



► Effect of microfluidization on complex coacervation using chia gelatin-mucilage

EFECTO DE LA PRESIÓN DE MICROFLUIDIZACIÓN en la formación de coacervados complejos entre GELATINA Y MUCÍLAGO DE CHÍA¹

● NOTA BREVE

¹ Este trabajo fue apoyado por la Universidad de las Américas Puebla (UDLAP) y el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) mediante el proyecto SRE-CONACYT 278343. La autora Hernández-Nava reconoce el apoyo financiero para sus estudios de doctorado en Ciencia de los Alimentos por parte de UDLAP y CONACYT.



Por:  Ruth Hernández-Nava · Aurelio López-Malo · Enrique Palou · Nelly Ramírez-Corona · María Teresa Jiménez-Munguía*



Hernandez-Nava R. et al. (2020). Efecto de la presión de microfluidización en la formación de coacervados complejos entre gelatina y mucilago de chia. *Entorno UDLAP*, 13.

 Recibido: 23 de enero de 2020  Aceptado: 7 de septiembre de 2020

RESUMEN

La coacervación compleja es una técnica que involucra la atracción electrostática entre dos biopolímeros de cargas opuestas. En este estudio se evaluaron las condiciones de formación de un coacervado complejo entre gelatina y mucílago de chía homogeneizado por microfluidización, probando distintas presiones (10,000, 15,000 y 20,000 psi), y distintos números de pasos (2 o 3). Se determinó el pH óptimo de formación utilizando la turbidez y el rendimiento de coacervación (RC). Las condiciones óptimas de formación para el coacervado homogeneizado por microfluidización (CHM) fueron utilizando una presión de 20,000 psi y dos pasos (RC 47.2%). Este sistema fue caracterizado mediante su viscosidad y espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR). Éste fue comparado con uno homogeneizado por ultrasonido (CHU). El CHM presentó una viscosidad menor, significativamente ($p < 0.05$), respecto al CHU.

PALABRAS CLAVE

Coacervación compleja · Gelatina · Mucílago de chía · Microfluidización

ABSTRACT

Complex coacervation is a technique that involves electrostatic attraction between two biopolymers of opposite charges. In this study, the conditions of formation of a complex coacervate between gelatin and chia mucilage homogenized by microfluidization were evaluated, testing different pressures (10,000, 15,000 and 20,000 psi), and different numbers of passes (2 or 3). The optimum pH of formation was determined using turbidity and coacervate yield (CY). The optimum formation conditions for the complex coacervate homogenized by microfluidization (CHM) were with a pressure of 20 000 psi and two passes (CY 47.2%). This system was characterized by its viscosity and Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR). It was compared with one homogenized by ultrasound (CHU). The CHM showed a significant lower viscosity with respect to CHU ($p < 0.05$).

KEYWORDS

Complex coacervation · Gelatin · Chia mucilage · Microfluidization

EN ESTE ESTUDIO SE EVALUARON LAS CONDICIONES DE FORMACIÓN DE UN COACERVADO COMPLEJO ENTRE gelatina y mucílago de chía

HOMOGENEIZADO POR MICROFLUIDIZACIÓN, PROBANDO DISTINTAS PRESIONES (10,000, 15,000 Y 20,000 PSI), Y DISTINTOS NÚMEROS DE PASOS (2 O 3).

INTRODUCCIÓN

La coacervación compleja es una técnica de encapsulación que involucra la atracción electrostática entre dos biopolímeros de cargas opuestas, que da como resultado la generación de una fase pobre y otra rica en estos biopolímeros, conocida como coacervado. En la industria alimenticia tendría usos potenciales como el enmascaramiento del olor, prolongar los efectos organolépticos del sabor u otros marcadores sensoriales, en la protección de ingredientes de alimentos que son químicamente inestables en condiciones de almacenamiento (temperatura, humedad, oxígeno, etc.), y en la liberación controlada de un compuesto de interés (Yeo *et al*, 2005). Las proteínas y los polisacáridos son los biopolímeros más usados debido a que son productos naturales, denominados GRAS (Generally Recognized As Safe) y acordes a las tendencias actuales de los consumidores por alimentos libres de aditivos sintéticos (Bakry *et al.*, 2016; Thies, 2016; Brzozowska, 2019). Una de las proteínas más utilizadas en la coacervación compleja es la gelatina, y una alternativa recientemente aplicada como polisacárido es el mucílago de chía, que presenta propiedades de emulsificación y compatibilidad para formar coacervados complejos (Timilsena *et al.*, 2016; Hernández-Nava *et al.*, 2019).



«

**LA FORMACIÓN
DE COACERVADOS
COMPLEJOS SE
VE AFECTADA
POR DISTINTOS
FACTORES, ENTRE
ELLOS EL TIPO DE
HOMOGENEIZACIÓN
(ACH ET AL., 2015;
PRATA Y
GROSSO, 2015).**

La formación de coacervados complejos se ve afectada por distintos factores, entre ellos el tipo de homogeneización (Ach *et al.*, 2015; Prata y Grosso, 2015). En la homogeneización de coacervados complejos, se han utilizado varios dispositivos, incluidos mezcladores de alta velocidad, sistema de rotores, homogeneizadores por ultrasonido, entre otros (Brzozowska, 2019); siendo la microfluidización una alternativa aún no estudiada.

La microfluidización es una técnica de homogeneización que utiliza alta presión. En ésta, un fluido es forzado a través de una cámara de interacción que crea microcorrientes de alta velocidad, generando grandes fuerzas de cizallamiento, cavitación y turbulencia, dando como resultado la reducción del tamaño de partícula (McCrae, 1994; Zhang, Peppard y Reineccius, 2015; Villalobos-Castillejos *et al.*, 2018).

Actualmente, no existen estudios que reporten la aplicación de la microfluidización en la formación de coacervados complejos. Por consiguiente, el objetivo de este estudio fue determinar las condiciones de formación de un coacervado complejo entre gelatina y mucílago de chíá aplicando microfluidización como método de homogeneización.

◆◆ MATERIALES Y MÉTODOS

● Materiales

Las semillas de chíá (*Salvia hispanica* L.) se compraron de Verde Limón Trading Company (Ciudad de México). La gelatina (tipo B) fue comprada de Gelco S. A. (Bogotá, Colombia). Los reactivos químicos utilizados en este estudio fueron de grado analítico y se adquirieron de Hycl (Jalisco, México).

● Extracción del mucílago de chíá

Se utilizó el método descrito por Hernández-Nava *et al.* (2019). Las semillas de chíá se hidrataron en agua destilada en una proporción de 1:20 (p / v) y fueron liofilizadas con un liofilizador (Triad™ Labconco, EE. UU.). El mucílago de chíá fue separado mecánicamente usando una malla #35 (500 µm), y se almacenó a 25 ± 1.0 °C dentro de un recipiente sellado hasta su uso posterior.

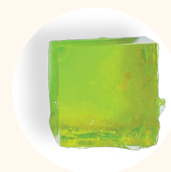
MATERIALES Y MÉTODOS

► Materiales



SEMILLAS DE CHÍA

Verde Limón
Trading Company



GELATINA

Gelco S. A.

Los reactivos químicos utilizados en este estudio fueron de grado analítico y se adquirieron de Hycl (Jalisco, México).

► Preparación

Se preparó una solución de gelatina (0.133% p/p) y otra de mucílago de chíá (0.063% p/p).

La relación masa gelatina:mucílago de chíá fue de 2:1 con sólidos totales al 0.2% p/p.

La solución de gelatina-mucílago de chíá fue homogeneizada por microfluidización probando distintas presiones (10,000, 15,000 o 20,000 psi) empleado 2 o 3 pasos a través del equipo como lo sugerido por Zhang *et al.* (2015).

► Medición de turbidez

Se midió la turbidez en un rango de pH de 3.0 a 5.0, empleando un colorímetro (DR/890, Hach, EE. UU.).

► Rendimiento de coacervación

En el pH óptimo se determinó el rendimiento de coacervación de acuerdo con el método descrito por Huang, Sun, Xiao y Yang (2012).

► Caracterización de los coacervados complejos

El sistema que presentó el mayor rendimiento de coacervación fue caracterizado por su viscosidad y su espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR, por sus siglas en inglés), para determinar el efecto de la microfluidización en la gelatina y el mucílago de chíá.

● Preparación de los coacervados complejos

Para obtener los coacervados complejos utilizando microfluidización, se adaptó el método reportado por Hernández-Nava *et al.* (2019) para ultrasonido. Se preparó una solución de gelatina (0.133% p/p) y otra de mucílago de chíca (0.063% p/p). Una vez obtenidas ambas soluciones, éstas se mezclaron a una velocidad de 250 rpm hasta su completa homogeneización, manteniendo la temperatura a $40^{\circ}\text{C} \pm 1.0^{\circ}\text{C}$. La relación masa gelatina:mucílago de chíca fue de 2:1 con sólidos totales al 0.2% p/p. Posteriormente, la solución de gelatina-mucílago de chíca fue homogeneizada por microfluidización probando distintas presiones (10,000, 15,000 o 20,000 psi) empleado 2 o 3 pasos a través del equipo como lo sugerido por Zhang *et al.* (2015). Enseguida, se realizó el ajuste de pH con una solución de HCl 0.1 N, en un rango de 3.0 a 5.0, manteniendo la solución en agitación constante (250 rpm) durante cinco minutos. El sistema se enfrió a 25°C y se almacenó a $4.0 \pm 1.0^{\circ}\text{C}$ hasta su uso posterior.

● Determinación de las mejores condiciones para la formación de coacervados complejos homogeneizados por microfluidización

MEDICIÓN DE TURBIDEZ. Se midió la turbidez en un rango de pH de 3.0 a 5.0, empleando un colorímetro (DR/890, Hach, EE. UU.). El punto donde se observa la mayor turbidez se denomina pH óptimo (pH_{opt}), en donde ocurre la mayor interacción de cargas opuestas (Kaushik *et al.*, 2015).

RENDIMIENTO DE COACERVACIÓN. En el pH_{opt}, se determinó el rendimiento de coacervación de acuerdo con el método descrito por Huang, Sun, Xiao y Yang (2012), en donde el coacervado es separado por filtración al vacío y secado a $105 \pm 1.0^{\circ}\text{C}$, hasta alcanzar peso constante. El rendimiento de coacervación es calculado usando la siguiente ecuación:

$$\text{Rendimiento de coacervación (\%)} = \frac{m_i}{m_o} \times 100 \quad (1)$$

Donde m_i es la masa (g) del coacervado seco, y m_o es la masa (g) total inicial de la formulación de gelatina-mucílago de chíca.

● Caracterización de los coacervados complejos

El sistema que presentó el mayor rendimiento de coacervación fue caracterizado por su viscosidad y su espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR, por sus siglas en inglés), para determinar el efecto de la microfluidización en la gelatina y el mucílago de chíca. Este sistema fue comparado con uno homogeneizado por ultrasonido, obtenido mediante la metodología reportada por Hernández-Nava *et al.* (2019).

MEDICIÓN DE VISCOSIDAD. Para la medición de la viscosidad se usó el método 974.07 de la A.O.A.C. (2000). Se empleó un viscosímetro Cannon-Fenske (150, Thomas Scientific, EE. UU.), donde se mide el tiempo necesario para que el líquido fluya por capilaridad a través del viscosímetro (Tadros, 2018).

FTIR. Para el análisis de FTIR, se utilizó un espectrómetro (Cary 630, Agilent Technologies, EE. UU.), en un rango de número de onda de 1850 a 850 cm^{-1} .



● Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y pruebas de comparación de Tukey, utilizando un nivel de confianza del 95%, a los datos obtenidos utilizando Minitab (v.17, LEAD Technologies Inc., EE. UU.).

◆ RESULTADOS Y DISCUSIÓN

● Condiciones para la formación de coacervados complejos homogeneizados por microfluidización

Al evaluar el rango de valores de pH entre 3.0 a 5.0, en los diferentes sistemas para preparar los coacervados por microfluidización en el rango de presiones entre 10,000 a 20,000 psi, con dos y tres pasos, se encontró que el pH en el cual existía una mayor formación de coacervados, es decir, mayor interacción iónica, fue en un pH de 3.3. De tal manera, se definió el valor de pH_{opt} como 3.3. Este valor de pH_{opt} para el coacervado homogeneizado por

microfluidización (CHM) resultó ser menor al valor de 3.6 reportado por Hernández-Nava *et al.* (2019) para un coacervado complejo de gelatina-mucílago de chía homogeneizado por ultrasonido (CHU). Esto posiblemente es debido a la existencia de una mayor cantidad de grupos funcionales, amino primarios para la gelatina y carboxilo en el mucílago de chía, en el CHM respecto al CHU (figura 1).

En la tabla 1 se muestran los resultados de turbidez y rendimiento de coacervación para las distintas condiciones estudiadas para la formación de coacervados complejos homogeneizados por microfluidización. La mayor turbidez y de rendimiento de coacervación se obtuvieron con las condiciones de 20,000 psi y dos pasos. El análisis estadístico mostró que existió una diferencia significativa ($p < 0.05$) para la turbidez y el rendimiento de coacervación entre los sistemas estudiados.

Tabla 1. Resultados de turbidez y rendimiento de coacervación en coacervados complejos homogeneizados por microfluidización.

Presión (psi)	#Pasos	Turbidez (Fau)	Rendimiento (%)
10,000	2	437 $\pm$ 0.6 ^a	38.7 $\pm$ 0.1 ^a
10,000	3	441 $\pm$ 0.6 ^b	39.5 $\pm$ 0.1 ^b
15,000	2	457 $\pm$ 0.6 ^c	43.0 $\pm$ 0.1 ^c
15,000	3	429 $\pm$ 0.6 ^d	36.0 $\pm$ 0.1 ^d
20,000	2	478 $\pm$ 0.6 ^e	47.2 $\pm$ 0.1 ^e
20,000	3	455 $\pm$ 0.6 ^f	42.6 $\pm$ 0.1 ^c

pH ajustado a 3.3

Diferentes letras en la columna muestran diferencia significativa ($p < 0.005$) entre muestras.

◆ CARACTERIZACIÓN DE LOS COACERVADOS COMPLEJOS

● Efecto de la presión en la viscosidad de coacervados complejos

Para las mejores condiciones estudiadas de formación de coacervados, se observó que la viscosidad del CHM fue de 1.1010 ± 0.02 cP, la cual es menor respecto al CHU (1.2720 ± 0.02 cP), con diferencia significativa ($p < 0.05$). Esto puede deberse a que la presión aplicada en el microfluidizador rompe el gel formado por el mucílago de chíca permitiendo una mayor disponibilidad de grupos funcionales carboxilo. Para contrarrestar estas cargas negativas, y que se llegue a un equilibrio entre cargas opuestas que permitan la formación de coacervados complejos, es necesario generar más cargas positivas aportadas por la gelatina. Para esto, es necesario disminuir el pH por debajo del punto isoeléctrico de la proteína (pH 4.0-5.0), permitiendo una mayor ionización de los grupos amino primarios en ésta (Timilsena, Wang *et al.*, 2016). Al existir una mayor interacción de cargas opuestas, la viscosidad se ve afectada y tiende a disminuir en el sistema (Devi y Maji, 2011; Hernández-Nava *et al.*, 2019).

● Espectros FTIR de coacervados complejos homogeneizados por microfluidización o ultrasonido

En el análisis de FTIR (figura 1) se observó que ambos sistemas, CHM y CHU, presentaron las bandas características para los grupos funcionales de la gelatina y el mucílago de chíca. En el caso de la gelatina, las bandas 1628.1 y 1636.4 cm^{-1} corresponden al grupo amino primario, mientras que los grupos amino secundario se presentan en las bandas 1540.7 y 1541.9 cm^{-1} . Las bandas 1239.2 y 1240.1 cm^{-1} corresponden al grupo amino terciario. En el mucílago de chíca, las bandas 1158.5 y 1159.8 cm^{-1} representan la vibración de flexión de C-O-C presente en el anillo de piranosa. Las bandas 1035.6 y 1050.7 cm^{-1} pertenecen al estiramiento de C-O-C del enlace glucosídico $1 \rightarrow 4$ y la flexión de C-O-H, característicos en los polisacáridos (Pongjanyakul y Puttipatkhachorn, 2007; Cerqueira *et al.*, 2011; Fonseca *et al.*, 2011; Timilsena *et al.*, 2016; Adhikari, Kasapis y Adhikari, 2016; Hernández-Nava *et al.*, 2019). No obstante, el CHM presentó una mayor intensidad en sus bandas sugiriendo una mayor presencia de los grupos funcionales amino primarios y

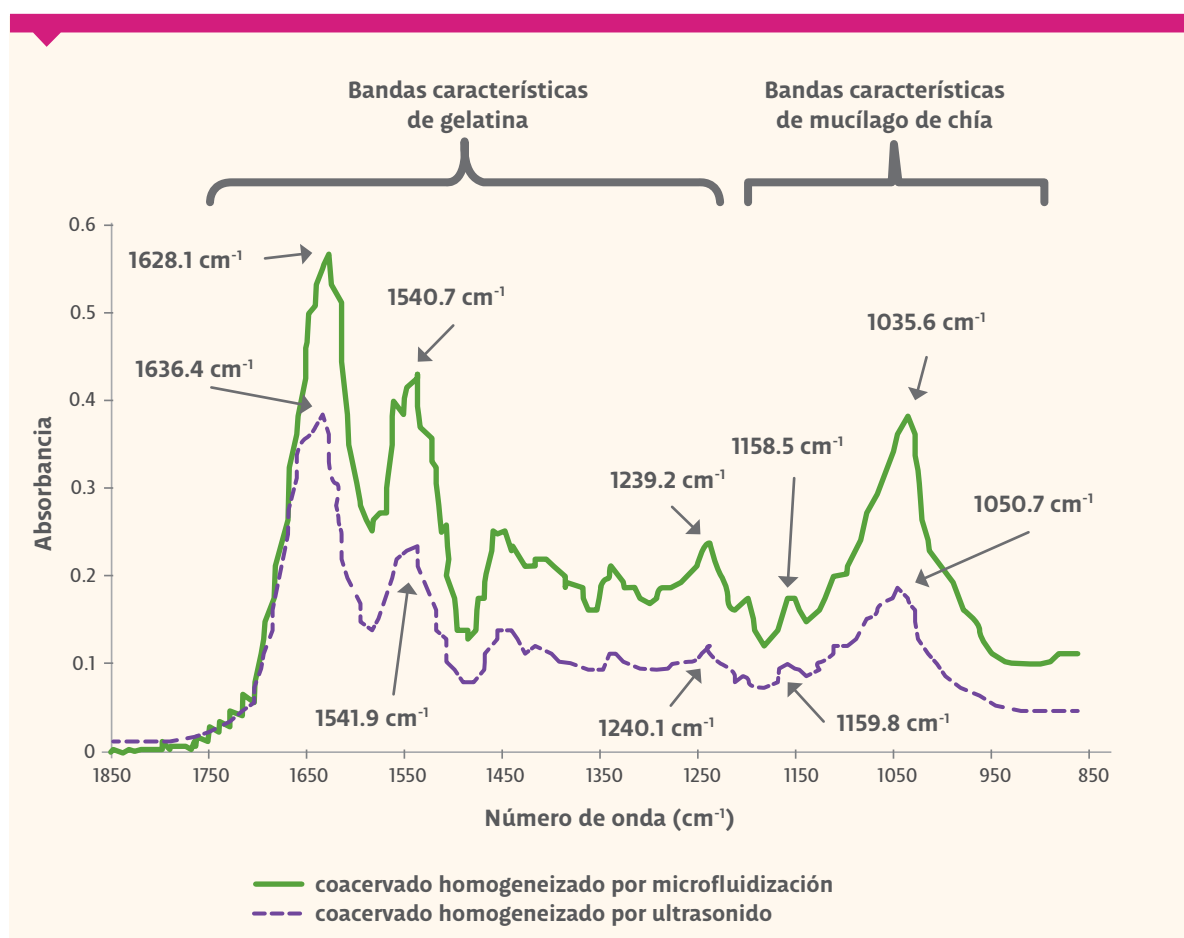


Figura 1. Espectros de FTIR de coacervados complejos homogeneizados por microfluidización o ultrasonido.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al evaluar el rango de valores de pH entre

3.0 A 5.0

en los diferentes sistemas para preparar los coacervados por microfluidización en el rango de presiones entre

10,000 A 20,000 PSI

con dos y tres pasos, se encontró que el pH en el cual existía una mayor formación de coacervados, es decir, mayor interacción iónica, fue en un

pH de 3.3

El análisis estadístico mostró que existió una diferencia significativa ($p < 0.05$) para la turbidez y el rendimiento de coacervación entre los sistemas estudiados.

► Efecto de la presión en la viscosidad de coacervados complejos

Para las mejores condiciones estudiadas de formación de coacervados, se observó que la viscosidad del CHM fue de 1.1010 ± 0.02 cP, la cual es menor respecto al CHU (1.2720 ± 0.02 cP), con diferencia significativa ($p < 0.05$). Esto puede deberse a que la presión aplicada en el microfluidizador rompe el gel formado por el mucilago de chíá permitiendo una mayor disponibilidad de grupos funcionales carboxilo.

► Espectros FTIR de coacervados complejos homogeneizados por microfluidización o ultrasonido

En el análisis de FTIR se observó que ambos sistemas, CHM y CHU, presentaron las bandas características para los grupos funcionales de la gelatina y el mucilago de chíá.

carboxilo, que se ven involucrados en la interacción de cargas opuestas en la formación de coacervados complejos, lo cual conlleva a un mayor rendimiento de los coacervados obtenidos.

CONCLUSIONES

Se logró la formación de un coacervado complejo, entre gelatina y mucilago de chíá, homogeneizado por microfluidización. Las mejores condiciones estudiadas fueron con una presión de 20,000 psi y dos pasos, las cuales presentaron la mayor turbidez y el rendimiento de coacervación. Comparado con un sistema homogeneizado por ultrasonido, el sistema homogeneizado por microfluidización presentó un valor menor en su pH óptimo y viscosidad. No obstante, mostró una mayor intensidad en sus bandas del espectro FTIR, sugiriendo una mayor presencia de los grupos funcionales amino primarios y carboxilo, involucrados en la formación de coacervados complejos. La homogeneización por microfluidización podría ser una alternativa en la coacervación compleja. Sin embargo, se requieren de mayores estudios para determinar el efecto de la microfluidización, como método de homogeneización en coacervación compleja, para la encapsulación de compuestos con propiedades de interés (organolépticas, antimicrobianas, antioxidantes, entre otras), y uso potencial en la industria alimenticia.



LAS MEJORES CONDICIONES ESTUDIADAS FUERON CON UNA PRESIÓN DE 20,000 PSI Y DOS PASOS, LAS CUALES PRESENTARON LA MAYOR TURBIDEZ Y EL RENDIMIENTO DE COACERVACIÓN.



Ruth Hernández-Nava

Estudió la Licenciatura en Ingeniería de Alimentos en la Universidad de las Américas Puebla y es egresada del Doctorado en Ciencia de Alimentos por la misma institución. Su tema de investigación se enfocó en la encapsulación de aceites esenciales para su posterior secado y uso como antimicrobianos en alimentos.

ruth.hernandezna@udlap.mx



Aurelio López Malo

Doctor en Química (Alimentos) por la Universidad de Buenos Aires (Argentina) y profesor del Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental de la UDLAP desde 1987.

Ha publicado más de 250 artículos científicos en revistas indexadas de prestigio internacional en el área de ciencia, tecnología e ingeniería de alimentos. Desde 1998 es investigador nacional (CONACYT) actualmente SNI nivel 3, y es miembro de la Academia Mexicana de Ciencias. aurelio.lopezm@udlap.mx



Enrique Palou

Doctor en Ingeniería por la Universidad Estatal del Estado de Washington (EE. UU.) y catedrático del Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental en la UDLAP desde 1992. Tiene más de 300 publicaciones científicas en el área de ciencia, tecnología e ingeniería de alimentos. Es investigador nacional (SNI) nivel 3, Fellow del Institute of Food Technologists, miembro de la Academia Mexicana de Ciencias y de la Academia de Ingeniería. enrique.palou@udlap.mx



Nelly Ramírez Corona

Doctora en Ingeniería Química por el Instituto Tecnológico de Celaya y profesora titular del Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental en la UDLAP desde 2007. Tiene más de 30 publicaciones científicas en el área de ingeniería química y de alimentos. Es investigadora nacional (SNI) nivel 1, miembro del Consejo Directivo de la Academia Mexicana de Investigación y Docencia en Ingeniería Química. nelly.ramirez@udlap.mx



María Teresa Jiménez-Munguía

AUTOR DE CORRESPONDENCIA

Doctora en Ingeniería de Procesos por la ENSIA, actualmente Agro-Paris-Tech, en Francia. Profesora y directora académica del Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental en la UDLAP. Cuenta con más de veinte publicaciones en revistas indizadas de reconocimiento internacional en el área de ciencia y tecnología de alimentos. Forma parte de la Mesa Directiva de la Asociación Mexicana para la Protección de Alimentos (México) y es representante nacional en México de ISEKI-Food Association (Europa). mariat.jimenez@udlap.mx

REFERENCIAS

- Ach, D., Briançon, S., Broze, G., Puel, F., Rivoire, A., Galvan, J. y Chevalier, Y. (2015). Formation of microcapsules by complex coacervation. *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, 93(2), 183-191. <https://doi.org/10.1002/cjce.22086>.
- A.O.A.C. (2000). *Official Methods of Analysis of AOAC International*, (décimo séptima ed., volumen II). EE. UU.: AOAC International.
- Bakry, A. M., Abbas, S., Ali, B., Majeed, H., Abouelwafa, M. Y., Mousa, A. y Liang, L. (2016). Microencapsulation of oils: A comprehensive review of benefits, techniques, and applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(1), 143-182. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12179>.
- Brzozowska, A. M. (2019). On the Use of Complex Coacervates for Encapsulation. En Y. Liu & X. J. Loh (eds.), *Polymer Capsules* (pp. 119-170). Singapur: Jenny Stanford Publishing Pte. Ltd.
- Corqueira, M. A., Souza, B. W. S., Simões, J., Teixeira, J., Domingues, M., Coimbra, M. A. y Vicente, A. A. (2011). Structural and thermal characterization of galactomannans from non-conventional sources. *Carbohydrate Polymers*, 83(1), 179-185. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.07.036>.
- Devi, N. y Maji, T. (2011). Study of complex coacervation of gelatin A with sodium carboxymethyl cellulose: Microencapsulation of neem (*Azadirachta indica* A. Juss.) seed oil (NSO). *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, 60(13), 1091-1105. <https://doi.org/10.1080/00914037.2011.553851>.
- Fonseca, P. R., Dekker, R. F., Barbosa, A. M., Silveira, J. L., Vasconcelos, A. F., Monteiro, N. K., ... da Silva, M. (2011). Thermal and rheological properties of a family of botryosphaerans produced by *Botryosphaeria rhodina* MAMB-05. *Molecules*, 16(9), 7488-7501. <https://doi.org/10.3390/molecules16097488>.
- Hernández-Nava, R., López-Malo, A., Palou, E., Ramírez-Corona, N. y Jiménez-Munguía, M. T. (2019). Complex Coacervation between Gelatin and Chia Mucilage as an Alternative of Encapsulating Agents. *Journal of Food Science*, 84(6), 1281-1287. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14605>.
- Huang, G. Q., Sun, Y. T., Xiao, J. X., & Yang, J. (2012). Complex coacervation of soybean protein isolate and chitosan. *Food Chemistry*, 135(2), 534-539. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.04.140>.
- Kaushik, P., Dowling, K., Barrow, C. J., & Adhikari, B. (2015). Complex coacervation between flaxseed protein isolate and flaxseed gum. *Food Research International*, 72, 91-97. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.03.046>.
- McCrae, C. H. (1994). Homogenization of milk emulsions: use of microfluidizer. *International Journal of Dairy Technology*, 47(1), 28-31. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.1994.tb01267.x>.
- Pongjanyakul, T. y Puttipatkhachorn, S. (2007). Xanthan-alginate composite gel beads: Molecular interaction and in vitro characterization. *International Journal of Pharmaceutics*, 331(1), 61-71. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2006.09.011>.
- Prata, A. S. y Grosso, C. (2015). Influence of the Oil Phase on the Microencapsulation by Complex Coacervation. *Journal of The American Oil Chemists' Society*, 92(7), 1063-1072. <https://doi.org/10.1007/s11746-015-2670-z>.
- Tadros, T. (2018). *Handbook of colloid and interface science*. Alemania: De Gruyter.
- Thies, C. (2016). Encapsulation by complex coacervation. En J. Lakkis (Ed.), *Encapsulation and controlled release technologies in food systems* (pp. 41-77). EE. UU.: John Wiley & Sons Ltd.
- Timilsena, Y. P., Adhikari, R., Kasapis, S. y Adhikari, B. (2016). Molecular and functional characteristics of purified gum from Australian chia seeds. *Carbohydrate Polymers*, 136, 128-136. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.09.035>.
- Timilsena, Y. P., Wang, B., Adhikari, R. y Adhikari, B. (2016). Preparation and characterization of chia seed protein isolate-chia seed gum complex coacervates. *Food Hydrocolloids*, 52, 554-563. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.07.033>.
- Villalobos-Castillejos, F., Granillo-Guerrero, V. G., Leyva-Daniel, D., Alamilla-Beltrán, L., Gutiérrez-López, G. F., Monroy-Villagrana, A. y Jafari, S. M. (2018). Fabrication of nanoemulsions by microfluidization. En S. M. Jafari y D. J. McClements (eds.), *Nanoemulsions: Formulation, Applications, and Characterization* (pp. 207-231). EE. UU.: Academic Press.
- Yeo, Y., Bellas, E., Firestone, W., Langer, R. y Kohane, D. (2005). Complex coacervates for thermally sensitive controlled release of flavor compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(19), 7518-7525. <https://doi.org/10.1021/jf0507947>.
- Zhang, J., Peppard, T. L. y Reineccius, G. A. (2015). Preparation and characterization of nanoemulsions stabilized by food biopolymers using microfluidization. *Flavour and Fragrance Journal*, 30, 288-294. <https://doi.org/10.1002/ffj.3244>.