.46100	0.01253	(0.41469; 0.50731)
39	3	0.5053	0.0731	(0.4590; 0.5516)
43	3	0.3223	0.0253	(0.2760; 0.3686)
44	3	0.3693	0.0418	(0.3230; 0.4156)
47	3	0.4913	0.0438	(0.4450; 0.5376)
51	3	0.40433	0.00321	(0.35802; 0.45064)
52	3	0.3647	0.0392	(0.3184; 0.4110)
53	3	0.3823	0.0308	(0.3360; 0.4286)
55	3	0.3223	0.0224	(0.2760; 0.3686)
56	3	0.5387	0.0777	(0.4924; 0.5850)

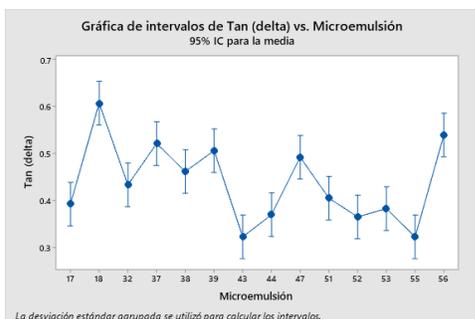
Desv.Est. agrupada = 0.0391572

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Microemulsión	N	Media	Agrupación
18	3	0.6060	A
56	3	0.5387	A B
37	3	0.52033	A B C
39	3	0.5053	A B C D
47	3	0.4913	A B C D E
38	3	0.46100	B C D E F
32	3	0.4327	B C D E F G
51	3	0.40433	C D E F G
17	3	0.39167	D E F G
53	3	0.3823	E F G
44	3	0.3693	F G
52	3	0.3647	F G
55	3	0.3223	G
43	3	0.3223	G

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



ANOVA de un solo factor: Angulo tan delta vs. Microemulsión

* NOTA * No es posible dibujar la gráfica de intervalo para el procedimiento de Tukey. Las gráficas de intervalo para las comparaciones son ilegibles con más de 45 intervalos.

Método

Hipótesis nula Todas las medias son iguales
Hipótesis alterna No todas las medias son iguales
Nivel de significancia $\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles Valores
Microemulsión	14 17; 18; 32; 37; 38; 39; 43; 44; 47; 51; 52; 53; 55; 56

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Microemulsión	13	644.90	49.608	15.03	0.000
Error	28	92.44	3.302		
Total	41	737.35			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
1.81703	87.46%	81.64%	71.79%

Medias

Microemulsión	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
17	3	21.403	0.237	(19.254; 23.552)
18	3	31.173	1.605	(29.024; 33.322)
32	3	23.400	1.530	(21.251; 25.549)
37	3	27.470	0.380	(25.321; 29.619)
38	3	24.757	0.601	(22.608; 26.906)
39	3	26.75	3.38	(24.60; 28.90)
43	3	17.863	1.317	(15.714; 20.012)
44	3	20.28	2.11	(18.13; 22.43)
47	3	26.13	2.01	(23.98; 28.28)
51	3	22.0333	0.1550	(19.8844; 24.1822)
52	3	20.03	1.97	(17.88; 22.18)
53	3	20.917	1.517	(18.768; 23.066)

55	3	17.887	1.148 (15.738; 20.036)
56	3	28.23	3.41 (26.08; 30.38)

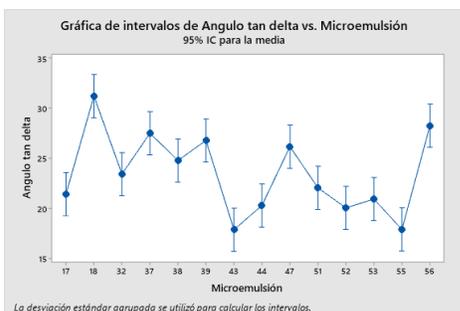
Desv.Est. agrupada = 1.81703

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Microemulsión	N	Media	Agrupación
18	3	31.173	A
56	3	28.23	A B
37	3	27.470	A B
39	3	26.75	A B C
47	3	26.13	A B C D
38	3	24.757	B C D E
32	3	23.400	B C D E
51	3	22.0333	C D E F
17	3	21.403	C D E F
53	3	20.917	D E F
44	3	20.28	E F
52	3	20.03	E F
55	3	17.887	F
43	3	17.863	F

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



ANOVA de un solo factor: pH vs. Microemulsión

Método

Hipótesis nula Todas las medias son iguales
 Hipótesis alterna No todas las medias son iguales
 Nivel de significancia $\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles Valores
Microemulsión	14 17; 18; 32; 37; 38; 39; 43; 44; 47; 51; 52; 53; 55; 56

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Microemulsión	13	664.956	51.1504	171317.22	0.000



Error	56	0.017	0.0003
Total	69	664.972	

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0.0172792	100.00%	100.00%	100.00%

Medias

Microemulsión	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
17	5	0.79200	0.00837	(0.77652; 0.80748)
18	5	0.85400	0.01517	(0.83852; 0.86948)
32	5	0.7500	0.0245	(0.7345; 0.7655)
37	5	7.92200	0.01789	(7.90652; 7.93748)
38	5	7.83800	0.00837	(7.82252; 7.85348)
39	5	7.7560	0.0305	(7.7405; 7.7715)
43	5	6.1600	0.0235	(6.1445; 6.1755)
44	5	5.89000	0.01581	(5.87452; 5.90548)
47	5	0.66600	0.01673	(0.65052; 0.68148)
51	5	0.58800	0.01304	(0.57252; 0.60348)
52	5	0.65000	0.01581	(0.63452; 0.66548)
53	5	0.90400	0.01140	(0.88852; 0.91948)
55	5	5.21400	0.01517	(5.19852; 5.22948)
56	5	0.69000	0.01000	(0.67452; 0.70548)

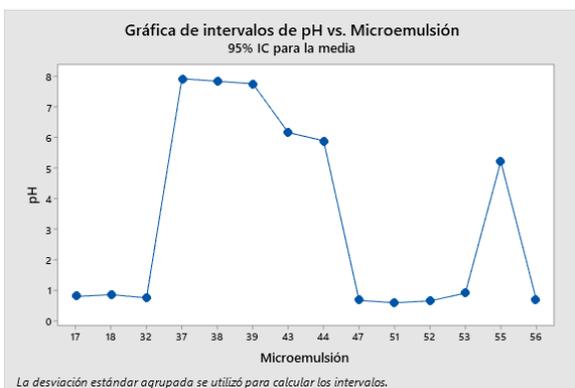
Desv.Est. agrupada = 0.0172792

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Microemulsión	N	Media	Agrupación
37	5	7.92200	A
38	5	7.83800	B
39	5	7.7560	C
43	5	6.1600	D
44	5	5.89000	E
55	5	5.21400	F
53	5	0.90400	G
18	5	0.85400	H
17	5	0.79200	I
32	5	0.7500	J
56	5	0.69000	K
47	5	0.66600	K L
52	5	0.65000	L
51	5	0.58800	M

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



ANOVA de un solo factor: Conductividad vs. Microemulsión

Método

Hipótesis nula Todas las medias son iguales
 Hipótesis alterna No todas las medias son iguales
 Nivel de significancia $\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles Valores
Microemulsión	14 17; 18; 32; 37; 38; 39; 43; 44; 47; 51; 52; 53; 55; 56

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Microemulsión	13	684.623	52.6633	34081.88	0.000
Error	56	0.087	0.0015		
Total	69	684.710			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0.0393090	99.99%	99.98%	99.98%

Medias

Microemulsión	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
17	5	1.09540	0.00445	(1.06018; 1.13062)
18	5	1.23420	0.00597	(1.19898; 1.26942)
32	5	1.10560	0.00351	(1.07038; 1.14082)
37	5	9.15200	0.01924	(9.11678; 9.18722)
38	5	8.9300	0.0430	(8.8948; 8.9652)
39	5	8.50000	0.01581	(8.46478; 8.53522)
43	5	1.16640	0.00581	(1.13118; 1.20162)
44	5	1.15560	0.00288	(1.12038; 1.19082)

47	5	1.49780	0.00722	(1.46258; 1.53302)
51	5	1.3170	0.1320	(1.2818; 1.3522)
52	5	1.35680	0.00683	(1.32158; 1.39202)
53	5	1.42640	0.00568	(1.39118; 1.46162)
55	5	1.1448	0.0253	(1.1096; 1.1800)
56	5	1.2520	0.0292	(1.2168; 1.2872)

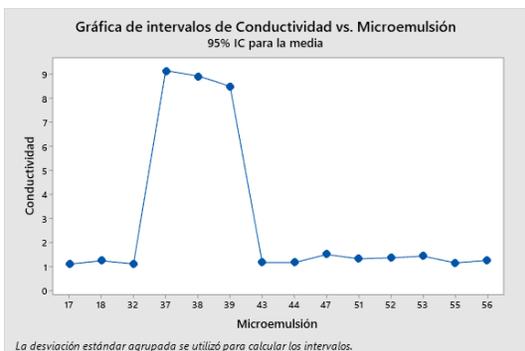
Desv.Est. agrupada = 0.0393090

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Microemulsión	N	Media	Agrupación
37	5	9.15200	A
38	5	8.9300	B
39	5	8.50000	C
47	5	1.49780	D
53	5	1.42640	D E
52	5	1.35680	E F
51	5	1.3170	F G
56	5	1.2520	G H
18	5	1.23420	G H I
43	5	1.16640	H I J
44	5	1.15560	I J
55	5	1.1448	J
32	5	1.10560	J
17	5	1.09540	J

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



ANOVA de un solo factor: Densidad vs. Microemulsión

Método

Hipótesis nula Todas las medias son iguales
 Hipótesis alterna No todas las medias son iguales
 Nivel de significancia $\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
Microemulsión	14	17; 18; 32; 37; 38; 39; 43; 44; 47; 51; 52; 53; 55; 56

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Microemulsión	13	0.010769	0.000828	142.62	0.000
Error	56	0.000325	0.000006		
Total	69	0.011094			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0.0024101	97.07%	96.39%	95.42%

Medias

Microemulsión	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
17	5	1.05184	0.00132	(1.04968; 1.05400)
18	5	1.04622	0.00080	(1.04406; 1.04838)
32	5	1.04376	0.00549	(1.04160; 1.04592)
37	5	1.02794	0.00034	(1.02578; 1.03010)
38	5	1.02668	0.00034	(1.02452; 1.02884)
39	5	1.02546	0.00280	(1.02330; 1.02762)
43	5	1.03192	0.00211	(1.02976; 1.03408)
44	5	1.02538	0.00144	(1.02322; 1.02754)
47	5	1.03622	0.00296	(1.03406; 1.03838)
51	5	1.05070	0.00200	(1.04854; 1.05286)
52	5	1.04256	0.00298	(1.04040; 1.04472)
53	5	1.03254	0.00267	(1.03038; 1.03470)
55	5	1.00398	0.00047	(1.00182; 1.00614)
56	5	1.04406	0.00229	(1.04190; 1.04622)

Desv.Est. agrupada = 0.00241007

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

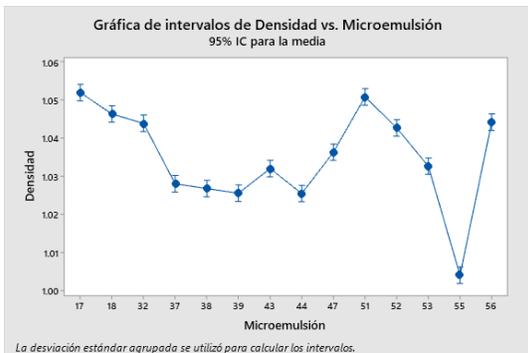
Microemulsión	N	Media	Agrupación
17	5	1.05184	A
51	5	1.05070	A B
18	5	1.04622	B C
56	5	1.04406	C
32	5	1.04376	C
52	5	1.04256	C
47	5	1.03622	D



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

53	5 1.03254	D E
43	5 1.03192	D E F
37	5 1.02794	E F G
38	5 1.02668	F G
39	5 1.02546	G
44	5 1.02538	G
55	5 1.00398	H

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



ANOVA de un solo factor: Viscosidad vs. Emulsiones madre

Método

Hipótesis nula Todas las medias son iguales
 Hipótesis alterna No todas las medias son iguales
 Nivel de significancia $\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
Emulsión madre	4	B; C; D; E

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Emulsión madre	3	3.0560	1.01867	25.39	0.000
Error	8	0.3210	0.04012		
Total	11	3.3770			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0.200298	90.50%	86.93%	78.62%

Medias

Emulsión madre	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
B	3	2.246	0.214	(1.980; 2.513)
C	3	3.598	0.295	(3.331; 3.865)
D	3	2.5327	0.0942	(2.2660; 2.7993)
E	3	2.7190	0.1380	(2.4523; 2.9857)

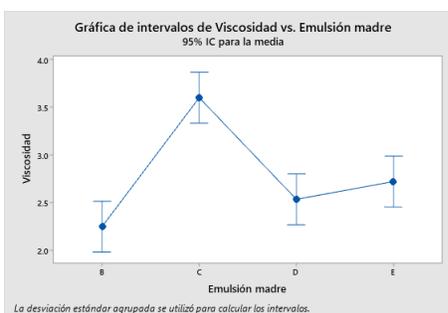
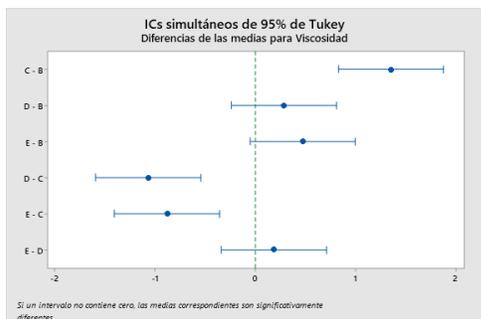
Desv.Est. agrupada = 0.200298

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Emulsión madre	N	Media	Agrupación
C	3	3.598	A
E	3	2.7190	B
D	3	2.5327	B
B	3	2.246	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



ANOVA de un solo factor: G' Modulo elástico (Pa) vs. Emulsiones madre

Método

Hipótesis nula Todas las medias son iguales
 Hipótesis alterna No todas las medias son iguales
 Nivel de significancia $\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
Emulsion madre	4	B; C; D; E

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Emulsion madre	3	0.49882	0.166274	40.98	0.000
Error	8	0.03246	0.004058		
Total	11	0.53128			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0.0637016	93.89%	91.60%	86.25%

Medias

Emulsion madre	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
B	3	1.71550	0.00150	(1.63069; 1.80031)
C	3	1.2240	0.0766	(1.1392; 1.3088)
D	3	1.2450	0.0882	(1.1602; 1.3298)
E	3	1.2693	0.0509	(1.1845; 1.3541)

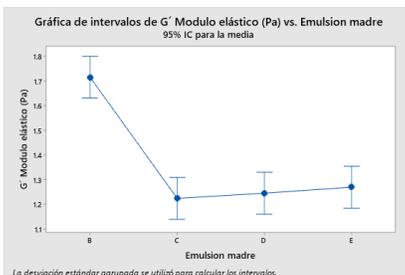
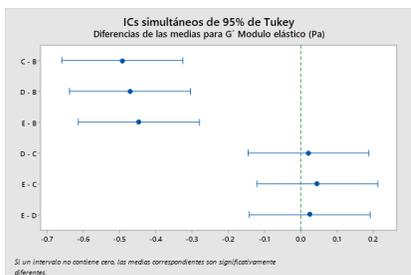
Desv.Est. agrupada = 0.0637016

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Emulsion madre	N	Media	Agrupación
B	3	1.71550	A
E	3	1.2693	B
D	3	1.2450	B
C	3	1.2240	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



ANOVA de un solo factor: G'' Modulo viscoso (Pa) vs. Emulsiones madre

Método

Hipótesis nula Todas las medias son iguales
 Hipótesis alterna No todas las medias son iguales
 Nivel de significancia $\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
Emulsion madre	4	B; C; D; E

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Emulsion madre	3	0.16305	0.054349	17.67	0.001
Error	8	0.02460	0.003076		
Total	11	0.18765			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0.0554580	86.89%	81.97%	70.50%

Medias

Emulsion madre	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
B	3	0.75790	0.00240	(0.68406; 0.83174)
C	3	0.50293	0.00605	(0.42910; 0.57677)
D	3	0.7490	0.1058	(0.6752; 0.8228)
E	3	0.5410	0.0327	(0.4672; 0.6148)

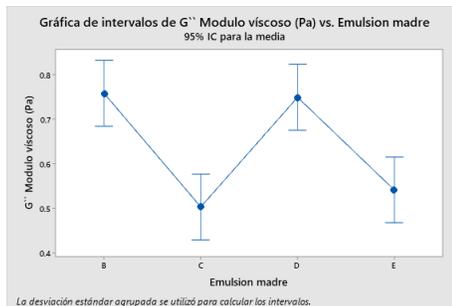
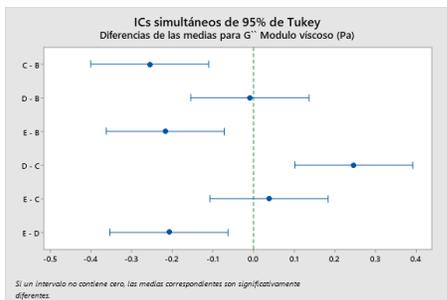
Desv.Est. agrupada = 0.0554580

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Emulsion madre	N	Media	Agrupación
B	3	0.75790	A
D	3	0.7490	A
E	3	0.5410	B
C	3	0.50293	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



ANOVA de un solo factor: Tan (delta) vs. Emulsiones madre

Método

Hipótesis nula Todas las medias son iguales
 Hipótesis alterna No todas las medias son iguales
 Nivel de significancia $\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
Emulsion madre	4	B; C; D; E

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Emulsion madre	3	0.07199	0.023995	8.30	0.008
Error	8	0.02314	0.002892		
Total	11	0.09512			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0.0537791	75.68%	66.55%	45.27%

Medias

Emulsion madre	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
B	3	0.44215	0.00185	(0.37055; 0.51375)
C	3	0.4123	0.0244	(0.3407; 0.4839)
D	3	0.6047	0.0957	(0.5331; 0.6763)
E	3	0.4280	0.0427	(0.3564; 0.4996)

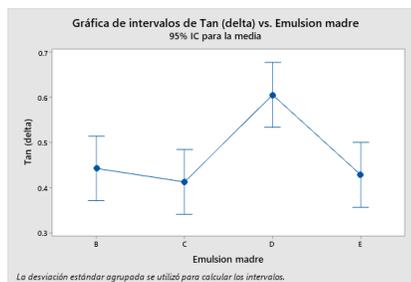
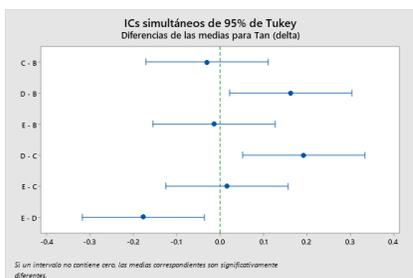
Desv.Est. agrupada = 0.0537791

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Emulsion madre	N	Media	Agrupación
D	3	0.6047	A
B	3	0.44215	B
E	3	0.4280	B
C	3	0.4123	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



ANOVA de un solo factor: Angulo de fase delta vs. Emulsiones madre

Método

Hipótesis nula Todas las medias son iguales
 Hipótesis alterna No todas las medias son iguales
 Nivel de significancia $\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
Emulsion madre	4	B; C; D; E

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Emulsion madre	3	144.13	48.045	8.86	0.006
Error	8	43.37	5.422		
Total	11	187.51			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
2.32843	76.87%	68.19%	47.95%

Medias

Emulsion madre	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
B	3	23.8450	0.0850	(20.7450; 26.9450)
C	3	22.390	1.191	(19.290; 25.490)
D	3	31.04	4.01	(27.94; 34.14)
E	3	23.15	2.04	(20.05; 26.25)

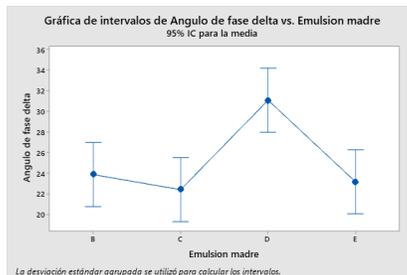
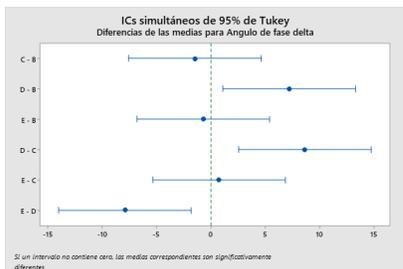
Desv.Est. agrupada = 2.32843

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Emulsion madre	N	Media	Agrupación
D	3	31.04	A
B	3	23.8450	B
E	3	23.15	B
C	3	22.390	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



ANOVA de un solo factor: pH vs. Emulsiones madre

Método

Hipótesis nula Todas las medias son iguales
 Hipótesis alterna No todas las medias son iguales
 Nivel de significancia $\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles Valores
Emulsiones madre	4 B; C; D; E

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Emulsiones madre	3	28.0951	9.36503	1698.87	0.000
Error	16	0.0882	0.00551		
Total	19	28.1833			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0.0742462	99.69%	99.63%	99.51%

Medias

Emulsiones madre	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
B	5	5.4980	0.1026	(5.4276; 5.5684)
C	5	5.6560	0.0623	(5.5856; 5.7264)
D	5	7.9780	0.0709	(7.9076; 8.0484)
E	5	4.8440	0.0513	(4.7736; 4.9144)

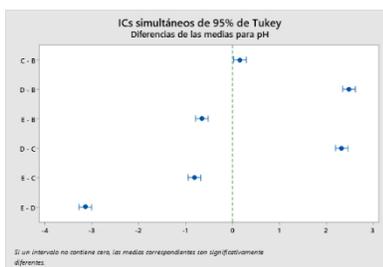
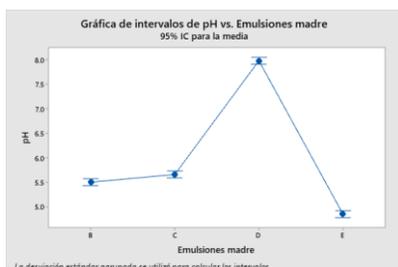
Desv.Est. agrupada = 0.0742462

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Emulsiones madre	N	Media	Agrupación
D	5	7.9780	A
C	5	5.6560	B
B	5	5.4980	C
E	5	4.8440	D

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



ANOVA de un solo factor: Conductividad vs. Emulsiones madre

Método

Hipótesis nula Todas las medias son iguales
 Hipótesis alterna No todas las medias son iguales
 Nivel de significancia $\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
Emulsiones madre	4	B; C; D; E

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Emulsiones madre	3	3.87058	1.29019	125872.66	0.000
Error	16	0.00016	0.00001		
Total	19	3.87075			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0.0032016	100.00%	99.99%	99.99%

Medias

Emulsiones madre	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
B	5	0.04480	0.00277	(0.04176; 0.04784)
C	5	0.05260	0.00378	(0.04956; 0.05564)
D	5	0.060800	0.000837	(0.057765; 0.063835)
E	5	1.06860	0.00428	(1.06556; 1.07164)

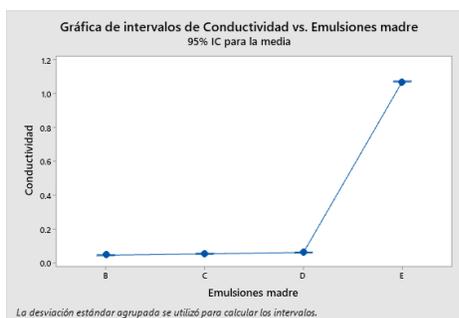
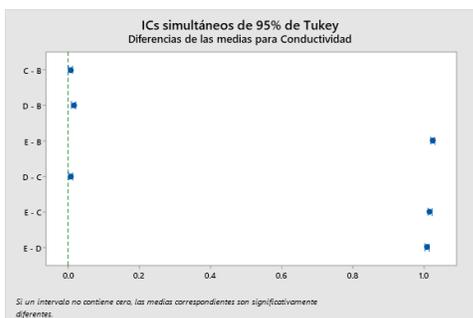
Desv.Est. agrupada = 0.00320156

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Emulsiones madre	N	Media	Agrupación
E	5	1.06860	A
D	5	0.060800	B
C	5	0.05260	C
B	5	0.04480	D

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



ANOVA de un solo factor: Densidad vs. Emulsiones madre

Método

Hipótesis nula Todas las medias son iguales
 Hipótesis alterna No todas las medias son iguales
 Nivel de significancia $\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
Emulsiones madre	4	B; C; D; E

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Emulsiones madre	3	0.000493	0.000164	51.76	0.000
Error	16	0.000051	0.000003		
Total	19	0.000544			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0.0017819	90.66%	88.91%	85.40%

Medias

Emulsiones madre	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
B	5	0.970000	0.000707	(0.968311; 0.971689)
C	5	0.978200	0.001095	(0.976511; 0.979889)
D	5	0.975600	0.001140	(0.973911; 0.977289)
E	5	0.98380	0.00311	(0.98211; 0.98549)

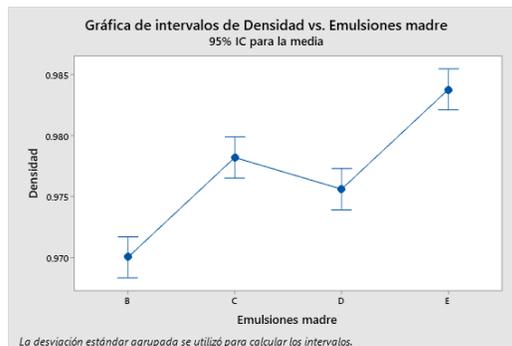
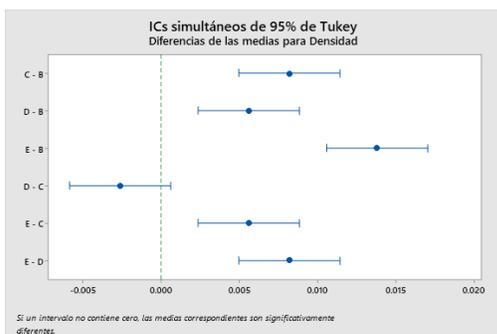
Desv.Est. agrupada = 0.00178185

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Emulsiones madre	N	Media	Agrupación
E	5	0.98380	A
C	5	0.978200	B
D	5	0.975600	B
B	5	0.970000	C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



ANOVA de un solo factor: Viscosidad vs. Componentes

Método

Hipótesis nula Todas las medias son iguales
 Hipótesis alterna No todas las medias son iguales
 Nivel de significancia $\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
Componentes	6	Aceite de coco; Aceite de oliva; Ácido acético; Buffer; Limoneno; Tween 80

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Componentes	5	618960	123792	3731.81	0.000
Error	12	398	33		
Total	17	619358			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
5.75953	99.94%	99.91%	99.86%

Medias

Componentes	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
Aceite de coco	3	23.654	0.338	(16.408; 30.899)
Aceite de oliva	3	80.29	11.56	(73.05; 87.54)
Ácido acético	3	1.5435	0.1165	(-5.7016; 8.7887)
Buffer	3	0.8342	0.1525	(-6.4109; 8.0794)
Limoneno	3	0.851	0.216	(-6.394; 8.096)
Tween 80	3	513.30	8.07	(506.05; 520.54)

Desv.Est. agrupada = 5.75953

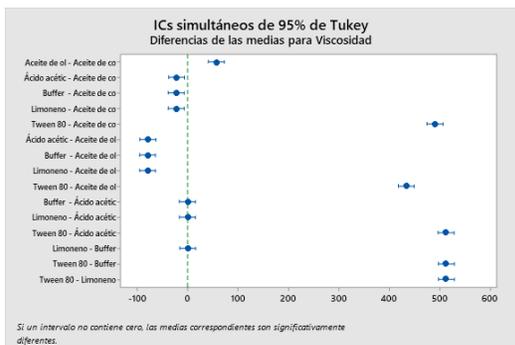
Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Componentes	N	Media	Agrupación
Tween 80	3	513.30	A

Aceite de oliva	3	80.29	B
Aceite de coco	3	23.654	C
Ácido acético	3	1.5435	D
Limoneno	3	0.851	D
Buffer	3	0.8342	D

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



ANOVA de un solo factor: pH vs. Componentes

Método

Hipótesis nula Todas las medias son iguales
 Hipótesis alterna No todas las medias son iguales
 Nivel de significancia $\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
Componentes	6	Aceite de coco; Aceite de oliva; Ácido acético; Buffer; Limoneno; Tween 80

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Componentes	5	97.9526	19.5905	5620.85	0.000
Error	12	0.0418	0.0035		
Total	17	97.9945			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0.0590367	99.96%	99.94%	99.90%

Medias

Componentes	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
Aceite de coco	3	7.0400	0.1217	(6.9657; 7.1143)
Aceite de oliva	3	7.0133	0.0451	(6.9391; 7.0876)
Ácido acético	3	0.50133	0.01206	(0.42707; 0.57560)
Buffer	3	7.0000	0.0200	(6.9257; 7.0743)
Limoneno	3	5.3067	0.0208	(5.2324; 5.3809)
Tween 80	3	6.3500	0.0557	(6.2757; 6.4243)

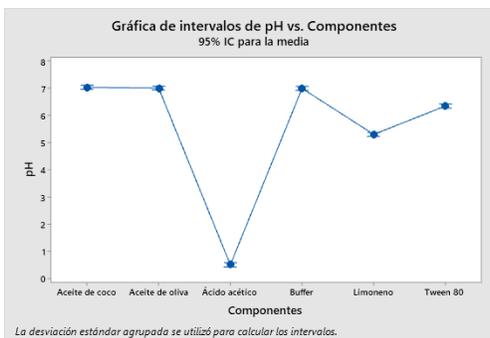
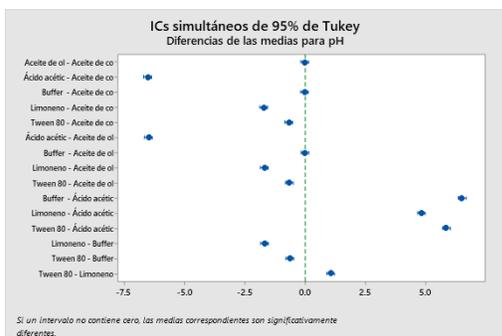
Desv.Est. agrupada = 0.0590367

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Componentes	N	Media	Agrupación
Aceite de coco	3	7.0400	A
Aceite de oliva	3	7.0133	A
Buffer	3	7.0000	A
Tween 80	3	6.3500	B
Limoneno	3	5.3067	C
Ácido acético	3	0.50133	D

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



ANOVA de un solo factor: Densidad vs. Componentes

Método

Hipótesis nula Todas las medias son iguales
 Hipótesis alterna No todas las medias son iguales
 Nivel de significancia $\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
Componentes	6	Aceite de coco; Aceite de oliva; Ácido acético; Buffer; Limoneno; Tween 80

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Componentes	5	0.147810	0.029562	3067.48	0.000
Error	12	0.000116	0.000010		
Total	17	0.147926			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0.0031044	99.92%	99.89%	99.82%

Medias

Componentes	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
Aceite de coco	3	0.937900	0.000200	(0.933995; 0.941805)
Aceite de oliva	3	0.911367	0.000252	(0.907462; 0.915272)
Ácido acético	3	1.02553	0.00235	(1.02163; 1.02944)
Buffer	3	0.997667	0.001528	(0.993762; 1.001572)

Limoneno	3	0.80270	0.00637	(0.79879; 0.80661)
Tween 80	3	1.08633	0.00306	(1.08243; 1.09024)

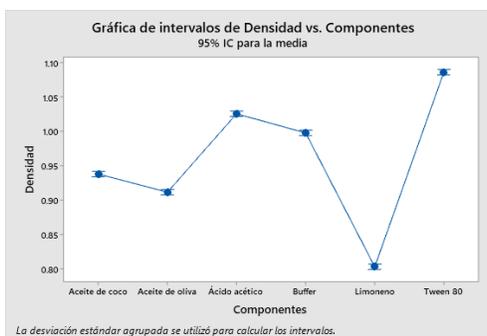
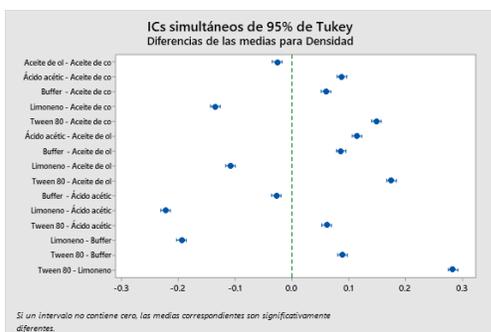
Desv.Est. agrupada = 0.00310439

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Componentes	N	Media	Agrupación
Tween 80	3	1.08633	A
Ácido acético	3	1.02553	B
Buffer	3	0.997667	C
Aceite de coco	3	0.937900	D
Aceite de oliva	3	0.911367	E
Limoneno	3	0.80270	F

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



ANOVA de un solo factor: Conductividad vs. Componentes

Método

Hipótesis nula	Todas las medias son iguales
Hipótesis alterna	No todas las medias son iguales
Nivel de significancia	$\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
Componentes	6	Aceite de coco; Aceite de oliva; Ácido acético; Buffer; Limoneno; Tween 80

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Componentes	5	2.55589	0.511178	699179.52	0.000
Error	12	0.00001	0.000001		
Total	17	2.55590			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0.0008551	100.00%	100.00%	100.00%

Medias

Componentes	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
Aceite de coco	3	0.008667	0.000115	(0.007591; 0.009742)

Aceite de oliva	3	0.000100	0.000000	(-0.000976; 0.001176)
Ácido acético	3	0.000200	0.000000	(-0.000876; 0.001276)
Buffer	3	1.01433	0.00208	(1.01326; 1.01541)
Limoneno	3	0.001200	0.000000	(0.000124; 0.002276)
Tween 80	3	0.006100	0.000200	(0.005024; 0.007176)

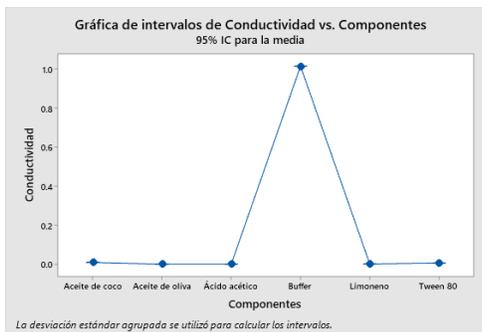
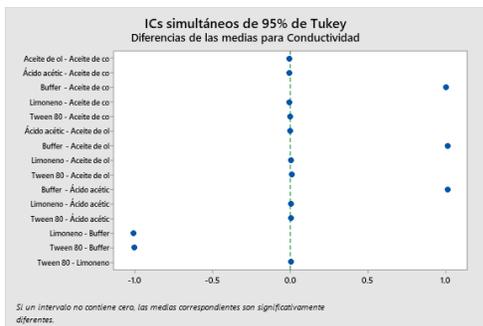
Desv.Est. agrupada = 0.000855050

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Componentes	N	Media	Agrupación
Buffer	3	1.01433	A
Aceite de coco	3	0.008667	B
Tween 80	3	0.006100	C
Limoneno	3	0.001200	D
Ácido acético	3	0.000200	D
Aceite de oliva	3	0.000100	D

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



ANOVA de un solo factor: G´ Modulo elástico (Pa) vs. Componentes

Método

Hipótesis nula	Todas las medias son iguales
Hipótesis alterna	No todas las medias son iguales
Nivel de significancia	$\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
Componentes	6	Aceite de coco; Aceite de oliva; Ácido acético; Buffer; Limoneno; Tween 80

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Componentes	5	0.41882	0.083764	10.11	0.001
Error	12	0.09945	0.008288		
Total	17	0.51828			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0.0910373	80.81%	72.82%	56.82%

Medias

Componentes	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
Aceite de coco	3	0.8613	0.0309	(0.7468; 0.9759)
Aceite de oliva	3	0.6644	0.0392	(0.5498; 0.7789)
Ácido acético	3	0.96997	0.00779	(0.85545; 1.08449)
Buffer	3	0.91823	0.00741	(0.80371; 1.03275)
Limoneno	3	1.0652	0.0998	(0.9506; 1.1797)
Tween 80	3	0.650	0.193	(0.536; 0.765)

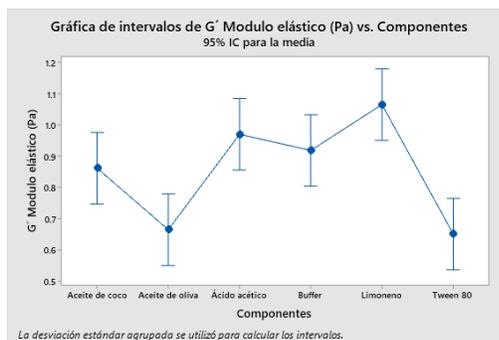
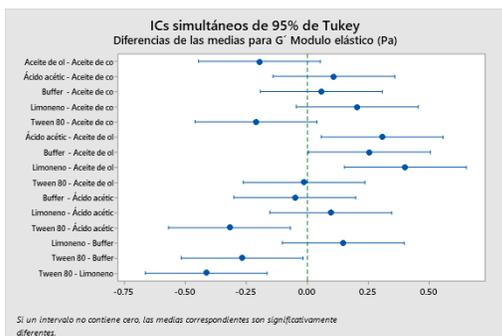
Desv.Est. agrupada = 0.0910373

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Componentes	N	Media	Agrupación
Limoneno	3	1.0652	A
Ácido acético	3	0.96997	A
Buffer	3	0.91823	A
Aceite de coco	3	0.8613	A B
Aceite de oliva	3	0.6644	B
Tween 80	3	0.650	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



ANOVA de un solo factor: G'' Modulo viscoso (Pa) vs. Componentes

Método

Hipótesis nula Todas las medias son iguales
 Hipótesis alterna No todas las medias son iguales
 Nivel de significancia $\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
Componentes	6	Aceite de coco; Aceite de oliva; Ácido acético; Buffer; Limoneno; Tween 80

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
--------	----	-----------	-----------	---------	---------

Componentes	5	1362.26	272.453	16675.48	0.000
Error	12	0.20	0.016		
Total	17	1362.46			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0.127822	99.99%	99.98%	99.97%

Medias

Componentes	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
Aceite de coco	3	1.61767	0.00907	(1.45687; 1.77846)
Aceite de oliva	3	3.18600	0.00346	(3.02521; 3.34679)
Ácido acético	3	0.629067	0.000666	(0.468274; 0.789859)
Buffer	3	0.5526	0.0183	(0.3918; 0.7134)
Limoneno	3	0.527100	0.000400	(0.366308; 0.687892)
Tween 80	3	24.510	0.312	(24.349; 24.671)

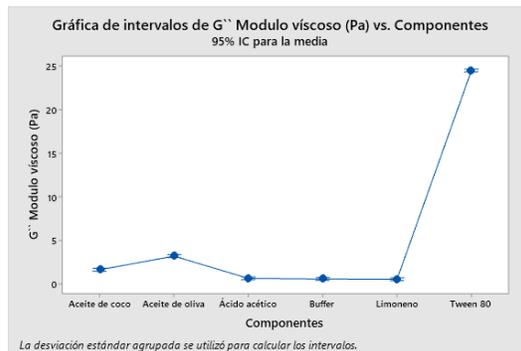
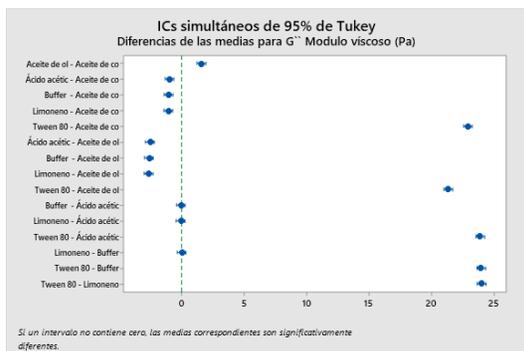
Desv.Est. agrupada = 0.127822

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Componentes	N	Media	Agrupación
Tween 80	3	24.510	A
Aceite de oliva	3	3.18600	B
Aceite de coco	3	1.61767	C
Ácido acético	3	0.629067	D
Buffer	3	0.5526	D
Limoneno	3	0.527100	D

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



ANOVA de un solo factor: Tan (delta) vs. Componentes

Método

Hipótesis nula Todas las medias son iguales
 Hipótesis alterna No todas las medias son iguales
 Nivel de significancia $\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
Componentes	6	Aceite de coco; Aceite de oliva; Ácido acético; Buffer; Limoneno; Tween 80

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Componentes	5	3795.5	759.11	39.81	0.000
Error	12	228.8	19.07		
Total	17	4024.3			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
4.36647	94.31%	91.95%	87.21%

Medias

Componentes	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
Aceite de coco	3	1.8877	0.0782	(-3.6051; 7.3804)
Aceite de oliva	3	4.831	0.274	(-0.661; 10.324)
Ácido acético	3	0.65137	0.00683	(-4.84139; 6.14412)
Buffer	3	0.5923	0.0342	(-4.9004; 6.0851)
Limoneno	3	0.4999	0.0468	(-4.9929; 5.9927)
Tween 80	3	40.45	10.69	(34.95; 45.94)

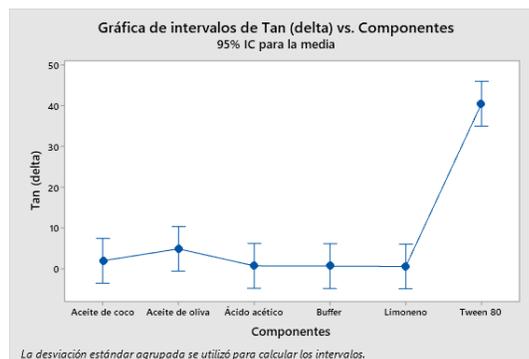
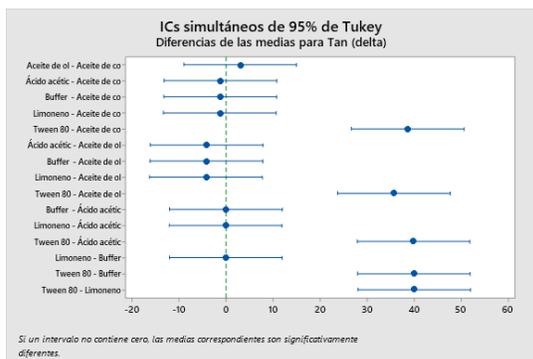
Desv.Est. agrupada = 4.36647

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Componentes	N	Media	Agrupación
Tween 80	3	40.45	A
Aceite de oliva	3	4.831	B
Aceite de coco	3	1.8877	B
Ácido acético	3	0.65137	B
Buffer	3	0.5923	B
Limoneno	3	0.4999	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



ANOVA de un solo factor: Angulo de fase delta vs. Componentes

Método

Hipótesis nula Todas las medias son iguales
 Hipótesis alterna No todas las medias son iguales
 Nivel de significancia $\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
Componentes	6	Aceite de coco; Aceite de oliva; Ácido acético; Buffer; Limoneno; Tween 80

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Componentes	5	10668.8	2133.75	1835.78	0.000
Error	12	13.9	1.16		
Total	17	10682.7			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
1.07811	99.87%	99.82%	99.71%

Medias

Componentes	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
Aceite de coco	3	61.997	0.983	(60.640; 63.353)
Aceite de oliva	3	78.230	0.664	(76.874; 79.586)
Ácido acético	3	33.033	0.257	(31.677; 34.390)
Buffer	3	31.107	0.841	(29.750; 32.463)
Limoneno	3	26.50	2.14	(25.14; 27.86)
Tween 80	3	88.480	0.462	(87.124; 89.836)

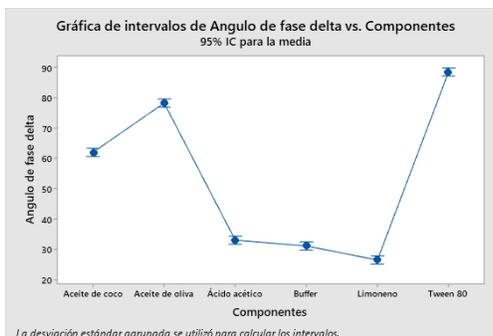
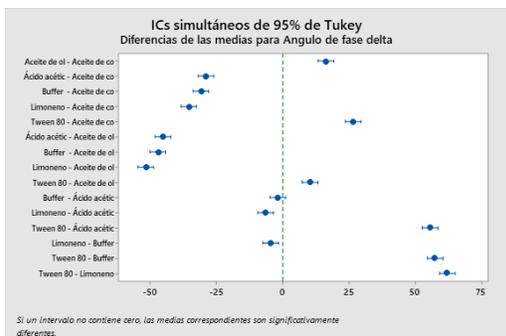
Desv.Est. agrupada = 1.07811

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Componentes	N	Media	Agrupación
Tween 80	3	88.480	A
Aceite de oliva	3	78.230	B
Aceite de coco	3	61.997	C
Ácido acético	3	33.033	D
Buffer	3	31.107	D
Limoneno	3	26.50	E

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



ANOVA de un solo factor: Microemulsión 18 vs. Turbidez con cada tratamiento (termoestabilidad)

Método

Hipótesis nula Todas las medias son iguales
 Hipótesis alterna No todas las medias son iguales
 Nivel de significancia $\alpha = 0.05$
 Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
Turbidez/ Microemulsión	4	Agitación; Calentamiento; Sin tratamiento; Ultrasonido

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Turbidez/ Microemulsión	3	0.002592	0.000864	21.10	0.000
Error	8	0.000328	0.000041		
Total	11	0.002920			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0.0063992	88.78%	84.57%	74.76%

Medias

Turbidez/ Microemulsión	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
Agitación	3	0.13559	0.00768	(0.12707; 0.14411)
Calentamiento	3	0.12450	0.00532	(0.11598; 0.13302)
Sin tratamiento	3	0.11590	0.00393	(0.10738; 0.12442)
Ultrasonido	3	0.15520	0.00782	(0.14668; 0.16372)

Desv.Est. agrupada = 0.00639920

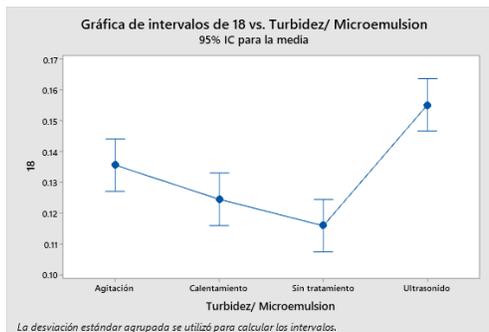
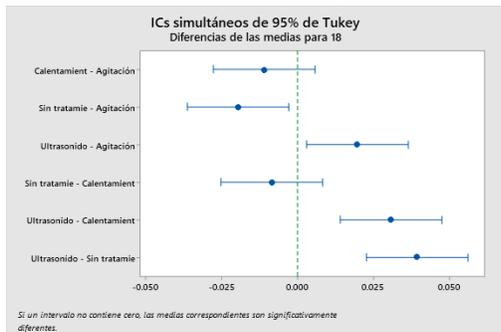
Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Turbidez/

Microemulsion	N	Media	Agrupación
Ultrasonido	3	0.15520	A
Agitación	3	0.13559	B
Calentamiento	3	0.12450	B C
Sin tratamiento	3	0.11590	C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



ANOVA de un solo factor: Microemulsión 32 vs. Turbidez con cada tratamiento (termoestabilidad)

Método

Hipótesis nula Todas las medias son iguales
 Hipótesis alterna No todas las medias son iguales
 Nivel de significancia $\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
Turbidez/ Microemulsion	4	Agitación; Calentamiento; Sin tratamiento; Ultrasonido

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Turbidez/ Microemulsion	3	0.002160	0.000720	6.63	0.015
Error	8	0.000868	0.000109		
Total	11	0.003028			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0.0104177	71.33%	60.58%	35.49%

Medias

Turbidez/ Microemulsion	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
Agitación	3	0.13644	0.01542	(0.12257; 0.15031)
Calentamiento	3	0.12877	0.00822	(0.11490; 0.14264)
Sin tratamiento	3	0.11853	0.00391	(0.10466; 0.13240)
Ultrasonido	3	0.15521	0.01065	(0.14134; 0.16908)

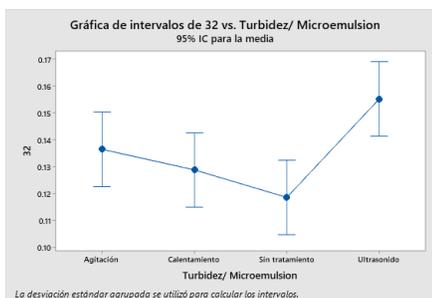
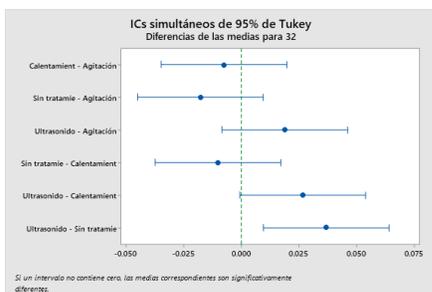
Desv.Est. agrupada = 0.0104177

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Turbidez/ Microemulsion	N	Media	Agrupación
Ultrasonido	3	0.15521	A
Agitación	3	0.13644	A B
Calentamiento	3	0.12877	B
Sin tratamiento	3	0.11853	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



ANOVA de un solo factor: Microemulsión 39 vs. Turbidez con cada tratamiento (termoestabilidad)

Método

Hipótesis nula Todas las medias son iguales
 Hipótesis alterna No todas las medias son iguales
 Nivel de significancia $\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
Turbidez/ Microemulsion	4	Agitación; Calentamiento; Sin tratamiento; Ultrasonido

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Turbidez/ Microemulsion	3	0.000162	0.000054	0.30	0.827
Error	8	0.001453	0.000182		
Total	11	0.001615			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0.0134766	10.01%	0.00%	0.00%

Medias

Turbidez/ Microemulsion	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
Agitación	3	0.15009	0.01288	(0.13214; 0.16803)
Calentamiento	3	0.15435	0.01409	(0.13641; 0.17230)
Sin tratamiento	3	0.14838	0.00922	(0.13044; 0.16633)
Ultrasonido	3	0.15777	0.01665	(0.13982; 0.17571)

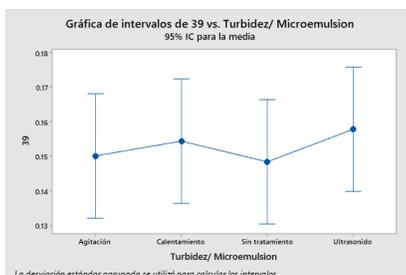
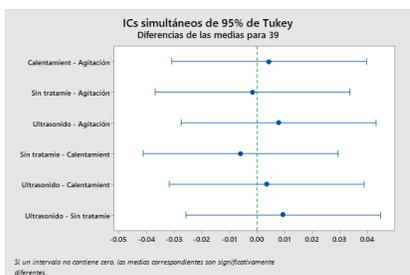
Desv.Est. agrupada = 0.0134766

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Turbidez/ Microemulsion	N	Media	Agrupación
Ultrasonido	3	0.15777	A
Calentamiento	3	0.15435	A
Agitación	3	0.15009	A
Sin tratamiento	3	0.14838	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



ANOVA de un solo factor: Microemulsión 44 vs. Turbidez con cada tratamiento (termoestabilidad)

Método

Hipótesis nula Todas las medias son iguales
 Hipótesis alterna No todas las medias son iguales
 Nivel de significancia $\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
Turbidez/ Microemulsion	4	Agitación; Calentamiento; Sin tratamiento; Ultrasonido

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Turbidez/ Microemulsion	3	0.000713	0.000238	3.03	0.094
Error	8	0.000628	0.000079		
Total	11	0.001341			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0.0088622	53.15%	35.59%	0.00%

Medias

Turbidez/ Microemulsion	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
Agitación	3	0.17738	0.01455	(0.16558; 0.18918)
Calentamiento	3	0.18079	0.00391	(0.16899; 0.19259)
Sin tratamiento	3	0.17056	0.00644	(0.15876; 0.18236)
Ultrasonido	3	0.19188	0.00677	(0.18008; 0.20368)

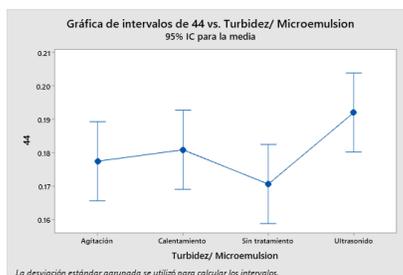
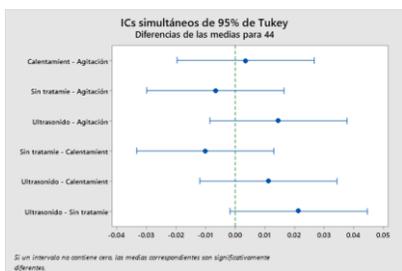
Desv.Est. agrupada = 0.00886221

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Turbidez/ Microemulsion	N	Media	Agrupación
Ultrasonido	3	0.19188	A
Calentamiento	3	0.18079	A
Agitación	3	0.17738	A
Sin tratamiento	3	0.17056	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



ANOVA de un solo factor: Microemulsión 47 vs. Turbidez con cada tratamiento (termoestabilidad)

Método

Hipótesis nula Todas las medias son iguales
 Hipótesis alterna No todas las medias son iguales
 Nivel de significancia $\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
Turbidez/ Microemulsion	4	Agitación; Calentamiento; Sin tratamiento; Ultrasonido

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Turbidez/ Microemulsion	3	0.000388	0.000129	0.89	0.485
Error	8	0.001160	0.000145		
Total	11	0.001549			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0.0120433	25.08%	0.00%	0.00%

Medias

Turbidez/ Microemulsion	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
Agitación	3	0.13303	0.00923	(0.11700; 0.14907)
Calentamiento	3	0.12706	0.01262	(0.11103; 0.14310)
Sin tratamiento	3	0.12024	0.01172	(0.10421; 0.13627)
Ultrasonido	3	0.13474	0.01409	(0.11871; 0.15077)

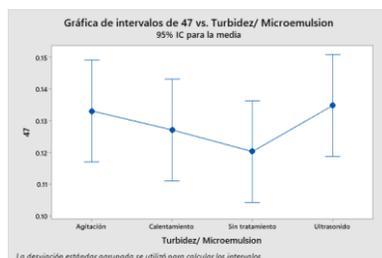
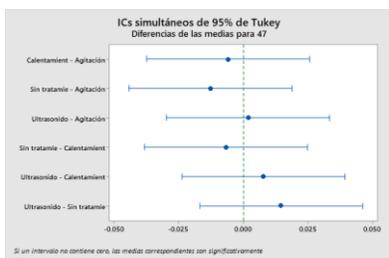
Desv.Est. agrupada = 0.0120433

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Turbidez/ Microemulsion	N	Media Agrupación
Ultrasonido	3	0.13474 A
Agitación	3	0.13303 A
Calentamiento	3	0.12706 A
Sin tratamiento	3	0.12024 A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



ANOVA de un solo factor: Microemulsión 53 vs. Turbidez con cada tratamiento (termoestabilidad)

Método

Hipótesis nula Todas las medias son iguales
 Hipótesis alterna No todas las medias son iguales
 Nivel de significancia $\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
Turbidez/ Microemulsion	4	Agitación; Calentamiento; Sin tratamiento; Ultrasonido

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Turbidez/ Microemulsion	3	0.004572	0.001524	0.79	0.532
Error	8	0.015417	0.001927		
Total	11	0.019990			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0.0438995	22.87%	0.00%	0.00%

Medias

Turbidez/ Microemulsion	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
Agitación	3	0.16459	0.01065	(0.10614; 0.22304)
Calentamiento	3	0.1141	0.0863	(0.0557; 0.1725)
Sin tratamiento	3	0.14412	0.00644	(0.08567; 0.20257)
Ultrasonido	3	0.15862	0.01024	(0.10017; 0.21706)

Desv.Est. agrupada = 0.0438995

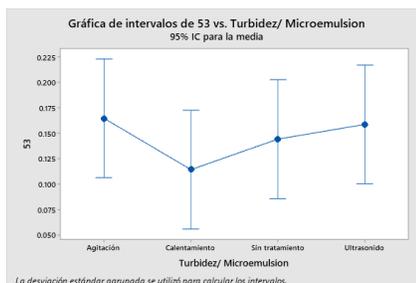
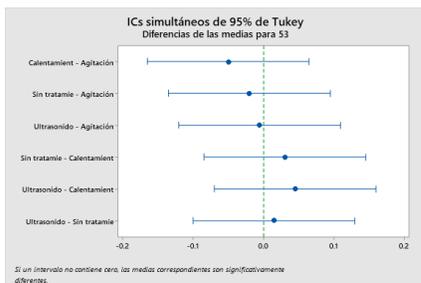
Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Turbidez/

Microemulsion	N	Media Agrupación
Agitación	3	0.16459 A
Ultrasonido	3	0.15862 A
Sin tratamiento	3	0.14412 A
Calentamiento	3	0.1141 A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



ANOVA de un solo factor: Microemulsión 55 vs. Turbidez con cada tratamiento (termoestabilidad)

Método

Hipótesis nula Todas las medias son iguales
 Hipótesis alterna No todas las medias son iguales
 Nivel de significancia $\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles Valores
Turbidez/ Microemulsion	4 Agitación; Calentamiento; Sin tratamiento; Ultrasonido

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Turbidez/ Microemulsion	3	0.000877	0.000292	6.87	0.013
Error	8	0.000340	0.000043		
Total	11	0.001217			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0.0065222	72.04%	61.56%	37.10%

Medias

Turbidez/ Microemulsion	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
Agitación	3	0.16373	0.00677	(0.15505; 0.17242)
Calentamiento	3	0.15180	0.00899	(0.14311; 0.16048)
Sin tratamiento	3	0.14412	0.00533	(0.13544; 0.15280)
Ultrasonido	3	0.16459	0.00391	(0.15590; 0.17327)

Desv.Est. agrupada = 0.00652217

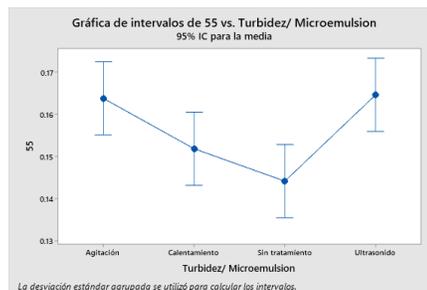
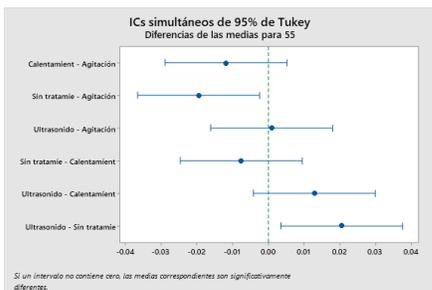
Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Turbidez/

Microemulsion	N	Media	Agrupación
Ultrasonido	3	0.16459	A
Agitación	3	0.16373	A
Calentamiento	3	0.15180	B
Sin tratamiento	3	0.14412	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



ANOVA de un solo factor: Microemulsión 56 vs. Turbidez con cada tratamiento (termoestabilidad)

Método

Hipótesis nula Todas las medias son iguales
 Hipótesis alterna No todas las medias son iguales
 Nivel de significancia $\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
Turbidez/ Microemulsion	4	Agitación; Calentamiento; Sin tratamiento; Ultrasonido

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Turbidez/ Microemulsion	3	0.001630	0.000543	20.33	0.000
Error	8	0.000214	0.000027		
Total	11	0.001844			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0.0051698	88.40%	84.05%	73.91%

Medias

Turbidez/ Microemulsion	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
Agitación	3	0.14327	0.00677	(0.13638; 0.15015)
Calentamiento	3	0.13133	0.00532	(0.12444; 0.13821)
Sin tratamiento	3	0.12280	0.00512	(0.11592; 0.12968)
Ultrasonido	3	0.15350	0.00256	(0.14662; 0.16038)

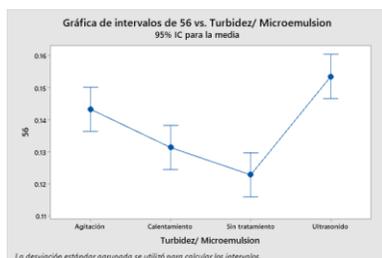
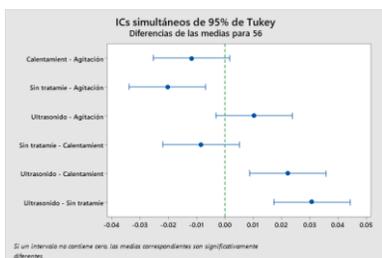
Desv.Est. agrupada = 0.00516976

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Turbidez/ Microemulsion	N	Media	Agrupación
Ultrasonido	3	0.15350	A
Agitación	3	0.14327	A B
Calentamiento	3	0.13133	B C
Sin tratamiento	3	0.12280	C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



ANOVA de un solo factor: Microemulsión 18 vs. pH con cada tratamiento (termoestabilidad)

Método

Hipótesis nula Todas las medias son iguales
 Hipótesis alterna No todas las medias son iguales
 Nivel de significancia $\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
pH	4	Agitación; Calentamiento; Sin tratamiento; Ultrasonido

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
pH	3	0.001025	0.000342	2.28	0.157
Error	8	0.001200	0.000150		
Total	11	0.002225			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0.0122474	46.07%	25.84%	0.00%

Medias

pH	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
Agitación	3	0.87333	0.00577	(0.85703; 0.88964)
Calentamiento	3	0.85333	0.00577	(0.83703; 0.86964)
Sin tratamiento	3	0.8533	0.0208	(0.8370; 0.8696)
Ultrasonido	3	0.87000	0.01000	(0.85369; 0.88631)

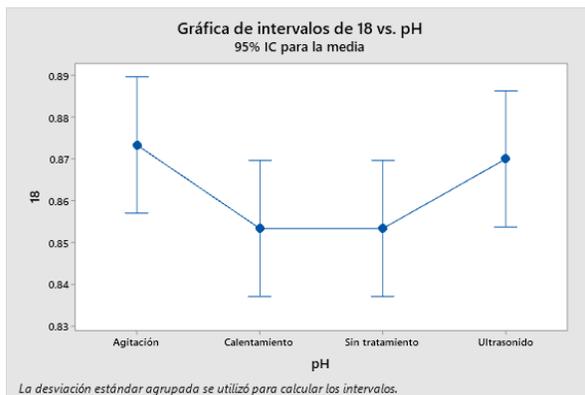
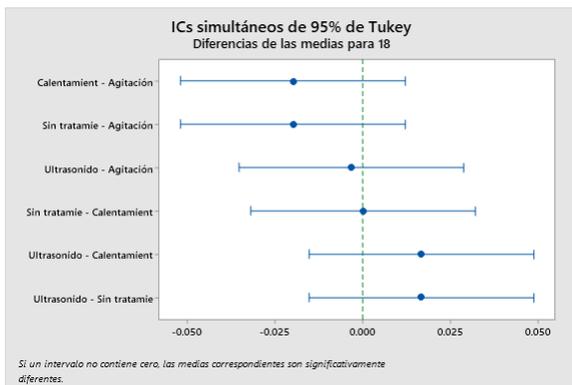
Desv.Est. agrupada = 0.0122474

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

pH	N	Media	Agrupación
Agitación	3	0.87333	A
Ultrasonido	3	0.87000	A
Sin tratamiento	3	0.85333	A
Calentamiento	3	0.85333	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



ANOVA de un solo factor: Microemulsión 32 vs. pH con cada tratamiento (termoestabilidad)

Método

Hipótesis nula Todas las medias son iguales
 Hipótesis alterna No todas las medias son iguales
 Nivel de significancia $\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
pH	4	Agitación; Calentamiento; Sin tratamiento; Ultrasonido

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
pH	3	0.000092	0.000031	0.24	0.863
Error	8	0.001000	0.000125		
Total	11	0.001092			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0.0111803	8.40%	0.00%	0.00%

Medias

pH	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
Agitación	3	0.76333	0.01155	(0.74845; 0.77822)
Calentamiento	3	0.75667	0.00577	(0.74178; 0.77155)
Sin tratamiento	3	0.75667	0.01528	(0.74178; 0.77155)
Ultrasonido	3	0.76000	0.01000	(0.74511; 0.77489)

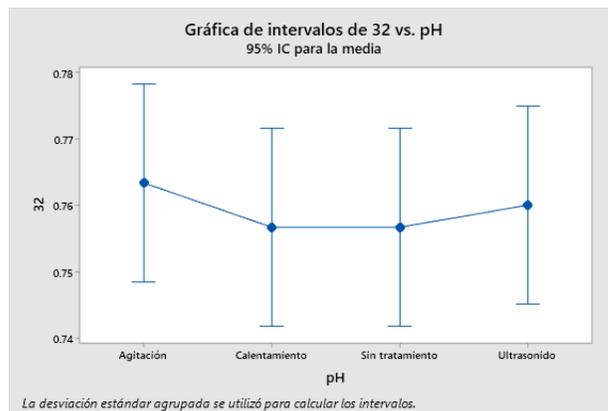
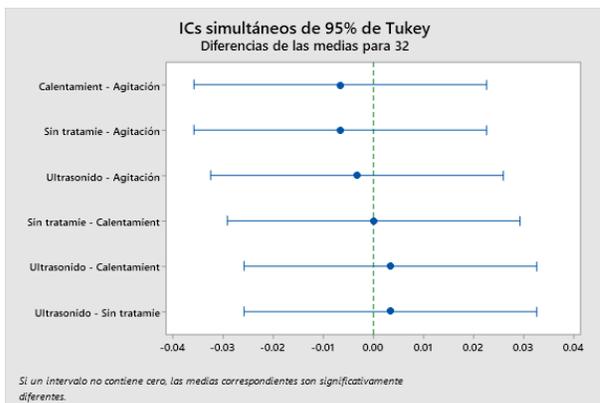
Desv.Est. agrupada = 0.011803

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

pH	N	Media	Agrupación
Agitación	3	0.76333	A
Ultrasonido	3	0.76000	A
Sin tratamiento	3	0.75667	A
Calentamiento	3	0.75667	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



ANOVA de un solo factor: Microemulsión 39 vs. pH con cada tratamiento (termoestabilidad)

Método

Hipótesis nula Todas las medias son iguales
 Hipótesis alterna No todas las medias son iguales
 Nivel de significancia $\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
pH	4	Agitación; Calentamiento; Sin tratamiento; Ultrasonido

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
pH	3	0.000625	0.000208	1.14	0.391
Error	8	0.001467	0.000183		
Total	11	0.002092			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0.0135401	29.88%	3.59%	0.00%

Medias

pH	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
Agitación	3	7.76000	0.01000	(7.74197; 7.77803)
Calentamiento	3	7.77000	0.01000	(7.75197; 7.78803)
Sin tratamiento	3	7.7567	0.0208	(7.7386; 7.7747)

Ultrasonido 3 7.75000 0.01000 (7.73197; 7.76803)

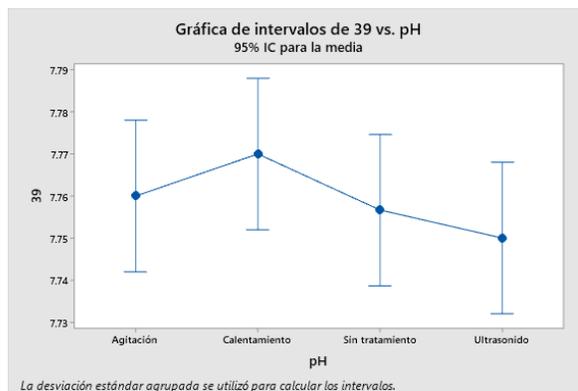
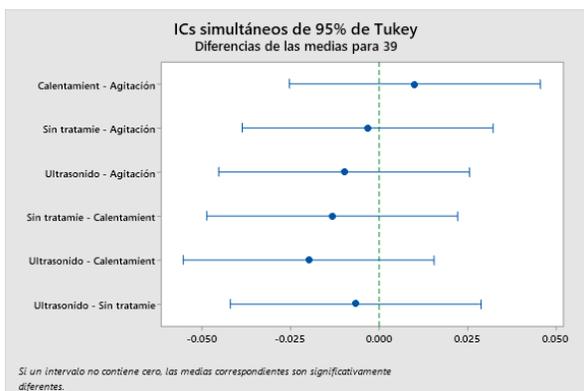
Desv.Est. agrupada = 0.0135401

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

pH	N	Media	Agrupación
Calentamiento	3	7.77000	A
Agitación	3	7.76000	A
Sin tratamiento	3	7.7567	A
Ultrasonido	3	7.75000	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



ANOVA de un solo factor: Microemulsión 44 vs. pH con cada tratamiento (termoestabilidad)

Método

Hipótesis nula Todas las medias son iguales
 Hipótesis alterna No todas las medias son iguales
 Nivel de significancia $\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
pH	4	Agitación; Calentamiento; Sin tratamiento; Ultrasonido

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
pH	3	0.000133	0.000044	0.31	0.815
Error	8	0.001133	0.000142		
Total	11	0.001267			

Resumen del modelo

S	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0.0119024	10.53%	0.00%

Medias

pH	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
Agitación	3	5.89667	0.01528	(5.88082; 5.91251)

Calentamiento	3	5.89000	0.01000	(5.87415; 5.90585)
Sin tratamiento	3	5.89667	0.01155	(5.88082; 5.91251)
Ultrasonido	3	5.89000	0.01000	(5.87415; 5.90585)

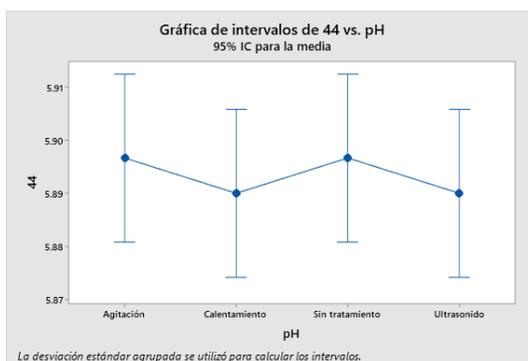
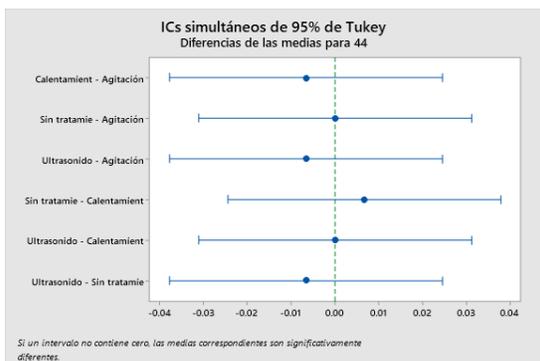
Desv.Est. agrupada = 0.0119024

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

pH	N	Media	Agrupación
Sin tratamiento	3	5.89667	A
Agitación	3	5.89667	A
Calentamiento	3	5.89000	A
Ultrasonido	3	5.89000	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



ANOVA de un solo factor: Microemulsión 47 vs. pH con cada tratamiento (termoestabilidad)

Método

Hipótesis nula Todas las medias son iguales
 Hipótesis alterna No todas las medias son iguales
 Nivel de significancia $\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
pH	4	Agitación; Calentamiento; Sin tratamiento; Ultrasonido

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
pH	3	0.000158	0.000053	0.45	0.723
Error	8	0.000933	0.000117		
Total	11	0.001092			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0.0108012	14.50%	0.00%	0.00%

Medias

pH	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
----	---	-------	-----------	-----------

Agitación	3	0.60000	0.01000	(0.58562; 0.61438)
Calentamiento	3	0.59000	0.01000	(0.57562; 0.60438)
Sin tratamiento	3	0.59333	0.01155	(0.57895; 0.60771)
Ultrasonido	3	0.59333	0.01155	(0.57895; 0.60771)

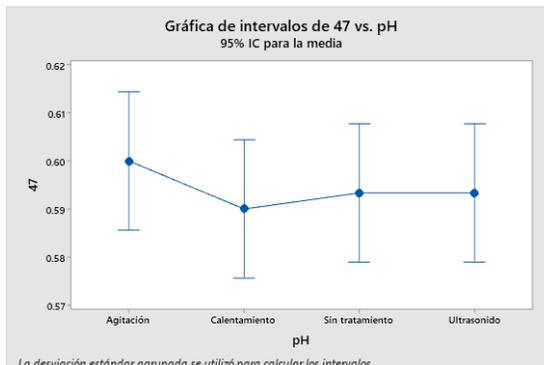
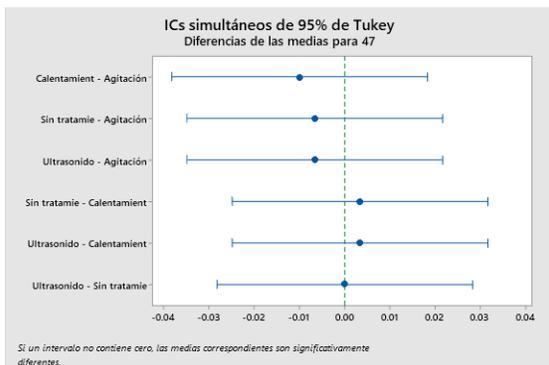
Desv.Est. agrupada = 0.0108012

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

pH	N	Media	Agrupación
Agitación	3	0.60000	A
Ultrasonido	3	0.59333	A
Sin tratamiento	3	0.59333	A
Calentamiento	3	0.59000	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



ANOVA de un solo factor: Microemulsión 53 vs. pH con cada tratamiento (termoestabilidad)

Método

Hipótesis nula Todas las medias son iguales
 Hipótesis alterna No todas las medias son iguales
 Nivel de significancia $\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
pH	4	Agitación; Calentamiento; Sin tratamiento; Ultrasonido

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
pH	3	0.000025	0.000008	0.05	0.986
Error	8	0.001467	0.000183		
Total	11	0.001492			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0.0135401	1.68%	0.00%	0.00%

Medias

pH	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
Agitación	3	0.90333	0.01528	(0.88531; 0.92136)
Calentamiento	3	0.90333	0.00577	(0.88531; 0.92136)
Sin tratamiento	3	0.90667	0.01528	(0.88864; 0.92469)
Ultrasonido	3	0.90333	0.01528	(0.88531; 0.92136)

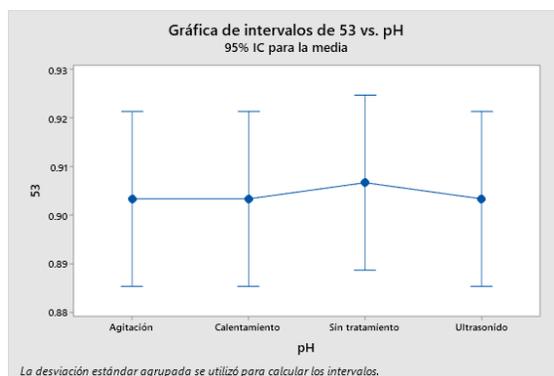
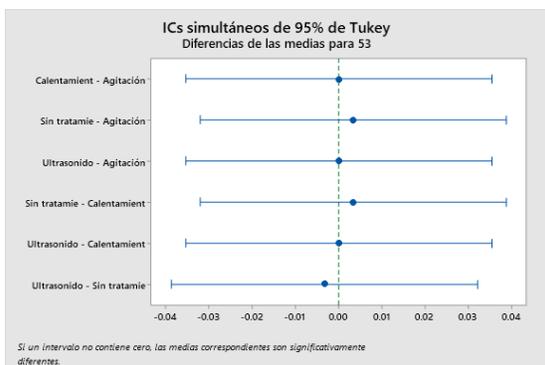
Desv.Est. agrupada = 0.0135401

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

pH	N	Media	Agrupación
Sin tratamiento	3	0.90667	A
Ultrasonido	3	0.90333	A
Calentamiento	3	0.90333	A
Agitación	3	0.90333	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



ANOVA de un solo factor: Microemulsión 55 vs. pH con cada tratamiento (termoestabilidad)

Método

Hipótesis nula Todas las medias son iguales
 Hipótesis alterna No todas las medias son iguales
 Nivel de significancia $\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
pH	4	Agitación; Calentamiento; Sin tratamiento; Ultrasonido

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
pH	3	0.000692	0.000231	2.31	0.153
Error	8	0.000800	0.000100		
Total	11	0.001492			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0.01	46.37%	26.26%	0.00%

Medias

pH	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
Agitación	3	5.21000	0.01000	(5.19669; 5.22331)
Calentamiento	3	5.20667	0.01528	(5.19335; 5.21998)
Sin tratamiento	3	5.22333	0.00577	(5.21002; 5.23665)
Ultrasonido	3	5.22333	0.00577	(5.21002; 5.23665)

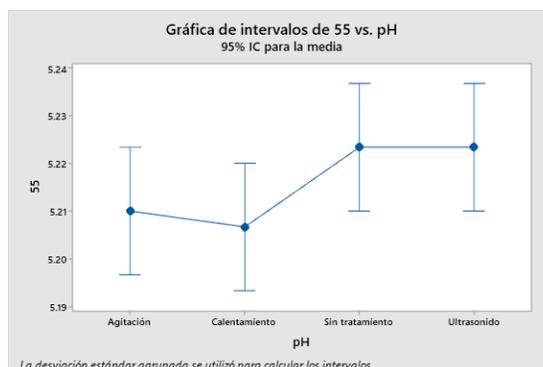
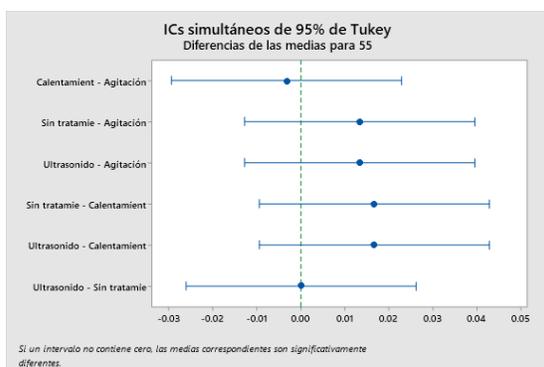
Desv.Est. agrupada = 0.01

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

pH	N	Media	Agrupación
Ultrasonido	3	5.22333	A
Sin tratamiento	3	5.22333	A
Agitación	3	5.21000	A
Calentamiento	3	5.20667	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



ANOVA de un solo factor: Microemulsión 56 vs. pH con cada tratamiento (termoestabilidad)

Método

Hipótesis nula Todas las medias son iguales
 Hipótesis alterna No todas las medias son iguales
 Nivel de significancia $\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
pH	4	Agitación; Calentamiento; Sin tratamiento; Ultrasonido

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
pH	3	0.000225	0.000075	0.90	0.482
Error	8	0.000667	0.000083		
Total	11	0.000892			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0.0091287	25.23%	0.00%	0.00%

Medias

pH	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
Agitación	3	0.70000	0.01000	(0.68785; 0.71215)
Calentamiento	3	0.69000	0.01000	(0.67785; 0.70215)
Sin tratamiento	3	0.69000	0.01000	(0.67785; 0.70215)
Ultrasonido	3	0.69667	0.00577	(0.68451; 0.70882)

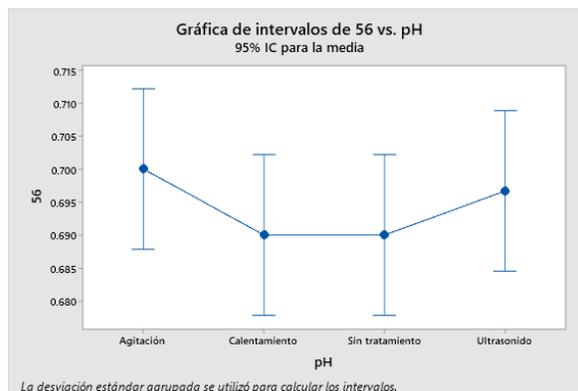
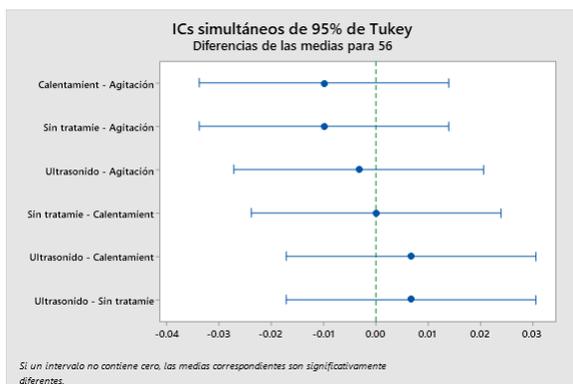
Desv.Est. agrupada = 0.00912871

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

pH	N	Media	Agrupación
Agitación	3	0.70000	A
Ultrasonido	3	0.69667	A
Sin tratamiento	3	0.69000	A
Calentamiento	3	0.69000	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



ANOVA de un solo factor: Microemulsión 18 vs. Conductividad con cada tratamiento (termoestabilidad)

Método

Hipótesis nula Todas las medias son iguales
 Hipótesis alterna No todas las medias son iguales
 Nivel de significancia $\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
Conductividad	4	Agitación; Calentamiento; Sin tratamiento; Ultrasonido

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Conductividad	3	0.000053	0.000018	0.26	0.855
Error	8	0.000548	0.000069		
Total	11	0.000601			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0.0082765	8.77%	0.00%	0.00%

Medias

Conductividad	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
Agitación	3	1.09333	0.01155	(1.08231; 1.10435)
Calentamiento	3	1.09567	0.00379	(1.08465; 1.10669)
Sin tratamiento	3	1.09433	0.00513	(1.08331; 1.10535)
Ultrasonido	3	1.09000	0.01000	(1.07898; 1.10102)

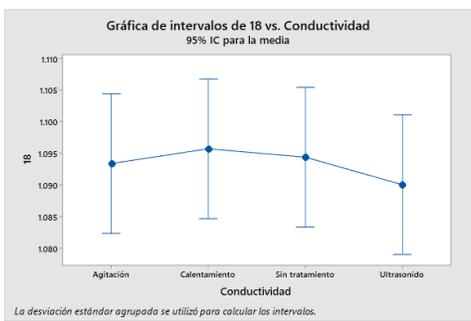
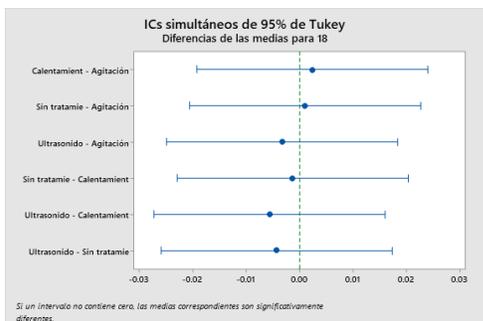
Desv.Est. agrupada = 0.00827647

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Conductividad	N	Media	Agrupación
Calentamiento	3	1.09567	A
Sin tratamiento	3	1.09433	A
Agitación	3	1.09333	A
Ultrasonido	3	1.09000	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



ANOVA de un solo factor: Microemulsión 32 vs. Conductividad con cada tratamiento (termoestabilidad)

Método

Hipótesis nula Todas las medias son iguales
 Hipótesis alterna No todas las medias son iguales
 Nivel de significancia $\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles Valores
Conductividad	4 Agitación; Calentamiento; Sin tratamiento; Ultrasonido

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Conductividad	3	0.000318	0.000106	0.85	0.502
Error	8	0.000993	0.000124		
Total	11	0.001311			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0.0111393	24.28%	0.00%	0.00%

Medias

Conductividad	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
Agitación	3	1.10767	0.00115	(1.09284; 1.12250)
Calentamiento	3	1.10767	0.00058	(1.09284; 1.12250)
Sin tratamiento	3	1.0957	0.0222	(1.0808; 1.1105)
Ultrasonido	3	1.10733	0.00058	(1.09250; 1.12216)

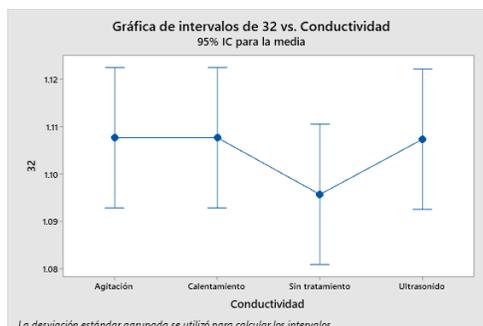
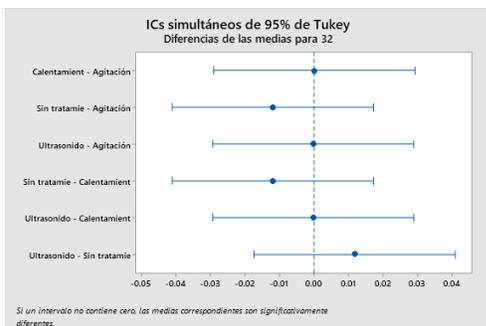
Desv.Est. agrupada = 0.0111393

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Conductividad	N	Media	Agrupación
Agitación	3	1.10767	A
Calentamiento	3	1.10767	A
Ultrasonido	3	1.10733	A
Sin tratamiento	3	1.0957	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



ANOVA de un solo factor: Microemulsión 39 vs. Conductividad con cada tratamiento (termoestabilidad)

Método

Hipótesis nula Todas las medias son iguales
 Hipótesis alterna No todas las medias son iguales
 Nivel de significancia $\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
Conductividad	4	Agitación; Calentamiento; Sin tratamiento; Ultrasonido

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Conductividad	3	0.000492	0.000164	1.40	0.311
Error	8	0.000933	0.000117		
Total	11	0.001425			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0.0108012	34.50%	9.94%	0.00%

Medias

Conductividad	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
Agitación	3	8.49000	0.01000	(8.47562; 8.50438)
Calentamiento	3	8.50000	0.01000	(8.48562; 8.51438)
Sin tratamiento	3	8.49667	0.01528	(8.48229; 8.51105)
Ultrasonido	3	8.48333	0.00577	(8.46895; 8.49771)

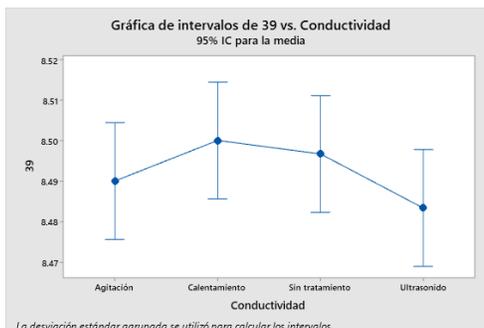
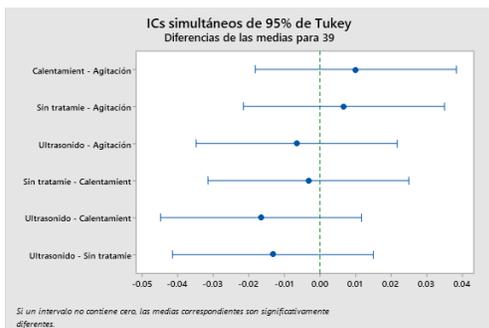
Desv.Est. agrupada = 0.0108012

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Conductividad	N	Media	Agrupación
Calentamiento	3	8.50000	A
Sin tratamiento	3	8.49667	A
Agitación	3	8.49000	A
Ultrasonido	3	8.48333	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



ANOVA de un solo factor: Microemulsión 44 vs. Conductividad con cada tratamiento (termoestabilidad)

Método

Hipótesis nula Todas las medias son iguales
 Hipótesis alterna No todas las medias son iguales
 Nivel de significancia $\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
Conductividad	4	Agitación; Calentamiento; Sin tratamiento; Ultrasonido

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Conductividad	3	0.000055	0.000018	7.29	0.011
Error	8	0.000020	0.000003		
Total	11	0.000075			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0.0015811	73.21%	63.17%	39.73%

Medias

Conductividad	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
Agitación	3	1.15900	0.00100	(1.15689; 1.16111)
Calentamiento	3	1.15433	0.00252	(1.15223; 1.15644)
Sin tratamiento	3	1.15633	0.00153	(1.15423; 1.15844)
Ultrasonido	3	1.15967	0.00058	(1.15756; 1.16177)

Desv.Est. agrupada = 0.00158114

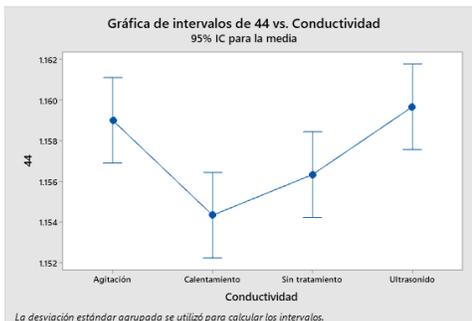
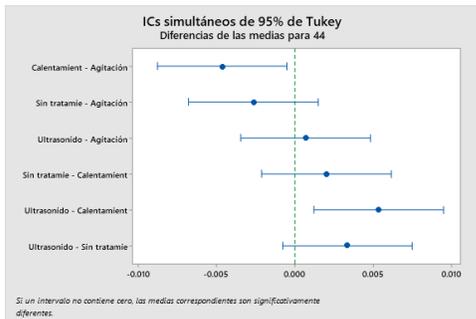
Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Conductividad	N	Media	Agrupación
Ultrasonido	3	1.15967	A
Agitación	3	1.15900	A
Sin tratamiento	3	1.15633	B

Calentamiento 3 1.15433 B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



ANOVA de un solo factor: Microemulsión 47 vs. Conductividad con cada tratamiento (termoestabilidad)

Método

Hipótesis nula Todas las medias son iguales
 Hipótesis alterna No todas las medias son iguales
 Nivel de significancia $\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
Conductividad	4	Agitación; Calentamiento; Sin tratamiento; Ultrasonido

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Conductividad	3	0.000339	0.000113	1.73	0.238
Error	8	0.000522	0.000065		
Total	11	0.000861			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0.0080777	39.37%	16.63%	0.00%

Medias

Conductividad	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
Agitación	3	1.50000	0.01000	(1.48925; 1.51075)
Calentamiento	3	1.49567	0.00513	(1.48491; 1.50642)
Sin tratamiento	3	1.49933	0.01007	(1.48858; 1.51009)
Ultrasonido	3	1.48667	0.00577	(1.47591; 1.49742)

Desv.Est. agrupada = 0.00807775

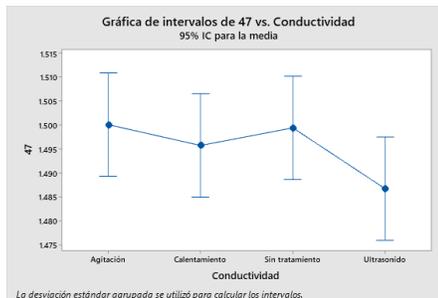
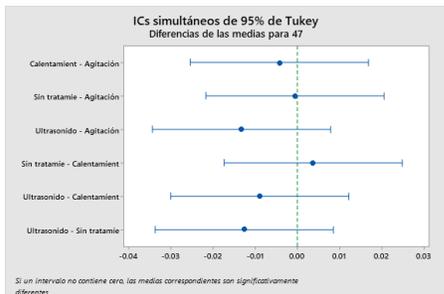
Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Conductividad	N	Media	Agrupación
---------------	---	-------	------------

Agitación	3	1.50000	A
Sin tratamiento	3	1.49933	A
Calentamiento	3	1.49567	A
Ultrasonido	3	1.48667	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



ANOVA de un solo factor: Microemulsión 53 vs. Conductividad con cada tratamiento (termoestabilidad)

Método

Hipótesis nula	Todas las medias son iguales
Hipótesis alterna	No todas las medias son iguales
Nivel de significancia	$\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
Conductividad	4	Agitación; Calentamiento; Sin tratamiento; Ultrasonido

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Conductividad	3	0.000021	0.000007	1.29	0.343
Error	8	0.000043	0.000005		
Total	11	0.000064			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0.0023274	32.56%	7.26%	0.00%

Medias

Conductividad	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
Agitación	3	1.42667	0.00153	(1.42357; 1.42977)
Calentamiento	3	1.42300	0.00200	(1.41990; 1.42610)
Sin tratamiento	3	1.42500	0.00100	(1.42190; 1.42810)
Ultrasonido	3	1.42433	0.00379	(1.42123; 1.42743)

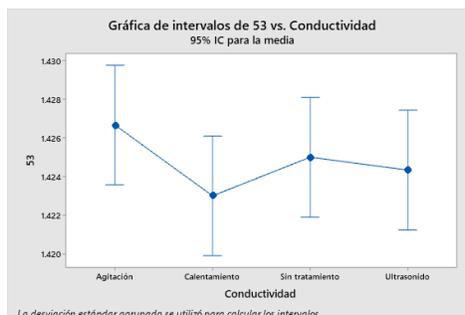
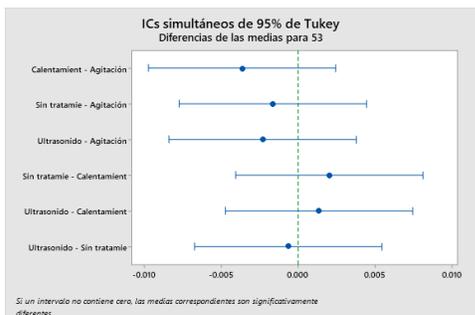
Desv.Est. agrupada = 0.00232737

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Conductividad	N	Media Agrupación
Agitación	3	1.42667 A
Sin tratamiento	3	1.42500 A
Ultrasonido	3	1.42433 A
Calentamiento	3	1.42300 A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



ANOVA de un solo factor: Microemulsión 55 vs. Conductividad con cada tratamiento (termoestabilidad)

Método

Hipótesis nula	Todas las medias son iguales
Hipótesis alterna	No todas las medias son iguales
Nivel de significancia	$\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
Conductividad	4	Agitación; Calentamiento; Sin tratamiento; Ultrasonido

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Conductividad	3	0.000004	0.000001	0.81	0.521
Error	8	0.000012	0.000001		
Total	11	0.000016			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0.0012247	23.40%	0.00%	0.00%

Medias

Conductividad	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
Agitación	3	1.16833	0.00153	(1.16670; 1.16996)
Calentamiento	3	1.16900	0.00100	(1.16737; 1.17063)
Sin tratamiento	3	1.16833	0.00153	(1.16670; 1.16996)
Ultrasonido	3	1.16967	0.00058	(1.16804; 1.17130)

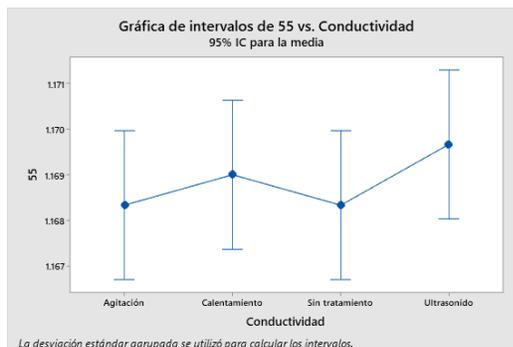
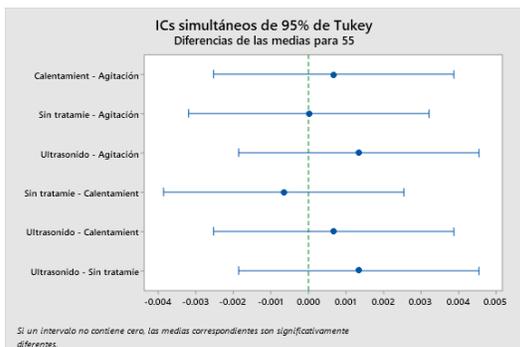
Desv.Est. agrupada = 0.00122474

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Conductividad	N	Media Agrupación
Ultrasonido	3	1.16967 A
Calentamiento	3	1.16900 A
Sin tratamiento	3	1.16833 A
Agitación	3	1.16833 A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



ANOVA de un solo factor: Microemulsión 56 vs. Conductividad con cada tratamiento (termoestabilidad)

Método

Hipótesis nula Todas las medias son iguales
 Hipótesis alterna No todas las medias son iguales
 Nivel de significancia $\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
Conductividad	4	Agitación; Calentamiento; Sin tratamiento; Ultrasonido

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Conductividad	3	0.000010	0.000003	4.30	0.044
Error	8	0.000006	0.000001		
Total	11	0.000016			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0.0008660	61.70%	47.34%	13.83%

Medias

Conductividad	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
Agitación	3	1.26733	0.00115	(1.26618; 1.26849)
Calentamiento	3	1.26967	0.00058	(1.26851; 1.27082)
Sin tratamiento	3	1.26767	0.00058	(1.26651; 1.26882)
Ultrasonido	3	1.26800	0.00100	(1.26685; 1.26915)

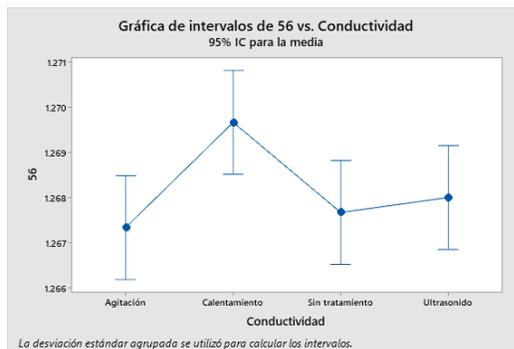
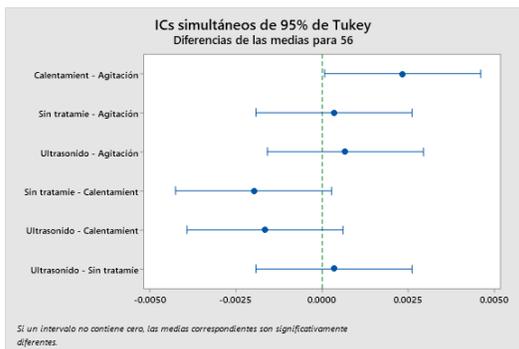
Desv.Est. agrupada = 0.000866025

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Conductividad	N	Media	Agrupación
Calentamiento	3	1.26967	A
Ultrasonido	3	1.26800	A B
Sin tratamiento	3	1.26767	B
Agitación	3	1.26733	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



ANOVA de un solo factor: Microemulsión 18 vs. Densidad con cada tratamiento (termoestabilidad)

Método

Hipótesis nula Todas las medias son iguales
 Hipótesis alterna No todas las medias son iguales
 Nivel de significancia $\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
Densidad	4	Agitación; Calentamiento; Sin tratamiento; Ultrasonido

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Densidad	3	0.000002	0.000001	0.43	0.738
Error	8	0.000014	0.000002		
Total	11	0.000016			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0.0013229	13.85%	0.00%	0.00%

Medias

Densidad	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
Agitación	3	1.05200	0.00100	(1.05024; 1.05376)
Calentamiento	3	1.05133	0.00153	(1.04957; 1.05309)
Sin tratamiento	3	1.05133	0.00115	(1.04957; 1.05309)
Ultrasonido	3	1.05233	0.00153	(1.05057; 1.05409)

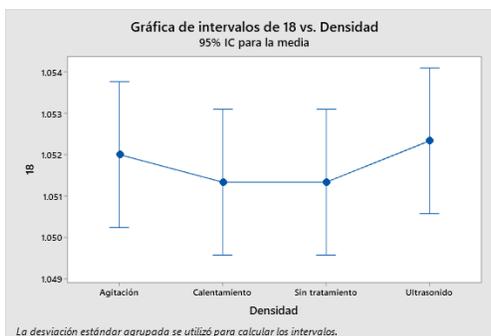
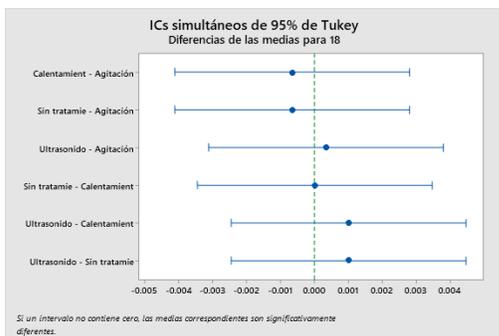
Desv.Est. agrupada = 0.00132288

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Densidad	N	Media	Agrupación
Ultrasonido	3	1.05233	A
Agitación	3	1.05200	A
Sin tratamiento	3	1.05133	A
Calentamiento	3	1.05133	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



ANOVA de un solo factor: Microemulsión 32 vs. Densidad con cada tratamiento (termoestabilidad)

Método

Hipótesis nula Todas las medias son iguales
 Hipótesis alterna No todas las medias son iguales
 Nivel de significancia $\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
Densidad	4	Agitación; Calentamiento; Sin tratamiento; Ultrasonido

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Densidad	3	0.000003	0.000001	1.20	0.370
Error	8	0.000007	0.000001		
Total	11	0.000010			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0.0009129	31.03%	5.17%	0.00%

Medias

Densidad	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
Agitación	3	1.04900	0.00100	(1.04778; 1.05022)
Calentamiento	3	1.05000	0.00100	(1.04878; 1.05122)
Sin tratamiento	3	1.04900	0.00100	(1.04778; 1.05022)
Ultrasonido	3	1.04867	0.00058	(1.04745; 1.04988)

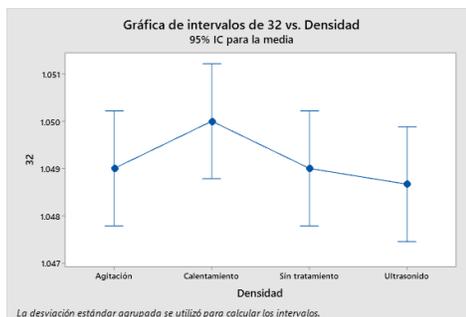
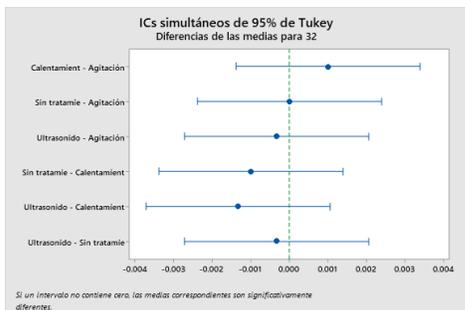
Desv.Est. agrupada = 0.000912871

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Densidad	N	Media	Agrupación
Calentamiento	3	1.05000	A
Sin tratamiento	3	1.04900	A
Agitación	3	1.04900	A
Ultrasonido	3	1.04867	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



ANOVA de un solo factor: Microemulsión 39 vs. Densidad con cada tratamiento (termoestabilidad)

Método

Hipótesis nula Todas las medias son iguales
 Hipótesis alterna No todas las medias son iguales
 Nivel de significancia $\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
Densidad	4	Agitación; Calentamiento; Sin tratamiento; Ultrasonido

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Densidad	3	0.000001	0.000000	0.43	0.740
Error	8	0.000006	0.000001		
Total	11	0.000007			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0.0008713	13.76%	0.00%	0.00%

Medias

Densidad	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
Agitación	3	1.02567	0.00058	(1.02451; 1.02683)
Calentamiento	3	1.02533	0.00115	(1.02417; 1.02649)
Sin tratamiento	3	1.02570	0.00061	(1.02454; 1.02686)
Ultrasonido	3	1.02500	0.00100	(1.02384; 1.02616)

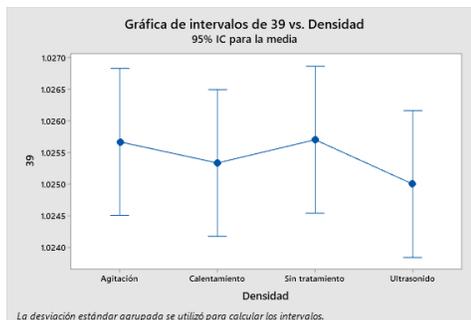
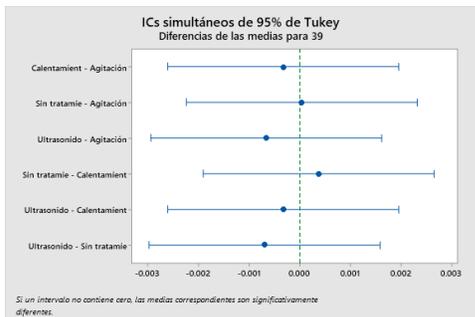
Desv.Est. agrupada = 0.000871302

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Densidad	N	Media	Agrupación
Sin tratamiento	3	1.02570	A
Agitación	3	1.02567	A
Calentamiento	3	1.02533	A
Ultrasonido	3	1.02500	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



ANOVA de un solo factor: 44 vs. Densidad con cada tratamiento (termoestabilidad)

Método

Hipótesis nula Todas las medias son iguales
 Hipótesis alterna No todas las medias son iguales
 Nivel de significancia $\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
Densidad	4	Agitación; Calentamiento; Sin tratamiento; Ultrasonido

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Densidad	3	0.000003	0.000001	0.39	0.764
Error	8	0.000020	0.000002		
Total	11	0.000023			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0.0015811	12.73%	0.00%	0.00%

Medias

Densidad	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
Agitación	3	1.02567	0.00153	(1.02356; 1.02777)
Calentamiento	3	1.02600	0.00100	(1.02389; 1.02811)
Sin tratamiento	3	1.02467	0.00208	(1.02256; 1.02677)
Ultrasonido	3	1.02533	0.00153	(1.02323; 1.02744)

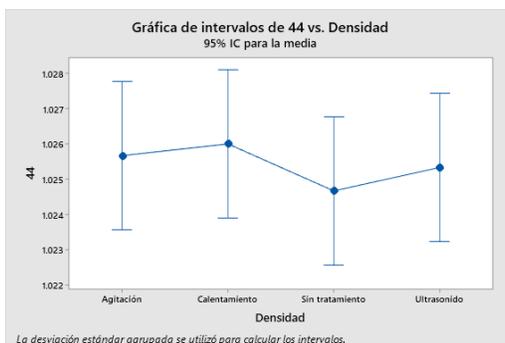
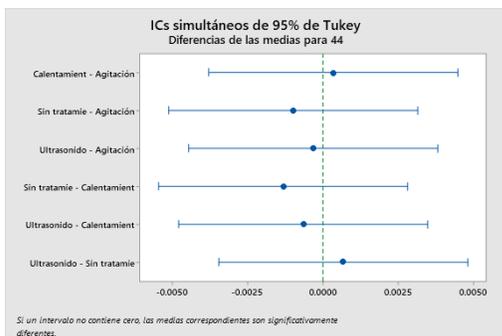
Desv.Est. agrupada = 0.00158114

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Densidad	N	Media	Agrupación
Calentamiento	3	1.02600	A
Agitación	3	1.02567	A
Ultrasonido	3	1.02533	A
Sin tratamiento	3	1.02467	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



ANOVA de un solo factor: Microemulsión 47 vs. Densidad con cada tratamiento (termoestabilidad)

Método

Hipótesis nula Todas las medias son iguales
 Hipótesis alterna No todas las medias son iguales
 Nivel de significancia $\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
Densidad	4	Agitación; Calentamiento; Sin tratamiento; Ultrasonido

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Densidad	3	0.000001	0.000000	0.13	0.937
Error	8	0.000020	0.000003		
Total	11	0.000021			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0.0015811	4.76%	0.00%	0.00%

Medias

Densidad	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
Agitación	3	1.03433	0.00153	(1.03223; 1.03644)
Calentamiento	3	1.03433	0.00153	(1.03223; 1.03644)
Sin tratamiento	3	1.03433	0.00208	(1.03223; 1.03644)
Ultrasonido	3	1.03500	0.00100	(1.03289; 1.03711)

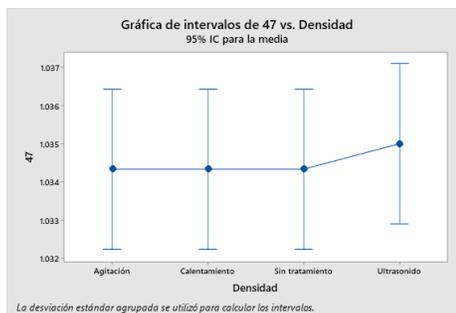
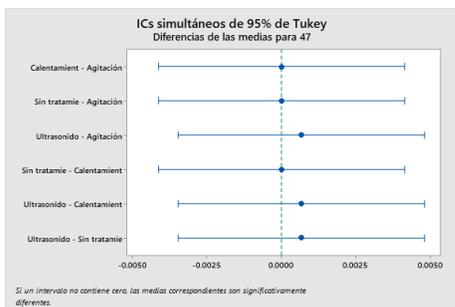
Desv.Est. agrupada = 0.00158114

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Densidad	N	Media	Agrupación
Ultrasonido	3	1.03500	A
Sin tratamiento	3	1.03433	A
Calentamiento	3	1.03433	A
Agitación	3	1.03433	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



ANOVA de un solo factor: Microemulsión 53 vs. Densidad con cada tratamiento (termoestabilidad)

Método

Hipótesis nula Todas las medias son iguales
 Hipótesis alterna No todas las medias son iguales
 Nivel de significancia $\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
Densidad	4	Agitación; Calentamiento; Sin tratamiento; Ultrasonido

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Densidad	3	0.000017	0.000006	4.44	0.041
Error	8	0.000010	0.000001		
Total	11	0.000027			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0.0011180	62.50%	48.44%	15.62%

Medias

Densidad	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
Agitación	3	1.03267	0.00058	(1.03118; 1.03416)
Calentamiento	3	1.03000	0.00100	(1.02851; 1.03149)
Sin tratamiento	3	1.03033	0.00153	(1.02884; 1.03182)
Ultrasonido	3	1.03233	0.00115	(1.03084; 1.03382)

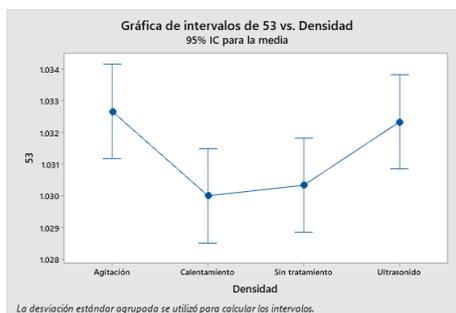
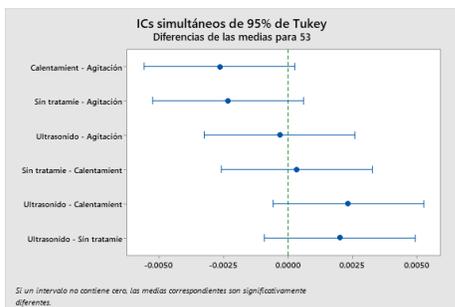
Desv.Est. agrupada = 0.00111803

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Densidad	N	Media	Agrupación
Agitación	3	1.03267	A
Ultrasonido	3	1.03233	A
Sin tratamiento	3	1.03033	A
Calentamiento	3	1.03000	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



ANOVA de un solo factor: Microemulsión 55 vs. Densidad con cada tratamiento (termoestabilidad)

Método

Hipótesis nula Todas las medias son iguales
 Hipótesis alterna No todas las medias son iguales
 Nivel de significancia $\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
Densidad	4	Agitación; Calentamiento; Sin tratamiento; Ultrasonido

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Densidad	3	0.000002	0.000001	1.29	0.344
Error	8	0.000005	0.000001		
Total	11	0.000007			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0.0007638	32.53%	7.23%	0.00%

Medias

Densidad	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
Agitación	3	1.00433	0.00115	(1.00332; 1.00535)
Calentamiento	3	1.00333	0.00058	(1.00232; 1.00435)
Sin tratamiento	3	1.00367	0.00058	(1.00265; 1.00468)
Ultrasonido	3	1.00433	0.00058	(1.00332; 1.00535)

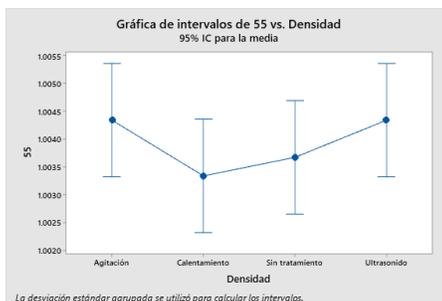
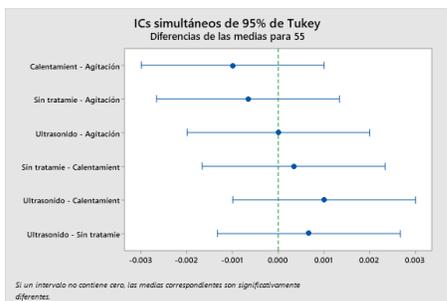
Desv.Est. agrupada = 0.000763763

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Densidad	N	Media	Agrupación
Ultrasonido	3	1.00433	A
Agitación	3	1.00433	A
Sin tratamiento	3	1.00367	A
Calentamiento	3	1.00333	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



ANOVA de un solo factor: Microemulsión 56 vs. Densidad con cada tratamiento (termoestabilidad)

Método

Hipótesis nula Todas las medias son iguales
 Hipótesis alterna No todas las medias son iguales
 Nivel de significancia $\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
Densidad	4	Agitación; Calentamiento; Sin tratamiento; Ultrasonido

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Densidad	3	0.000007	0.000002	2.31	0.153
Error	8	0.000008	0.000001		
Total	11	0.000015			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0.001	46.37%	26.26%	0.00%

Medias

Densidad	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
Agitación	3	1.04467	0.00115	(1.04334; 1.04600)
Calentamiento	3	1.04500	0.00100	(1.04367; 1.04633)
Sin tratamiento	3	1.04433	0.00058	(1.04300; 1.04566)
Ultrasonido	3	1.04633	0.00115	(1.04500; 1.04766)

Desv.Est. agrupada = 0.001

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Densidad	N	Media	Agrupación
Ultrasonido	3	1.04633	A
Calentamiento	3	1.04500	A
Agitación	3	1.04467	A
Sin tratamiento	3	1.04433	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

