

UNIVERSIDAD DE SONORA
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO EN ALIMENTOS
Programa de Posgrado en Ciencias y Tecnología de Alimentos

**Estudio de las Propiedades Físicoquímicas y Reológicas de Suspensiones
de Gluten de Trigo a Partir de Un Solvente Binario para la Obtención de
Nanopartículas por Electroaspersión**

TESIS

**Como requisito parcial para obtener el grado de
MAESTRO EN CIENCIAS Y TECNOLOGÍA DE LOS
ALIMENTOS**

PRESENTA

QBC. FREDDY GIOVANNI ABARCA GARCÍA

APROBACIÓN

Estudio de las propiedades fisicoquímicas y reológicas de suspensiones de gluten de trigo a partir un solvente binario para la obtención de nanopartículas por electroaspersión



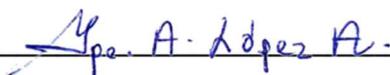
QBC. Freddy Giovanni Abarca García



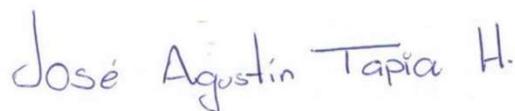
Dr. Francisco Rodríguez Félix
Director de tesis



Dra. Beatriz Montaña Leyva.
Miembro del Comité de tesis



Dra. Guadalupe Amanda Lopez Ahumada.
Miembro del Comité de tesis



Dr. José Agustín Tapia Hernández
Miembro del Comité de tesis

Hermosillo, Sonora a 8 de abril de 2022

Asunto: Cesión de derechos

**UNIVERSIDAD DE SONORA
P R E S E N T E.**

Por este conducto hago constar que soy autor y titular de la obra denominada **Estudio de las propiedades fisicoquímicas y reológicas de suspensiones de gluten de trigo a partir un solvente binario para la obtención de nanopartículas por electroaspersión**, en los sucesivo LA OBRA, realizada como trabajo terminal con el propósito de obtener el Grado de **Maestro en Ciencia y Tecnología de los Alimentos**, en virtud de lo cual autorizo a la Universidad de Sonora (UNISON) para que efectúe la divulgación, publicación, comunicación pública, distribución, distribución pública, distribución electrónica y reproducción, así como la digitalización de la misma, con fines académicos o propios de la institución y se integren a los repositorios de la universidad, estatales, regionales, nacionales e internacionales.

La UNISON se compromete a respetar en todo momento mi autoría y a otorgarme el crédito correspondiente en todas las actividades mencionadas anteriormente.

De la misma manera, manifiesto que el contenido académico, literario, la edición y en general cualquier parte de LA OBRA son de mi entera responsabilidad, por lo que deslindo a la UNISON por cualquier violación a los derechos de autor y/o propiedad intelectual y/o cualquier responsabilidad relacionada con la OBRA que cometa el suscrito frente a terceros.

A T E N T A M E N T E


LIC. GILBERTO LEÓN LEÓN
Abogado General
UNIVERSIDAD DE SONORA



Freddy Giovanni Abarca García

AGRADECIMIENTOS

Al CONACYT y al proyecto SEP-CONACYT Ref. 285445, “Estudio fisico-químico de la encapsulación de betalaínas en una matriz de gluteninas: modelado de la efectividad como biosensor de pH en alimentos” por el apoyo recibido para lograr mi tesis.

A mis profesores que conformaron parte de mi comité tutorial por su valiosa aportación a la realización de este trabajo, así como su disponibilidad. Muchas gracias.

Al Departamento de Investigación de Posgrado en Alimentos y al Laboratorio de Biorprocesos Agroalimentarios, por abrirme las puertas y brindarme la oportunidad de poder realizar mi trabajo experimental.

Así como al Departamento de Investigación en Polímeros y Materiales de la UNISON y al Departamento de Ciencias Médicas y de la Vida, Centro universitario de la Ciénega de la Universidad de Guadalajara, por su precioso apoyo en el análisis oportuno de algunas muestras en estos tiempos de pandemia.

A mis amigos de maestría Fernanda, Carlos y Uriel. Quienes hicieron de mi estancia en la maestría una oportunidad llena de satisfacciones y alegría con su compañía. En especial a ti Fernanda, en quien encontré a una amiga y una hermana. Siempre podrás contar con mi apoyo, lo poco o mucho que y tenga es tuyo de todo corazón. Gracias por compartir conmigo todos esos momentos felices.

A mi compinche de laboratorio Angel Navarrete, quien hizo más amena y llevadera mi investigación experimental durante la pandemia. Gracias.

A esas personas que ya no están aquí pero que me enseñaron a ser mejor persona y me alentaron a seguir en esta etapa de mi vida. Gracias infinitas por haber sido parte de.

Y un agradecimiento muy significativo a mi director de tesis, quien siempre estuvo pendiente de mí; por brindarme el apoyo y la confianza de hacer las cosas por mí mismo estando yo solo en el laboratorio durante la pandemia; y por siempre darme los ánimos, pese a todos los cambios que sufrió mi proyecto por causa de la pandemia, para seguir y culminar este proyecto tan importante. Muchas gracias por todo doctor.

DEDICATORIA

Primeramente quiero dedicar este trabajo a Dios. A ti te agradezco que me hayas dado vida y salud, así como la oportunidad de seguir disfrutando de mi familia y amigos en una de las etapas más difíciles de la vida como es la pandemia. Porque nunca me dejaste flaquear, ni perder la fé en los momentos más complicados de una de las etapas más importantes de mi vida.

A mis padres Yolanda García y Fredy Abarca, reciban estas palabras como un pequeño reconocimiento al esfuerzo y apoyo incondicional que me han brindado en el transcurso de mi vida. Gracias por enseñarme lo que han recogido a su paso por la vida y por darme la libertad de elegir mi futuro. Por brindarme con las manos abiertas su apoyo y confianza en mi preparación. Por que hoy recibo su más valiosa herencia.

*...y ahí estaba de nuevo,
tu escudo forjado en latón y acero,
reflejando el fuego y las sombras de los lobos
tallados sobre él.*

*No se cómo fue que llegué aquí otra vez...
Pero hoy en la sublimación
de mis sombras internas
el lobo me llamó.*

Con mucho cariño para ti también.

Roberto

RESUMEN

La técnica de electrospray permite obtener nanopartículas a partir de matrices poliméricas solubilizadas en un sistema de disolventes. Sin embargo, a menudo los polímeros utilizados tienen una baja solubilidad en agua o en disolventes ecológicos, como es el caso del gluten de trigo (WG). Por esta razón, el objetivo del presente estudio fue caracterizar fisicoquímica y reológicamente las suspensiones de WG preparadas en un sistema de disolvente binario (BSS) que consiste en ácido fórmico-etanol (FAE). Las concentraciones evaluadas fueron del 2, 4, 6 y 8 % p/v para la obtención de nanopartículas por electrospray. La prueba de estabilidad mostró que las suspensiones con FAE tienen un tiempo máximo de estabilidad de 3 días. Una densidad de $1,0761 \pm 5,19E-0$ g/cm³, una viscosidad de $0,0025 \pm 3,07E^{-05}$ Pa.s y una conductividad de $1259,66 \pm 8,25$ μ s/cm² al 2 % mostraron que es posible obtener nanopartículas con diámetros inferiores a 100 nm, en las siguientes condiciones del equipo: caudal de 0,1 mL. h⁻¹, 20 kV y 5 cm de distancia entre la aguja y la placa colectora. Además, los espectros IR mostraron que las estructuras secundarias de las proteínas tienen un reordenamiento después del tratamiento con FAE y después de ser electroasperjadas, con un aumento del 58,36 % en las hélices alfa. El mismo comportamiento se atribuye a la formación de hélices mínimas. Por lo tanto, la implementación de un BSS como FAE permite suspender el WG para su manipulación en el electroaspersor, obteniendo diámetros de partícula inferiores a 100 nm, lo que convierte al WGP en un material novedoso para su potencial aplicación en la industria de los sistemas de liberación prolongada.

CONTENIDO

APROBACIÓN	i
AGRADECIMIENTOS	ii
DEDICATORIA	iii
RESUMEN	vi
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	x
INTRODUCCIÓN	1
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
Encapsulación de compuestos bioactivos en el sector alimentario	3
Nanopartículas	5
Obtención de nanopartículas	8
Electroaspersión	11
Parámetros del equipo	14
Parámetros ambientales	14
Parámetros de la solución	14
Fluidos para electroaspersión	16
Reología de fluidos	17
Fluidos Newtonianos y No Newtonianos	19
Polímeros encapsulantes en el sector alimentario	23
Gluten de trigo	24
Proteínas del gluten	25
Modelado estructural de las proteínas de gluten	26
Gluten de trigo como biopolímero encapsulante	30
Solventes ideales	32
Tipos de Solventes	34
Uso de solventes en la electroaspersión	35
Solventes ideales para el gluten	39
Sistema ácido fórmico-etanol (FAE) como solvente binario del gluten	42
HIPÓTESIS	44
OBJETIVOS	45
Objetivo General	45
Objetivos Específicos	45
MATERIALES Y MÉTODOS	46
Materiales	46
Metodología	46

Preparación de suspensiones de gluten	46
Caracterización fisicoquímica de suspensiones de gluten	46
Análisis reológico	47
Condiciones para la obtención de partículas de gluten	48
Caracterización químico-estructural	48
Diseño Experimental	49
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	50
Caracterización fisicoquímica	50
Estabilidad	50
Viscosidad	54
Densidad	54
Conductividad	55
pH	55
Análisis reológico	58
Caracterización químico-estructural	62
Espectroscopía de Infrarrojo con Transformada de Fourier	62
Microscopía electrónica de barrido	69
	71
	73
CONCLUSIONES	76
REFERENCIAS	79

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla		Página
1	Implementación en la nanoencapsulación industria e ingredientes alimentarios comunes que pueden encapsular.....	4
2	Técnicas de encapsulación más utilizadas en la industria de alimentos.....	10
3	Parámetros de control en la electroaspersión.....	12
4	Efecto de los parámetros en la obtención de partículas por electroaspersión.....	17
5	Proteínas presentes en las fracciones de Osborne.....	41
6	Propiedades fisicoquímicas de las suspensiones de WG en FAE.....	59
7	Valor de n para las suspensiones de gluten a diferentes concentraciones...	60
8	Porcentaje de las estructuras secundarias de las proteínas del gluten.....	66
9	Tamaños de partículas promedio e índices de polidispersidad de las WGP.....	72

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Esquematzación de una nanocápsulas y una nanoesfera.....	6
2	Esquematzación de la técnica de electroaspersión.....	13
3	Ejemplos de reogramas de un fluido newtoniano. A) Esfuerzo de corte vs velocidad de corte. B) Viscosidad vs velocidad de corte.....	20
4	Ejemplos de reogramas de esfuerzo de corte vs velocidad de corte en fluidos newtonianos y no newtonianos.....	22
5	Modelos predichos y propuestos de las proteínas (a) modelo predicho de las gliadinas (α/β , γ y ω) y estructura propuesta para las gliadinas modificadas con glicerol (b) modelo predicho de las gluteninas (LMW-, HMW-GS) y estructura propuesta para las gluteninas modificadas con glicerol.....	28
6	Representación esquematizada de moléculas de agua solvatando un ion de sodio.....	33
7	Grafica de comparación de la evolución de las presiones de vapor de cuatro sustancias puras con la temperatura.....	36
8	Esquematzación de la evaporación del solvente durante la electroaspersión se una solución. La zona color morada representa al solvente y los puntos amarillos al polímero en solución.....	37
9	Evaluación de la solubilidad de las proteínas de WG en etanol (EOH), ácido fórmico (AF) y FAE, mediante la visualización de precipitado.....	51
10	Esterificación del ácido fórmico (ácido carboxílico) y del etanol (alcohol) en un formiato de etilo (éster) y agua.....	53
11	Reogramas de las suspensiones de WG. (A) Efecto del Esfuerzo de corte vs Velocidad de corte, (B) Efecto de la Viscosidad vs Velocidad de corte y (C) Efecto de la Viscosidad vs Tiempo.....	61
12	Espectros de infrarrojo del WG y las WGP obtenidas a partir de electroaspersión de las suspensiones en FAE.....	63

13	Deconvolución de la banda Amida I de los espectros de IR del WG y las WGP obtenidas por electroaspersión a diferentes porcentajes. A) WG sin ningún tratamiento. B) WGP2%. C) WGP4%. D) WGP6%. E) WGP8%..	64
14	Efecto del solvente FAE y de la temperatura en la desnaturalización de las proteínas del WG.....	68
15	Micrografías de SEM de las partículas obtenidas bajo las diferentes condiciones del equipo de electroaspersor evaluadas.....	71
16	Micrografías de SEM de las partículas obtenidas a 2, 4, 6 y 8 % de WG, y sus respectivas gráficas de frecuencia/distribución del tamaño de partícula.....	73
17	Micrografía de SEM de las nanopartículas obtenidas al 2 % de WG a un aumento de 70000x donde se observan tamaños menores a 100 nm.....	75

INTRODUCCIÓN

La encapsulación de compuestos bioactivos ha crecido cada vez más en los últimos años, particularmente en el área médica, farmacéutica y alimentaria. Esto debido a las propiedades bioactivas que presentan algunos compuestos como la actividad antioxidante, antimicrobiana y antiproliferativa (Umaraw et al., 2020). La encapsulación otorga protección al agente encapsulado frente a factores indeseables externos como la temperatura, la oxidación, el pH, la radiación, entre otros factores que pudieran ver comprometida la efectividad y funcionalidad biológica del compuesto (Vargas-Campos et al., 2018). Un ejemplo pueden ser los sistemas de encapsulación para el desarrollo de sensores que detectan cambios de pH en base a un cambio de color en los alimentos, cuyo compuesto bioactivo principal son las antocianinas (Mendoza Sillerico et al., 2016) (Park et al., 2019). En este caso la encapsulación permite mejorar la estabilidad del componente y ser liberado de manera gradual y prolongada para cumplir la función a la que es destinada, sin ser afectada por otros factores externos. Dentro de los sistemas de encapsulación más utilizados y recientes, está la electroaspersión. Gracias al implemento de la nanotecnología, esta técnica permite atrapar moléculas mediante su solubilización en un sistema de solventes. Misma que al ser electroasperjada es atrapada por una matriz polimérica encapsulante, teniendo como resultado final, micro o nano partículas que son colectadas en una placa que funciona como contraelectrodo (Jaworek & Sobczyk, 2008). Sin embargo, muchas veces los polímeros que se utilizan para encapsular tienen poca solubilidad en agua o en solventes orgánicos amigables con el medio ambiente. Por tal motivo, se utilizan solventes que son agresivos para el medio ambiente o tóxicos. Se han utilizado diversos tipos de matrices poliméricas para encapsular compuestos bioactivos que han logrado mantener su estabilidad. La mayoría de ellos son carbohidratos como la malto y ciclo dextrina (Assadpour & Maghsoudlou, 2016; Astray et al., 2009), goma arábica (Mahdavee Khazaei et al., 2014), almidón (Othman et al., 2018) y el alginato (H. Wang et al., 2015). No obstante, estas matrices resultan ineficientes para el desarrollo de sensores y empaques inteligentes en general, puesto que suelen ser solubles en agua, sensibles a ácidos y pueden ser fuente de carbono para el desarrollo de microorganismos indeseables. Uno de los biopolímeros utilizados para la encapsulación de compuestos de interés es el

gluten, gracias a sus características termoestables, viscoelásticas y su alto valor tecnológico (Mejri et al., 2005). A diferencia de los otros biopolímeros antes mencionados, el gluten es de origen proteico, su alta complejidad estructural le permite tener gran absorción de agua sin ser solubilizada en ella actuando como una especie de material absorbente. Esta ventaja es de especial importancia ya que lo hace ideal para el desarrollo de nuevos materiales inteligentes como lo son los sensores en empaques. Aun así, esto presenta un gran reto al momento de querer obtener partículas en el electroaspersor, puesto que el gluten de trigo tiende a formar una masa gomosa difícil de manipular. Misma que obstruye las agujas de la jeringa interrumpiendo el flujo para su electroaspersión.

Por ello, el presente trabajo estudia las propiedades fisicoquímicas de las suspensiones de gluten en un sistema binario de solventes (ácido fórmico-etanol [FAE]), así como las propiedades reológicas de cada una de las soluciones, para determinar su estabilidad y conocer el efecto que tienen sobre la morfología y tamaño de partícula al momento de ser electro-asperjadas. Este trabajo resultará útil para conocer si es factible la utilización de un solvente binario específico para la obtención de nanopartículas de gluten de trigo y ser aplicado en la encapsulación de compuestos activos, con diversas aplicaciones, ya sea en la industria agroalimentaria o en el sector salud.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Encapsulación de compuestos bioactivos en el sector alimentario

Hoy en día es posible fabricar alimentos funcionales mediante la ingeniería de varios tipos de sistemas de encapsulación. La nanoencapsulación sigue siendo una de las tecnologías más prometedoras que permite atrapar compuestos bioactivos (Barbosa-Cánovas et al., 2005). Se trata de un proceso por el que se empaquetan pequeñas partículas de materiales (compuestos bioactivos, principalmente) dentro de un material de pared (matriz polimérica) para formar cápsulas.

El método de encapsulación se ha empleado para proteger los compuestos bioactivos (polifenoles, micronutrientes, enzimas, antioxidantes y nutracéuticos) y en la aplicación final para protegerlos del entorno adverso y también para la liberación controlada en los lugares deseados (Anandharamakrishnan, 2014). Esta posee ventajas versátiles para la entrega específica en un lugar determinado y la absorción eficiente a través de las células según su utilización en el área médica y farmacéutica (Mendoza, 2017). Sin embargo, aunque las investigaciones sobre la aplicación de la nanotecnología en la industria alimentaria han sido muy limitadas, en la última década han surgido varias investigaciones que exploran la tecnología de nanoencapsulación en esta rama de la ciencia.

En general, la nanotecnología ha revolucionado todo el sistema alimentario, desde la producción hasta el procesamiento, el almacenamiento y el desarrollo de materiales, productos y aplicaciones innovadores (Ghorani & Tucker, 2015). La aplicación de la nanotecnología al sector alimentario podría generar innovaciones en las características a macroescala de los alimentos, como la textura, el sabor, otros atributos sensoriales, la fuerza de la coloración, la procesabilidad y la estabilidad durante la vida útil, dando lugar a un gran número de nuevos productos (FDA, 2014). Esto debido a la protección y la liberación controlada de compuestos bioactivos, gracias a la encapsulación de estos (Han et al., 2013). En general, en la industria alimentaria, el proceso de nanoencapsulación tiene varias ventajas que se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Implementación en la nanoencapsulación industria alimentaria e ingredientes alimentarios comunes que pueden encapsular.

Compuestos bioactivos/nutracéuticos	Propósito de encapsulación	Ejemplos	Referencias
Compuestos fenólicos y antioxidantes	Estabilización, protección	Curcumina, betalaínas	(Esfanjani et al., 2016)
Aceite de pescado y ácidos grasos esenciales	Estabilización, liberación controlada	DHA, ácido linoleico	(Ghorbanzade et al., 2017)
Vitaminas	Estabilización a la oxidación	Solubles en grasa, solubles en agua	(Katouzian & Jafari, 2016)
Agentes antimicrobianos	Liberación controlada	Nisina	(Weiss et al., 2009)
Colorantes naturales	Estabilización	Antocianinas, carotenoides	(Arroyo-Maya & McClements, 2015)
Saborizantes y aceites esenciales	Enmascaramiento del sabor, reducción de su volatilidad, liberación controlada	Terpenos, aceite de limón	(Donsi et al., 2011)
Enzimas	Liberación controlada	Proteasa, glucosa oxidasa	(Neethirajan & Jayas, 2011)

Por ello, la utilización de la nanotecnología para la obtención de nanopartículas resulta cada vez más importante en la industria alimentaria. Gracias a este tamaño nanométrico, se obtiene una alta área superficial, lo cual, es una de las ventajas de la utilización de nanopartículas, ya que en muchos casos la liberación controlada y en general su estabilidad fisicoquímica dependerá del área superficial del material obtenido y, por lo tanto, del tamaño de las partículas.

Nanopartículas

Las nanopartículas son partículas de tamaño coloidal con diámetros que oscilan entre los 10 y los 1000 nm, aunque en la actualidad existen definiciones más estrictas acerca del tamaño, el cual no debe exceder los 100 nm (EFSA, 2011; Hardy et al., 2018).

La Organización Internacional de Normalización (ISO, por sus siglas en inglés) ha definido el nanomaterial como un material con cualquier dimensión externa en la nanoescala ("nanoobjeto") es decir, que posee una estructura interna o superficial en la nanoescala ("material nanoestructurado") (ISO, 2015). En particular, un nanoobjeto se define como una pieza discreta de material con una, dos o tres dimensiones externas en la nanoescala. Bajo este criterio, las nanopartículas son "nanoobjetos" con todas las dimensiones externas en la nanoescala, donde las longitudes de los ejes más largo y corto no difieren significativamente. Si las dimensiones difieren significativamente, normalmente en más de un factor de tres, se pueden preferir otros términos, como "nanofibra" (dos dimensiones externas en la nanoescala) o "nanoplaca" (una dimensión externa en la nanoescala) al término nanopartícula. La definición de "nanoescala" oscila entre 1 y 100 nm aproximadamente (ISO, 2015).

Las nanopartículas pueden ser expresadas tanto en forma de nanocápsulas como de nanoesferas (Fig. 1) (Konan *et al.* 2002). Las nanocápsulas son sistemas vehiculares en los que el compuesto bioactivo está atrapado en una cavidad rodeada por una membrana polimérica única (Tapia-Hernández et al., 2018), mientras que las nanoesferas son sistemas matriciales en los que el compuesto bioactivo se dispersa uniformemente (Urrejola et al., 2018).

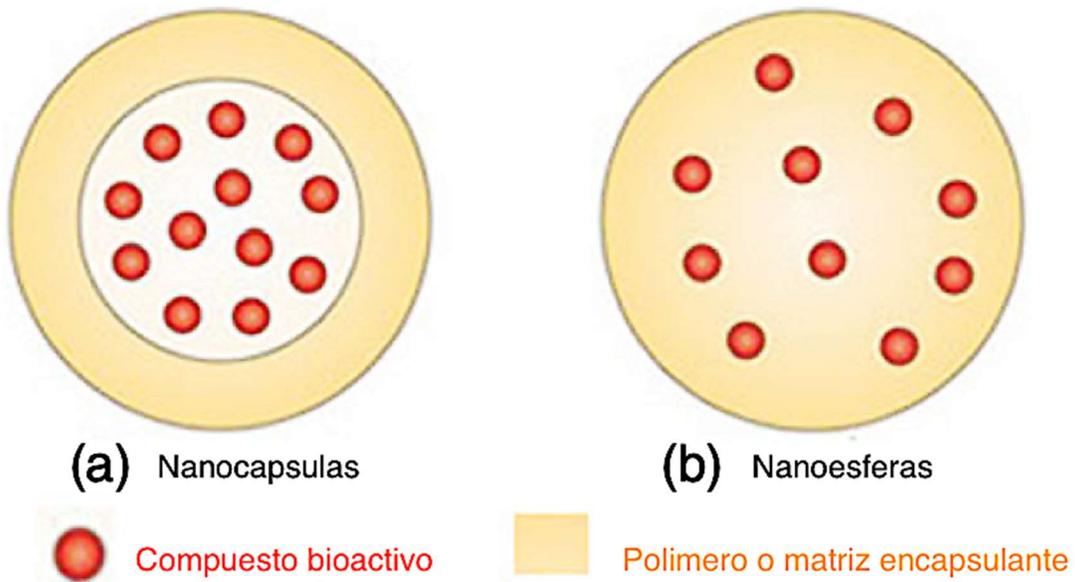


Figura 1. Esquematización de una nanocápsula y una nanoesfera.

Por otra parte, en el caso de las nanocápsulas, considerando la forma simple; una cápsula se compone de una esfera diminuta en el que el compuesto bioactivo es el que está rodeado por una cubierta polimérica. El ingrediente del interior de la cápsula se denomina material del núcleo, fase interna, encapsulado, fase de carga útil o relleno; mientras que la pared se denomina a veces coraza, recubrimiento, pared, material portador, agente encapsulador, fase externa o matriz encapsulante (Chakraborty et al., 2009). Sin embargo, las nanocápsulas pueden clasificarse también en dos categorías básicas: de núcleo único o de núcleo múltiple, que a su vez pueden ser una sola coraza o multicoraza (Romero, 2018).

El tamaño de las nanopartículas en general tiene efectos en su estabilidad fisicoquímica, actividad biológica y sobre todo en las características de la encapsulación y liberación del compuesto activo (Avalos-Sánchez, 2018; Castillo-Sánchez, 2020). Así pues, las nanopartículas también pueden ser definidas como sólidos de tamaño nanométrico que actúan como transportadores de fármacos, componentes de aparatos eléctricos, materiales de construcción y como compuestos unidos a metales, catalizadores, entre otros. Además, estas pueden ser obtenidas a partir de un material tanto no biodegradable como biodegradables. Se han publicado diversos trabajos de investigación sobre la aplicación de la nanotecnología en los alimentos. En la actualidad, la aplicación de la nanotecnología en la industria alimentaria se lleva a cabo en los nanocompuestos del material de envasado de alimentos para controlar la difusión y la protección microbiana, asimismo en los nanobiosensores para la detección de la contaminación y la determinación de la calidad, así como en la obtención de nanoencapsulados o nanotransportadores para la administración controlada de nutraceuticos.

Obtención de nanopartículas

Para desarrollar un sistema de encapsulación para una aplicación concreta, hay que seleccionar la combinación más adecuada de elementos y técnicas. Jafari *et al.* (2015) y Gómez-Mascaraque *et al.* (2015), han sugerido algunos de estos factores clave que se enumeran a continuación:

- 1. Características físicas como la transparencia u opacidad, el color, etc.
- 2. Propiedades reológicas y el comportamiento de flujo de la estructura formulada
- 3. Sabor y sensación en boca del producto
- 4. Estabilidad: la estabilidad química y física de los ingredientes encapsulados durante el periodo de almacenamiento.
- 5. Funcionalidad biológica: la liberación de componentes bioactivos del nanotransportador tras su ingestión en un lugar apto del tracto gastrointestinal.

Además, según sea el caso, algunas de las propiedades de las partículas que se incorporan al sistema de encapsulación deben ser:

- Digestibilidad.
- Distribución del tamaño de partícula.
- Densidad de carga.
- Permeabilidad de las partículas.
- Resistencia a condiciones indeseables como pH, temperatura, enzimas, entre otros.

El grado de resistencia de los componentes del biopolímero al medio ambiente es otra variable que influye significativamente en el alcance y la velocidad de la liberación (López Gasco, 2011). A pesar de que se han desarrollado y presentado diferentes tipos de sistemas de encapsulación como los que se muestran en la Tabla 2, todavía no se conocen completamente los principales factores y, por lo tanto, el diseño eficaz de sistemas para aplicaciones específicas sigue siendo algo innovador.

Existen varios métodos para la micro y nanoencapsulación de compuestos bioactivos en la industria de alimentos, pero el éxito de encapsulación va a depender de la compatibilidad de materiales poliméricos con los que se trabajan o dependerá de las aplicaciones que tenga el

producto. Como se ha descrito anteriormente, el método de nanoencapsulación se determina en función de las aplicaciones y los parámetros, como el tamaño de partícula previsto, las características fisicoquímicas de la fase externa e interna, el mecanismo de liberación, el coste total, etc. Como los componentes encapsulados se encuentran normalmente en estado líquido, las tecnologías de secado son muy comunes para obtener la forma de polvo estable de la fase líquida.

Una de estas tecnologías de aspersión para la obtención de nanopartículas comúnmente utilizada es la electroaspersión, también conocida como atomización electro-hidrodinámica, la cual ha resultado ser para la nanotecnología alimentaria un método sencillo y eficaz.

Tabla 2. Técnicas de encapsulación más utilizadas en la industria de alimentos (Jafari, 2017).

Técnica	Tamaño de partícula (μm)
Secado por aspersión	10-400
Liofilización o secado al vacío	20-5000
Aspersión en frío	20-200
Inyección en fusión	200-2000
Emulsificación	0.2-5000
Coacervación	10-800
Atrapamiento con liposomas	10-1000

Electroaspersión

Las primeras investigaciones sobre la aplicación del voltaje para obtener micro y nano materiales se denominaron atomización. Posteriormente, esta técnica se modificó aplicando un caudal constante para conseguir partículas de menor diámetro. A partir de entonces, esta técnica se denominó aspersión electro-hidrodinámica. En la actualidad, este enfoque se denomina electroaspersión (Chakraborty et al., 2009).

Por otra parte, hoy en día esta técnica ha sido modificada en diferentes formas para poder obtener mejores resultados en la formación de micro y nanopartículas. Algunas de las variantes de la técnica son la electroaspersión en solución, la electroaspersión coaxial y la electroaspersión por deposición sobre un sustrato (Gañán-Calvo et al., 2018; Kim & Kim, 2010). Además, también se ha investigado el uso de diversos materiales, principalmente biopolímeros naturales para la encapsulación de compuestos bioactivos (Lagaron & Lopez-Rubio, 2011).

La teoría de la técnica de electroaspersión se basa en la capacidad de un campo eléctrico para destruir una gota y transformarla a escala micrométrica o nanométrica en función del parámetro de control del equipo (Tapia-Hernández et al., 2018) (Tabla 3). Cuando se aplica un campo eléctrico a una gota, se genera una carga eléctrica dentro de la gota, denominada fuerza de Coulumb, esta fuerza compite con la fuerza de cohesión de la partícula y cuando domina sobre la fuerza de cohesión, se produce una disminución de la tensión superficial, rompiendo en muchas partículas la gota, obteniendo finalmente nanopartículas (Fig. 2) (K. Wang & Stark, 2010).

La electroaspersión puede ejercerse como un método eficaz para producir micro y nanopartículas en diferentes ámbitos, como la nanomedicina, y últimamente ofrece diversas aplicaciones en el sector alimentario. Sin embargo, para obtener micro y nanopartículas, los parámetros que influyen en la morfología de las partículas deben controlarse cuidadosamente, cuyos parámetros comprenden tres grupos: el equipo, la solución y los factores ambientales (Tabla 3).

Tabla 3. Parámetros de control en la electroaspersión.

Parámetros	
Del equipo	Velocidad de Flujo, potencial eléctrico y distancia.
Solución polimérica	Viscosidad, densidad, espesor.
Ambientales	Presión, temperatura, humedad.

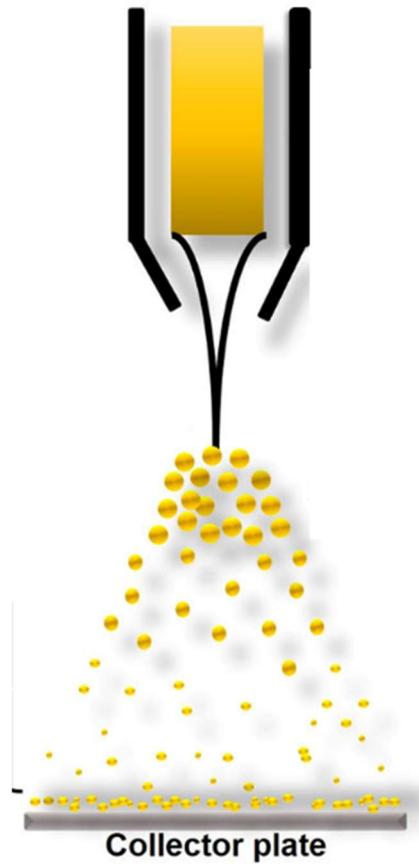


Figura 2. Esquematización de la técnica de electrospersión (Tapia-Hernández et al, 2018)

Parámetros del equipo

Los factores basados en el equipo que determinan el tamaño y la morfología de las partículas producidas son: el caudal o flujo, regulado por la bomba de jeringa; el potencial eléctrico, proporcionado por una fuente de energía; y la distancia entre el colector y la aguja (Surib & Mohd Paad, 2020; Tapia-Hernández et al., 2019).

Parámetros ambientales

Estos parámetros están indirectamente relacionados con la producción de micro y nanopartículas, ya que no son tan importantes como los parámetros controlables del equipo o sistema. La humedad y la presión se incorporan a esta categoría. La humedad se considera el factor más importante, ya que está directamente relacionada con la facilidad de evaporación del disolvente (Bonadies et al., 2015; Uchida et al., 2015).

Parámetros de la solución

Estos parámetros están relacionados con las interacciones polímero-disolvente, que afectarán al contenido, como la concentración, la viscosidad y la densidad. Cada parámetro está relacionado con los demás, ya que a una determinada concentración de polímero le corresponde una determinada densidad y espesor, que influyen en la morfología y el tamaño de las partículas estando en paralelo con los parámetros del equipo (Khan et al., 2012; X.-X. Wang et al., 2015). Por ello es importante seleccionar y caracterizar acertadamente el tipo de fluido que se tiene al momento de solubilizar tanto el material encapsulante como el que se va a encapsular en los solventes predeterminados.

En la Tabla 4 se muestran los 3 tipos de parámetro que pueden ser controlados en la electroaspersión y como influye en la obtención de micro y nanopartículas si se aumenta o disminuye uno u otro parámetro.

Tabla 4. Efecto de los parámetros en la obtención de partículas electroaspersión (Chakraborty et al., 2009; Jaworek & Sobczyk, 2008).

Parámetros		Características	
		Mayor	Menor
Equipo	Potencial eléctrico	(más de 10 kV) resulta en la formación de partículas de menor tamaño.	(menos de 10 kV) no hay formación del cono de Taylor y se obtienen partículas de diámetros grandes.
	Caudal o flujo	(≥ 1 mL/h) puede dar lugar a la formación de partículas de gran tamaño ($\geq 1 \mu\text{m}$).	(<1 mL/h) y un aumento de la conductividad eléctrica puede dar lugar a partículas más pequeñas (<1 μm)
	Distancia colectora	Una gran distancia (15-20 cm) proporciona una morfología más esférica y una mayor volatilización del solvente.	Una corta distancia resulta en el colapso de las partículas. Aunque también dependerá del tipo de solvente usado.
Solución	Concentración	Forma partículas grandes.	Se forman partículas pequeñas.
	Viscosidad	Aumenta con la concentración y se obtienen partículas de gran tamaño.	Disminuye si se disminuye la concentración y por lo tanto forma partículas de menor tamaño.
	Densidad	Cono de Taylor más grueso, mayor fuerza de inercia, por lo que las gotas son más grandes.	Diámetro menor del cono de Taylor, disminuye la resistencia del fluido, se forman pequeñas partículas.
	Conductividad eléctrica	Si es alta, se supera la tensión superficial y se obtiene un diámetro de partícula menor.	Si es baja, mayor tensión superficial, genera partículas más grandes.
Ambiental	Humedad relativa	($\leq 30\%$) Todo el solvente se volatiliza y el polímero llega completamente seco al colector. Se obtienen partículas más pequeñas.	(>30%) Sin un diámetro de partícula uniforme y una morfología no definida. Se obtienen partículas más grandes.

Fluidos para electroaspersión

Como ya se mencionó anteriormente, los compuestos activos a encapsular se encuentran normalmente en estado líquido, por ello es importante determinar la estabilidad de esta solución, suspensión y/o “fluido” que nos indicará cómo se comportará al momento de ser electroasperjado.

En general un fluido se define como partículas que se mantienen unidas entre sí formando un conjunto en las que intervienen fuerzas cohesivas débiles para su unión; el término engloba tanto a los líquidos como los gases. En este caso la solución obtenida a partir de una matriz polimérica suspendida o diluida en un sistema de solventes. De acuerdo con la relación entre el esfuerzo de corte aplicado, los fluidos pueden clasificarse de manera general; también de acuerdo con la relación de deformación según su análisis reológico (Streeter & Wylie, 1988).

La forma de un fluido cambia de manera continua cuando está sometido a un esfuerzo cortante, por muy pequeño que sea éste, por lo que la característica primordial de los fluidos es la fluidez. Unos líquidos se moverán más lentamente que otros, sin embargo ante un esfuerzo de corte siempre se moverán. Por tanto, un fluido también puede definirse como una sustancia que se deforma continuamente bajo la acción de un esfuerzo de corte, y no habrá deformación en ausencia de este (Martín-Domingo, 2011).

La medición de la facilidad con que se mueve un fluido, vendrá dada por la viscosidad, misma que esta relacionada con la acción de fuerzas de rozamiento. Por ello las propiedades que caracterizan a un fluido son las que determinarán la estabilidad de una solución final (polímero-solvente, componente activo-solvente) que las que presentan los solventes de manera independiente, y estas determinarán si resultan ser óptimas para su electroaspersión. Como ya se mencionó anteriormente, los parámetros de la solución influyen sobre la capacidad de obtener micro o nano partículas. Además de estar íntimamente relacionada con los parámetros de equipo, ya que dependiendo del tipo de fluido que se tenga, quizá se necesite ajustar el caudal, aumentar o disminuir el voltaje, etc.

Por lo anterior. Es necesario definir el tipo de fluido que se obtiene de la solubilización de un polímero dado en un sistema de solventes determinado, caracterizando además de sus propiedades fisicoquímicas (densidad, viscosidad, conductividad, etc), sus propiedades reológicas.

Reología de fluidos

Un concepto formal del término Reología ($\pi\alpha\nu\tau\alpha$ $\rho\epsilon\iota$: “todo fluye”) sería: “Parte de la mecánica que estudia la elasticidad, plasticidad y viscosidad de la materia”. La reología, es la ciencia del flujo y la deformación, y estudia las propiedades mecánicas de todos los fluidos, desde líquidos, gases, plásticos, materiales cristalinos, sustancias asfálticas y otros (Alvarado, 2001).

Bajo este criterio, la deformación se refiere al cambio en la forma de un fluido debido a esfuerzos internos producidos por fuerzas aplicadas sobre el mismo, aunque también puede ocurrir un cambio en la forma debido a las mismas fuerzas aplicadas o la ocurrencia de dilatación térmica. Los sólidos se deforman cuando actúa una fuerza sobre ellos, cuando se les somete a tensión, alargamiento y la compresión (Carrillo Parra, 2016). Que, en el caso de la electroaspersión, el fluido a electroasperjar es depositado en una jeringa que finalmente es sometido a una presión ejercida para crear un flujo. En este caso, consideremos ahora la deformación de los fluidos la cual es llamada “flujo”. Al igual que en los sólidos, los fluidos también siguen una ecuación de estado. La ecuación reológica de estado de los fluidos relaciona la tensión y la velocidad de deformación. Y a la constante de la ecuación de estado de los líquidos se le conoce como coeficiente de viscosidad (Ramírez-Navas, 2006).

Esto resulta importante ya que las características reológicas de un fluido en el ámbito industrial son criterios importantes para el desarrollo de productos (Doraiswamy, 2002). Estas determinan frecuentemente el control de calidad las propiedades funcionales de algunas sustancias, así como para determinar el comportamiento mecánico que resulta importante para el diseño de operaciones básicas como: bombeo, mezclado y envasado, almacenamiento y estabilidad física; mismos comportamientos que son prescindibles para la técnica de electroaspersión (Steffe, 1992).

Como ya se mencionó, las propiedades reológicas de un fluido se determinan a partir de la relación existente entre fuerza o sistema de fuerzas externas y su respuesta, ya sea como deformación o flujo. Este sistema de fuerzas se representa matemáticamente mediante la siguiente ecuación: que se refiere a el esfuerzo cortante “ τ_{xy} ”, mientras que la respuesta dinámica del fluido se cuantifica mediante la velocidad de deformación “ γ ”, con lo que pueden existir diferentes tipos de fluidos según esta relación.

Los 3 tipos de fluidos que existen son: Newtonianos (relaciona proporcionalmente el esfuerzo cortante y la velocidad de deformación); No Newtonianos (no hay relación proporcional entre el esfuerzo cortante y la velocidad de deformación); y Viscoelásticos (tienen un comportamiento como líquidos/sólidos, teniendo propiedades de ambos estados) (Ramírez-Navas, 2006). La relación entre el esfuerzo cortante aplicado y la velocidad viene dada por la ecuación:

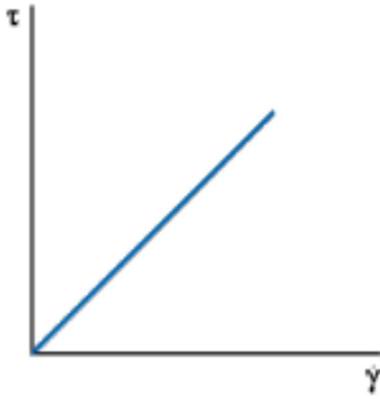
$$\tau_{xy} = \mu \frac{du}{dt} = \mu \cdot \gamma$$

Siendo: τ_{xy} el esfuerzo cortante (mPa), μ la viscosidad dinámica del fluido (mPa·s), du/dy la velocidad de deformación del fluido (s^{-1}) = γ .

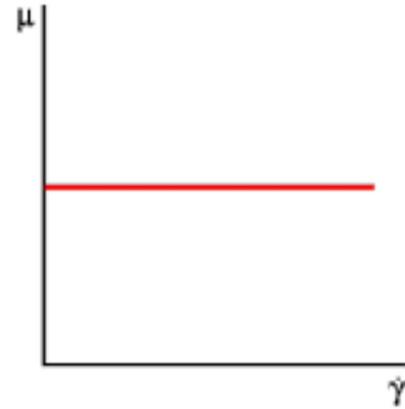
Fluidos Newtonianos y No Newtonianos

Un fluido newtoniano se caracteriza por que existe una relación lineal entre el esfuerzo cortante y la velocidad de deformación, es decir, cumple con la Ley de Newton. Esto se debe a que el término μ (viscosidad) es constante para los fluidos Newtonianos y no depende del esfuerzo cortante que se aplica. Todos los fluidos como agua líquida, gases, y líquidos de moléculas sencillas (alcohol, butano, amoníaco, benceno, cloroformo, petróleo, etc.) son newtonianos (Méndez-Sánchez et al., 2007).

Hay que tener en cuenta también que la viscosidad de un fluido newtoniano permanece constante respecto al tiempo, es decir que no depende del tiempo de aplicación del esfuerzo, aunque sí puede relacionarse tanto con la temperatura como la presión a la que se encuentre. En el estudio reológico de un fluido newtoniano se obtienen las siguientes curvas: la “Curva de Fluidez” en la que se grafica el esfuerzo cortante frente a la velocidad de deformación (τ vs γ) y la “Curva de Viscosidad” en la que se representa la viscosidad en función de la velocidad de deformación (μ vs γ). (Fig. 3):



a) Curvas de fluidez



b) Curvas de viscosidad

Figura 3. Ejemplos de reogramas de un fluido newtoniano. a) esfuerzo de corte vs velocidad de corte. b) viscosidad vs velocidad de corte

Por otra parte, algunos fluidos no obedecen esta ley simple de Newton, que son llamados fluidos no newtonianos. En este tipo de fluidos no existe linealidad entre el esfuerzo cortante y la velocidad de deformación, es decir, la viscosidad (μ) no es constante sino que cambia en función de la velocidad de corte (Sánchez et al., 2002). Algunos ejemplos de fluidos no newtonianos son pastas, polímeros de alta densidad y emulsiones. Dentro de este tipo de fluidos podemos encontrar a los que son independientes del tiempo de aplicación (Silva et al., 2019):

- Fluidos pseudoplásticos: se identifican por una disminución de su esfuerzo cortante con la velocidad de deformación y de su viscosidad (Shear-Thinning).
- Fluidos dilatantes: son fluidos que se caracterizan por un aumento de la viscosidad con la velocidad de deformación, y un aumento del esfuerzo cortante con dicha velocidad (Shear-Thickening).
- Fluidos plásticos (plástico de Bingham): Este tipo de fluido tiene el mismo comportamiento de un sólido hasta que sobrepasa un esfuerzo cortante mínimo o esfuerzo umbral, y a partir de este umbral de valor se tiene el comportamiento de un líquido.

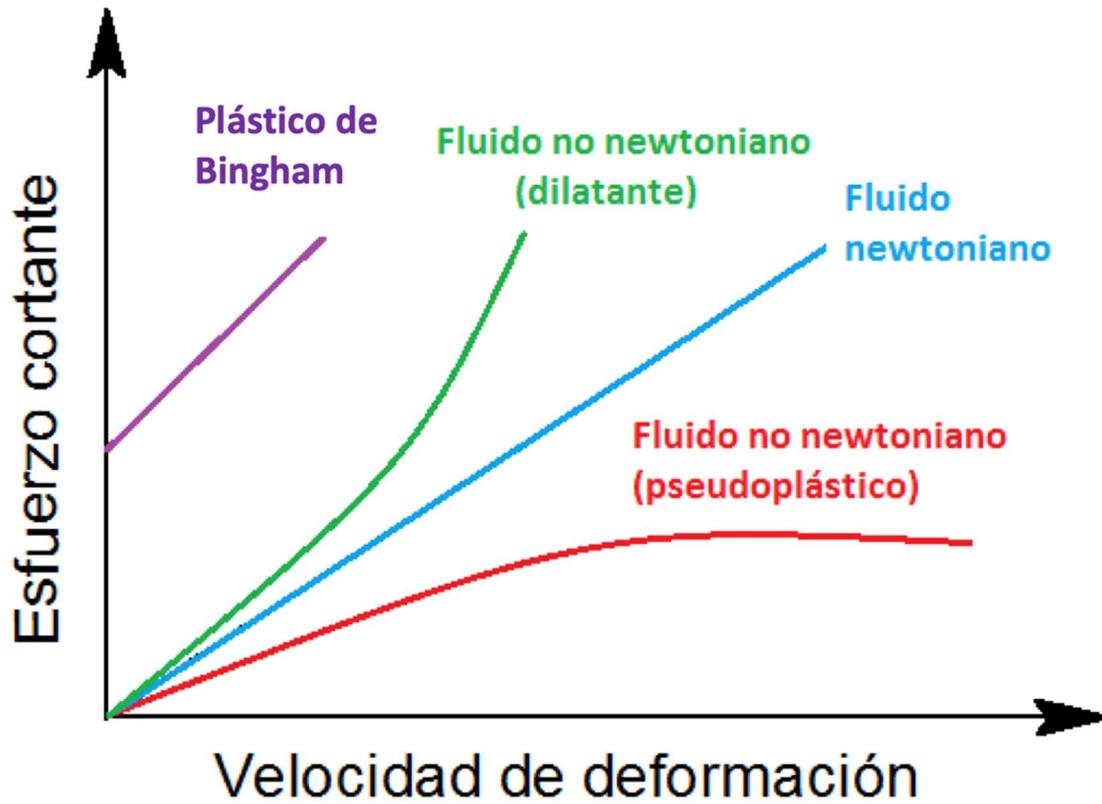


Figura 4. Ejemplos de reogramas de esfuerzo de corte vs velocidad de corte en fluidos newtonianos y no newtonianos.

Polímeros encapsulantes en el sector alimentario

Las micro y nanopartículas producidas a partir de materiales poliméricos en el área de la salud tienen la característica de ser biodegradables y pueden fabricarse mediante la técnica de electroaspersión. Estos polímeros se utilizan habitualmente en la industria farmacéutica, donde sirven como sistemas de administración de fármacos y para hacer llegar otros compuestos a la zona deseada. Se ha demostrado que las partículas también pueden servir como portadoras de componentes antimicrobianos, utilizados en el área médica (Atyabi et al., 2006; Luna-herrera & Zenteno-cuevas, 2021)

Por otra parte, la aplicación de la nanotecnología para obtener nanoesferas ha revolucionado el sector agroalimentario (Ponce-Reyes et al., 2014). Las partículas incluyen desde el desarrollo de nuevos materiales en el envasado de alimentos hasta los sistemas de nanoliberación y liberación selectiva en alimentos. En algunos estudios, las nanopartículas se utilizan para su implementación en envases o empaques de alimentos, las cuales liberan su compuesto bioactivo encapsulado, cuando los alimentos empiezan a deteriorarse, prolongando así su vida útil y aumentando su biodisponibilidad (Cruz-Monterrosa et al., 2017; Moncada, 2007) .

Las biopelículas junto con los materiales bioactivos representan una práctica beneficiosa en la industria alimentaria (Castillo-Sánchez, 2020; Q. Wang et al., 2013). En los últimos años, también se ha estado implementado el uso de nanopartículas para el desarrollo de empaques activos ya que el material de envasado influye directamente en la vida útil y en la calidad de los productos alimentarios disponibles en el supermercado. Estos envases contienen micro o nanopartículas añadidas que mantienen la calidad de los alimentos durante su almacenamiento (Camberos, 2019). En estas nanopartículas se atrapan o encapsulan moléculas de compuestos bioactivos que pueden permanecer en el envase o migrar al interior de los alimentos y mantener el sistema libre de microorganismos deteriorantes (Marianela, 2016) . Por otro lado, en los empaques inteligentes uno de los dispositivos utilizados son los que se denominan biosensores, que ofrecen el potencial para la detección de ciertos patógenos y para caracterizar la toxicidad de los alimentos con el fin de proporcionar la

seguridad alimentaria (Moncada, 2007). Estos son estimulados por cambios en el microambiente del empaque, desde diferentes factores como la temperatura, el pH y la respuesta a las moléculas biológicas que pueden inducir los cambios de color, potencial eléctrico, etc. (Majid et al., 2016; Puligundla et al., 2012; Valdez et al., 2019). Así, estas tecnologías pueden ser implementadas por los productores en masa para prolongar la vida útil del producto y fabricar alimentos de alta calidad. Los polímeros más utilizados son el almidón, la policaprolactona, la celulosa, el quitosano, el alginato, la gelatina, la zeína y las proteínas de gluten de trigo.

Gluten de trigo

El gluten es un producto en polvo que se obtiene de la harina de trigo cuando es lavado con agua para eliminar el almidón y otras sustancias hidrosolubles (Gottardi et al., 2014). Representa aproximadamente el 10% del peso del grano de trigo. Su contenido en proteínas es de hasta el 75%-85%, contiene 15 aminoácidos esenciales y es una fuente de proteína vegetal nutritiva y barata (Amiri et al., 2019).

El gluten de trigo (WG, por sus siglas en inglés) es considerado uno de los polímeros naturales más importantes a nivel agrícola debido a sus buenas propiedades viscoelásticas (D'Ovidio & Masci, 2004), bajo costo y abundancia en el mercado. Es definido como una masa gomosa que se obtiene cuando la harina de trigo se lava para eliminar el contenido de almidón (Wieser, 2007). Algunos países de la Unión Europea cultivan trigo para su uso principal como biocombustibles y en México, también se han encontrado estudios relacionados al usos de cereales como el trigo para la producción de bioetanol (OCDE/FAO, 2017; Zavala, 2008). El proceso de elaboración de estos biocombustibles a partir del trigo consiste en extraer el almidón para ser utilizado como materia prima, quedando el gluten como subproducto poco valorizado, pudiendo ser utilizado para la elaboración de productos a partir de su extracción y purificación o de las proteínas que lo conforman (Basso et al., 2013).

Por otro lado, el WG es una proteína que a su vez está conformada por dos grupos de proteínas llamadas prolaminas que se diferencia de otras proteínas por contener

mayoritariamente dos aminoácidos, prolina y glutamina; además de corresponder al 75 % de peso del gluten, el resto se compone de carbohidratos, minerales y lípidos. Estos dos grupos de proteínas son las gliadinas y gluteninas (Shewry et al., 1997). Ambos grupos de proteínas ofrecen la propiedad de viscoelasticidad al gluten, y ya que poseen aminoácidos azufrados como la cisteína, estos aminoácidos también le dan mayor estabilidad estructural a la proteína, mismas propiedades que le otorgan en su conjunto al gluten un alto impacto a nivel industrial (Blomfeldt et al., 2011). Debido a estas propiedades viscoelásticas es que el WG posee un alto valor tecnológico, y actualmente se ha estado implementando en la encapsulación de compuestos de interés.

Proteínas del gluten

Gliadinas

Son proteínas monoméricas que tienen un peso molecular (MW, por sus siglas en inglés) de 30,000 a 80,000 Da y se clasifican en cuanto a su movilidad en electroforesis a pH bajo en ω -, α - y γ - gliadinas dependiendo de su peso molecular y composición de aminoácidos: α - (MW ~31 kDa), γ - (~35 kDa) y ω -gliadinas (44-80 kDa) (Girard et al., 2018; Xu et al., 2007).

Las gliadinas contienen enlaces disulfuros intracatenarios, que le confieren el carácter viscoso a la masa de trigo. Los aminoácidos que componen a las gliadinas son los siguientes: ω -gliadinas 44-56 % de glutamina y 20 a 26 % de prolina; α - y γ -gliadinas contienen aminoácidos similares con un 35 y 16 % de glutamina y prolina respectivamente. Por otro lado, las α - y γ - gliadinas y las subunidades de glutenina de bajo peso molecular (tipos B y C) son ricas en azufre. Las subunidades de glutenina de bajo MW tipo D y las ω -gliadinas forman el complejo de proteínas pobres en azúfre. (Tatham & Shewry, 1985).

Gluteninas

Las gluteninas son las proteínas principales responsables de dar la fuerza al gluten. Son proteínas con un peso molecular más alto que las gliadinas. Son las proteínas más grandes de la naturaleza y contienen dos tipos de subunidades; las subunidades de peso molecular bajo (LMW, por sus siglas en inglés) y las subunidades de peso molecular alto (HMW, por sus siglas en inglés) (Peter R. Shewry et al., 2002). Las gluteninas HMW van desde 65-90+ kDa y las subunidades más pequeñas LMW de 30-60 kDa (Girard et al., 2018).

Las gluteninas contienen enlaces disulfuro intracatenarios e intercatenarios, dando una estructura más rígida y compacta y elasticidad a la masa. Los aminoácidos que comprenden a las subunidades de gluteninas HMW son 36 % de glutamina y 13 % de prolina; mientras que gluteninas de LMW contienen 38 % y 13 % de glutamina y prolina, respectivamente (Lindsay & Skerritt, 1999). Las gluteninas son proteínas solubles en soluciones ácidas como el ácido acético. La agregación que sufren las gluteninas está dada por los aminoácidos presentes en los enlaces disulfuros y el gran peso molecular que contienen (Segundo-Urbina, 2017).

Modelado estructural de las proteínas de gluten

El WG y sus componentes, las proteínas gliadinas y gluteninas, forman los polímeros más grandes de la naturaleza. Esto ha complicado el estudio sobre la arquitectura y diseño de estas proteínas, con frecuencia debido su alta complejidad estructural. En varias de las investigaciones realizadas acorde a delucidar su estructura, primero se tiene que hacer una modificación química, tratamiento con solventes o enzimas, para poder dar una idea de la estructura del gluten en general.

En principio, la estructura que conforma el gluten está dada por enlaces no covalentes como: puentes de hidrógeno, enlaces iónicos, hidrofóbicos y disulfuros, donde este último en menor cantidad por la poca cantidad de cisteínas que forman el enlace (2 %), pero que son de suma importancia en la agregación de la proteína y para dar características únicas a productos finales (Koga et al., 2017).

Por otra parte, el papel de las subunidades de alto peso molecular en el Gluten, como bien es sabido, confiere elasticidad en su estructura. Una característica particular de las subunidades HMW es que poseen cantidades grandes de glutamina (35 mol%) y proporciones significativas de glicina (20 mol%) y prolina (10 mol%) (Anjum et al., 2007). Son proteínas lineales en gran parte alfa helicoidales, separadas por largos dominios de secuencias repetidas. El C y el N terminal contienen residuos de cisteína que pueden formar enlaces disulfuro con residuos en otras subunidades (P. R. Shewry & Tatham, 1997). La estructura de estos dominios HMW se caracterizan además por tener una alta movilidad en presencia de agua. La evidencia de resultados espectroscópicos ha llevado a la sugerencia de la formación de interacciones por puente de hidrógeno entre las regiones repetidas de las subunidades HMW, las cuales son las responsables de la elasticidad del gluten.

Las estructuras de secuencia repetida de las subunidades de HMW de las gluteninas muestran que contienen un alto nivel de glutamina. Las glutaminas se producen 102 veces como pares de residuos, 90 veces separadas por un solo aminoácido, 69 veces separado por dos aminoácidos y 19 veces separadas por 7 aminoácidos. Las secuencias repetidas son, por lo tanto, muy hidrofílicas en toda su longitud y, debido a la estructura de la glutamina tendrá una capacidad muy alta para forma puentes de hidrógeno intra e intermolecular (Belton, 1999).

A partir de una combinación de pruebas experimentales y algoritmos proteicos, se han propuesto modelos de estructura terciaria de las proteínas gliadina y glutenina sin modificar y modificada. En un estudio realizado por Rasheed et al., (2014) el modelo de predicción de las estructuras secundarias del WG mostró principalmente regiones desordenadas con algunas α -hélices en ciertas regiones de las proteínas. En las gliadinas omega se encontró una proporción algo mayor de hélices α en comparación con las otras proteínas investigadas. Las pocas hojas beta predichas se encontraron principalmente en las gluteninas HMW. La estructura terciaria y cuaternaria predicha para las gliadinas (α/β , γ y ω -gliadinas como monómero) y las gluteninas, respectivamente, se muestra en la Fig. 5.

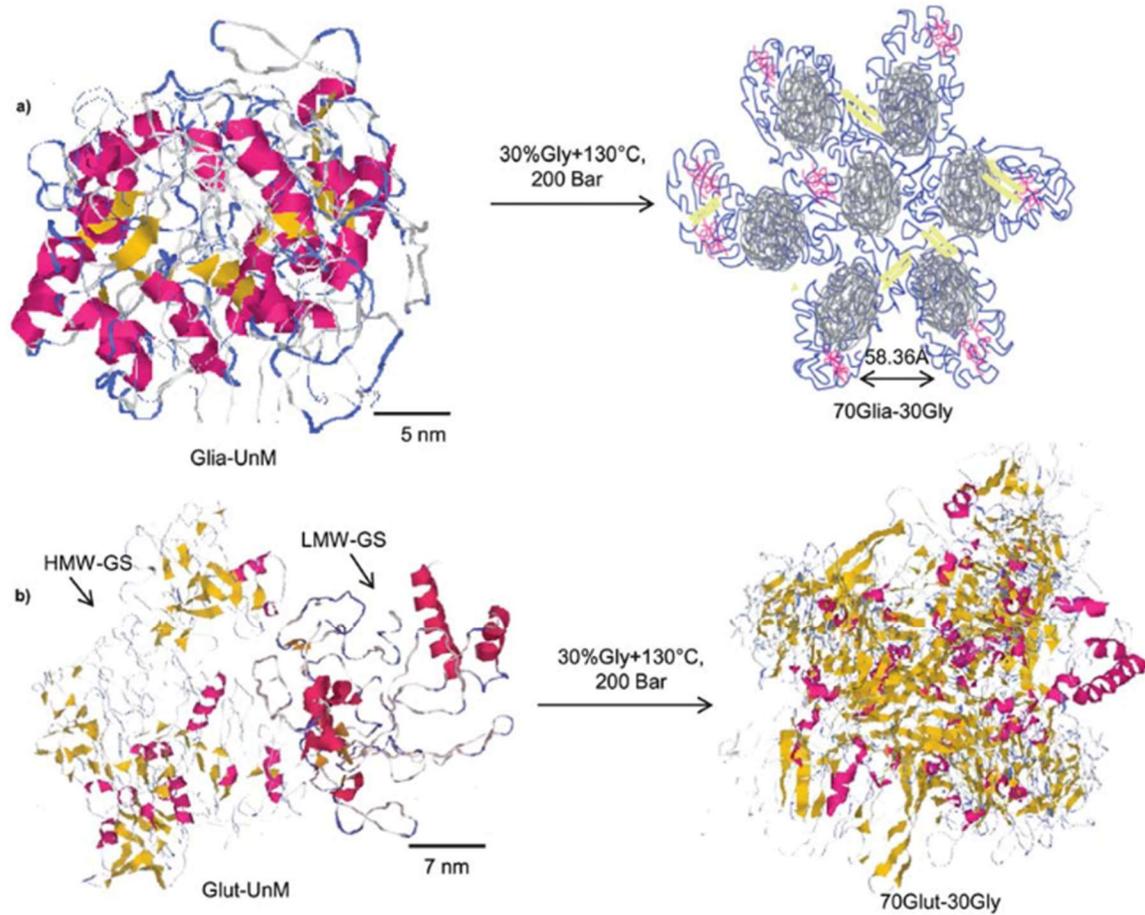


Figura 5. Modelos predichos y propuestos de las proteínas (a) modelo predicho de las gliadinas (α/β , γ y ω) y estructura propuesta para la gliadinas modificadas con glicerol (b) modelo predicho de la gluteninas (LMW-, HMW-GS) y estructura propuesta para las gluteninas modificadas con glicerol (Rasheet et al., 2014).

Existen otras técnicas más sencillas en las que, pese a que no se puede tener una predicción de modelado estructural tridimensional de las proteínas del WG, si se puede establecer una relación de la cantidad de estructuras secundarias que posee y ver cómo se comporta el WG después de una modificación química o un tratamiento físico. Una de ellas es la espectroscopía de infrarrojo con Transformada de Fourier (FT-IR, por sus siglas en inglés).

La espectroscopía infrarroja es una de las técnicas experimentales más antiguas y bien establecidas para el análisis de la estructura secundaria de polipéptidos y proteínas. Es una técnica no destructiva, requiere menos preparación de la muestra y puede usarse en una amplia variedad de condiciones (Kong & Yu, 2007). Teóricamente, la espectroscopía de infrarrojo es una medida de longitud de onda e intensidad de la absorción de radiación IR por una muestra. Los datos espectrales IR de polímeros altos generalmente se interpretan en términos de las vibraciones de una unidad de repetición estructural. Las unidades de repetición de polipéptidos y proteínas dan lugar a nueve bandas de absorción IR características, a saber, amida A, B e I–VII. De estas, las bandas amida I y II son las dos bandas vibratorias más prominentes de la estructura de la proteína (Fevzioglu et al., 2020).

Zhu *et al.* (2019), utiliza esta técnica espectroscópica para identificar las estructuras del gluten a partir de las bandas espectroscópicas características del WG. Utilizando la banda de la amida I (1700-1600 cm^{-1}), pueden cuantificarse los porcentajes de estructuras relacionadas al ancho de la banda espectroscópica, calculando las áreas bajo la curva de las bandas. La cantidad de estructuras secundarias de la proteína del gluten (en la masa de gluten) en la región amida I de gluten se estima utilizando un software, en cuyo caso utilizaron el Omnic versión 8.0, Thermo Nicolet Inc., Waltham, MA, EE. UU.

Bajo esta misma perspectiva, Fevzioglu et al., (2020), desarrollaron un enfoque cuantitativo mejorado para determinar el contenido de la estructura secundaria de los sistemas de proteínas alimentarias compuestos por una o más proteínas, basado en la investigación de las regiones espectrales de la amida I y la amida III y en un procedimiento de ajuste de curvas junto con técnicas de mejora de la resolución. En la que describen que la región de la amida I proporciona una información más detallada sobre la fuerza de los enlaces y las posibles

transiciones estructurales en las proteínas, la región de la amida III permite la diferenciación de diferentes estructuras.

En base a lo anterior, una mayor comprensión de la estructura y el comportamiento de las proteínas gliadinas y gluteninas puede resultar de suma importancia para entender la utilidad de estas proteínas para diversas aplicaciones, incluyendo materiales plásticos, espumas, adhesivos, películas y recubrimientos, sumando a esto que el gluten de trigo es un biopolímero degradable al ambiente, con altas propiedades interesantes para el desarrollo de nuevas tecnologías.

Gluten de trigo como biopolímero encapsulante

Actualmente, se está buscando materiales que sean amigables con el medio ambiente. Básicamente, están siendo estudiados polímeros biodegradables para la elaboración de materiales que sustituyan a los obtenidos de los derivados del petróleo. Y es que este material, además es considerado de bajo costo, disponible y es un recurso renovable. A continuación, se presentan estudios donde utilizan el gluten de trigo como polímero biodegradable para la elaboración de materiales.

Reddy & Yang (2007), elaboraron fibras de proteína con propiedades mecánicas similares a las de la lana y mejores que las de proteína de soya. Estas fibras fueron elaboradas a partir de gluten de trigo. Ellos desarrollaron un método de producción simple para obtener una alta calidad de fibras de gluten de trigo. Una concentración menor a 25 % producía fibras con poca capacidad de estiramiento, mientras que fibras de 25 a 27 % tenían buena capacidad de estiramiento con pobres propiedades mecánicas.

Yuno-Ohta *et al.* (2009), obtuvieron geles y películas a partir de proteínas de WG añadiendo cisteína y alginato de sodio para conferir mayor resistencia al producto final. Ellos sugieren que la adición de una cantidad adecuada de cisteína (0.01 M) y el tratamiento térmico a 80 °C durante la formación del gel de gluten y películas induce la formación de una red homogénea en estos dos productos mediante la regulación de las interacciones de los enlaces disulfuro.

Pires-Ferreira et al. (2014), estudiaron la influencia de diferentes condiciones de extrusión en las propiedades térmicas y reológicas de biopolímeros de WG plastificado con glicerol. La temperatura de las zonas de calentamiento de la extrusora corrotativa influyó en estas propiedades. Temperaturas entre 55 y 60 °C producían extruidos de buen aspecto y poca rugosidad.

Tapia-Hernández et al. (2018), prepararon y caracterizaron micropartículas porosas de WG utilizando la técnica de Electrospray. Estudiaron el efecto de los parámetros fisicoquímicos de la suspensión y los parámetros de la técnica de electroaspersión. Se encontró que a concentraciones más altas de gluten (8 % p/v) se obtuvieron valores más altos de viscosidad, densidad y tamaño de partícula, aunque a menor concentración, existía una mejor estabilidad reológica que exhibió comportamiento de fluidos newtonianos.

Capezza et al. (2020), funcionalizaron partículas de gluten con EDTAD, un agente de acilación no tóxico. Con esto lograron obtener partículas porosas de gluten con un tamaño de 50-150 nm inducidos por secado. El producto obtenido de la acilación con EDTAD además tenía la capacidad de absorber gran porcentaje agua, solución salina y sangre por gramo de material seco, 22, 5 y 3 veces respectivamente, en comparación del gluten no tratado. La capacidad de retención de líquido después de centrifugarse reveló que casi el 50 % del líquido salino se retuvo dentro de la red de proteínas, que es similar a la de los polímeros superabsorbentes a base de petróleo.

Chavoshizadeh et al. (2020), elaboraron una película biodegradable inteligente basada en gluten de trigo modificado con clorofila (WG/Ch). Estudiaron el efecto de la clorofila sobre la actividad antioxidante y las propiedades mecánicas de la película WG/Ch y caracterizaron el material obtenido mediante análisis de microscopía electrónica de barrido y de espectroscopia infrarroja por transformación de Fourier (FT-IR) para estudiar la estructura y la composición química de las películas basadas en gluten. La película WG/Ch se utilizó en el envasado de aceite de sésamo y se demostró el efecto protector que presentaba la película WG/Ch en el aumento de la vida útil y la detección del tiempo de caducidad del aceite. Además, al examinar las propiedades de color de la película activa, encontraron que, al

aumentar el tiempo de almacenamiento y el porcentaje de oxidante, el color de la película cambia (de verde a amarillo), lo que puede utilizarse para estimar el tiempo de caducidad del aceite.

Analizando estos ejemplos se logra inferir que el desarrollo de materiales poliméricos a partir de materias primas de origen agrícola se ha convertido en un gran desafío para los científicos en materiales. El gluten de trigo por sí mismo es considerado uno de los polímeros naturales más importantes a nivel agrícola, debido a sus buenas propiedades viscoelásticas, bajo costo y abundancia en el mercado. Sin embargo, en la obtención de micro y nano partículas de gluten sigue presentando un reto, debido a las pobres características de solubilidad que tiene el gluten frente a solventes polares como el agua o el etanol. Por ello es necesario seleccionar los solventes adecuados para su solubilización y que al mismo tiempo puedan implementarse en la electroaspersión, siempre buscando solventes que sean amigables con el medio ambiente y que puedan implementarse a la industria de alimentos.

Solventes ideales

Un solvente es una sustancia química de naturaleza generalmente líquida en la que se disuelve un soluto, cuya naturaleza pueden ser igualmente líquida o químicamente diferente como un sólido o un gas, dando como resultado una disolución. El solvente es el componente de una disolución presente en mayor cantidad, sus moléculas interactúan químicamente con las moléculas del soluto, rodeándolas hasta lograr disolverlas, mismo proceso que se conoce como solvatación. Solventes polares disolverán solutos polares al establecerse interacciones electrostáticas entre los dipolos como el caso del agua (Fig. 6). Mientras que los disolventes apolares disuelven las sustancias apolares por interacciones entre dipolos inducidos (Atkins & Jones, 2012). Los disolventes tienen diversas aplicaciones que van desde la fabricación de adhesivos, productos farmacéuticos, componentes en las pinturas, y para la elaboración de materiales sintéticos, etc.

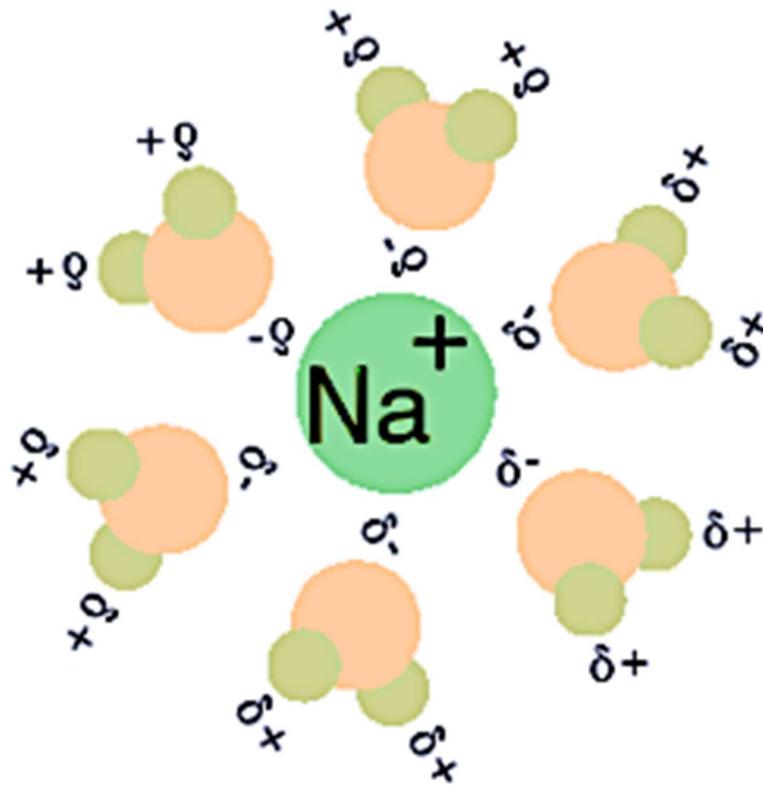


Figura 6. Representación esquematizada de moléculas de agua solvatando un ion de sodio.

Bajo estos criterios, un solvente ideal es aquel solvente que es útil para solvatar un soluto determinado a su máxima capacidad de disolución, el cual va a depender de sus características químicas.

Tipos de Solventes

Solventes polares: En estos solventes la distribución de la nube electrónica de sus moléculas es asimétrica; presentando un polo positivo y otro negativo, teniendo así un dipolo permanente. El ejemplo por excelencia de solvente polar es el agua. Los alcoholes de baja peso molecular como el metanol y el etanol también pertenecen a este tipo, el cloroformo, tetrahidrofurano, entre otros. Los solventes polares se pueden subdividir en (Amado-González & Hernando-Blanco, 2003; Núñez, 2008):

- *Solventes polares próticos:* poseen un enlace del tipo -OH o de -NH. El agua (H-O-H), el etanol y el ácido acético son solventes polares próticos.
- *Solventes polares apróticos:* este tipo de solventes no dan ni aceptan protones. Son disolventes polares que generalmente que no tiene enlaces -OH o -NH. Ejemplos de estos son: el acetonitrilo, la acetona, la dimetilformamida y el tetrahidrofurano.

Solventes apolares: son solventes en cuyas moléculas la distribución de la nube electrónica es simétrica, generalmente son sustancias orgánicas y estas carecen de polo positivo y negativo en sus moléculas. No forman dipolos permanentes sino que estos son inducidos de manera espontanea y momentaneamente. Todo dependiendo su geometría molecular. Ejemplos de estos disolventes son: el benceno, eter etílico, hexano, cicloexano, xileno, etc. (Bermudez-Sierra, 2018; Núñez, 2008).

Uso de solventes en la electroaspersión

Los disolventes más utilizados actualmente en la electroaspersión, son los solventes orgánicos, aunque la elección de uno u otro siempre va a depender del material polimérico que se va a utilizar, ya que como vimos, las características químicas tanto del solvente como las del soluto (compuesto bioactivo o matriz encapsulante) van a influir en la solubilidad del mismo (Bohr et al., 2018; Zhongbao et al., 2021). El uso de estos solventes promueve la formación de partículas en la electroaspersión debido a que estos solventes presentan una presión de vapor elevada como la propanona o el etanol (Fig. 7) permitiendo ser volatilizado con facilidad al momento de aplicarles cierto voltaje (Huang et al., 2017). Además, es posible adecuar la distancia correcta entre la aguja y la placa colectora, para darle más tiempo al solvente de ser evaporado por completo del polímero (Shixiong et al., 2021)(Fig. 8), por ello también son conocidos como compuestos orgánicos volátiles (VOC, por sus siglas en inglés) (Restrepo, 2006). Dentro de los VOC's más destacados podemos encontrar el ácido etanoico, acetona, metanol, etanol, cloroformo, xileno, ácido acético, entre otros.

En la figura 7 se muestran diferentes sustancias y como es que su presión de vapor cambia con la temperatura. Este estudio demuestra además que dependiendo del peso molecular y de la intensidad de las fuerzas intermoleculares de cada sustancia, estas presentan mayor o menor presión de vapor (Rebelo et al., 2005). En el caso de la propanona las moléculas están unidas por fuerzas intermoleculares débiles como las dipolo-dipolo, por lo que se pueden separar fácilmente por acción de la temperatura pasando a la fase vapor con mayor facilidad. En este caso la presión de vapor aumenta rápidamente con la temperatura. En caso contrario el ácido etanoico, en el que además de fuerzas de dipolo-dipolo hay abundantes puentes de hidrógeno por la naturaleza química de la molécula. La presencia de estas fuerzas intermoleculares más intensas dificulta la separación de las moléculas en estado líquido y, por tanto, su evaporación. Teniendo como resultado una menor presión de vapor (Chang & Goldsby, 2013).

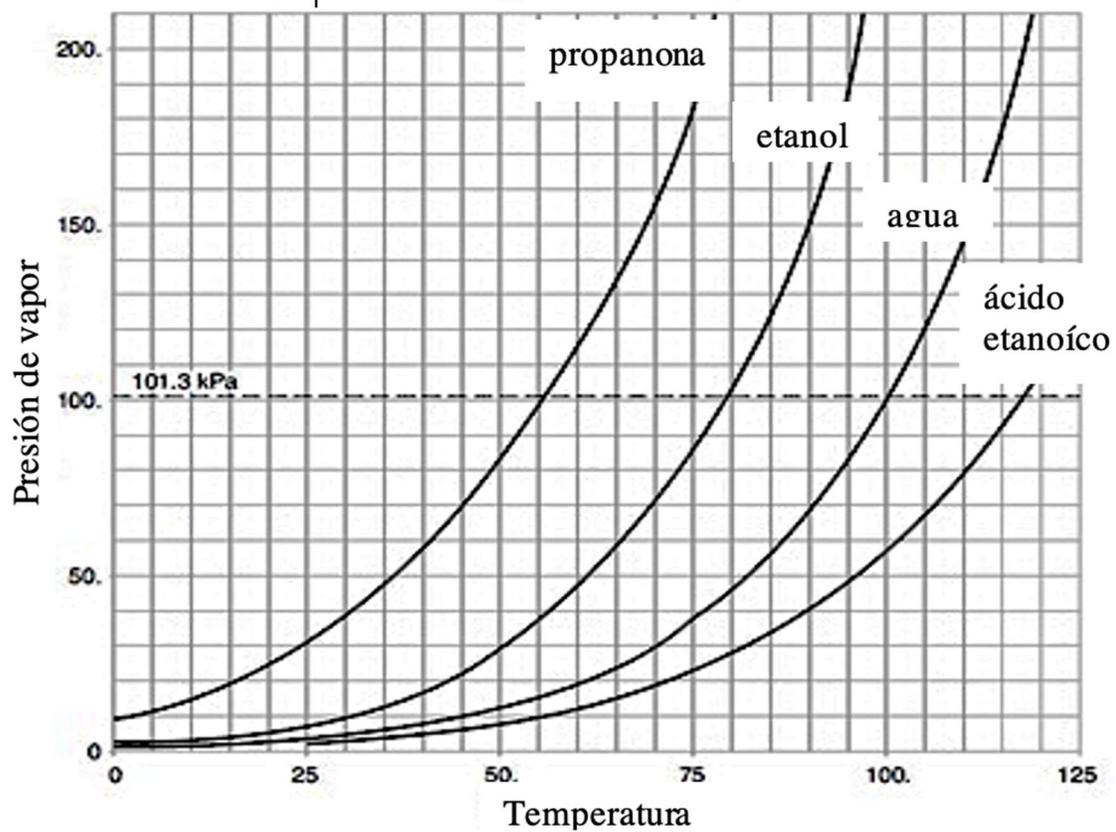


Figura 7. Grafica de comparación de la evolución de las presiones de vapor de cuatro sustancias puras con la temperatura.

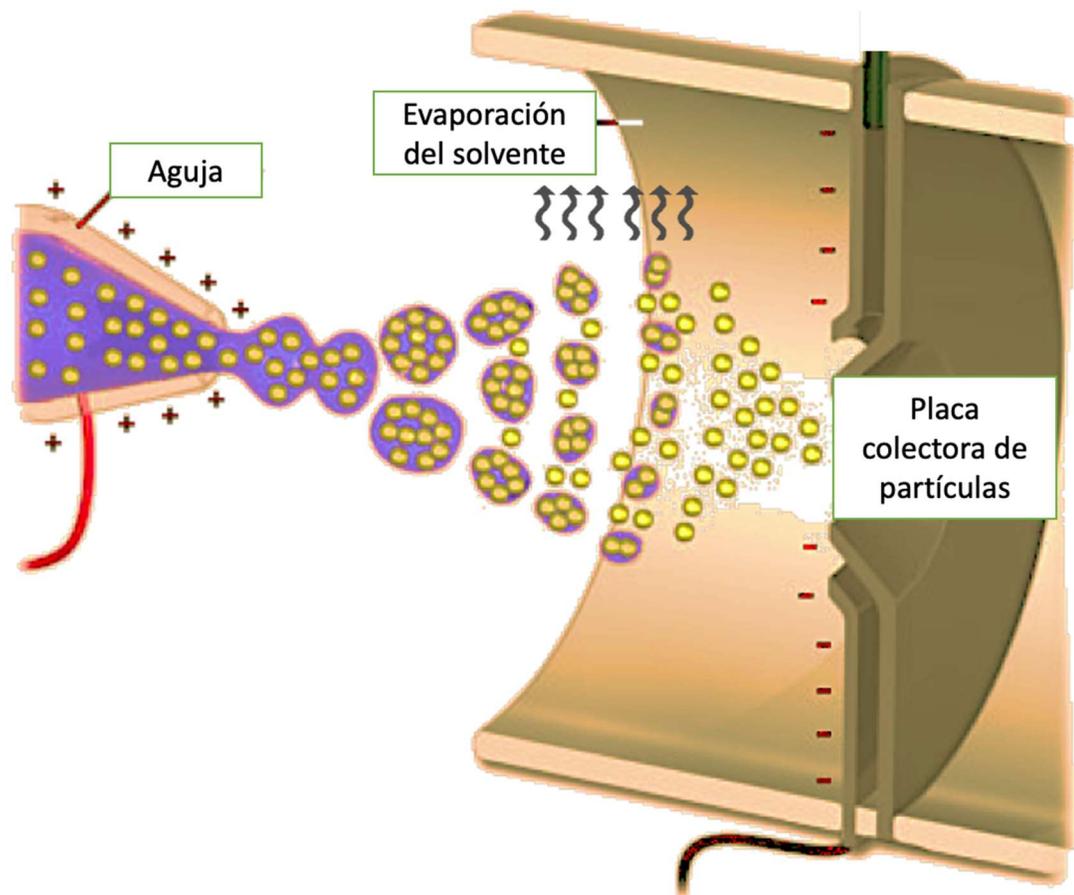


Figura 8. Esquematización de la evaporación del solvente durante la electrospinning de una solución. La zona color morada representa al solvente y los puntos amarillos al polímero en solución.

Aun así, esta presión de vapor también puede verse afectada cuando una disolución está formada por una mezcla homogénea entre un solvente que es volátil y un soluto que no lo es. La presión de vapor del solvente en la disolución será menor que si estuviera puro. La razón es que la evaporación es un fenómeno superficial, si las moléculas del soluto ocupan parte de la superficie del líquido, la transferencia de moléculas de disolvente desde la fase líquida a la gaseosa se verá dificultada. Por eso es tan importante seleccionar un solvente adecuado para la solubilización del material encapsulante y que al mismo tiempo pueda ser fácilmente volatilizado en la electroaspersión.

Sin embargo, el uso de VOC's puede tener una contra parte perjudicial para el medio ambiente, ya que son liberados a la atmósfera y en muchos casos pueden ocasionar problemas de contaminación para el entorno. Algunos VOC's promueven la degradación de la capa de ozono como es el caso de los clorofluorocarbonos y el 1,1,1-tricloroetano, el tetracloruro de carbono y el hidroclofluorocarbono (Sánchez-Montero & Alcántara-León, 2007). Las características físicoquímicas de los VOC's hacen que estos se evaporen rápidamente en el aire, alcanzando concentraciones importantes en espacios confinados. Los mayores riesgos para la salud se producen por la inhalación y absorción de estos a través de la piel, lo que permite que el disolvente pase a la sangre, causando efectos inmediatos y más a largo plazo (Romano Mozo et al., 2011). Para reducir el impacto medioambiental de los actuales VOC's pueden reemplazarse por una serie de sustancias alternas conocidas como solventes alternativos o solventes verdes, pertenecientes a la rama de la química verde (Hernández-Ramos, 2010).

Así mismo, los solventes utilizados deben presentar buena conductividad eléctrica como los solventes polares próticos y no deben ser viscosos. Por lo general, en la electroaspersión los COV's suelen ser empleados solos. Sin embargo, también pueden ser utilizados en combinación con otros solventes, conocidos como solventes binarios, esto para poder ser usados como medio de dispersión y disolver las materias primas o como modificador de la viscosidad, y/o como agente tensoactivo.

Solventes binarios

Los solventes binarios son un sistema de solventes de dos sustancias químicas que conforman una misma disolución y que ayudan a mejorar la solubilidad de los solutos afines a estos solventes (Yu et al., 2020), mismos que individualmente no tienen el mismo efecto de solubilidad que cuando actúan en sinergia como solvente binario (Zeng et al., 2020)(Wan et al., 2020). Son utilizados para solubilizar principalmente compuestos orgánicos como fármacos (Pabba et al., 2020), vitaminas (Shi et al., 2019) y polímeros (Zakharov et al., 2010). Además, se ha visto que la aplicación de temperatura a estos sistemas mejora considerablemente la solubilidad de los compuestos (Yitong Zhu et al., 2020).

Solventes ideales para el gluten

Como ya se ha venido hablando con anterioridad, dentro de los biopolímeros, el WG tiene gran importancia en la obtención de micro y nano nanopartículas debido al alto valor tecnológico conferido por las unidades de proteínas gluteninas y gliadinas que conforman el WG. Estas le otorgan características como termoestabilidad y viscoelasticidad que lo hacen atractivo para la encapsulación de compuestos de interés en la industria farmacéutica y de alimentos (Rezaei et al., 2019)(Castro-Enríquez et al., 2019). Sin embargo, el WG es parcialmente hidrofóbico y tiene poca solubilidad en agua (sus gluteninas son solubles en ácidos diluidos y sus gliadinas son solubles en etanol al 70 %) (Atwell, 2001). Tiende a absorber humedad y volverse una masa gomosa (Capezza et al., 2020), lo que dificulta su electroaspersión. Mismo que afecta directamente la morfología y el tamaño de las partículas.

De acuerdo con Osborne, las proteínas del gluten de trigo pueden clasificarse según su solubilidad. Esta clasificación se basa de acuerdo a una técnica de separación de la harina de trigo que consiste en una serie de extracciones con diferentes solventes, agua, solución salina, solución alcohólica y una solución de ácida. Utilizando esta método de separación, las proteínas del gluten de trigo se clasifican en albúminas, globulinas, gliadinas y gluteninas. La Tabla 5, muestra la clasificación de las proteínas presentes en las diferentes fracciones, conocidas como fracciones de Osborne (Eggert et al., 2011; Wieser, 2000).

Las fracciones “Gliadinas y gluteninas” que son las proteínas que conforman al gluten, presentan solubilidades en solventes diferentes. Por ello el uso de solventes binarios conformado por dos solventes orgánicos polares como el ácido fórmico y el alcohol etílico como sistema de solvente binario puede resultar útil para su solubilidad y electroaspersión.

Tabla 5. Proteínas presentes en las fracciones de Osborne (De la Vega Ruiz, 2009).

Fracción Osborne	Solvente de extracción	Composición	Papel biológico	Papel funcional
Albúminas	agua	Proteínas (principalmente monoméricas)	Estructurales y metabólicas	variable
Globulinas	solucion salina	Proteínas (principalmente monoméricas)	Estructurales y metabólicas	variable
Gliadinas	solucion alcohólica	Proteínas del gluten (principalmente gliadinas y polímeros de gluteninas de bajo peso molecular)	Almacenamiento de la semilla tipo prolaminas	Viscosidad a la masa / extensibilidad
Gluteninas	ácidos diluidos	Proteínas del gluten (principalmente polímeros de glutenina de alto peso molecular)	Almacenamiento de la semilla tipo prolaminas	Elasticidad a la masa / tenacidad
Residuo	Sin extraer	Proteínas del gluten (polímeros de alto peso molecular) y proteínas no de gluten poliméricas (triticinas)	Almacenamiento de la semilla, tipo prolamina (gluten) y tipo globulinas (triticinas)	variable

Sistema ácido fórmico-etanol (FAE) como solvente binario del gluten

El ácido fórmico (nombre IUPAC: ácido metanoico; número de registro CAS: 64-18-6; fórmula molecular: CH_2O_2) y el alcohol etílico (nombre IUPAC: etanol; número de registro CAS: 64-17-5; fórmula molecular: $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) son solventes orgánicos aprobados por la FDA como sustancias generalmente reconocidas como seguras (GRAS) por lo que, en principio pueden ser utilizados como solventes alternativos o solventes verdes. Presentan estructuras de cadenas cortas de carbono que poseen en su conformación química grupos $-\text{CH}_3$ y $-\text{OH}$ (*Electronic Code of Federal Regulations (ECFR)*). Esto les otorga cierto momento dipolar permitiendo formar interacciones electrostáticas de Van de Waals y puentes de hidrógeno. Penetran en la estructura de la proteína gracias a su bajo peso molecular y se adhieren a grupos de aminoácidos como prolamina y la glutamina en la estructura del WG, modificando la estructura cuaternaria y terciaria de las proteínas permitiendo la extensión de sus cadenas de aminoácidos. Lo que facilita la solubilidad de la proteína de gluten. Además, debido a una disminución en el pH a causa del ácido fórmico, pueden llevar al gluten por debajo de su punto isoeléctrico (5.8 – 5.2) para mejorar la solubilidad de la proteína (Sun et al., 2015)(Mejri et al., 2005).

Por otra parte, estos solventes poseen una presión de vapor elevada en comparación de otros solventes orgánicos, 4.6 kPa a 20 °C para el ácido fórmico y 5.9 kPa a 20 °C para el etanol, permitiendo su fácil volatilización al momento de utilizarse en el equipo de electroaspersión. Aunado a esto, ambos son solventes polares próticos (fácilmente son donadores de protones) lo que hacen que sean buenos conductores de la electricidad en comparación de otros solventes orgánicos como el ácido acético, que, aunque también es un solvente polar prótico, su presión de vapor es mucho menor (1.47 kPa a 20 °C).

Por ello, el presente trabajo evalúa las propiedades fisicoquímicas de las suspensiones de gluten en un sistema binario de solventes (ácido fórmico-etanol [FAE]), así como las propiedades reológicas de cada una de las soluciones para determinar su estabilidad y ver el efecto que tienen sobre la morfología y tamaño de partícula al momento de ser electroasperjadas. Este sistema de solvente binario resulta ideal para la solubilización de gluten de trigo y puede ser utilizado en la industria alimentaria en la encapsulación de compuestos bioactivos con diversas aplicaciones, por ejemplo, en la elaboración de biosensores para el desarrollo de envases inteligentes.

HIPÓTESIS

El implemento del sistema binario de solvente FAE permitirá la modificación estructural de las proteínas del gluten, mejorando su solubilidad para la obtención de nanopartículas por el método de electroaspersión.

OBJETIVOS

Objetivo General:

Estudiar las propiedades fisicoquímicas y reológicas de suspensiones de gluten de trigo en un sistema binario de solventes para la obtención de nanopartículas por electroaspersión.

Objetivos Específicos:

1. Determinar la estabilidad de las suspensiones de gluten en el sistema de solvente binario FAE mediante: el análisis de las propiedades reológicas y fisicoquímicas (densidad, conductividad, viscosidad y pH).
2. Estandarizar los parámetros óptimos para la obtención de partículas de gluten por el método de electroaspersión (concentración de gluten, distancia entre la aguja y placa colectora, voltaje aplicado y velocidad de flujo de la solución).
3. Evaluar el comportamiento de las estructuras secundarias de las proteínas del gluten mediante la deconvolución de la banda de amida I antes y después de su tratamiento con FAE post-electroaspersión.
4. Caracterizar química y estructuralmente las partículas de gluten obtenidas, utilizando espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier y microscopia electrónica de barrido.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Gluten de trigo, CAS: 8002-80-0, marca: SIGMA-ALDRICH; Ácido fórmico grado reactivo >95 %, CAS: 64-18-6, marca: SIGMA-ALDRICH; Alcohol etílico absoluto 99.72 %, CAS: 64-17-5, marca: FAGA-LAB (México).

Metodología

Preparación de suspensiones de gluten

Para la preparación de las suspensiones de gluten se siguió la metodología de Tapia-Hernández (2017) con modificaciones. Se prepararon suspensiones de gluten de 50 mL al 2, 4, 6 y 8 % p/v utilizando como solvente ácido fórmico/etanol en proporción 70:30 v/v, en agitación magnética por 8 h a 35 °C.

Caracterización fisicoquímica de suspensiones de gluten

Estabilidad

Para tener un punto de comparación de la estabilidad de las proteínas de WG se prepararon suspensiones de WG al 8% (máxima concentración con la que se trabajó) utilizando etanol (EOH), ácido fórmico (AF) y ácido fórmico-etanol (FAE). Se evaluó la estabilidad dependiente del tiempo en estas tres soluciones. Se observaron y anotaron los cambios visibles como: formación de precipitado, turbidez y pardeamiento a los días 1, 2, 3, 4, 7, 11, 17 y 21, después de ser preparados.

Densidad

Para la medición de la densidad se siguió como lo describen Rodríguez-Félix *et al.* (Rodríguez-Félix *et al.*, 2019) y Chevalier *et al.* (Chevalier *et al.*, 2018). Se utilizó un picnómetro con un volumen de 10 mL y las mediciones de peso se realizaron por triplicado

a una temperatura de 25 °C utilizando una balanza analítica 8028-series. Tomando como referencia la densidad del agua y utilizando la siguiente ecuación:

$$\rho = \frac{M3 - M1}{M2 - M1} 1 \frac{g}{cm^3}$$

En la que:

M1 es el peso del picnómetro.

M2 es el peso del picnómetro con el agua.

M3 es el peso del picnómetro con la muestra.

Conductividad y pH

Se realizaron mediciones de cada una de las suspensiones de gluten por triplicado, a una temperatura de 25 °C utilizando un potenciómetro HANNA instruments modelo HI 2550.

Viscosidad

Se evaluó la viscosidad dependiente del tiempo utilizando un reómetro de líquidos MCR 102 (Anton Paar, Alemania). Se realizaron mediciones por triplicado de cada una de las suspensiones.

Análisis reológico

Se utilizó un Reómetro modelo MCR 102 (Anton Paar, Alemania) con una celda de geometría cilíndrica concéntrica. Esto con la finalidad de ver la estabilidad de las soluciones para la obtención de partículas con tamaño deseado. La medición del esfuerzo de corte y la viscosidad con respecto a la velocidad de corte se midió a una rampa de velocidad de corte de 0.01 a 100 s⁻¹. Así mismo, se evaluó la viscosidad dependiente del tiempo a una rampa de tiempo de 400 s, a una velocidad de corte constante de 100 s⁻¹.

Para los cálculos del valor de n se utilizó la siguiente ecuación:

Ecuación de la Ley de la potencia.

$$\eta = K\gamma^{n-1}$$

En donde:

η es la viscosidad.

K es índice de consistencia del flujo.

n es el índice de comportamiento del flujo que puede obtenerse a partir de la pendiente de la curva.

γ es la velocidad de corte.

La ecuación anterior fue linealizada de acuerdo a la ecuación de la recta sabiendo que la ecuación de la recta es:

$$y = a + bx$$

Condiciones para la obtención de partículas de gluten

Se estudiaron las siguientes variables: concentración de la suspensión polimérica (2, 4, 6 y 8% p/v); voltaje aplicado (15 y 20 kV); distancia entre la aguja y la placa colectora (5 y 10 cm). La velocidad de flujo se mantuvo constante en todas las corridas a una velocidad de 0.1 mL·h⁻¹ utilizando una bomba KD Scientific EE. UU. Se utilizó una jeringa de plástico de 5 mL con una aguja de 0.8 mm de diámetro. El voltaje aplicado a la suspensión se realizó empleando una fuente de poder de alto voltaje (modelo CZE 1000R; Spellman, Estados Unidos), teniendo una placa de aluminio de 10 cm x 10 cm para la recolección de las partículas.

Caracterización químico-estructural

Espectroscopía de infrarrojo con Transformada de Fourier (FT-IR)

Para la obtención de los espectros de infrarrojo, se utilizó un equipo Perkin Elmer Frontier. El número de scans utilizado fue de 16, en un intervalo del infrarrojo de 4000 a 400 cm⁻¹ con una resolución de 4 cm⁻¹. Esto para identificar los principales grupos funcionales de los solventes utilizados, las posibles interacciones de las proteínas del gluten con los mismos y los cambios en las estructuras secundarias de las proteínas del WG.

Microscopia electrónica de barrido

Para evaluar las características morfológicas del material obtenido, se realizaron observaciones en un microscopio electrónico de barrido (marca JEOL, modelo 5410LV) operado a 15 kV.

Diseño Experimental

El diseño experimental aplicado fue a partir de las variaciones de los parámetros del método de electroaspersión. Los parámetros fueron: voltaje aplicado, distancia del entre la aguja y placa colectora, y concentración de gluten. Por lo tanto, consistió en un diseño multifactorial de 2 x 2 x 4, teniendo un total de 16 tratamientos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización fisicoquímica

Estabilidad

En general las proteínas del WG mostró buena estabilidad en el sistema binario FAE formando una suspensión homogénea en todas las soluciones preparadas. Los resultados de este procedimiento se pueden apreciar en la Fig. 9.

De acuerdo con la clasificación de las fracciones de Osborne, cuando se utiliza solamente EOH se solubilizan parcialmente las gliadinas y polímeros de bajo peso molecular de gluteninas. Sin embargo, en las suspensiones etanólicas de WG, al minuto 1 después de haberse preparado el Día 1, se observó un precipitado. Del mismo modo, para el día 2 se observó que prácticamente la parte del solvente fue clarificada, por lo que el uso de EOH para la solubilización y electroaspersión del gluten no es adecuado.

Cuando se usó solo AF, se formó una suspensión homogénea con apariencia viscosa y de color marrón, misma que con el paso del tiempo se fue oscureciendo hasta tornarse a un tono café intenso. Esto puede deberse a que un pequeño porcentaje del peso total del gluten corresponden a carbohidratos, los cuales pueden propiciar reacciones de Maillard con las proteínas por efecto del calor al momento de preparar las suspensiones. Aunado a esto, se da la oxidación y desnaturalización de las proteínas debido al implemento de un ácido concentrado fuerte, mostrando en apariencia un oscurecimiento intenso al paso del tiempo (Shuyu et al., 2020; Yongling et al., 2020).

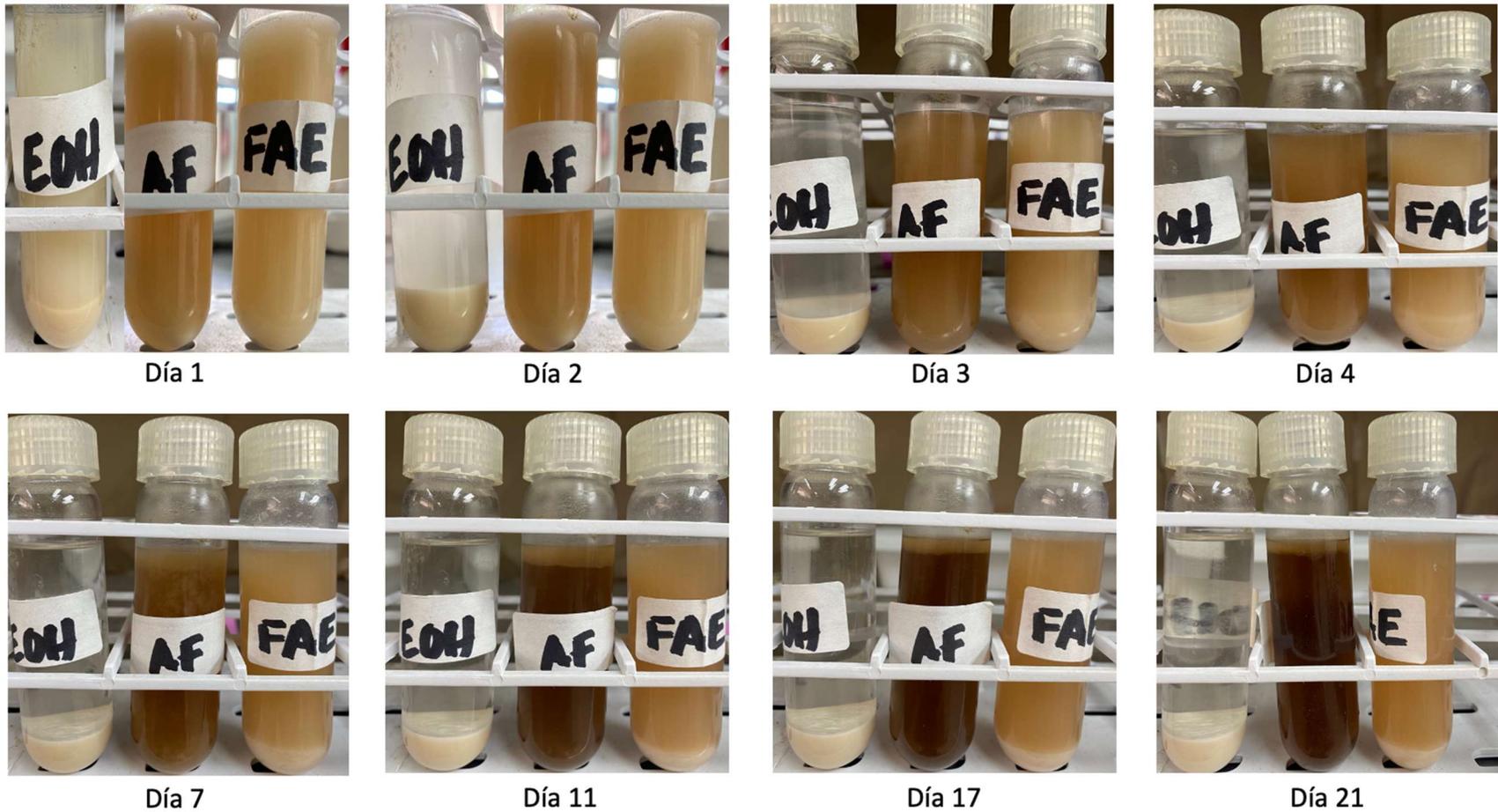


Figura 9. Evaluación de la solubilidad de las proteínas de WG en etanol (EOH), ácido fórmico (AF) y FAE, mediante la visualización de precipitado.

Por otra parte, cuando se utilizaron ambos solventes como sistema binario FAE, en principio se observó la misma apariencia que la solución preparada solo con AF. Esta presentó una distribución homogénea del WG en toda la suspensión. Sin embargo, al llegar al día 3 después de su preparación, se pudo visualizar un ligero precipitado, mismo que se hace más evidente con el paso del tiempo. Por otra parte, se puede apreciar que, pese al oscurecimiento formado con el paso del tiempo en la suspensión, este no es tan intenso como en AF, manteniendo la misma tonalidad hasta el día 21. Esto puede deberse a que el sistema binario FAE es un ácido diluido del ácido fórmico con etanol, el cual con el tiempo tiende a reaccionar químicamente produciendo formiato de etilo mediante una reacción de esterificación (Fig.10), produciendo mínimas cantidades de este, ya que el etanol se encuentra en baja proporción como reactivo limitante. Además, para que se lleve a cabo la reacción se necesita de la aplicación de un catalizador como el H_2SO_4 . Aunque esta reacción también puede verse propiciada por la aplicación de calor como en el presente estudio (McMurry, 2018).

El formiato de etilo tiene propiedades hidrofóbicas y es utilizado en la industria como solvente. Esto podría favorecer la solvatación del WG ya que este es parcialmente hidrofóbico. Además, posee una presión de vapor elevada (25.36 kPa a 20 °C) por lo que su presencia no afectaría la electrodispersión del WG (Estrucplan, 2000).

Asimismo, los resultados de viscosidad, densidad, conductividad y pH, realizados a las suspensiones de WG al 2, 4, 6 y 8% preparadas con FAE se encuentran reportados en la Tabla 6.

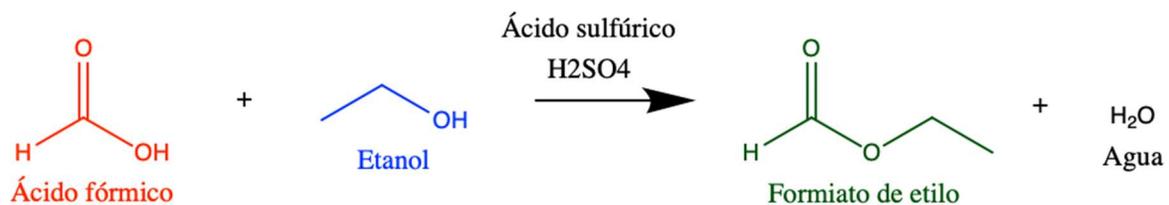


Figura 10. Esterificación del ácido fórmico (ácido carboxílico) y del etanol (alcohol) en un formiato de etilo (éster) y agua. Creado con el programa ChemDraw Professional 16.0.

Viscosidad

La viscosidad es un parámetro que depende del peso molecular del polímero, la concentración y el disolvente aplicado. A altas concentraciones, la viscosidad de la solución será mayor y viceversa. En la Tabla 6 se presentan los resultados de la viscosidad de las suspensiones misma que aumenta conforme se incrementa la concentración de WG, $0.0025 \pm 3.07 \text{ E}^{-05}$, $0.0043 \pm 4.16 \text{ E}^{-05}$, $0.0075 \pm 7.52 \text{ E}^{-05}$ y $0.0108 \pm 1.13 \text{ E}^{-04}$ Pa*s fueron las viscosidades encontradas para las suspensiones de 2, 4, 6, 8 % respectivamente.

Para la formación de nanopartículas, es necesaria la viscosidad adecuada ya que a altas viscosidades pueden formarse fibras en lugar de partículas. Algunos autores indican que el valor límite mínimo para la obtención de fibras por técnicas electrodinámicas es de 800 mPa.S ya que por debajo de este valor las fibras tienden a romperse en gotas (Chakraborty et al., 2009)(Sill & von Recum, 2008). Debido a lo anterior, fluidos con viscosidades por debajo de este valor son adecuados para la obtención de partículas. Tal como lo demuestran estos estudios en los que se reportan viscosidades de 0.0048 Pa.S para partículas de zeína-ácido gálico (Tapia-Hernández et al., 2019), 0.3240 Pa.s de WG (Tapia-Hernández et al., 2018).

Densidad

La densidad es una propiedad intensiva de la materia, misma que es proporcional a la concentración (bajo las mismas condiciones de presión y temperatura) y por lo tanto también a la viscosidad. Una mayor concentración y viscosidad tiende a aumentar la densidad y viceversa. Este mismo comportamiento se observó en las suspensiones de WG, mismas que presentaron un aumento en la densidad conforme aumentaba su concentración. Valores de densidad de $1.0761 \pm 5.19 \text{ E}^{-04}$, $1.0807 \pm 3.77 \text{ E}^{-04}$, $1.0841 \pm 3.64 \text{ E}^{-04}$ y $1.0898 \pm 4.97 \text{ E}^{-04}$ g/cm³ fueron encontrados para las concentraciones 2, 4, 6 y 8 %, respectivamente. En la electroaspersión específicamente el tamaño de las partículas puede aumentar cuando se incrementa la concentración de la suspensión polimérica, y por lo tanto su densidad y viscosidad también (Xue et al., 2020).

Por otra parte, la densidad comprende un parámetro que está relacionado con la formación del cono de Taylor para la obtención de micro y nanopartículas por el método de

electroaspersión (Surib & Mohd Paad, 2020). Una densidad óptima puede formar un cono de Taylor del tipo cono de chorro mientras que una densidad inadecuada puede formar un cono de Taylor del tipo cono de goteo (Jaworek & Sobczyk, 2008), formando nanopartículas irregulares, polidispersas y de diámetros muy grandes. De acuerdo con lo reportado por Tapia-Hernández et al. (2018), un valor de densidad cercana o parecida a la del agua se consideran óptimos para las suspensiones de WG dando como resultado la formación de nanopartículas de menor diámetro, más esféricas y monodispersas

Conductividad

El voltaje que se aplica durante la electroaspersión está determinado por la conductividad eléctrica de la matriz polimérica en solución y los solventes que lo conforman. Una matriz polimérica con alta conductividad eléctrica ocupará menos voltaje para romper la tensión superficial de la solución y formar partículas más pequeñas en diámetro. Para las suspensiones de WG preparadas al 2, 4, 6 y 8 % se obtuvieron los siguientes valores de conductividad respectivamente: 1259.66 ± 8.25 , 1362.33 ± 2.86 , 1484.66 ± 2.05 y $1695.66 \pm 7.36 \mu\text{s}/\text{cm}^3$. Sin embargo, no existe un valor óptimo reportado para la obtención de partículas de WG ya que este va a depender de su concentración y de los solventes utilizados. Aun así, se ha visto en algunos estudios que, empleando voltajes de 10, 15 y 20 kV en el electroaspersor es posible obtener partículas de proteínas de WG bajo diferentes condiciones. Por otro lado, existen estudios en los que se relaciona la conductividad con el potencial eléctrico del polímero, si el potencial eléctrico es alto se adquirirá una mayor conductividad eléctrica (Tapia-Hernández *et al.*, 2019). En este caso, aunque no fue posible medir el potencial eléctrico del material si se comprobó que el WG aumenta la conductividad eléctrica en la solución, ya que este aumenta conforme se aumenta su concentración mientras que la conductividad eléctrica de FAE sin WG en solución es de $1077.33 \pm 2.51 \mu\text{s}/\text{cm}^3$.

pH

Si bien el pH no es un parámetro que influya directamente sobre la electroaspersión, si influye sobre el comportamiento reológico del WG y en cómo se desnaturalizan sus subunidades proteicas, y por lo tanto en su solubilidad.

Estudios recientes demuestran que bajo condiciones ácidas los valores del módulo de almacenamiento de energía (G') y el módulo de pérdida (G'') son menores que los obtenidos en condiciones alcalinas. Esto se debe a que bajo condiciones alcalinas se promueve una estructura de WG más fuerte, mejorando las interacciones electrostáticas entre las proteínas del WG y las interacciones de puentes disulfuro (Chen et al., 2021; Han et al., 2020). Bajo estas circunstancias se puede deducir que, a un pH ácido por debajo del punto isoeléctrico las proteínas del WG pierden rigidez y elasticidad, por lo que su solubilidad se ve mejorada.

Es importante mencionar que la lectura de los valores de pH para todas las suspensiones de WG obtenidas reportan valores negativos (Tabla 6). Existen casos en la que los iones H^+ y OH^- pueden ser tal cantidad que el electrodo es incapaz de leer un valor o en otros casos pueden dar valores negativos, en cuyos casos suelen ser cuando los ácidos son altamente concentrados con valores por encima de 1M. En este trabajo, fue debido a que los solventes utilizados son grado reactivo con alto nivel de pureza formando una disolución con una concentración de H^+ por encima de 1 molar, en la que la proporción de ácido fórmico es mayor que la del etanol. En la teoría, se calcula que cualquier ácido que produzca una concentración de iones de hidrógeno con una molaridad superior a 1 tiene un pH negativo. Por ejemplo, si se calcula que el pH del HCl 12M (ácido clorhídrico) es $-\log(12) = -1,08$. Pero este no se puede medir con un instrumento o prueba puesto que los electrodos de pH de vidrio sufren un defecto llamado "error de ácido" que hace que midan un pH más alto que el real (Helmenstine, 2021). En nuestro caso se presenta este mismo fenómeno ya que se observa que este valor sigue "disminuyendo" o aumentando hacia el lado negativo debido a una mayor presencia de protones $[H^+]$, misma que es proporcional a la concentración de WG en la suspensión. Es decir, que debido a una mayor cantidad de WG, la concentración de iones hidronio aumenta. Dicho de otra forma, el valor del pH de la suspensión aumenta ya que está directamente relacionado a la proporción de las concentraciones de los iones de hidrógeno $[H^+]$ que conforman el solvente binario como la cantidad de proteína disuelta y/o en suspensión. Si la concentración de H^+ es mayor que la de OH^- , el material es ácido. (OMEGA, 2020).

Tabla 6. Propiedades fisicoquímicas de las suspensiones de WG en FAE.

Concentración (%)	Viscosidad (Pa*s)	Densidad (g/cm ³)	Conductividad (μs/cm ³)	pH
2	0.0025 ± 3.07E ⁻⁰⁵ a	1.0761 ± 5.19E ⁻⁰⁴ a	1259.66 ± 8.25 a	-0.11 ± 0.01 a
4	0.0043 ± 4.16E ⁻⁰⁵ b	1.0807 ± 3.77E ⁻⁰⁴ b	1365.66 ± 2.86 b	-0.14 ± 0.02 a
6	0.0075 ± 7.52E ⁻⁰⁵ c	1.0841 ± 3.64E ⁻⁰⁴ c	1484.66 ± 2.05 c	-0.17 ± 0.02 ab
8	0.0108 ± 1.13E ⁻⁰⁴ d	1.0898 ± 4.97E ⁻⁰⁴ d	1695.66 ± 7.36 d	-0.20 ± 0.02 b

Los valores aquí mostrados representan un promedio de un conjunto de datos obtenidos de 3 repeticiones por cada concentración, a excepción de la viscosidad la cual se obtuvo de un promedio de 3 repeticiones por concentración, pero obtenida en 80 puntos en cada muestra por

Análisis reológico

En la figura 11A se presenta el efecto del esfuerzo de corte con respecto a la velocidad de corte para las suspensiones de WG. Se observa que cuando aumenta la concentración de gluten, el esfuerzo cortante aumenta también. Hasta los 170 s^{-1} aproximadamente, todas las suspensiones presentan un comportamiento newtoniano, sin embargo, al ir aumentando la velocidad de corte este cambia ligeramente a un comportamiento de un fluido dilatante. Esto se puede corroborar en la figura 11B, en la que se presenta el efecto de la viscosidad con respecto a la velocidad de corte. La tendencia fue una viscosidad mínima inicial para todas las soluciones que aumentaba conforme la concentración de la suspensión. Todas las suspensiones después de su viscosidad máxima tuvieron un aumento drástico de la misma.

Tapia-Hernández *et al.* (2018), mencionan que la viscosidad está en función de la velocidad de corte para las suspensiones de WG. En ese estudio se evaluaron las propiedades reológicas de suspensiones de WG hasta una velocidad de 100 s^{-1} , encontrando un decaimiento en la curva de la viscosidad de las suspensiones poliméricas con un efecto de “Shear-Thinning” o adelgazamientos característicos de un fluido no newtoniano pseudoplástico. Ninguna suspensión mostró un comportamiento completamente lineal en su esfuerzo cortante vs la velocidad de corte, excepto en la de 2 % de concentración. Sin embargo, demuestra que a una velocidad de corte constante de 5 s^{-1} durante un tiempo de 300 s estas suspensiones pueden mantener su estabilidad.

En la presente investigación, se observó un comportamiento de “Shear-Thickening” o engrosamiento de la suspensión; característico de un fluido dilatante (no newtoniano), al momento de evaluar su viscosidad respecto al aumento de la velocidad de corte. Estas diferencias de resultados con el estudio de Tapia-Hernández se le pueden atribuir a los tipos de solventes utilizados. Al haber utilizado FAE, en lugar de ácido acético / etanol (AAE) se afectó la solubilidad de la proteína. En nuestros resultados, el aumento de la viscosidad es atribuible a un incremento en la velocidad de corte, que provoca que el solvente; ácido fórmico con una presión de vapor mayor de 4.6 kPa a $20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ en comparación del ácido acético de 1.5 kPa a $20 \text{ }^{\circ}\text{C}$, se volatilice. Esta evaporación hace que se concentren las proteínas del

gluten y que por consecuencia aumente drásticamente su viscosidad en cada una de las suspensiones. Evidentemente para una concentración más alta de gluten se requiere de mayor velocidad de corte para la volatilización de este solvente.

Debido a lo anterior, se realizó un análisis de regresión lineal de las curvas de viscosidad vs velocidad de corte para encontrar los valores de n según la ley de la potencia, con la finalidad de corroborar la naturaleza del fluido (Tabla 7). De acuerdo con la ecuación de la Ley de la potencia o Ley de Ostwald- de Waele la pendiente de las curvas para los fluidos no newtonianos varía. Si: $n < 1$ hablamos de un pseudoplástico, $n=1$ se transforma en la ley de la viscosidad de Newton, y siendo $n > 1$ Hablamos de un dilatante.

Estos resultados numéricos nos dicen que efectivamente las suspensiones de WG preparadas presentan un comportamiento newtoniano. En la Figura 11C se puede observar que a una velocidad de corte constante de 100 s^{-1} todas las suspensiones tienen un comportamiento lineal con una viscosidad constante, lo cual se traduce a una estabilidad de las suspensiones. Esta estabilidad frente a un tiempo de 400 s se pudo evaluar a partir de las desviaciones estándar que presentaba cada suspensión, ya que este parámetro estadístico nos predice que tanta variación en la viscosidad hubo durante toda la rampa de velocidad.

Tabla 7. Valor de n para las suspensiones de gluten a diferentes concentraciones.

Concentración (p/v %)	Valor de n hasta 170 s ⁻¹
2	1.00 ± 1.24E ⁻⁰⁶ a
4	1.00 ± 9.42E ⁻⁰⁷ a
6	1.00 ± 3.36E ⁻⁰⁶ a
8	1.00 ± 2.35E ⁻⁰⁶ a

Los valores aquí mostrados representan un promedio obtenido de 3 repeticiones por cada concentración. Letras diferentes representan diferencias significativas entre los tratamientos a una $\alpha \leq 0.05$.

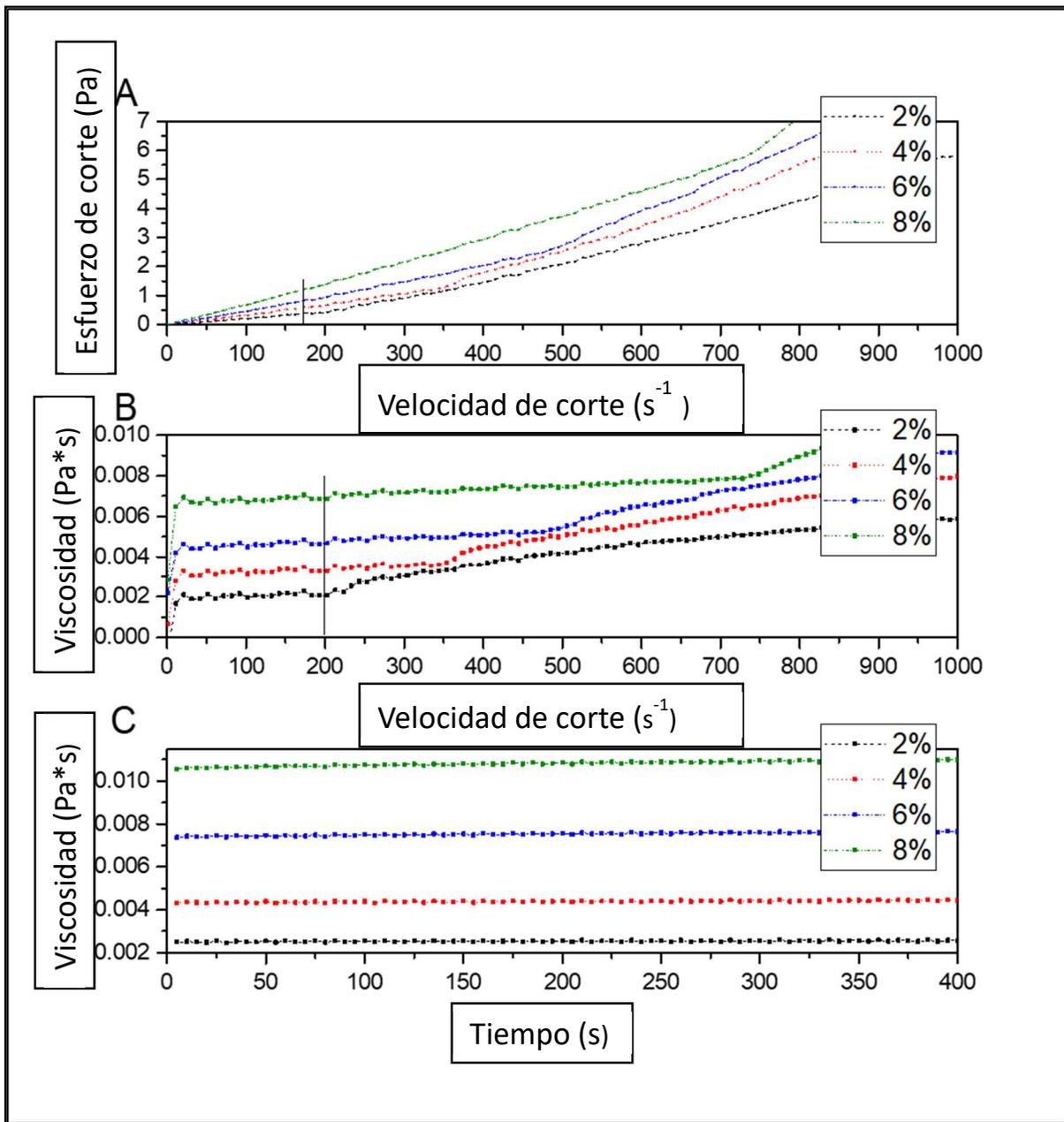


Figura 11. Reogramas de las suspensiones de WG. (A) Efecto del Esfuerzo de corte vs Velocidad de corte, (B) Efecto de la Viscosidad vs Velocidad de corte y (C) Efecto de la Viscosidad vs Tiempo.

Caracterización químico-estructural

Espectroscopía de Infrarrojo con Transformada de Fourier

Las bandas características de los espectros de IR para el WG se presentan en la Fig. 12. Se puede observar la banda amida I a los 1635 cm^{-1} , amida II a los 1515 cm^{-1} , y la banda del -OH a los 3276 cm^{-1} (Tapia-Hernández et al., 2018). Además, se aprecia que las partículas de gluten de trigo (WGP) obtenidas por electroaspersión a diferentes concentraciones, conservan las mismas bandas después del tratamiento con FAE. No obstante, se presentaron ligeros cambios en el corrimiento de banda de la amida I, de 1635 cm^{-1} hasta 1645 cm^{-1} , es decir, hasta 10 cm^{-1} más. De acuerdo con Kong y Yu, en los espectros de IR, la banda amida I es en la cual se presentan las estructuras secundarias de las proteínas y se encuentran dentro de los 1600 a 1700 cm^{-1} (Kong & Yu, 2007). Diversos estudios demuestran que el WG está conformado por dos subunidades proteicas: gliadinas (monoméricas) y gluteninas (poliméricas) que presentan arreglos en forma de hélices, laminas, y giros aleatorios en sus estructuras (Rasheed et al., 2014b). Para conocer la cantidad de estructuras secundarias de las proteínas del WG antes y después de ser electroasperjado, se estimó la cantidad de las mismas mediante la deconvolución de la banda en la región amida I (1700 - 1600 cm^{-1}) de acuerdo con Zhu y colaboradores (Yunping Zhu et al., 2019), cuyos resultados se presentan en la Figura 13. Dicho análisis se llevó a cabo en el software OriginPro (versión 2016, OriginLab Corporation, Northampton, Massachusetts, USA.).

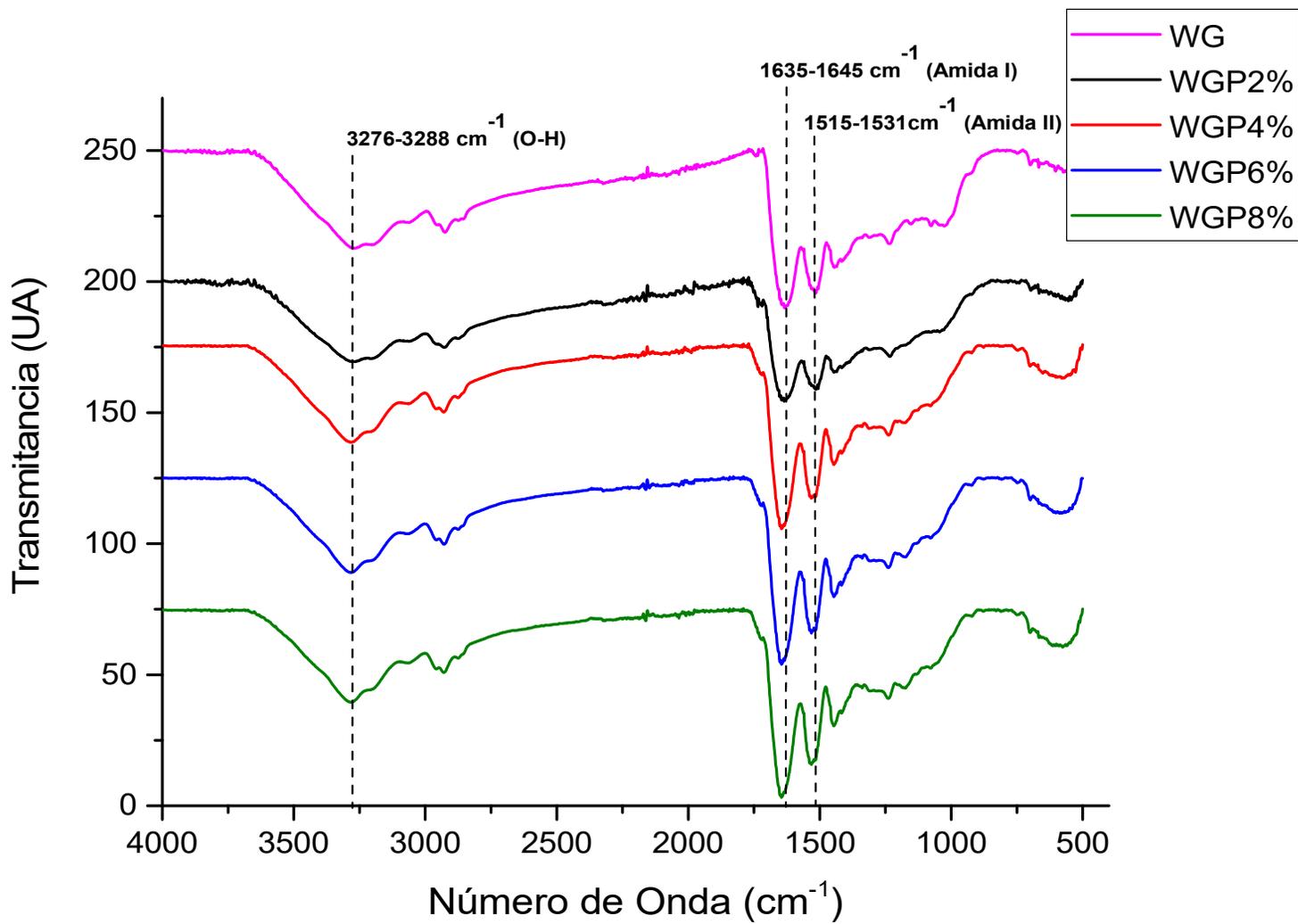


Figura 12. Espectros de infrarrojo del WG y las WGP obtenidas a partir de electroaspersión de las suspensiones en FAE.

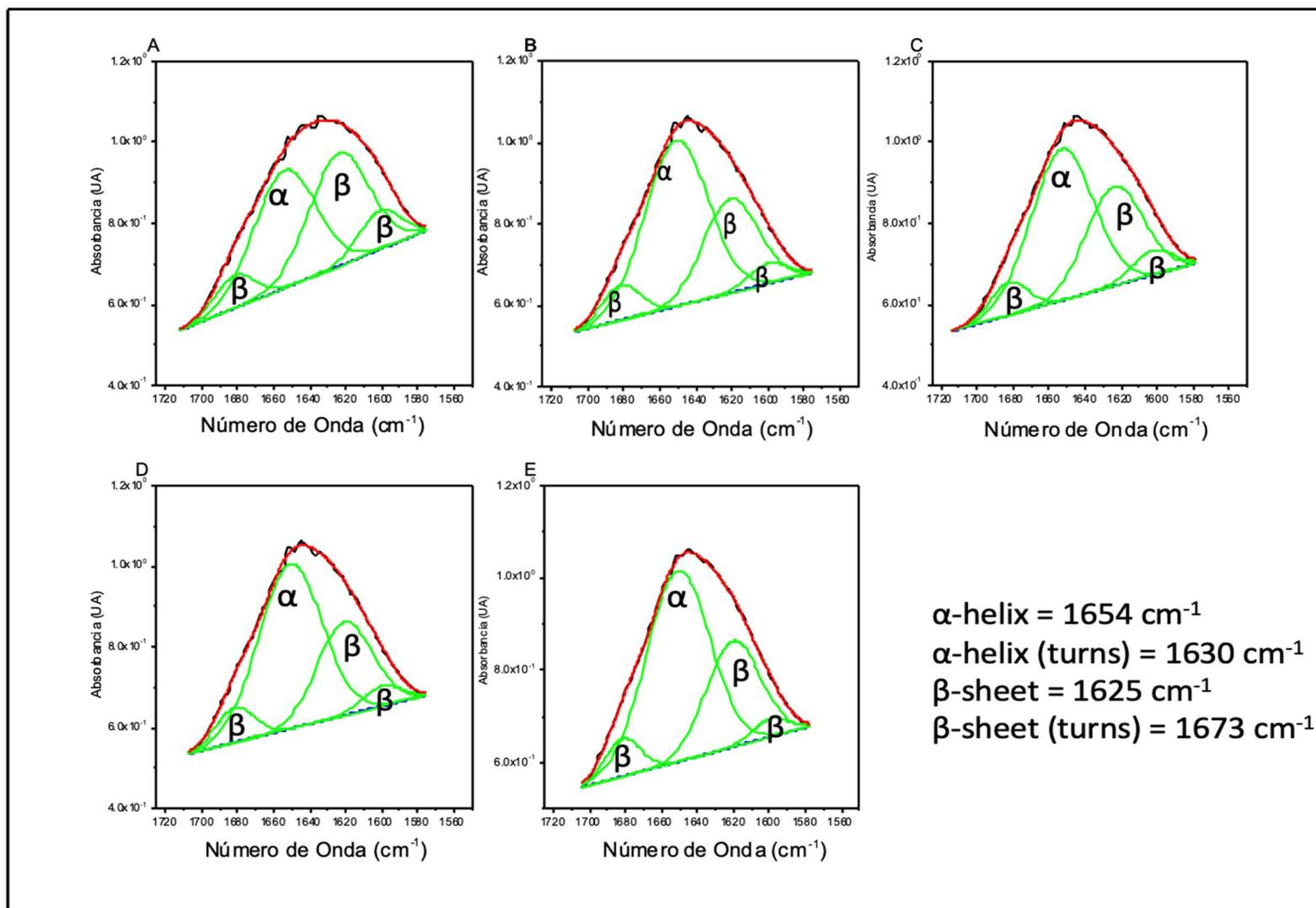


Figura 13. Deconvolución de la banda Amida I de los espectros de IR del WG y las WGP obtenidas por electroaspersión a diferentes porcentajes. A) WG sin ningún tratamiento. B) WGP2%. C) WGP4%. D) WGP6%. E) WGP8%.

Las regiones evaluadas fueron las que se presentan a 1654, 1630, 1625 y 1673 cm^{-1} de acuerdo con su número de onda promedio según la tabla que reporta Carbonaro y Nucara, para las frecuencias asignadas a estructuras secundarias de las proteínas en la Amida I (cm^{-1} in H_2O) (Carbonaro & Nucara, 2010). Éstas corresponden a α -helix, α -helix (turns), β -sheet y β -sheet (turns), respectivamente. La deconvolución de la amida I mostró cambios aparentes en las estructuras secundarias de las proteínas del WG después de su tratamiento con FAE y después de ser electro-asperjadas. Todas las muestras analizadas de WG presentaron una disminución de β -láminas después de su tratamiento con FAE y ser asperjadas, al mismo tiempo que las α -hélices aumentaron. Debido a que en todos los porcentajes de las concentraciones se encontró un comportamiento similar, para poder entender esto se realizó la integración del área bajo la curva de WG y WGP6% por triplicado. Los resultados se muestran en la Tabla 8 y se observa el porcentaje en el que se encuentran realmente estas estructuras.

Tabla 8. Porcentaje de las estructuras secundarias de las proteínas del gluten.

Muestra	α -hélices (%) (1650-1654 cm^{-1})	β -laminas (%) (1620-1640 cm^{-1})	β -láminas (%) (1673-1681 cm^{-1})
WG	43.92 \pm 1.43 a	39.81 \pm 1.13 a	17.60 \pm 0.72 a
WGP6%	58.36 \pm 3.27 b	30.20 \pm 2.05 b	11.43 \pm 1.37 b

Los valores aquí mostrados representan un promedio de un conjunto de datos obtenidos de 3 repeticiones por cada muestra. Letras diferentes representan diferencias significativas entre los tratamientos a una $\alpha \leq 0.05$.

Los resultados obtenidos para las estructuras secundarias del WG son similares a los que reporta Fevzioglu *et al.* donde obtuvieron 43.5 % α -hélices, 36.4 % para β -láminas y 16.8 % para giros de β -láminas en el análisis de deconvolución de la banda de la amida I para las proteínas de WG (Fevzioglu *et al.*, 2020). En nuestro caso, estos porcentajes se ven afectados posteriormente al tratamiento con FAE y la electroaspersión. Lo que sugiere que, al momento de formar partículas de morfología esférica en el electroasporador, el WG tiende a formar mayoritariamente cerca de un 58.36 % de estructuras alfa hélices, seguido de un 30 % de láminas beta, ya que la banda de absorción de amida I se ve afectada presentando un corrimiento a mayor energía. De acuerdo con la literatura, la posición de la banda de α -helix se desplaza a menor energía cuando incrementa la longitud de las hélices, mientras que las hélices cortas pueden producir varias bandas en la región de la amida I (Carbonaro & Nucara, 2010). Mismo fenómeno que se aprecia en los espectros de IR de este estudio.

Según el Diccionario de las Estructuras Secundarias de las Proteínas (DPSS), las α -hélices son hélices largas formadas por superposiciones de hélices mínimas. Una hélice mínima está definida por dos vueltas n consecutivas, que van desde 3 hasta 5 giros (Kabsch & Sander, 1983). De acuerdo con los resultados obtenidos, el sistema binario FAE entra en contacto con las proteínas del WG e interrumpe estas superposiciones mismas que se ven favorecidas por el tratamiento con la aplicación de temperatura a 35 ° C. El sistema binario FAE entra en contacto directo con los aminoácidos polares formando interacciones de puentes de hidrogeno e interacciones débiles como dipolo-dipolo dipolo-inducido con aminoácidos no polares, especialmente con glutamina y prolina ya que se encuentran en mayor proporción en las proteínas del WG. Este desnaturaliza las estructuras secundarias de las proteínas del WG y lograr desplegarlas para tenerlas en suspensión, así cuando pasan por el equipo de electroaspersión, éstas se reordenan hasta su composición estable más pequeña, que son las hélices mínimas (Fig. 14). Como consecuencia de eso, hay un incremento en el porcentaje de las hélices alfa mismas que se aprecian en el corrimiento a mayor energía de la banda y el fenómeno de varias bandas de la amida I.

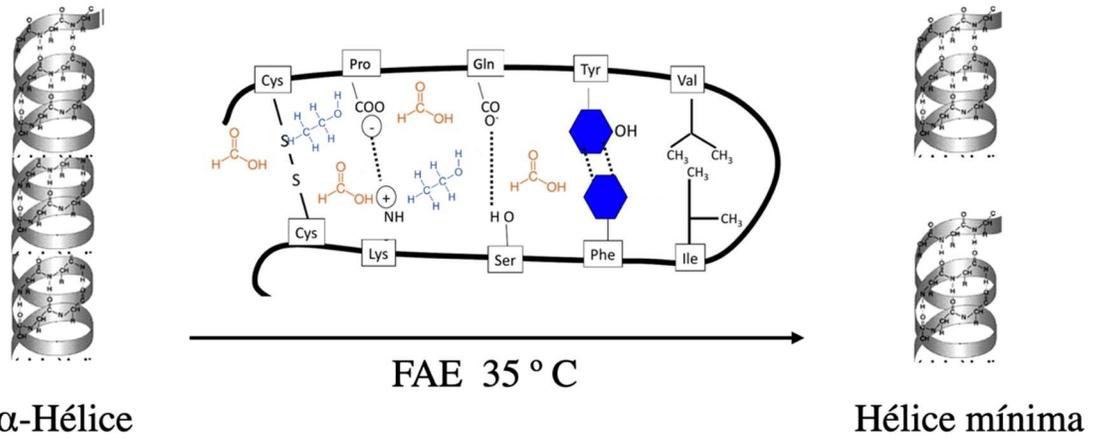


Figura 14. Efecto del solvente FAE y de la temperatura en la desnaturalización de las proteínas del WG.

Microscopía electrónica de barrido

La figura 15 muestra las micrografías de SEM (10000X de aumento) de las partículas obtenidas por electroaspersión de todas las condiciones establecidas en el equipo. En todas las concentraciones se observa el mismo comportamiento, a un bajo voltaje (15 kv) y una corta distancia (5 cm) se obtuvieron partículas con estructuras irregulares; dacriocítica o "teardrop", como se muestra en la Fig 15A, espiculadas en las Figs. 15E y 15I, y semiesféricas en la Fig. 15M. Esto se debe a que el solvente no alcanza a evaporarse suficientemente rápido, formándose irregularidades al entrar en contacto toda la muestra con la placa colectora.

Por otro lado, cuando se aumenta la distancia y conforme se incrementa la concentración de WG la morfología se ve ligeramente mejorada como se observa en la Fig. 15J y en la Fig. 15N. Las mejores condiciones para obtener partículas de WG fueron a 20 kv y 5 cm de distancia, ya que en todas las concentraciones se obtuvieron morfologías esféricas a excepción de O (20 kV y 5 cm de distancia), que debido a un aumento en la concentración de WG ya empezaba a formar redes viscoelásticas. En la Figs. 15C, 15G, y 15K se observa que bajo esas condiciones se lograron morfologías esféricas, debido a la baja concentración de WG y gracias a un aumento del voltaje que promueve la rápida volatilización del solvente ocasionando que las proteínas del gluten se reordenen dando a la formación de partículas esféricas. Cuando se aumentó el voltaje a 20 kv y la distancia a 10 cm, también fue posible obtener partículas. Sin embargo, debido a una rápida volatilización del solvente por causa de un alto voltaje, además de una distancia extendida, las partículas se deformaban al momento de colisionar con la placa colectora, provocando que se compactaran unas con otras como se observa en las Figs. 15D, 15H, 15L y 15P. Incluso por consecuencia en un aumento en la concentración de WG se logran apreciar la formación de ciertas redes viscoelásticas características de las proteínas del WG. Estas estructuras se deben a la interacción conformacional de los dos grupos de proteínas de las gluteninas y las gliadinas.

De acuerdo con la Figura 15 (C, G, K y N), se tomaron las mejores condiciones de obtención de partículas. Se realizó una tabla de frecuencias y se elaboraron gráficas de distribución normal para las poblaciones de partículas obtenidas con: 20 kV y 5 cm de distancia a 2, 4, 6 y 8 % (p/v) de WG. La Figura 16 presenta las micrografías y la distribución del tamaño de las partículas obtenidas. En todas las concentraciones se lograron obtener partículas. En las cuatro micrografías se pueden apreciar partículas aparentemente lisas con morfología

esférica, mismas que aumentan de tamaño conforme se aumenta la concentración de WG. La ventaja de producir partículas esféricas es obtener una superficie de alto contacto que puede ser utilizada para encapsular diferentes sustancias de interés.

Para medir el tamaño de las partículas se utilizó el programa ImageJ, con el cual se determinó el diámetro y la distribución del tamaño. Las gráficas de la Figura 16 determinan que para las concentraciones de WG del 4, 6 y 8 % (p/v), existe una mayor distribución del tamaño de las partículas presentando una distribución normal. De acuerdo con la Tabla 9, se encontraron tamaños de partícula promedio (TPP) que oscilan de 424 ± 165 , 869 ± 318 , 1019 ± 392 nm, respectivamente para cada concentración. Además, sus índices de polidispersidad (IPD): 0.38, 0.36 y 0.38 respectivamente; donde, los IPD cercanas a 0 son partículas monodispersas y las IPD cercanas a 1 son partículas polidispersas, nos indican que existe baja polidispersidad.

Por otra parte, la concentración del 2 % p/v de WG, aunque aparentemente tiene un comportamiento de una distribución normal, mostró un mayor índice de polidispersidad con un IPD de 0.81 y un tamaño de partícula promedio de 207 ± 168 nm.

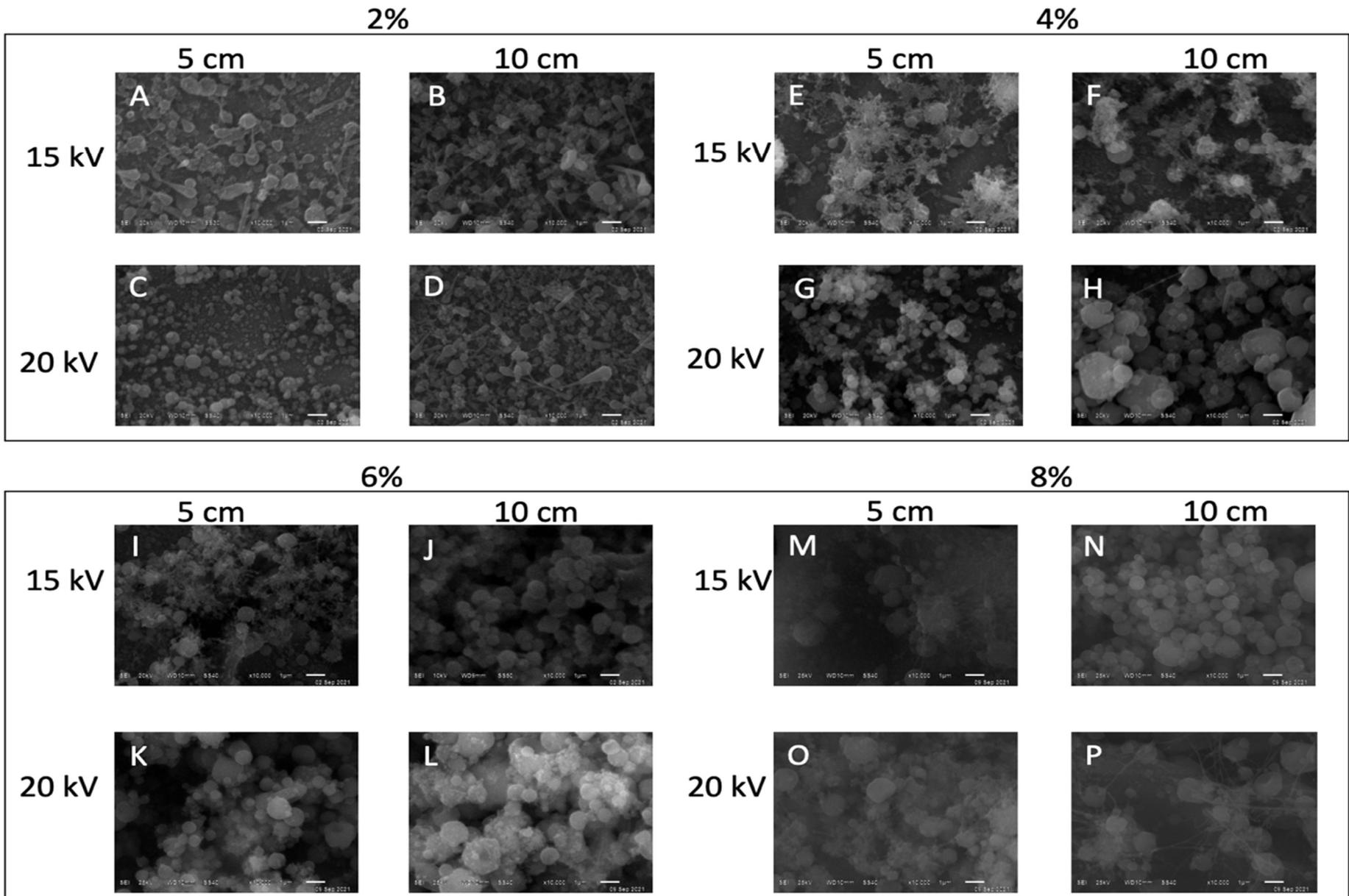


Figura 15. Micrografías de SEM de las partículas obtenidas bajo las diferentes condiciones del equipo de electrospesor evaluadas.

Tabla 9. Tamaños de partícula promedio e índices de polidispersidad de las WGP.

Concentración de WG (%)	TPP (nm)	IPD (UA)
2	207 ± 168	0.81
4	424 ± 165	0.38
6	869 ± 318	0.36
8	1019 ± 392	0.38

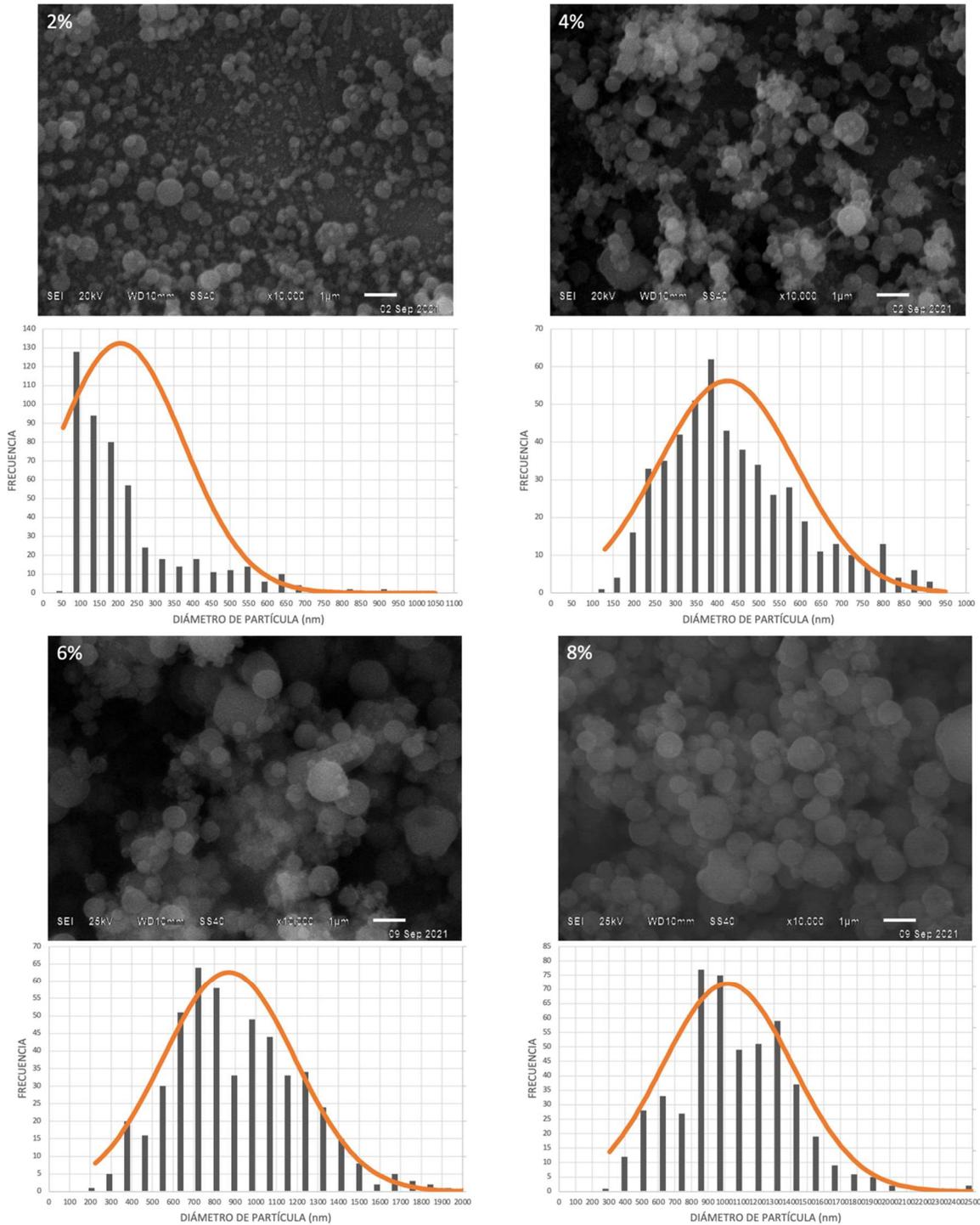


Figura 16. Micrografías de SEM de las partículas obtenidas a 2, 4, 6 y 8 % de WG, y sus respectivas gráficas de frecuencia/distribución del tamaño de partícula.

Si bien es cierto que el índice de polidispersidad nos da un indicio de qué tan homogéneo son los tamaños de nuestra población de partículas, en este caso en particular se atribuye a que ya no fue posible hacer el conteo de partículas de tamaño menor a 50 nm ya que no se distinguía su morfología de manera adecuada; aun cuando con el aumento de 70000X en SEM como se muestra en la Figura 17. Por lo tanto, solo tomaron en cuenta las partículas que se lograron apreciar como morfologías esféricas. Por tal motivo, al momento de obtener las frecuencias para obtener la curva de distribución nos arroja una mayor distribución con índice de polidispersidad alto, ya que resulta difícil identificar cuáles son realmente nanopartículas esféricas, puesto que al tratarse de un biopolímero visco elástico este puede deformarse fácilmente perdiendo la morfología deseada.

Asimismo, en todas las muestras evaluadas se lograron obtener nanopartículas que cumplen con la norma ISO/TS 80004-2:2015, la norma EFSA de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria y la norma mexicana NMX-R-12901-1-SCFI-2015 que habla sobre Gestión de riesgo ocupacional aplicado a nanomateriales manufacturados. Dichas normas establecen los tamaños permisibles para el uso de nanopartículas con fines médicos, farmacológicos y de salud en humanos. En cuyos casos más estrictos esta la EFSA y la NMX-R-12901-1-SCFI-2015 que indican rangos entre 1-100 nm. Esto resulta importante porque, aunque estos lineamientos normalmente van indicados para la obtención de nanopartículas inorgánicas de origen metálico u otros polímeros sintéticos como los fulerenos, estas mismas restricciones de las normativas podrían aplicar para el WG, ya que pudiera resultar nocivo para la salud en algunas personas, como es la enfermedad celiaca. Puesto que anteriormente no era posible obtener partículas tan pequeñas a partir del WG que es el biopolímero más grande que existe en la naturaleza, con este estudio se demuestra que es posible la obtención de nanopartículas utilizando la electroaspersión y un sistema de solventes binarios como lo es el FAE, obteniendo nanopartículas de tamaños menor o igual a 100 nm, se cumpliría con estas normas para el uso de WG como biopolímero encapsulante que este en contacto con alimentos y/o que vaya destinado a la medicina o farmacología.

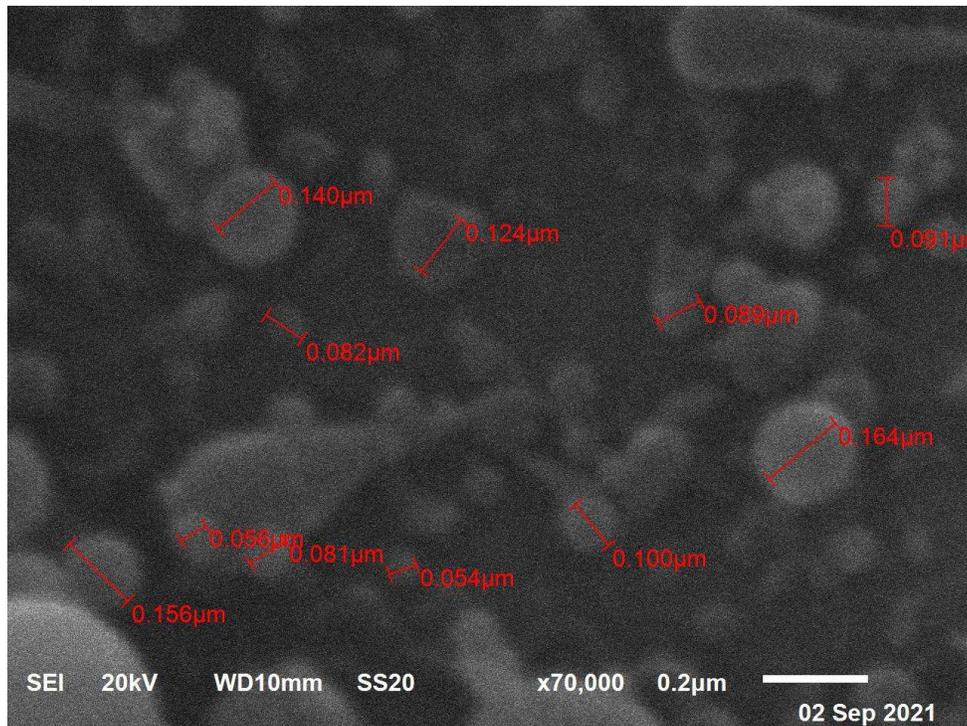


Figura 17. Micrografía de SEM de las nanopartículas obtenidas al 2 % de WG a un aumento de 70000x donde se observan tamaños menor a 100 nm.

CONCLUSIONES

Se lograron obtener nanopartículas de gluten de trigo, estudiando las propiedades fisicoquímicas y reológicas de suspensiones de gluten de trigo en un sistema binario de solventes FAE, mismas a las que se logró determinar su estabilidad a partir de estos estudios. El comportamiento reológico demostró que las suspensiones de WG son fluidos Newtonianos, en cuyos reogramas de viscosidad con respecto a una velocidad de flujo constante y un tiempo determinado, se puede concluir que la estabilidad puede permanecer constante por mucho tiempo. Este parámetro, sirve de indicador para medir la capacidad que tienen las soluciones de permanecer estables cuando se utilizan en el equipo de electroaspersión. Por lo que, soluciones muy inestables tienden a formar partículas muy grandes y de diferente diámetro y morfología (polidispersas), mientras que soluciones estables tienden a formar partículas más uniformes y monodispersas.

El estudio de las propiedades fisicoquímicas, ayudaron a complementar los resultados antes obtenidos de las pruebas reológicas. Visiblemente las suspensiones de WG son estables hasta 3 días, en las que no se aprecia precipitado, sin embargo, la estabilidad frente a la oxidación por ácido fórmico se logra mantener hasta los 21 días demostrando que la mezcla FAE es mejor opción para su solubilización. Además, se determinó que las suspensiones tienen una densidad cercana a la del agua y una viscosidad óptima; son conductoras de la electricidad y estas aumentan su conductividad conforme aumenta la concentración de gluten, teniendo soluciones estables y adecuadas para su electroaspersión.

Por otra parte, se pudo estandarizar los parámetros óptimos para la obtención de partículas de gluten por el método de electroaspersión. En todas las concentraciones de WG se pudieron obtener partículas bajo las mismas condiciones del equipo: una distancia entre la aguja y placa colectora de 5 cm, un voltaje aplicado de 20 kV y una velocidad de flujo de la solución a 0.1 mL h^{-1} .

Así mismo, se lograron caracterizar química y estructuralmente las partículas de gluten obtenidas bajo esas condiciones, utilizando espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier y microscopia electrónica de barrido. Los espectros de infrarrojo del WG y WGP a diferentes porcentajes demuestran la presencia de las bandas características de las proteínas del WG. La banda de la amida I presentó un corrimiento a mayor energía indicando un

cambio en las estructuras secundarias de las proteínas. Este comportamiento se evaluó mediante la deconvolución de la banda de amida I antes y después de su tratamiento con FAE, donde se demostró que existen diferencias en la estructuras secundarias con un incremento de las hélices alfa al ser asperjadas después de un tratamiento con FAE. Mismo fenómeno se atribuye a un reordenamiento de las proteínas del gluten para la formación de partículas en el electroaspersor.

De acuerdo con la teoría generada a partir de los resultados obtenidos de la caracterización fisicoquímica y reológica, nos indicaban que en todas las concentraciones era factible obtener partículas. Este se corroboró al momento de obtener las micrografías de SEM donde se lograron obtener nanopartículas en todas las concentraciones de WG utilizadas, bajo las siguientes condiciones de electroaspersión: 20 kV, 5 cm de distancia entre la aguja y la placa colectora y un caudal de 0.1 mL h⁻¹. Además, por primera vez se lograron obtener nanopartículas de WG, que es uno de los biopolímeros más grandes en la naturaleza, con diámetros inferiores a 100 nm.

Cabe mencionar que si bien es cierto que los parámetros del equipo evaluados resultan importantes, y son evidentes los cambios en la morfología de las partículas tanto si se aumenta la distancia entre la aguja y la placa colectora o si se aumenta el voltaje aplicado; los parámetros de la solución fueron prescindibles para la obtención de tamaños de partícula tan pequeños como lo son diámetros menores a 100 nm. En este caso el implemento de FAE con una baja concentración de WG (2 %) teniendo una viscosidad de $0.0025 \pm 3.07 \times 10^{-5}$ Pa*s, ayuda a que se formen partículas de menor tamaño, sumado a esto una densidad de $1.0761 \pm 5.19 \times 10^{-0}$ g/cm³ que promueve que el diámetro del cono de Taylor en el electroaspersor sea menor, disminuyendo la resistencia del fluido y por lo tanto la tensión superficial del fluido, misma que se ve mejorada por la buena conductividad eléctrica del solvente (1259.66 ± 8.25 μs/cm³). Teniendo como resultado final partículas de diámetros menor a 100 nm.

Esto resulta ser importante ya que además de cumplir con las normas ISO, EFSA y NMX; estos tamaños tan diminutos los hacen novedosos para la aplicación en la industria farmacológica, ya que tendrían una mayor distribución dentro del organismo y una fácil asimilación, al mismo tiempo que, por ser de origen proteico estas partículas pueden ser desechados o biodegradados con mayor facilidad para el organismo.

Consecuente a estas características, es por esto por lo que concluimos que el material obtenido tiene una potencial aplicación en la industria de los sistemas de liberación prolongada, debido al mayor contacto superficial con el compuesto a encapsular.

REFERENCIAS

- Alvarado, J. de D. (2001). Viscosidad. In A. y Aguilera (Ed.), *Métodos para determinar propiedades físicas de industrias de alimentos*. Editorial ACRIBIA.
- Amado-González, E., & Hernando-Blanco, L. (2003). DIA GRAMAS BINARIOS SÓLIDO-LÍQ DIAGRAMAS SÓLIDO-LÍQUIDO OS EN UNA MEZCLA. *UNIVERSITAS SCIENTIARUM: Revista de La Facultad de Ciencias PONTIFICA UNIVERSIDAD JAVERIANA*, 8(2), 51–54.
- Amiri, A., Farshi-Marandi, P., & Shahedi, M. (2019). Impact of sodium citrate on structural properties of gluten. *Journal of Food Science and Technology*, 56(2), 1090–1093. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03571-6>
- Anandharamakrishnan, C. (2014). *Techniques for nanoencapsulation of food ingredients* (Springer-Verlag (ed.)).
- Anjum, F. M., Khan, M. R., Din, A., Saeed, M., Pasha, I., & Arshad, M. U. (2007). Wheat gluten: High molecular weight glutenin subunits - Structure, genetics, and relation to dough elasticity. *Journal of Food Science*, 72(3). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00292.x>
- Arroyo-Maya, I. J., & McClements, D. J. (2015). Biopolymer nanoparticles as potential delivery systems for anthocyanins: fabrication and properties. *Food Res. Int.*, 69, 1–8.
- Assadpour, E., & Maghsoudlou, Y. (2016). Optimization of folic acid nano-emulsification and encapsulation by maltodextrin-whey protein double emulsions. *Int. J. Biomol. Macromol.*, 86, 197–207.
- Astray, G., Gonzalez-Barreiro, C., Mejuto, J. C., Rial-Otero, R., & Simal-Gándara, J. (2009). A review on the use of cyclodextrins in food. *Food Hydrocolloids*, 23, 1631–1640.
- Atkins, P., & Jones, L. (2012). *Principios de química: los caminos del descubrimiento* (5th ed.). Editorial Médica Panamericana, S.A. de C.V.
- Atwell, W. A. (2001). *Wheat Flour*. Eagan Press. <https://books.google.com.mx/books?id=eJ5jQgAACAAJ>
- Atyabi, F., Manoochchri, S., & Mohamad, S. H. (2006). Cross-linked starch microspheres: effect of corss-liking condition on the microsphere characteristics. *Arch. Pharm. Res.*, 29, 1179–1186.
- Avalos-Sánchez, H. (2018). *Efecto de la fuerza iónica sobre la estabilidad coloidal de nanoparticulas de SiO2 en soluciones acuosas* [Benemérita Universidad Autónoma de Puebla]. <https://repositorioinstitucional.buap.mx/handle/20.500.12371/7595>

- Barbosa-Cánovas, G. V., Ortega-Rivas, E., Juliano, P., & Yan, H. (2005). *Encapsulation processes* (Springer- (ed.)).
- Basso, B., Cammarano, D., Fiorentino, C., & Ritchie, J. T. (2013). Wheat yield response to spatially variable nitrogen fertilizer in Mediterranean environment. *European Journal of Agronomy*, *51*, 65–70. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2013.06.007>
- Belton, P. S. (1999). On the elasticity of wheat gluten. *Journal of Cereal Science*, *29*(2), 103–107. <https://doi.org/10.1006/jcrs.1998.0227>
- Bermudez-Sierra, J. J. (2018). Extracción de lípidios da microalga *Scenedesmus* sp. com diferentes mistura de solventes orgânicos. *Biotecnología En El Sector Agropecuario y Agroindustrial*, *16*(2), 88–98. <https://doi.org/10.18684/bsaa.16n2.1169>
- Bohr, A., Wang, Y., Beck-Broichsitter, M., & Yang, M. (2018). Influence of solvent mixtures on HPMCAS-celecoxib microparticles prepared by electrospraying. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, *13*(6), 584–591. <https://doi.org/10.1016/j.ajps.2018.01.007>
- Bonadies, I., Cimino, F., & Pezzela, A. (2015). Eumelanin 3D architectures: electrosun PLA fiber templating for mammalian pigment microtube fabrication. *Biomacromolecules*, *16*(5), 1667–1670.
- Camberos, P. (2019). *Actividad antimicrobiana de nanopartículas de oro sintetizadas con cáscara de lima (Citrus limetta)*. 2.
- Capezza, A. J., Lundman, M., Olsson, R. T., Newson, W. R., Hedenqvist, M. S., & Johansson, E. (2020). Carboxylated Wheat Gluten Proteins: A Green Solution for Production of Sustainable Superabsorbent Materials. *Biomacromolecules*, [acs.biomac.9b01646](https://doi.org/10.1021/acs.biomac.9b01646). <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.9b01646>
- Carbonaro, M., & Nucara, A. (2010). Secondary structure of food proteins by Fourier transform spectroscopy in the mid-infrared region. *Amino Acids*, *38*(3), 679–690. <https://doi.org/10.1007/s00726-009-0274-3>
- Carrillo Parra, A. (2016). *Desarrollo de nuevos nanofluidos. Caracterización y comportamiento reológico* [Universidad Politécnica de Cartagena]. <http://repositorio.upct.es/xmlui/bitstream/handle/10317/6659/tfg-car-des.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Castillo-Sánchez, M. I. (2020). *Evaluación del efecto de la incorporación de nanopartículas de bagazo de fique en la biodegradación de una película a base de almidón de yuca* [Corporación Universitaria Autónoma de Cauca]. <https://repositorio.uniautonoma.edu.co/bitstream/handle/123456789/285/T IA-P 158 2020.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Castro-Enríquez, D. D., Castillo-Ortega, M. M., Romero-García, J., Rodríguez-Félix, D. E., Dórame-Miranda, R. F., Torres-Arreola, W., Vargas-López, J. M., Burruel-Ibarra, S. E., & Rodríguez-Félix, F. (2019). Development of microparticles from wheat glutenins by

- electrospray and potential application as controlled-release fertilizers. *Bulletin of Materials Science*, 42(1), 41. <https://doi.org/10.1007/s12034-018-1716-x>
- Chakraborty, S., Liao, I. C., Adler, A., & Leong, K. W. (2009). Electrohydrodynamics: A facile technique to fabricate drug delivery systems. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 61(12), 1043–1054. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2009.07.013>
- Chang, R., & Goldsby, K. (2013). *Quimica* (11th ed.). <https://books.google.com.co/books?id=0biMDAAAQBAJ>
- Chavoshizadeh, S., Pirsa, S., & Mohtarami, F. (2020). Sesame Oil Oxidation Control by Active and Smart Packaging System Using Wheat Gluten/Chlorophyll Film to Increase Shelf Life and Detecting Expiration Date. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 122(3), 1–12. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201900385>
- Chen, Y., Tang, Y., Wang, Q., Lei, L., Zhao, J., Zhang, Y., Li, L., & Wang, Q. (2021). Carboxymethylcellulose-induced changes in rheological properties and microstructure of wheat gluten proteins under different pH conditions. *0*. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15646>
- Chevalier, E., Assezat, G., Prochazka, F., & Oulahal, N. (2018). Development and characterization of a novel edible extruded sheet based on different casein sources and influence of the glycerol concentration. *Food Hydrocolloids*, 75, 182–191. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.08.028>
- Cruz-Monterrosa, R. G., Reséndiz-Cruz, V., Landa-Salgado, P., Jiménez-Guzmán, J., Díaz-Ramírez, M., Miranda-De La Lama, G., Rayas-Amor, A. A., & J.M, G.-G. (2017). Nanotechnology in the food industry: nanoparticles used in meat conservation. *Agroproductividad*, 10(10), 39–46. <https://doi.org/10.4018/978-1-5225-1798-6.ch045>
- D'Ovidio, R., & Masci, S. (2004). The low-molecular-weight glutenin subunits of wheat gluten. *Journal of Cereal Science*, 39(3), 321–339. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2003.12.002>
- De la Vega Ruiz, G. (2009). Proteínas de la harina de trigo: clasificación y propiedades funcionales. *Temas de Ciencia y Tecnología*, 13(38), 27–32. http://www.utm.mx/edi_antiores/Temas38/2NOTAS 38-1.pdf
- Donsi, F., Annunziata, M., Sessa, M., & Ferrari, G. (2011). Nanoencapsulation of essential oils to enhance their antimicrobial activity in foods. *Food Sci. Technol.*, 44(9), 1908–1914.
- Doraiswamy, D. (2002). The origins of rheology: a short historical excursion. *Rheology Bulletin*, 71(1).
- EFSA. (2011). Guidance on the risk assessment of the application of nanoscience and nanotechnologies in the food and feed chain. *EFSA Journal*, 9(5), 2140 (36p.).

- Eggert, K., Rawel, H. M., & Pawelzik, E. (2011). In vitro degradation of wheat gluten fractions by *Fusarium graminearum* proteases. *European Food Research and Technology*, 233(4), 697–705. <https://doi.org/10.1007/s00217-011-1566-x>
- Electronic Code of Federal Regulations (eCFR)*. (n.d.). Retrieved September 8, 2020, from https://www.ecfr.gov/cgi-bin/text-idx?SID=e956d645a8b4e6b3e34e4e5d1b690209&mc=true&node=pt21.3.186&rgn=div5#se21.3.186_11316
- Esfanjani, A. F., Jafari, S. M., Assadpour, E., & Mohammadi, A. (2016). Biopolymer nanoparticles and natural nano-carriers for nano-encapsulation of phenolic compounds. *Colloids Surf.*, 146, 532–543.
- Estrucplan. (2000). *Métodos analíticos*. Formiato de Etilo. <https://estrucplan.com.ar/formiato-de-etilo/>
- FDA. (2014). *Guidance for industry considering whether an FDA-regulated product involves the application of nanotechnology*. FDA.
- Fevzioglu, M., Ozturk, O. K., Hamaker, B. R., & Campanella, O. H. (2020). Quantitative approach to study secondary structure of proteins by FT-IR spectroscopy, using a model wheat gluten system. *International Journal of Biological Macromolecules*, 164, 2753–2760. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.07.299>
- Gañán-Calvo, A. M., López-Herrera, J. M., Herrada, M. A., Ramos, A., & Montanero, J. M. (2018). Review on the physics of electrospray: From electrokinetics to the operating conditions of single and coaxial Taylor cone-jets, and AC electrospray. *Journal of Aerosol Science*, 125, 32–56. <https://doi.org/10.1016/j.jaerosci.2018.05.002>
- Ghorani, B., & Tucker, N. (2015). Fundamentals of electrospinning as a novel delivery vehicle for bioactive compounds in food nanotechnology. *Food Hydrocoll*, 51, 227–240.
- Ghorbanzade, T., Jafari, S. M., Akhavan, S., & Hadavi, R. (2017). Nano-encapsulation of fish oil in nano-liposomes and its application in fortification of yogurt. *Food Chemistry*, 216, 146–152.
- Girard, A. L., Bean, S. R., Tilley, M., Adrianos, S. L., & Awika, J. M. (2018). Interaction mechanisms of condensed tannins (proanthocyanidins) with wheat gluten proteins. *Food Chemistry*, 245, 1154–1162. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.11.054>
- Gómez-Mascaraque, L. G., Lagarón, J. M., & López-Rubio, A. (2015). Electrospayed gelatin sub-microparticles as edible carriers for the encapsulation of polyphenols of interest in functional foods. *Food Hydrocolloids*, 49, 42–52.
- Gottardi, D., Hong, P. K., Ndagijimana, M., & Betti, M. (2014). Conjugation of gluten hydrolysates with glucosamine at mild temperatures enhances antioxidant and

- antimicrobial properties. *LWT - Food Science and Technology*, 57(1), 181–187. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.01.013>
- Han, C., Ma, M., Li, M., & Sun, Q. (2020). Further interpretation of the underlying causes of the strengthening effect of alkali on gluten and noodle quality: Studies on gluten, gliadin, and glutenin. *Food Hydrocolloids*, 103(January), 105661. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105661>
- Han, F., Gao, C., & Liu, M. (2013). Fabrication and characterization of size-controlled starch-based nanoparticles as hydrophobic drugs carriers. *J. Nanosci. Nanotechnol.*, 13(10), 6996–7007.
- Hardy, A., Benford, D., Halldorsson, T., Jeger, M. J., Knutsen, H. K., More, S., Naegeli, H., Noteborn, H., Ockleford, C., Ricci, A., Rycken, G., Schlatter, J. R., Silano, V., Solecki, R., Turck, D., Younes, M., Chaudhry, Q., Cubadda, F., Gott, D., ... Mortensen, A. (2018). Guidance on risk assessment of the application of nanoscience and nanotechnologies in the food and feed chain: Part 1, human and animal health. *EFSA Journal*, 16(7). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5327>
- Helmenstine, A. M. (2021). *Is Negative pH possible?* ThoughtCo. <https://www.thoughtco.com/is-a-negative-ph-possible-603653>
- Hernández-Ramos, E. J. (2010). *Equilibrio entre fases para la aplicación de solventes verdes en la tecnología de alimentos* [Universidad Autónoma de Madrid]. [https://digital.csic.es/bitstream/10261/101598/1/aplicación de solventes verdes.pdf](https://digital.csic.es/bitstream/10261/101598/1/aplicación%20de%20solventes%20verdes.pdf)
- Huang, X., Gao, J., Zheng, N., Li, W., Xue, H., & Li, R. K. Y. (2017). Influence of humidity and polymer additives on the morphology of hierarchically porous microspheres prepared from non-solvent assisted electro spraying. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 517, 17–24. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2017.01.003>
- ISO/TS 80004-2:2015 Nanotechnologies — Vocabulary — Part 2: Nano-objects, 10 (2015).
- Jafari, S. M. (2017). An overview of nanoencapsulation techniques and their classification. In *Nanoencapsulation Technologies for the Food and Nutraceutical Industries* (p. 610).
- Jaworek, A., & Sobczyk, A. T. (2008). Electro spraying route to nanotechnology: An overview. *Journal of Electrostatics*, 66(3–4), 197–219. <https://doi.org/10.1016/j.elstat.2007.10.001>
- Kabsch, W., & Sander, C. (1983). Dictionary of Protein Secondary Structure: Pattern Recognition of Hydrogen-Bonded and Geometrical Features. *Biopolymers*, 22(3), 2577–2637.
- Katouzian, I., & Jafari, S. M. (2016). Nano-encapsulation as a promising approach for targeted delivery and controlled release of vitamins. *Trends in Food Science &*

Technology, 53, 34–48.

- Khan, M. K. I., Schutyser, M., Schroën, K., & Boom, R. (2012). The potential of electrospraying for hydrophobic films coating on food. *J. Food Eng.*, 108, 410–416.
- Kim, W., & Kim, S. S. (2010). Multishell encapsulation using a triple coaxial electrospray system. *Analytical Chemistry*, 82(11), 4644–4647. <https://doi.org/10.1021/ac100278c>
- Koga, S., Böcker, U., Wieser, H., Koehler, P., Uhlen, A. K., & Moldestad, A. (2017). Polymerisation of gluten proteins in developing wheat grain as affected by desiccation. *Journal of Cereal Science*, 73, 122–129. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2016.12.003>
- Kong, J., & Yu, S. (2007). Fourier transform infrared spectroscopic analysis of protein secondary structures. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 39(8), 549–559. <https://doi.org/10.1111/j.1745-7270.2007.00320.x>
- Lagaron, J. M., & Lopez-Rubio, A. (2011). Nanotechnology for bioplastics: opportunities, challenges and strategies. *Trends in Food Science & Technology*, 22(11), 611–617. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2011.01.007>
- Lindsay, M. P., & Skerritt, J. H. (1999). The glutenin macropolymer of wheat flour doughs: Structure-function perspectives. *Trends in Food Science and Technology*, 10(8), 247–253. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(00\)00004-2](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(00)00004-2)
- López Gasco, P. (2011). *Preparación, Caracterización Y Evaluación Biológica De Nanopartículas Poliméricas Para La Liberación Controlada De Paclitaxel*.
- Luna-herrera, J., & Zenteno-cuevas, R. (2021). *Nanopartículas Como Transportadores De Fármacos : Una Herramienta Nanoparticles As Drug Transporters : a Promising Tool Against Tuberculosis*. 38(1), 143–152.
- Mahdavee Khazaei, K., Jafari, S. M., Ghorbani, M., & Hemmati Kakhki, A. (2014). Application of maltodextrin and gum Arabic in microencapsulation of saffron petal's anthocyanins and evaluating their storage stability and color. *Carbohydrate Polymers*, 105(1), 57–62. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.01.042>
- Majid, I., Nayik, A., Dar, M., & Nanda, V. (2016). Novel food packaging technologies: Innovations and future prospective. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2016.11.003>
- Marianela, F. (2016). *NANOENCAPSULACION DE CINAMALDEHIDO EN MATRICES DE OVOALBUMINA PARA SU VEHICULIZACION EN RECUBRIMIENTOS*.
- Martín-Domingo, A. (2011). Apuntes de Mecánica de Fluidos. *Revista de Ciência Elementar*, 6(4). <https://doi.org/10.24927/rce2018.071>
- McMurry, J. E. (2018). *Química orgánica (9ª)*. CENGAGE LEARNING.

- Mejri, M., Rogé, B., BenSouissi, A., Michels, F., & Mathlouthi, M. (2005). Effects of some additives on wheat gluten solubility: A structural approach. *Food Chemistry*, 92(1), 7–15. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.07.021>
- Méndez-Sánchez, A. F., Pérez-Trejo, L., & Mercado-Paniagua, A. M. (2007). Determinación de la viscosidad de fluidos newtonianos y no newtonianos (una revisión del viscosímetro de Couette). *Latin-American Journal of Physics Education*, 4(1), 237–245. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3695964>
- Mendoza, P. (2017). *Nuevos sistemas de liberación controlada de fármacos con nanopartículas magnéticas*. [http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/PABLO MENDOZA CEDIEL.pdf](http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/PABLO%20MENDOZA%20CEDIEL.pdf)
- Mendoza Sillerico, E. V., Curi Borda, C. K., Rojas Mercado, V. J., & Alvarado Kirigin2, J. A. (2016). Encapsulation, characterization and thermal stability of anthocyanins from *Zea mays* L. (purple corn). *Revista Boliviana de Química*, 33(5), 183–189. http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0250-54602016000500005
- Moncada, E. A. (2007). NANOTECNOLOGÍA, APLICACIONES EN EMBALAJES PARA ALIMENTOS Y PRODUCTOS FARMACÉUTICOS NANOTECHNOLOGY, FOOD AND DRUG PACKAGING APPLICATIONS. *Revista De La Facultad De Química Farmacéutica*, Vol 14, No, 114–120. <http://www.scielo.org.co/pdf/vitae/v14n2/v14n2a16.pdf>
- Neethirajan, S., & Jayas, D. S. (2011). Nanotechnology for the food and bioprocessing industries. *Food Bioprocess Technol.*, 4(1), 39–47.
- Núñez, C. E. (2008). *Comentarios sobre solventes y solubilidades de sustancias orgánicas*. Comentarios Sobre Solventes y Solubilidades de Sustancias Orgánicas. [https://cmappublic2.ihmc.us/rid=1MT4G2DLD-DJV4Y4-1TTM/Comentarios sobre solventes y solubilidades.pdf](https://cmappublic2.ihmc.us/rid=1MT4G2DLD-DJV4Y4-1TTM/Comentarios%20sobre%20solventes%20y%20solubilidades.pdf)
- OCDE/FAO. (2017). Biocombustibles. In *Perspectivas Agrícolas 2017-2016*.
- OMEGA. (2020). *Introducción a la Medición de pH*. Medidores de PH. <https://mx.omega.com/prodinfo/medidores-de-pH.html>
- Othman, M., Yusup, A. A., Zakaria, N., & Khalid, K. (2018). Bio-polymer chitosan and corn starch with extract of hibiscus rosa-sinensis (hibiscus) as PH indicator for visually-smart food packaging. *AIP Conference Proceedings*, 1985(January 2019), 2–10. <https://doi.org/10.1063/1.5047198>
- Pabba, S., Kumari, A., Ravuri, M. G., Thella, P. K., Satyavathi, B., Shah, K., Kundu, S., & Bhargava, S. K. (2020). Experimental determination and modelling of the co-solvent and antisolvent behaviour of binary systems on the dissolution of pharma drug; L-aspartic acid and thermodynamic correlations. *Journal of Molecular Liquids*, 314,

113657. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2020.113657>

- Park, H. J., Yoon, J. H., Lee, K. G., & Choi, B. G. (2019). Potentiometric performance of flexible pH sensor based on polyaniline nanofiber arrays. *Nano Convergence*, 6(1), 1–7. <https://doi.org/10.1186/s40580-019-0179-0>
- Pires-Ferreira, S., Ruiz, W. A., & Gaspar-Cunha, A. (2014). Influence of extrusion temperature on rheological properties of wheat gluten bioplastic. *Revista de Ciências Agrarias*, 37(1), 10–19.
- Ponce-Reyes, C. E., Chanona-Pérez, J. J., Garibay-Febles, V., Palacios-González, E., Karamath, J., Terrés-Rojas, E., & Calderón-Domínguez, G. (2014). Preparation of cellulose nanoparticles from agave waste and its morphological and structural characterization. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 13(3), 897–906.
- Puligundla, P., Jung, J., & Ko, S. (2012). Carbon dioxide sensors for intelligent food packaging applications. *Food Control*, 25(1), 328–333. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCONT.2011.10.043>
- Ramírez-Navas, J. S. (2006). *Introducción a la reología de los alimentos* (6th ed.). Reciteia.
- Rasheed, F., Newson, W. R., Plivelic, T. S., Kuktaite, R., Hedenqvist, M. S., Gallstedt, M., & Johansson, E. (2014a). Structural architecture and solubility of native and modified gliadin and glutenin proteins: noncrystalline molecular and atomic organization. *The Journal of the Royal Society of Chemistry*, 4, 2051–2060. <https://doi.org/10.14219/jada.archive.1971.0478>
- Rasheed, F., Newson, W. R., Plivelic, T. S., Kuktaite, R., Hedenqvist, M. S., Gallstedt, M., & Johansson, E. (2014b). Structural architecture and solubility of native and modified gliadin and glutenin proteins: noncrystalline molecular and atomic organization. *RSC Advances*, 4, 2051–2060. <https://doi.org/10.1039/c3ra45522j>
- Rebelo, L. P. N., Lopes, N. C., & Esperanc, M. S. S. (2005). On the critical temperature, normal boiling point, and vapor pressure of ionic liquids. *American Chemical Society*, 0(1), 6040–6043. <http://hackingroomba.com/projects/build-a-roomba-bluetooth-adapter/>
- Reddy, N., & Yang, Y. (2007). Novel protein fibers from wheat gluten. *Biomacromolecules*, 8(2), 638–643. <https://doi.org/10.1021/bm0608840>
- Restrepo, J. A. (2006). Compuestos orgánicos volátiles: un análisis de algunas definiciones de estas sustancias. *Inpra Latina*, 24–26. [http://starandinapaint.com/nuevaweb/download/COMPUESTOS ORGANICOS VOLATILES.pdf](http://starandinapaint.com/nuevaweb/download/COMPUESTOS_ORGANICOS_VOLATILES.pdf)
- Rezaei, M., Pirs, S., & Chavoshizadeh, S. (2019). Photocatalytic/Antimicrobial Active Film Based on Wheat Gluten/ZnO Nanoparticles. *Journal of Inorganic and Organometallic*

- Rodríguez-Félix, F., Del-Toro-Sánchez, C. L., Javier Cinco-Moroyoqui, F., Juárez, J., Ruiz-Cruz, S., López-Ahumada, G. A., Carvajal-Millan, E., Castro-Enríquez, D. D., Barreras-Urbina, C. G., & Tapia-Hernández, J. A. (2019). Preparation and Characterization of Quercetin-Loaded Zein Nanoparticles by Electrospraying and Study of In Vitro Bioavailability. *Journal of Food Science*, 84(10), 2883–2897. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14803>
- Romano Mozo, D., Gadea Merino, R., Santos Otero, T., & García, A. (2011). Utilización de compuestos orgánicos volátiles (COV) como disolventes en empresas españolas. *Archivos de Prevención de Riesgos Laborales*, 14(1), 27–37.
- Romero, M. I. (2018). “OBTENCIÓN DE ESTRUCTURA DE POROS HOMOGÉNEA DE ESPUMAS DE ALUMINIO A356, UTILIZANDO COMO AGENTE ESPUMANTE PARTÍCULAS NÚCLEO/MULTI-CORAZA BASADAS EN TiH₂.” *Centro de Investigaciones En Materiales Avanzados S.C.*
- Sánchez-Montero, J. M., & Alcántara-León, A. R. (2007). Compuestos orgánicos volátiles en el medio ambiente. In *Monografías de la Real Academia Nacional de Farmacia*.
- Sánchez, G., Vial, C., & Moraga, N. (2002). Estudio De Fluidos No Newtonianos Con Los Métodos De Volúmenes Y Elementos Finitos. *Revista Facultad de Ingeniería - Universidad de Tarapacá*, 10, 23–34. <https://doi.org/10.4067/s0718-13372002001000004>
- Segundo-Urbina, E. (2017). *Identificación y análisis de gluteninas como marcadores bioquímicos para calidad panadera en dos variedades de trigo* [Universidad Autónoma del Estado de México]. <http://ri.uaemex.mx/handle/20.500.11799/67826>
- Shewry, P. R., & Tatham, A. S. (1997). Disulphide bonds in wheat gluten proteins. *Journal of Cereal Science*, 25(3), 207–227. <https://doi.org/10.1006/jcsc.1996.0100>
- Shewry, Peter R., Halford, N. G., Belton, P. S., & Tatham, A. S. (2002). The structure and properties of gluten: An elastic protein from wheat grain. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 357(1418), 133–142. <https://doi.org/10.1098/rstb.2001.1024>
- Shi, P., Ma, Y., Han, D., Du, S., Zhang, T., & Li, Z. (2019). Uncovering the solubility behavior of vitamin B6 hydrochloride in three aqueous binary solvents by thermodynamic analysis and molecular dynamic simulation. *Journal of Molecular Liquids*, 283, 584–595. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2019.03.082>
- Shixiong, K., Yiyong, H., Deng-Guang, Y., Wenbing, L., & Wang, K. (2021). Drug–zein@lipid hybrid nanoparticles: Electrospraying preparation and drug extended release application. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 201, 111629.

- Shuyu, X., Huifang, Z., Yuhuan, L., & Roger, R. (2020). Effects of microwave heating on the protein structure , digestion properties and Maillard products of gluten. *Journal of Food Science and Technology*, 57(6), 2139–2149. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04249-0>
- Sill, T. J., & von Recum, H. A. (2008). Electrospinning: Applications in drug delivery and tissue engineering. *Biomaterials*, 29(13), 1989–2006. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2008.01.011>
- Silva, C. M. da, Silva Jr, T. L., & Pinto Jr, I. M. (2019). CARACTERIZAÇÃO REOLÓGICA DE FLUIDOS NÃO NEWTONIANOS E SUA APLICABILIDADE NA INDÚSTRIA. *Caderno de Graduação, Ciência e Tecnologia*, 5, 285–300. <https://periodicos.set.edu.br/fitsexatas/article/view/6798/3395>
- Steffe, J. F. (1992). *Rheological methods in food process engineering*. Editorial Freeman Press.
- Streeter, V. L., & Wylie, E. B. (1988). *Mecánica de los fluidos* (McGraw-Hil (Ed.)). Interamericana de México, S.A.
- Sun, Y., Cai, D., Xiang, Q., Yan, W., & Zhong, Z. (2015). Extraction and characterization of four proteins from wheat bran by Osborne. *Science and Technology of Food Industry*, 36(9), 136–139. <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2015.09.021>
- Surib, N. A., & Mohd Paad, K. (2020). Electro spray flow rate influenced the sized of functionalized soot nanoparticles. *Asia-Pacific Journal of Chemical Engineering*, 15(3), 1–10. <https://doi.org/10.1002/apj.2417>
- Tapia-Hernández, José A., Rodríguez-Félix, D. E., Plascencia-Jatomea, M., Rascón-Chu, A., López-Ahumada, G. A., Ruiz-Cruz, S., Barreras-Urbina, C. G., & Rodríguez-Félix, F. (2018). Porous wheat gluten microparticles obtained by electro spray: Preparation and characterization. *Advances in Polymer Technology*, 37(6), 2314–2324. <https://doi.org/10.1002/adv.21907>
- Tapia-Hernández, José Agustín, Del-Toro-Sánchez, C. L., Cinco-Moroyoqui, F. J., Ruiz-Cruz, S., Juárez, J., Castro-Enríquez, D. D., Barreras-Urbina, C. G., López-Ahumada, G. A., & Rodríguez-Félix, F. (2019). Gallic Acid-Loaded Zein Nanoparticles by Electro spraying Process. *Journal of Food Science*, 84(4), 818–831. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14486>
- Tapia-Hernández, José Agustín, Rodríguez-Felix, F., Juárez-Onofre, J. E., Ruiz-Cruz, S., Robles-García, M. A., Borboa-Flores, J., Wong-Corral, F. J., Cinco-Moroyoqui, F. J., Castro-Enríquez, D. D., & Del-Toro-Sánchez, C. L. (2018). Zein-polysaccharide nanoparticles as matrices for antioxidant compounds: A strategy for prevention of chronic degenerative diseases. In *Food Research International* (Vol. 111, pp. 451–471). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.05.036>

- Tatham, A. S., & Shewry, P. R. (1985). The conformation of wheat gluten proteins. The secondary structures and thermal stabilities of α -, β -, γ - and ω -Gliadins. *Journal of Cereal Science*, 3(2), 103–113. [https://doi.org/10.1016/S0733-5210\(85\)80021-7](https://doi.org/10.1016/S0733-5210(85)80021-7)
- Uchida, K., Higashi, K., Hishida, K., Hotta, A., & Miki, N. (2015). Electrospray formation of ringshaped silica nanoparticles. *Jpn. J. Appl. Phys.*, 54(2), 020302.
- Umaraw, P., Munekata, P. E. S., Verma, A. K., Barba, F. J., Singh, V. P., Kumar, P., & Lorenzo, J. M. (2020). Edible films/coating with tailored properties for active packaging of meat, fish and derived products. In *Trends in Food Science and Technology* (Vol. 98, pp. 10–24). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.01.032>
- Urrejola, M. C., Soto, L. V, Zumarán, C. C., Peñaloza, J. P., Álvarez, B., Fuentevilla, I., & Haidar, Z. S. (2018). Sistemas de Nanopartículas Poliméricas II: Estructura, Métodos de Elaboración, Características, Propiedades, Biofuncionalización y Tecnologías de Auto-Ensamblaje Capa por Capa (Layer-by-Layer Self-Assembly). *International Journal of Morphology*, 36(4), 1463–1471. <https://doi.org/10.4067/s0717-95022018000401463>
- Valdez, M., Gupta, S. K., Lozano, K., & Mao, Y. (2019). ForceSpun polydiacetylene nanofibers as colorimetric sensor for food spoilage detection. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 297, 126734. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.126734>
- Vargas-Campos, L., Valle-Guadarrama, S., Martínez-Bustos, F., Salinas-Moreno, Y., Lobato-Calleros, C., & Calvo-López, A. D. (2018). Encapsulation and pigmenting potential of betalains of pitaya (*Stenocereus pruinosus*) fruit. *Journal of Food Science and Technology*, 55(7), 2436–2445. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3161-7>
- Wan, Y., He, H., Sun, R., Li, L., Sha, J., Guo, W., Jiang, G., Li, Y., Li, T., & Ren, B. (2020). Solid-liquid phase equilibrium of phenylphosphonic acid in three binary solvents: Determination, correlation and molecular simulation. *Journal of Molecular Liquids*, 307, 112936. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2020.112936>
- Wang, H., She, Y., Chu, C., Liu, H., Jiang, S., Sun, M., & Jiang, S. (2015). Preparation, antimicrobial and release behaviors of nisin-poly (vinyl alcohol)/wheat gluten/ZrO₂ nanofibrous membranes. *Journal of Materials Science*, 50. <https://doi.org/10.1007/s10853-015-9059-0>
- Wang, K., & Stark, J. P. (2010). Voltage effects on the nanoelectrospray characteristics in fully voltage-controlled atomisation of gold nanocolloids. *Analytical Chemistry, Acta* 679, 81–84.
- Wang, Q., Cai, J., Zhang, L., Xu, M., Cheng, H., Han, C. C., Kuga, S., Xiao, J., & Xiao, R. (2013). A bioplastic with high strength constructed from a cellulose hydrogel by changing the aggregated structure. *Journal of Materials Chemistry A*, 1(22), 6678–6686. <https://doi.org/10.1039/c3ta11130j>

- Wang, X.-X., Ju, X.-J., Sun, S.-X., Xie, R., Wang, W., Liu, Z., & Chu, L.-Y. (2015). Monodisperse erythrocyte-sized and acid-soluble chitosan microspheres prepared via electrospraying. *RSC Advances*, *5*, 34243–34250.
- Weiss, J., Gaysinsky, S., Davison, M., & McClements, J. (2009). Nanostructured encapsulation systems: food antimicrobials. *Global Issues Food Sci. Technol.*, *1*, 425–480.
- Wieser, H. (2000). Comparative investigations of gluten proteins from different wheat species. *European Food Research and Technology*, *211*(4), 262–268. <https://doi.org/10.1007/s002170000165>
- Wieser, H. (2007). Chemistry of gluten proteins. *Food Microbiology*, *24*(2), 115–119. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2006.07.004>
- Xu, J., Bietz, J. A., & Carriere, C. J. (2007). Viscoelastic properties of wheat gliadin and glutenin suspensions. *Food Chemistry*, *101*(3), 1025–1030. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.02.057>
- Xue, J., Wu, T., Qiu, J., Rutledge, S., Tanes, M. L., & Xia, Y. (2020). Promoting Cell Migration and Neurite Extension along Uniaxially Aligned Nanofibers with Biomacromolecular Particles in a Density Gradient. *Advanced Functional Materials*, *30*(40), 1–12. <https://doi.org/10.1002/adfm.202002031>
- Yongling, S., Shaoming, Y., & Jianghe, L. (2020). Effect of Maillard reaction conditions on the solubility and molecular properties of wheat gluten – maltose conjugates. *August*, 5898–5906. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1869>
- Yu, S., Cheng, Y., Xing, W., & Xue, F. (2020). Solubility determination and thermodynamic modelling of gliclazide in five binary solvent mixtures. *Journal of Molecular Liquids*, *311*, 113258. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2020.113258>
- Yuno-Ohta, N., Yamada, M., Inomata, M., Konagai, H., & Kataoka, T. (2009). Gluten gel and film properties in the presence of cysteine and sodium alginate. *Journal of Food Science*, *74*(6), 285–290. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01197.x>
- Zakharov, A. G., Voronova, M. I., Surov, O. V., & Batov, D. V. (2010). Phenol sorption on cellulose from binary aqueous-organic mixtures. *Journal of Molecular Liquids*, *151*(1), 74–80. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2009.10.017>
- Zavala, Y. C. (2008). Biocombustibles, biotecnología y alimentos. Impactos sociales para México. *Argumentos : Estudios Críticos de La Sociedad*, *21*(57), 55–83.
- Zeng, L., Hou, B., Tian, B., Li, X., Wu, H., Chen, K., Yang, J., & Hao, H. (2020). Solution thermodynamics of ceftazidime in seven pure solvents and two binary solvent mixtures. *Journal of Molecular Liquids*, *303*, 112476. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2020.112476>

- Zhongbao, M., Long-Fei, R., Diwen, Y., Jinping, J., & Jiahui, S. (2021). Electrospray interface-less polymerization to fabricate high-performance thin film composite polyamide membranes with controllable skin layer growth. *Journal of Membrane Science*, 632. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2021.119369>(<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0376738821003173>)
- Zhu, Yitong, Yang, H., Si, Z., & Zhang, X. (2020). Solubility and thermodynamics of L-hydroxyproline in water and (methanol, ethanol, n-propanol) binary solvent mixtures. *Journal of Molecular Liquids*, 298, 112043. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2019.112043>
- Zhu, Yunping, Li, F., Wang, Y., Li, J., Teng, C., Wang, C., & Li, X. (2019). Effects of different molecular weight water-extractable arabinoxylans on the physicochemical properties and structure of wheat gluten. *Journal of Food Science and Technology*, 56(1), 340–349. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3494-2>