



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIAPAS



FACULTAD DE CIENCIAS EN FÍSICA
Y MATEMÁTICAS

CAMPUS I

Efecto de la presión de vapor sobre
patrones producido por gotas de proteínas

TESIS

Que para obtener el grado de
Maestra en Ciencias Físicas

PRESENTA:

IRIS GABRIELA VELASCO TERÁN X180069

Director de tesis:

Dr. Jorge González Gutiérrez

Co-Directora de Tesis:

Dra. Yojana Jautzi P. Carreón Herrera

Tuxtla Gutiérrez, Chiapas; abril de 2025.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIAPAS
FACULTAD DE CIENCIAS EN FÍSICA Y MATEMÁTICAS
POSGRADO EN CIENCIAS FÍSICAS



Tuxtla Gutiérrez, Chiapas
26 de Marzo de 2025
Oficio No. FCFM/0191/25

Dr. Jorge González Gutiérrez
Director de tesis.
Profesor de tiempo completo
Facultad de Ciencias en Física y Matemáticas Unach.
p r e s e n t e

Estimado Dr. Jorge

Por este medio me permito informarle que, una vez efectuada la revisión de la tesis de nominada:

"Efecto de la presión de vapor sobre patrones producido por gotas de proteínas"

Ha sido aceptada para sustentar el examen de grado de la Maestría en Ciencias Físicas de la **Lic. Iris Gabriela Velasco Terán** con matrícula escolar X180069

Por lo tanto, se Autoriza la Impresión de la tesis, en virtud de haber cumplido con los requisitos correspondientes.

Sin más por el momento quedo de Usted, enviándole un cordial saludo.

Atentamente
"Por la conciencia de la necesidad de mejorar" ir"

DIRECCIÓN
FCFM


Dr. Orlando Díaz Hernández
Director

C. c. p. Dra. María del Rosario Soler Zapata, Secretaria Académica de la FCFM
Mtro. René Solís López., Encargado del Control Escolar Posgrado de la FCFM
Archivo.



Oficio FCFM/CIP/003/2025

A quién corresponda

El que suscribe, Comité de Investigación y Posgrado de la Facultad de Ciencias en Física y Matemáticas de la universidad autónoma de Chiapas, hace constar que mediante minuta FCFM/MCF/002/2024 de los integrantes del NA de la Maestría en Ciencias Físicas, que la **Dra. Yojana Jautzi P. Carreón Herrera**, investigadora posdoctoral CONAHCYT en la FCFM UNACH, miembro del SNII nivel I fue autorizada para ser Co-directora de la estudiante **Lic. Iris Gabriela Velasco Terán**.

Sin más por el momento, reciba un afectuoso saludo.

ATENTAMENTE

“Por la conciencia de la necesidad de servir”

Grado académico y nombre completo	Cargo en el CIP	Firma
Dr. Orlando Díaz Hernández	Presidente	
Dr. Ariel Flores Rosas	Secretario	
Dr. Roberto Arceo Reyes	Representante de los Cuerpos Académicos	
Dr. Víctor Iván Ruiz Pérez	Vocal titular del Consejo Consultivo de Investigación y Posgrado	
Dr. Armando Mendoza Pérez	Representante de los Núcleos Académicos de los Programas de Posgrado	
Dr. Javier Sánchez Martínez	Representante de las profesoras y los profesores con reconocimiento vigente en el ámbito de la investigación científica, tecnológica, humanística y de innovación.	
Lic. Jesús Erick Pérez Pérez	Representación estudiantil de la Maestría en Ciencias Físicas	



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIAPAS
SECRETARÍA ACADÉMICA
COORDINACIÓN DE BIBLIOTECAS UNIVERSITARIAS



Código: FO-113-05-05

Revisión: 0

CARTA DE AUTORIZACIÓN PARA LA PUBLICACIÓN ELECTRÓNICA DE LA TESIS DE TÍTULO Y/O GRADO.

La alumna (s) o él alumno (s) Iris Gabriela Velasco Terán, autora (s) o autor (es) de la tesis bajo el título de Efecto de la presión de vapor sobre patrones producidos por gotas de proteínas presentada y aprobada en el año 2025 como requisito para obtener el título o grado de Maestra en Ciencias Físicas autorizo licencia a la Dirección del Sistema de Bibliotecas Universidad Autónoma de Chiapas (SIBI-UNACH), para que realice la difusión de la creación intelectual mencionada, con fines académicos para su consulta, reproducción parcial y/o total, citando la fuente, que contribuya a la divulgación del conocimiento humanístico, científico, tecnológico y de innovación que se produce en la Universidad, mediante la visibilidad de su contenido de la siguiente manera:

- Consulta del trabajo de título o de grado a través de la Biblioteca Digital de Tesis (BIDITE) del Sistema de Bibliotecas de la Universidad Autónoma de Chiapas (SIBI-UNACH) que incluye tesis de pregrado de todos los programas educativos de la Universidad, así como de los posgrados no registrados ni reconocidos en el Programa Nacional de Posgrados de Calidad del CONACYT.
- En el caso de tratarse de tesis de maestría y/o doctorado de programas educativos que sí se encuentren registrados y reconocidos en el Programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC) del Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT), podrán consultarse en el Repositorio Institucional de la Universidad Autónoma de Chiapas (RIUNACH).

Tuxtla Gutiérrez, Chiapas; a los 2 días del mes de abril del año 2025.

IRIS GABRIELA VELASCO TERAN

Nombre y firma de la alumna (s) o él alumno (s)

Agradecimientos

Agradezco:

A mis asesores, Dr. Jorge González Gutiérrez y Dra. Yojana Jautzi P. Carreón Herrera, por la orientación, apoyo y ayuda para la realización de la tesis.

A los sinodales, por las valiosas contribuciones que hicieron al trabajo y las puntuales observaciones a este proyecto. A los miembros del Grupo Colegiado de Sistemas Dinámicos y Complejidad por su valioso apoyo.

A la Universidad Autónoma de Chiapas. A los miembros de la Facultad de Ciencias en Física y Matemáticas

A los fondos federales del programa Ciencia de Frontera, otorgados por la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación de México (SECIHTI), con número de subvención CF-2023-G-454.

Al SECIHTI por su apoyo financiero durante la maestría.

Iris Velasco
Tuxtla Gutiérrez, Chiapas. 2025.

Dedicatoria

A Dios, a mis padres por su apoyo moral permanente
y a mi esposo por sus ánimos y enseñanzas.

Iris Velasco
Tuxtla Gutiérrez, Chiapas 2025

Índice general

Resumen	xii
Abstract	xiv
Introducción	xvi
Planteamiento del Problema	xxi
Hipótesis y Objetivos	xxii
1. Materiales y Métodos	1
1.0.1. Irradiación y dosis total de exposición a luz UV-A	2
1.1. Arreglos Experimentales	3
1.2. Preparación de soluciones	3
1.3. Evaporación de gotas	4
1.4. Adquisición y análisis de imágenes	5
1.5. Análisis de perfil de intensidad radial	5
1.5.1. Análisis estadístico	5
1.6. Métricas cuantitativas	6
1.6.1. Comparación estadística de los perfiles de intensidad radial	6
1.6.2. Clasificación de análisis basado en imagenes de depósitos de gotas secas	8
2. Resultados	10
2.1. El efecto de la humedad relativa en procesos de recubrimiento de proteínas	10
2.2. Perfiles de intensidad radial	15

2.2.1. Comparación estadística de los perfiles de intensidad radial	20
2.2.2. Clasificación de análisis basado en imágenes de depósitos de gotas secas	21
2.3. Formación de Patrones de Gotas Secas a Diferentes Humedades Relativas .	23
2.4. Dinámica de secado de gotas de soluciones de proteína en estado nativo y desnaturalizado	34
2.5. Propiedades físicas y dinámicas de las gotas	41
2.6. Patrones formados con proteína desnaturalizada con UV-A.	44
3. Discusión y Conclusión	48
3.1. Conclusión	51
4. Productos científicos	53

Índice de figuras

1.1. Esquema de tratamiento térmico y de radiación UV-A	1
2.1. Efecto de la humedad relativa en los patrones de cristalización de depósitos secos de proteína nativa $\Phi = 1$ wt %	11
2.2. Efecto de la humedad relativa en los patrones de cristalización de depósitos secos de proteína desnaturalizada $\Phi = 1$ wt %	12
2.3. Efecto de la humedad relativa en los patrones de cristalización de depósitos secos de proteína nativa $\Phi = 0.1$ wt %	14
2.4. Efecto de la humedad relativa en los patrones de cristalización de depósitos secos de proteína desnaturalizada $\Phi = 0.1$ wt %	15
2.5. Perfiles de intensidad radial a 20 % RH	16
2.6. Perfiles de intensidad radial a 40 % RH	17
2.7. Perfiles de intensidad radial a 60 % RH	18
2.8. Perfiles de intensidad radial a 90 % RH	19
2.9. Formación del patrón en depósitos de proteína nativa 20 % $\Phi = 1$ wt % . . .	24
2.10. Formación del patrón en depósitos de proteína nativa 40 % $\Phi = 1$ wt % . . .	25
2.11. Formación del patrón en depósitos de proteína nativa 60 % $\Phi = 1$ wt % . . .	26
2.12. Formación del patrón en depósitos de proteína nativa 90 % $\Phi = 1$ wt % . . .	27
2.13. Formación del patrón en depósitos de proteína desnaturalizada 20 % $\Phi = 1$ wt %	28
2.14. Formación de patrones en depósitos de proteína desnaturalizada a 40 %, 60 % y 90 % $\Phi = 1$ wt %	29
2.15. Formación de patrones en depósitos de proteína nativa a 20 %, 40 % y 60 % $\Phi = 0.1$ wt %	30

2.16. Formación del patrón en depósitos de proteína nativa 90 % $\Phi = 0.1$ wt % . .	31
2.17. Formación de patrones en depósitos de proteína desnaturalizada a 20 %, 40 % y 60 % $\Phi = 0.1$ %	33
2.18. Formación del patrón en depósitos de proteína desnaturalizada 90 % $\Phi = 0.1$ %	34
2.19. Evolución lateral temporal de gotas Nativas a 20 % RH	35
2.20. Evolución lateral temporal de gotas Nativas a 40 % RH	36
2.21. Evolución lateral temporal de gotas Nativas a 60 % RH	37
2.22. Evolución lateral temporal de gotas Nativas a 90 % RH	37
2.23. Evolución lateral temporal de gotas Desnaturalizadas a 20 % RH	38
2.24. Evolución lateral temporal de gotas Desnaturalizadas a 40 % RH	39
2.25. Evolución lateral temporal de gotas Desnaturalizadas a 60 % RH	40
2.26. Evolución lateral temporal de gotas Desnaturalizadas a 90 % RH	40
2.27. Ángulo de Contacto inicial	41
2.28. Tiempo de Secado.	42
2.29. Altura y radio temporal.	43
2.30. Efecto de la humedad relativa en los patrones de cristalización de depósitos secos de proteína nativa e irradiada UV-A $\Phi = 1$ wt %	45
2.31. Perfiles de intensidad radial de depósitos de proteína nativa e irradiada $\Phi = 1$ wt %	45
2.32. Efecto de la humedad relativa en los patrones de cristalización de depósitos secos de proteína nativa e irradiada UV-A $\Phi = 0.1$ wt %	47
2.33. Perfiles de intensidad radial de depósitos de proteína nativa e irradiada $\Phi = 0.1$ wt %	47

Índice de tablas

2.1. Diferencia de depósitos entre métricas.	21
2.2. Eficiencia de la red neuronal convolucional	22

Lista de Acrónimos

- RH: Humedad Relativa
- BSA: Albúmina Sérica Bovina
- NaCl: Cloruro de Sodio (Φ)
- $I(r)$: Intensidad radial
- MAE: Error Medio Absoluto
- MSE: Error Medio Cuadrático
- RMSE: Error de raíz cuadrada medio
- PCC: Coeficiente de Correlación de Pearson
- R^2 : Coeficiente de Determinación
- UV - A :Rayo Ultravioleta A
- N: Estado de la proteína Nativo
- D: Estado de la proteína Desnaturalizado

Resumen

La influencia de la humedad relativa en la dinámica de secado de gotas y la formación de patrones es crucial para la fabricación de recubrimientos. Este estudio examina la formación de patrones en gotas secas de soluciones de proteínas nativas y desnaturalizadas bajo diversas humedades relativas (RH) (20 %, 40 %, 60 % y 90 %) con concentraciones de NaCl de 1 % y 0.1 % en peso. El objetivo es identificar las condiciones de humedad relativa que distinguen de manera más efectiva los depósitos de proteínas nativas y desnaturalizadas. La microscopía óptica reveló que a bajas humedades relativas (20 %, 40 %), la rápida evaporación intensifica el efecto del “anillo de café”, mientras que a humedades más altas (60 %-90 %) se promueve una evaporación más lenta, lo que facilita la redistribución homogénea del soluto y la formación de estructuras cristalinas complejas y organizadas en la superficie del depósito. Las proteínas desnaturalizadas pueden exhibir un patrón característico en forma de ojo y superficies rugosas con agregados amorfos. El análisis del perfil de intensidad radial $I(r)$, una herramienta semi-cuantitativa para estudiar la distribución de material dentro de los depósitos, reveló que la baja humedad relativa aumenta las diferencias en $I(r)$. La mayor similitud se observó a 90 % de humedad relativa, seguida por 60 %, 40 % y 20 % de humedad relativa, que mostraron las mayores diferencias. Además, un modelo de red neuronal convolucional demostró un rendimiento robusto, alcanzando más del 99 % de precisión al clasificar los depósitos según sus patrones morfológicos, lo que confirma su efectividad para distinguir los estados de las proteínas en diferentes condiciones de humedad. El análisis de las gotas en secado, incluidos los perfiles de altura normalizados, el tiempo total de evaporación y el ángulo de contacto inicial, proporciona información sobre los mecanismos subyacentes a la formación de patrones. El ángulo de contacto inicial no mostró diferencias significativas entre las proteínas nativas y des-

naturalizadas. Los resultados indican que las bajas humedades relativas son ideales para distinguir entre diferentes soluciones proteicas utilizando métodos semi-cuantitativos, ya que permiten que los patrones se formen más rápidamente, mostrando mayores diferencias cualitativas entre los depósitos de proteínas nativas y desnaturalizadas. En contraste, las altas humedades relativas mejoran la precisión de la clasificación al aplicar un modelo de red neuronal convolucional. Estos hallazgos destacan el potencial para optimizar las condiciones de humedad relativa y mejorar los procesos de recubrimiento de proteínas.

Abstract

The influence of relative humidity on droplet drying dynamics and pattern formation is critical to manufacturing coatings. This study examines the formation of patterns in dried droplets of native and denatured protein solutions under various relative humidities (20 %, 40 %, 60 %, and 90 %) with NaCl concentrations of 1 wt % and 0.1 wt %. The aim is to identify the relative humidity conditions that most effectively distinguish between native and denatured protein deposits. Optical microscopy revealed that at low relative humidities (20 % and 40 %), rapid evaporation intensifies the “coffee ring” effect, whereas higher humidities (60 %–90 %) promote slower evaporation, facilitating homogeneous solute redistribution and the formation of complex, organized crystalline structures on the deposit surface. Denatured proteins can exhibit a characteristic eye pattern and rough surfaces with amorphous aggregates. The radial intensity profile $I(r)$ analysis, a semi-quantitative tool for studying material distribution within deposits, revealed that lower relative humidity increases differences in $I(r)$. The highest similarity was observed at 90 % RH, followed by 60 %, 40 %, and 20 % RH, which showed the largest differences. Furthermore, a convolutional neural network model demonstrated robust performance, achieving over 99 % accuracy in classifying deposits based on their morphological patterns, confirming its effectiveness in distinguishing protein states across different humidity conditions. The analysis of drying droplets, including normalized height profiles, total evaporation time, and initial contact angle, provides insights into the mechanisms underlying pattern formation. The initial contact angle did not show significant differences between native and denatured proteins. The results indicate that low relative humidities are ideal for distinguishing between different protein solutions using semi-quantitative methods because they allow patterns to form more quickly, showing greater qualitative differences between native and denatured

protein deposits. In contrast, high relative humidities enhance classification accuracy when applying a convolutional neural network model. These findings highlight the potential for optimizing relative humidity conditions to improve protein coating processes.

Introducción

La fabricación de patrones altamente reproducibles en gotas secas es esencial para aplicaciones científicas y tecnológicas que dependen de la distribución espacial de componentes químicos o biomoleculares [1]. La reproducibilidad de los patrones es crucial para la identificación de biomarcadores, que pueden estar correlacionados con la presencia de enfermedades [2, 3], proteínas en soluciones salinas [4, 5], para investigar el impacto de la motilidad y la disponibilidad de nutrientes en medios acuosos que contienen organismos unicelulares [6], o incluso contaminantes en soluciones relevantes [7]. Por ejemplo, el análisis de patrones en gotas secas de fluidos corporales, como suero sanguíneo, saliva o orina [8], se ha utilizado con éxito en aplicaciones diagnósticas debido a las estructuras específicas que se forman durante la evaporación. Este enfoque ha permitido la detección de enfermedades como la talasemia [9]. La caracterización de distribuciones de patrones de grietas ha demostrado ser una herramienta eficaz para identificar variaciones en la motilidad bacteriana [10]. Además, mediante el uso de herramientas avanzadas de aprendizaje profundo, ha sido posible diferenciar entre depósitos [11, 12].

La evaporación de una gota de una solución acuosa genera un flujo de Marangoni, que redistribuye los solutos dentro de la gota [13]. Este flujo es impulsado por gradientes de tensión superficial, que pueden ser inducidos por variaciones en la composición o temperatura a lo largo de la superficie de la gota [14]. Paralelamente, para compensar la pérdida de disolvente por evaporación en la línea de contacto (el borde de la gota), el líquido fluye desde el interior hacia esa región [15]. Este flujo radial atrae los solutos hacia el perímetro de la gota, contribuyendo a la acumulación de materiales y a la formación del característico efecto de “anillo de café” [16].

Durante la evaporación, la redistribución de los solutos impulsada por los efectos de

Marangoni y capilares altera significativamente los flujos internos de la gota. Estos cambios están asociados con gradientes de concentración y variaciones locales en las propiedades del fluido, como la viscosidad y la tensión superficial [17]. Este proceso influye en la nucleación y formación de agregados, cuya morfología final está determinada por la concentración inicial de soluto, la tasa de evaporación del disolvente y las interacciones soluto-substrato [5]. Posteriormente, la organización de los solutos en el patrón final es moldeada por las fuerzas capilares, las interacciones de Van der Waals y las fuerzas electrostáticas, resultando en estructuras que van desde configuraciones isotrópicas hasta complejas configuraciones jerárquicas [18].

La humedad relativa (HR) afecta indirectamente la tensión superficial y la viscosidad del disolvente al modular la tasa de evaporación, lo que induce cambios en la concentración de soluto [19]. Una alta HR desacelera el proceso de evaporación, lo que podría llevar a un equilibrio más prolongado entre el disolvente y su entorno [20]. Este equilibrio reduce las fuerzas de tracción en la interfaz líquido-aire, estabilizando la tensión superficial. Además, una evaporación más lenta permite una redistribución más homogénea de las moléculas de disolvente y soluto, influyendo en las interacciones intermoleculares y la viscosidad local dentro de la gota. Bajo condiciones de baja HR, la evaporación acelerada genera gradientes de concentración más pronunciados cerca de la interfaz, lo que puede aumentar la viscosidad local debido a una acumulación más rápida de solutos en la periferia [21]. Este desequilibrio favorece interacciones intermoleculares más fuertes, lo que a su vez afecta la dinámica de formación de patrones. Por lo tanto, controlar la HR es crucial para regular estos procesos y, en consecuencia, la morfología final de los patrones en los depósitos secos.

A nivel molecular, la humedad relativa (HR) determina el gradiente de presión de vapor entre la superficie de la gota y el entorno circundante, una relación que se puede expresar mediante la ecuación: $\Delta P = P_{\text{sat}}(T) \times (1 - \text{HR})$, donde ΔP representa el gradiente de presión de vapor, $P_{\text{sat}}(T)$ es la presión de vapor de saturación a una temperatura T , y HR corresponde a la humedad relativa como una fracción decimal. Esta última se define como la relación entre la presión de vapor ambiental (P_{amb}) de la siguiente manera: $\text{HR} = \frac{P_{\text{amb}}}{P_{\text{sat}}(T)}$.

En el contexto de la evaporación de gotas, un aumento en HR disminuye ΔP , desacelerando la evaporación del disolvente, mientras que una reducción de HR incrementa

ΔP , acelerando el proceso de evaporación. Cuando la presión de vapor ambiental (P_{amb}) es significativamente más baja que la presión de vapor de saturación de la gota ($P_{sat}(T)$), el gradiente de presión de vapor resultante ΔP se amplifica [22, 23]. Aunque P_{amb} no aparece explícitamente en las ecuaciones anteriores, su relación inversa con la humedad relativa implica que un menor P_{amb} contribuye a un mayor gradiente de presión. Bajo estas condiciones, las moléculas de agua en la superficie de la gota, con suficiente energía cinética, pueden superar las interacciones intermoleculares y escapar al aire circundante. Este proceso se ve influenciado por la reducción de las fuerzas cohesivas en la superficie de la gota, lo que aumenta la probabilidad de que las moléculas entren en la fase vapor [24]. A medida que ΔP aumenta debido a la diferencia entre $P_{sat}(T)$ y el entorno circundante, el gradiente de concentración resultante intensifica la transferencia de moléculas de agua hacia el aire, acelerando la evaporación.

La adición de iones, como el NaCl, a soluciones proteicas juega un papel crucial en la formación de patrones en los depósitos secos al modificar propiedades físicoquímicas clave del sistema, como la fuerza iónica, la estabilidad conformacional y las interacciones intermoleculares [25]. Durante el proceso de secado, la redistribución de iones impulsada por flujos convectivos radiales y flujos de Marangoni genera gradientes locales que afectan significativamente la distribución espacial de los componentes dentro de la gota. Este efecto induce una acumulación preferencial de solutos en los bordes de la gota [26], reduciendo su concentración en el interior y favoreciendo la formación de configuraciones complejas como anillos o estructuras dendríticas [27, 28, 29]. Estos patrones son altamente sensibles a la concentración inicial de NaCl, que modula los procesos de nucleación y agregación, influyendo directamente en la organización estructural de las proteínas durante la evaporación. El NaCl modula la solubilidad de las proteínas a través de los efectos de *salting-in* o *salting-out*, dependiendo de su concentración, lo que altera las fuerzas repulsivas o atractivas entre las moléculas de proteína.

El análisis de los patrones en los depósitos de gotas secas ha demostrado ser una herramienta altamente sensible para explorar diferentes estados conformacionales de las proteínas, permitiendo la identificación de cambios estructurales. Durante el secado, las proteínas en distintos estados conformacionales, como nativo, desnaturalizado o parcial-

mente desplegado, exhiben comportamientos únicos en términos de agregación, interacción con el sustrato y distribución espacial dentro del depósito seco [30]. Estos patrones resultan de una compleja interacción entre las propiedades intrínsecas de las proteínas y factores externos, como la concentración de solutos, la fuerza iónica y las condiciones ambientales. Por ejemplo, la BSA desnaturalizada tiende a formar grandes agregados en las regiones centrales de los depósitos debido a la exposición de regiones hidrofóbicas que favorecen la agregación de proteínas [31, 32]. En contraste, la BSA en su estado nativo forma patrones más uniformes, resultado de interacciones específicas y controladas con el sustrato.

La caracterización de patrones en gotas secas puede combinar enfoques cualitativos y semi-cuantitativos, cada uno proporcionando perspectivas complementarias sobre la organización de los depósitos [33, 34]. Desde una perspectiva cualitativa, la evaluación visual permite identificar morfologías distintivas como anillos, dendritas o agregados amorfos. Complementariamente, el análisis del perfil de intensidad radial $I(r)$ sirve como una herramienta semi-cuantitativa clave para estudiar la distribución del material desde el centro hasta los bordes del patrón. Esta técnica permite identificar regiones donde se manifiestan características como el efecto del anillo de café o la deposición uniforme, ofreciendo una representación indirecta de la densidad de material basada en la intensidad de la luz. Sin embargo, el análisis manual de tales características consume mucho tiempo y es susceptible a interpretaciones subjetivas. Para superar estas limitaciones, los avances recientes en el aprendizaje automático, particularmente las redes neuronales convolucionales (CNNs), ofrecen herramientas poderosas para el reconocimiento automatizado de patrones en los depósitos de gotas secas [12, 35, 36]. Las CNNs han demostrado una precisión notable al clasificar patrones complejos de imágenes en diversos campos científicos, incluyendo la imagenología biomédica y la ciencia de materiales [11].

A pesar de los avances significativos en la caracterización de patrones en depósitos secos, la literatura actual carece de estudios que exploren cómo la humedad relativa puede aprovecharse como herramienta para mejorar la diferenciación de los depósitos de proteínas en distintos estados conformacionales. Aunque se reconoce que la humedad relativa influye en la tasa de evaporación y la redistribución de solutos, su impacto en la resolución de patrones específicos, particularmente en sistemas que involucran proteínas nativas y des-

naturalizadas junto con NaCl, aún no ha sido explorado de manera sistemática. Además, la capacidad de controlar la humedad relativa podría no solo facilitar la diferenciación entre depósitos, sino también mejorar la reproducibilidad de los patrones al mitigar las variaciones inherentes en el proceso de evaporación.

En esta investigación, se estudia el papel de la humedad relativa en la formación de los patrones de deposición de gotas secas de proteína que contienen NaCl. Al examinar las transiciones morfológicas a través de diferentes condiciones de humedad, identificamos los mecanismos impulsados por la evaporación que modulan la redistribución de solutos, desde efectos pronunciados de anillo de café a baja humedad hasta la formación de redes cristalinas estructuradas a mayor humedad. El análisis del perfil de intensidad radial confirmó que una humedad más baja mejora la distintividad de los patrones, mientras que una red neuronal convolucional logró más del 99% de precisión en la clasificación de depósitos, demostrando su robustez para distinguir estados proteicos. A pesar de los tiempos de evaporación extendidos a mayor humedad, los depósitos permanecieron altamente reproducibles, lo que resalta la estabilidad del proceso de formación de patrones. Estos hallazgos contribuyen a la optimización de estrategias de recubrimiento de proteínas, estableciendo la baja humedad como una condición clave para lograr patrones de deposición bien definidos y estandarizados.

Planteamiento del Problema

Aunque el estudio estructural y espectroscópico en patrones de gotas secas de biofluidos ha permitido detectar moléculas de relevancia y el diagnóstico de enfermedades, la efectividad de estos estudios se reduce enormemente en depósitos formados con baja concentración de analitos. Por lo tanto, se necesitan estrategias para el secado de gotas con baja concentración que puedan producir depósitos secos capaces de incrementar la efectividad de estos estudios. Además, extraer nuevos patrones en gotas secas de proteína podría incrementar la eficiencia en el análisis de textura de gotas secas para el diagnóstico de patologías.

Hipótesis y Objetivos

Hipótesis

La presión de vapor (humedad relativa) puede servir como una herramienta para aumentar significativamente la efectividad en la detección de proteínas desnaturalizadas en gotas secas.

Objetivos

Objetivo General. Estudiar el efecto de la presión del vapor (Humedad relativa) sobre la formación de patrones en gotas secas de proteínas en estado nativo y desnaturalizado.

Objetivos Específicos.

1. Determinar las condiciones óptimas para desnaturalizar proteínas mediante tratamiento térmico y radiación UV-A.
2. Estudiar el efecto de la presión de vapor sobre la formación de patrones en gotas secas de proteínas en estado nativo y desnaturalizado.
3. Analizar los mecanismos de transporte de masa durante el secado de gotas de proteínas en estado nativo y desnaturalizado.
4. Caracterizar los diferentes patrones de gotas secas de proteínas a través de análisis de textura.

Capítulo 1

Materiales y Métodos

Tratamientos térmicos y de radiación UV-A. Las soluciones serán tratadas térmicamente y con radiación UV-A para generar cambios conformacionales irreversibles en las proteínas. El tratamiento térmico se llevará a cabo introduciendo un vial con la solución a un baño térmico seco a 90°C durante 20 minutos. Ver figura 1.1 a)

Por otra parte, el tratamiento de proteínas a través de radiación UV-A se llevará a cabo utilizando dos lámparas UV-A (365nm), las cuales emitirán luz por 48 h sobre una cubeta de espectrofotometría de poliestireno. Ver figura 1.1 b)

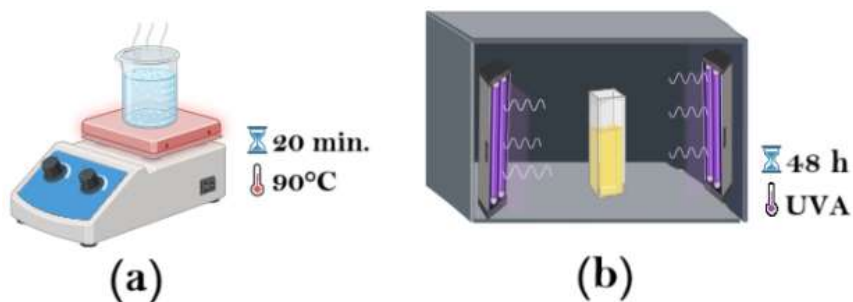


Figura 1.1: Esquema de tratamiento térmico y de radiación UV-A. (a) En el tratamiento térmico, se utilizó un calentador para alcanzar una temperatura de 90 °C, manteniendo las soluciones en un baño de agua durante 20 minutos. (b) En el tratamiento por irradiación, se empleó una caja negra equipada con dos lámparas UV-A, y las muestras se expusieron durante 48 horas.

1.0.1. Irradiación y dosis total de exposición a luz UV-A

Para determinar la irradiación de luz UV-A incidente sobre la solución, se emplearon dos lámparas con una longitud de onda central de 365 nm y una potencia nominal de 3 W cada una. Las lámparas fueron colocadas a una distancia de 5 cm respecto a la superficie de la muestra, contenida en una cubeta desechable de poliestireno, cuya área expuesta fue de aproximadamente 1 cm². La irradiación (E) se calculó considerando la potencia total emitida por ambas lámparas (P = 6 W), la distancia a la muestra (d = 0.05 m) y el área expuesta (A = 0.0001 m²), utilizando la siguiente expresión: $E = \frac{P}{A \cdot d^2}$

Utilizando nuestros datos:

$$E = \frac{6 \text{ W}}{0.0001 \text{ m}^2 \times (0.05 \text{ m})^2} \quad (1.1)$$

$$E = 24,000 \text{ W/m}^2 \quad (1.2)$$

La irradiación de luz UV-A incidente estimada sobre la solución fue de 24,000 W/m². La muestra fue expuesta de manera continua a estas condiciones durante un periodo de 48 horas. A partir de estos valores, se calculó la dosis total de radiación UV-A (D) recibida por la solución, obtenida mediante la relación: $D = E \times t$, donde t corresponde al tiempo total de exposición expresado en segundos (t = 172,800 s). Así, la dosis total fue de aproximadamente:

$$D = 24,000 \text{ W/m}^2 \times 172,800 \text{ s} \quad (1.3)$$

$$D = 4.15 \times 10^9 \text{ J/m}^2 \quad (1.4)$$

Este valor fue considerado como referencia para el análisis de los efectos de la radiación UV-A sobre la muestra.

1.1. Arreglos Experimentales

Se utilizaron tres arreglos experimentales. El arreglo experimental principal consiste en 2 microscopios digitales, una lámpara de led, superficie de acrílico para de deposición de gotas, contenedores de gel de sílice para controlar la actividad del agua, i.e., la presión de vapor, un sensor de temperatura y de humedad relativa y un dispositivo para la captura de datos. Todo el sistema estaba contenido dentro de una bolsa plástica transparente, aislada, que permitía visibilidad del proceso de secado. Un microscopio digital se colocó de forma lateral para estimar el ángulo de contacto, altura, diámetro y perfil temporal de la gota. Otro más se colocó de manera frontal para estudiar el proceso de formación de patrones durante la evaporación de gotas. La información capturada por ambos fue registrada en una computadora. Los microscopios digitales registraron una secuencia de 600 imágenes de 640x 480 píxeles cada 10 segundos

Para observar con mejor detalle el proceso de formación de patrones en gotas se utilizó un segundo arreglo experimental; de igual forma con un sistema aislado conformado por una bolsa de plástico transparente. Este arreglo cuenta con un microscopio metalúrgico para la captura de fotogramas de alta resolución y todos los aditamentos que conforman el arreglo experimental principal, salvo los microscopios digitales.

Un tercer sistema fue diseñado para la creación de un catálogo de imágenes y la evaluación de su reproducibilidad. Este sistema aislado está compuesto por una caja transparente, equipada con una superficie de papel aluminio para minimizar la acumulación de estática, botes de sílice para controlar la humedad relativa, un sensor que monitorea tanto la humedad relativa como la temperatura, y dos portaobjetos de acrílico destinados al depósito de las gotas.

1.2. Preparación de soluciones

Preparación de soluciones: Se emplearon polvos de albúmina de suero bovino (BSA) provenientes de Sigma-Aldrich, en combinación con cloruro de sodio (NaCl), para la creación de soluciones altamente concentradas de BSA y NaCl. Estos polvos se disolvieron, sin

requerir tratamientos adicionales, en agua desionizada (Mili-Q, 18.2 MΩ, a una temperatura de 25°C). Esto resultó en la obtención de una concentración de 2.0 g / 100 ml. No fue necesario realizar pasos adicionales de purificación o tratamiento de las soluciones. A partir de estas soluciones concentradas al 2.00 wt%, se efectuaron diluciones en agua DI utilizando varias proporciones. Estas diluciones se llevaron a cabo con el fin de obtener las siguientes concentraciones para las soluciones nativas y desnaturalizadas: BSA (1 wt%) y NaCl ($\Phi = 0.1$ wt% y 1 wt%). Las soluciones de BSA desnaturalizadas se derivaron de las soluciones nativas de stock con las mismas concentraciones. Estas últimas fueron sometidas a un baño de agua a 90° C durante 20 minutos.

1.3. Evaporación de gotas

Para la deposición de gotas, se utilizaron sustratos de polimetilmetacrilato (PMMA) en su estado original. Todos los sustratos de PMMA estaban inicialmente recubiertos con una película protectora. Esta película se retira cuidadosamente antes de la deposición, después de que los sustratos se limpiaron a fondo para garantizar la ausencia de contaminantes. Posteriormente, se colocaron en contacto con papel de aluminio para disipar efectivamente las cargas estáticas. Para evitar la contaminación, cada sustrato se utilizó una sola vez.

En cada portaobjetos, se depositaron 15 gotas, con un volumen de 3μl respectivamente. Este proceso se repitió 3 veces. Además, mediante el uso de microscopios ópticos y digitales, se registrará en vídeo el proceso de formación de patrones durante el secado. Ambos procedimientos se repetirán para 4 diferentes humedades relativas: 20 %, 40 %, 60 % y 90 % RH. Los niveles de temperatura y humedad se monitorearon continuamente usando un sensor Xiaomi NUN4126GL. Para controlar los niveles de humedad relativa, se utilizó gel de sílice, una forma porosa y amorfa de dióxido de silicio, debido a su capacidad para actuar como desecante. Este material absorbe y retiene el vapor de agua del entorno circundante, reduciendo así tanto los niveles de humedad como la actividad del agua. La actividad del agua se calcula como $a_w = \frac{p}{p_0}$, donde p representa la presión de vapor de agua dentro de una sustancia y p_0 es la presión de vapor de agua pura a la misma temperatura. La humedad relativa, expresada como un porcentaje, indica la cantidad de

humedad presente en el aire en comparación con la capacidad máxima de humedad a una temperatura dada.

1.4. Adquisición y análisis de imágenes

Adquisición de Imágenes de alta resolución. La adquisición de imágenes de los depósitos se llevó a cabo mediante una cámara Nikon (modelo D3500) conectada al microscopio óptico. Las imágenes capturadas tuvieron una resolución de 300 dpi y dimensiones de 6,016x4,000 píxeles. Se tomaron 4 fotografías desde distintos cuadrantes de cada depósito. Posteriormente, estas imágenes se combinaron para generar una imagen digital del depósito completo, con dimensiones de 4,328x4,000 píxeles. Para llevar a cabo esta unión, se empleó el software Autostitch. La resolución escogida para las imágenes destinadas al análisis fue de 300 dpi, resultando en imágenes con dimensiones aproximadas de 4,328x4,000 píxeles. En el procesamiento de imágenes, se exploraron cualitativamente los aspectos estructurales más relevantes de los depósitos y se realizó alguno de los siguientes análisis de textura: la matriz de concurrencia de niveles de grises, los parámetros estadísticos de primer orden o el análisis fractal.

1.5. Análisis de perfil de intensidad radial

Para determinar la humedad relativa (RH) que discrimina más eficientemente entre depósitos de proteína nativa y desnaturalizada, realizamos una comparación cuantitativa de los perfiles de intensidad radial de gotas de proteína secas bajo diferentes condiciones de RH. Los perfiles de intensidad radial se extrajeron de imágenes de las gotitas secas utilizando un script MATLAB personalizado que calcula la intensidad media en función de la distancia radial desde el centro de cada depósito.

1.5.1. Análisis estadístico

Como los $I(r)$ tenían un número diferente de registros, se realizó un proceso de interpolación para garantizar que todos los $I(r)$ tuvieran el mismo número de datos (500). Este

proceso consistió en crear un rango común de valores de distancia utilizando la función `linspace` de la biblioteca `numpy` de Python, que abarcaba desde el valor de distancia mínimo hasta el máximo presente en los datos. Posteriormente, se aplicó una interpolación lineal a los valores de las variables medidas utilizando la función `interp` de `numpy`, de forma que los datos interpolados coincidieran en los mismos puntos de distancia. Esto permitió la comparación directa de métricas entre diferentes pares de columnas.

1.6. Métricas cuantitativas

1.6.1. Comparación estadística de los perfiles de intensidad radial

Para comparar la similitud entre los perfiles de intensidad radial, empleamos cinco métricas cuantitativas: Error Medio Absoluto (MAE), Error Medio Cuadrático (MSE), Error de raíz cuadrada medio (RMSE), Coeficiente de Correlación de Pearson (PCC) y el Coeficiente de Determinación (R^2). Estas métricas se calcularon del siguiente modo:

1. Error absoluto medio (MAE):

$$\text{MAE} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n |y_i - \hat{y}_i| \quad (1.5)$$

donde y_i y \hat{y}_i son los valores de intensidad observados y previstos, respectivamente, y n es el número de puntos.

2. Error cuadrático medio (MSE):

$$\text{MSE} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2 \quad (1.6)$$

3. Error de raíz cuadrada medio (RMSE):

$$\text{RMSE} = \sqrt{\text{MSE}} \quad (1.7)$$

4. Coeficiente de correlación de Pearson (PCC):

$$PCC = \frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})(\hat{y}_i - \bar{\hat{y}})}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2 \sum_{i=1}^n (\hat{y}_i - \bar{\hat{y}})^2}} \quad (1.8)$$

donde \bar{y} y $\bar{\hat{y}}$ son las medias de los valores observados y predichos, respectivamente.

5. Coeficiente de determinación (R^2):

$$R^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2}{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2} \quad (1.9)$$

Un valor más bajo de MAE, MSE y RMSE, junto con valores más altos de PCC y R^2 , indicaban un mayor grado de similitud entre los perfiles. Estas métricas se calcularon para cada par l (r) de depósitos de proteínas en estado nativo y desnaturalizado. El rendimiento de cada humedad relativa se evaluó calculando la media de las métricas de alta y baja concentración de NaCl. Estos resultados se agruparon en cuatro grupos: Grupo 1 (RH= 20 %), Grupo 2 (RH= 40 %), Grupo 3 (RH= 60 %), y Grupo 4 (RH= 90 %). Mediante el uso de estos métodos exhaustivos y rigurosos, pretendíamos lograr una comparación robusta que resaltara las sutiles diferencias en los perfiles de intensidad radial, proporcionando así una medida sensible de los cambios estructurales de las proteínas inducidos por diferentes niveles de RH.

La metodología utilizada para comparar los pares de datos del perfil de intensidad radial en los distintos depósitos se llevó a cabo siguiendo los pasos que se describen a continuación: Los datos disponibles consisten en columnas de pares ordenados agrupados en cuatro conjuntos, cada uno de los cuales corresponde a un nivel específico de humedad relativa. Para obtener un valor representativo de cada nivel de humedad, se promediaron las métricas calculadas a partir de la comparación entre depósitos formados con proteínas en estado nativo y desnaturalizado, así como con concentraciones altas y bajas de NaCl. Esta comparación se realizó utilizando cinco métricas estadísticas. A continuación se detalla la composición de cada grupo:

- Grupo 1: Los pares se compararon a_1 con a_2 , y e_1 con e_2 .

- Grupo 2: Los pares se compararon b_1 con b_2 , y f_1 con f_2 .
- Grupo 3: Los pares se compararon c_1 con c_2 , y g_1 con g_2 .
- Grupo 4: Los pares se compararon d_1 con d_2 , y h_1 con h_2 .

donde los subíndices 1 y 2 se refieren a los estados nativo y desnaturalizado, respectivamente. Los símbolos a_i y e_i representan depósitos formados a $RH = 20\%$, b_i y f_i corresponden a $RH = 40\%$, c_i y g_i denotan $RH = 60\%$, y d_i y h_i indican $RH = 90\%$.

Para determinar si las diferencias entre los conjuntos de datos eran significativas o si las muestras podían considerarse similares, se aplicaron valores umbral de referencia. Se definieron los siguientes criterios:

- Un MAE superior a 0,1 indica diferencias significativas entre los conjuntos de datos.
- Un MSE superior a 0,05 refleja grandes errores acumulados.
- Un RMSE superior a 0,2 sugiere una gran variabilidad en los datos.
- Para el coeficiente de Pearson, los valores absolutos inferiores a 0,3 se consideraron correlaciones débiles, lo que indica una falta de relación significativa entre los conjuntos de datos.
- Un valor negativo o cercano a cero R^2 se interpretó como una baja capacidad explicativa del modelo lineal entre los dos conjuntos de datos.

1.6.2. Clasificación de análisis basado en imágenes de depósitos de gotas secas

Para distinguir los patrones de depósito correspondientes a proteínas en estado nativo y desnaturalizado, se aplicó un enfoque basado en el análisis de entropía de imágenes obtenidas a partir de depósitos secos. Las imágenes fueron procesadas mediante un algoritmo que segmenta cada muestra en regiones de interés (*regions of interest*, ROI) de tamaño uniforme (128×128 px). Se utilizó la entropía de Shannon como métrica para evaluar la complejidad estructural de cada ROI, estableciendo un umbral de entropía de 2. Las

regiones que superaban este umbral se consideraron relevantes para análisis posteriores, optimizando la detección de patrones asociados a la morfología del depósito.

Las ROI seleccionadas se etiquetaron como correspondientes a proteínas nativas (clase 1) o desnaturalizadas (clase 2), dependiendo de las condiciones experimentales. Para diferenciar entre estas clases, se empleó un modelo de red neuronal convolucional basado en DenseNet121, preentrenado en el conjunto de datos ImageNet y ajustado mediante aprendizaje por transferencia. Se congelaron las capas base del modelo y se añadieron capas densas específicas para la tarea, con una capa de salida que utiliza la función de activación softmax para la clasificación binaria. El modelo se entrenó con un conjunto de datos equilibrado, normalizando las imágenes en la escala $[0, 1]$ y minimizando la pérdida de entropía cruzada categórica (categorical crossentropy) con el optimizador Adam (learning rate: 1×10^{-4}).

La evaluación del modelo se realizó utilizando métricas estandarizadas, incluyendo precisión, sensibilidad, especificidad y exactitud global** para cada clase. Adicionalmente, se ejecutó la prueba estadística de Kolmogorov-Smirnov (K-S) para comparar las distribuciones de entropía entre proteínas nativas y desnaturalizadas. Este análisis identificó diferencias significativas en la complejidad de los patrones formados en las condiciones experimentales, validando la capacidad del modelo para diferenciar los depósitos de proteínas nativas y desnaturalizadas en función de su morfología.

Capítulo 2

Resultados

2.1. El efecto de la humedad relativa en procesos de recubrimiento de proteínas

La Fig. 2.1 muestra una serie de patrones formados en gotas secas de una solución de proteína nativa ($\Phi=1$ wt %) bajo diferentes humedades relativas (RH: 20 %, 40 %, 60 % y 90 %). Cada fila en la imagen corresponde a un nivel de RH diferente, y cada columna ofrece una vista ampliada de secciones específicas dentro de la gota seca, destacadas en recuadros rojos y azules. A medida que aumenta la RH, la morfología de los depósitos cambia significativamente.

A 20 % de RH, se observa un patrón caracterizado por una estructura de “coffee ring” bien definida, rodeada de grandes cristales en forma de aguja. En la ampliación del cuadro rojo, se pueden apreciar cristales en forma de aguja y estructuras festoneadas entrelazadas (scalloped), indicando una alta concentración de cristales. El cuadro azul resalta la periferia del depósito, donde las estructuras cristalinas parecen más dispersas y menos organizadas, reflejando posiblemente una rápida evaporación que no permite la formación de estructuras ordenadas. A 40 % de RH, el patrón general muestra una disminución en la definición de las estructuras internas en comparación con la RH más baja. En la ampliación del cuadro rojo, se observan cristales en forma de aguja y agregados amorfos dispersos, indicando un balance entre la evaporación y la cristalización que permite la formación de estas estructu-

ras mixtas. La ampliación del cuadro azul revela cristales más densamente empaquetados en la periferia del depósito, sugiriendo una evaporación más controlada que permite una mejor organización de los cristales.

A 60% de RH, el patrón cambia notablemente, mostrando una gran cantidad de cristales en forma de helecho y formas dendríticas. En la ampliación del cuadro rojo, se destaca la presencia de un gran agregado central rodeado de estructuras dendríticas. Esto indica una mayor concentración de NaCl y proteínas en el centro del depósito. En la ampliación del cuadro azul, las pequeñas estructuras dendríticas están mejor definidas, reflejando una tasa de evaporación más lenta que permite la formación de estos patrones cristalinos complejos. A 90% de RH, los helechos y dendritas cubren completamente del depósito. La ampliación del cuadro rojo muestra un denso arreglo de cristales dendríticos, indicando una alta organización y posiblemente una mayor concentración de sal que facilita esta estructura. El cuadro azul destaca la periferia del depósito, donde los cristales dendríticos muestran un menor grosor, sugiriendo una evaporación muy lenta que permite la máxima organización de los cristales.

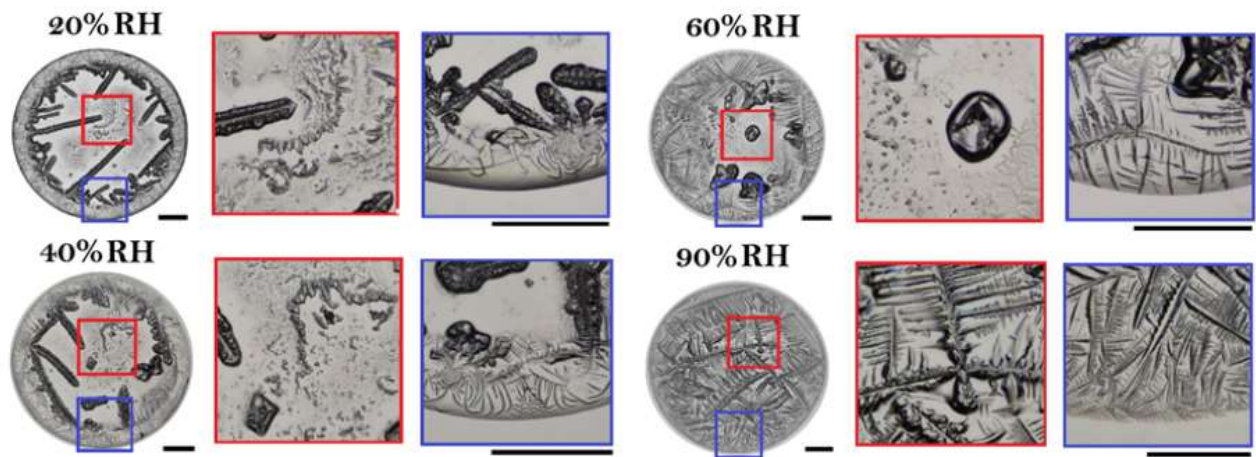


Figura 2.1: Depósitos de proteína nativa a diferentes condiciones de R H con alta concentración de NaCl. Depósitos compuestos por 1 wt% de BSA y 1 wt% de NaCl. Los recuadros rojos destacan la región central y los recuadros azules muestran la región periférica. Las barras negras representan 0.5 mm en las vistas generales y 1.0 mm en las ampliaciones.

La Fig. 2.2 muestra los patrones formados en gotas secas de proteína desnaturalizada ($\Phi = 1\%$). A una RH del 20%, los depósitos muestran una superficie rugosa y heterogénea con un conjunto de agregados entrelazados en la región central. La ampliación de esta área (recuadro rojo) revela la presencia de algunas estructuras cristalinas en forma de crucetas con helecchos. Interessantemente, la periferia (recuadro azul) presenta una delgada región de deposición uniforme (ver líneas amarillas). Los depósitos generados a RH=40, 60 y 90%, comparten aspectos morfológicos que difieren sustancialmente en comparación con los generados a RH= 20%. En ellos, los cristales en forma de crucetas con helecchos están dispersos por todo el depósito. La ampliación del área central (recuadro rojo) indica un depósito altamente desorganizado, donde coexisten grandes áreas de textura rugosa, pequeños agregados y los cristales. La periferia (recuadro azul) también presenta una estructura muy desorganizada, con grandes áreas de textura rugosa y una notable heterogeneidad en la distribución de agregados cerca de la línea de contacto, lo que genera una delgada región periférica de aspecto fibroso (líneas amarillas).

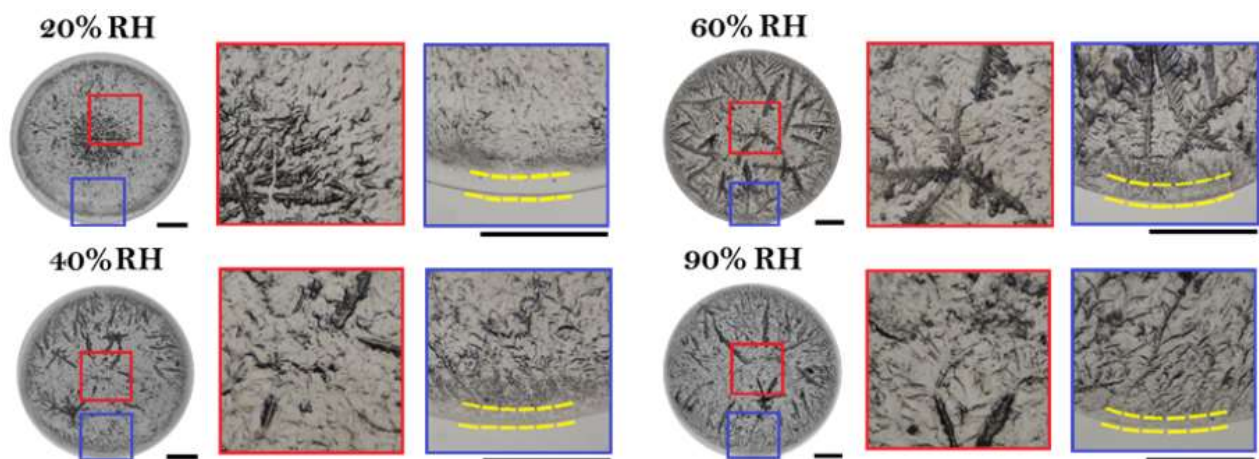


Figura 2.2: Depósitos de proteína desnaturalizada con alta concentración de NaCl a diferentes condiciones de RH. Depósitos compuestos por 1 wt% de BSA y 1 wt% de NaCl. Los recuadros rojos destacan la región central y los recuadros azules muestran la región periférica y la línea punteada amarilla representa la distribución de los agregados. Las barras negras representan 0.5 mm en las vistas generales y 1.0 mm en las ampliaciones.

La Fig. 2.3 muestra patrones formados por gotas secas de solución de proteína nativa ($\Phi = 0.1\%$) a para los diferentes niveles de humedad relativa. A $RH=20\%$, la gota seca muestra una estructura bien definida de “coffee ring”. En el centro de la gota (recuadro rojo), se observan paneles de estructuras dendríticas, con pequeños agregados oscuros dispersos que indican una mayor concentración de material. La periferia de la gota (recuadro azul) presentan los cristales formando una red densa, característica de patrones de cristalización controlada, con un “coffee ring” prominente que resalta la acumulación de material en los bordes. Al 40% de humedad relativa, la estructura de “coffee ring” sigue siendo visible, aunque menos definida que a 20% RH. El centro de la gota (recuadro rojo) muestra un patrón más homogéneo, con estructuras dendríticas sin que estén agrupadas por paneles, generando una apariencia más suave y menos fragmentada. Los agregados oscuros son menos frecuentes. En la periferia (recuadro azul), cerca del anillo de café, se observa una región de pequeños filamentos densamente empaquetados.

A una humedad relativa del 60% , los patrones de las gotas secas cambian considerablemente. El “coffee ring” no es visible. En el centro de la gota (recuadro rojo) se revelan una alta densidad de cristales dendríticos, con agregados oscuros de mayor tamaño comparado con otras humedades relativas. A simple vista, la textura es más rugosa y menos homogénea debido a la alta concentración de cristales dendríticos entrelazados. En la periferia (recuadro azul), emergen cristales ondulados sobre una superficie uniforme de proteína. A una humedad relativa del 90% , la estructura de las gotas secas se transforma drásticamente. La superficie de la gota se cubre con agregados amorfos. El centro de la gota (recuadro rojo) muestra una textura homogénea, donde los agregados están distribuidos uniformemente. En la periferia (recuadro azul), los cristales están casi ausentes y la estructura general es amorfa y homogénea.

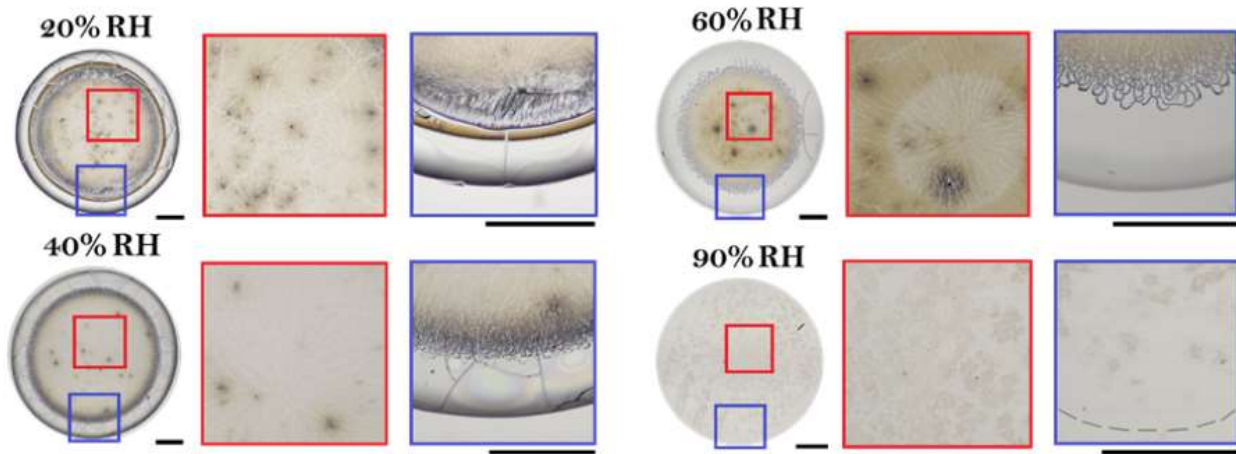


Figura 2.3: Depósitos de proteína nativa con baja concentración de NaCl a diferentes condiciones de RH. Depósitos compuestos por 1 wt% de BSA y 0.1 wt% de NaCl. Los recuadros rojos destacan la región central y los recuadros azules muestran la región periférica. Las barras negras representan 0.5 mm en las vistas generales y 1.0 mm en las ampliaciones

La Fig. 2.4 muestra patrones formados por gotas secas de solución de proteína desnaturalizada ($\Phi = 0.1\%$) para los diferentes niveles de humedad relativa. Con excepción de los depósitos formados a RH=90%, todos ellos muestran un “eye-like pattern” y un anillo de café bien definido. A una humedad relativa de 20%, los depósitos muestran que el agregado central está formado por cristales que se asemejan a una hoja de palma. Estos están rodeados de pequeñas estructuras dendríticas que generan una región en forma de anillo (Ver líneas amarillas en el recuadro rojo). En la región periférica emergen fisuras y estructuras onduladas en el borde del depósito (recuadro azul). A RH= 40% y 60%, los patrones son muy similares a los que emergen a RH=20% con una ligera diferencia: la región periférica de dendritas es más difusa. En contraste a RH=90%, la gota seca presenta un patrón completamente diferente. La estructura de anillo de café es inexistente y los depósitos están completamente cubiertos por cristales muy delgados que pueden estar en forma de dendrita o de filamentos ondulados (Ver recuadros azul y rojo).

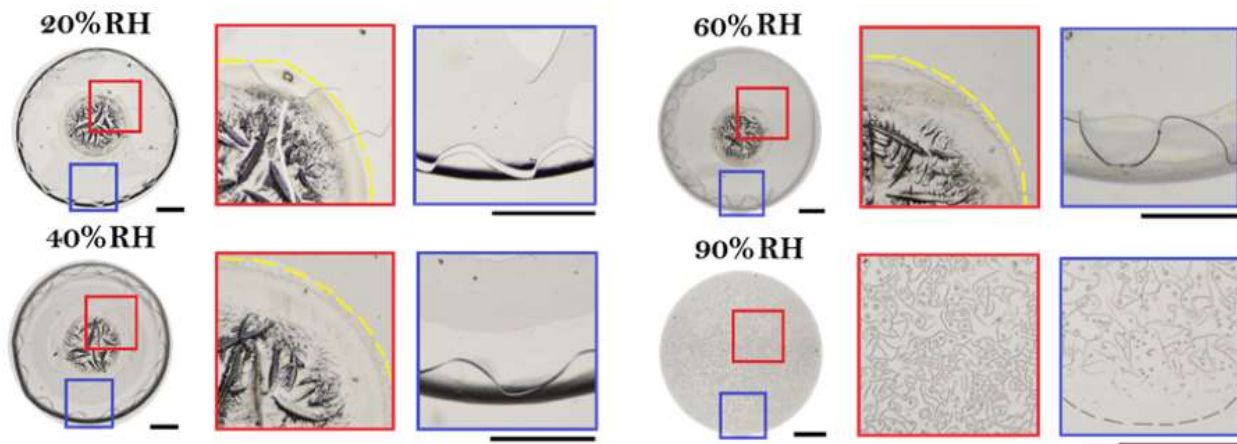


Figura 2.4: Depósitos de proteína desnaturalizada con baja concentración de NaCl a diferentes condiciones de RH. Depósitos compuestos por 1 wt% de BSA y 0.1 wt% de NaCl. Los recuadros rojos destacan la región central y las líneas punteadas amarillas señalan la región en forma de anillo. Los recuadros azules muestran la región periférica. Las barras negras representan 0.5 mm en las vistas generales y 1.0 mm en las ampliaciones

2.2. Perfiles de intensidad radial

Los perfiles de intensidad radial ($I(r)$) proporcionan una representación cuantitativa de la distribución de la intensidad en los depósitos, permitiendo comparar directamente las diferencias entre depósitos.

La Fig. 2.5 muestra que las soluciones al $\Phi = 1$ wt%, los perfiles de intensidad de proteínas nativas y desnaturalizadas muestran comportamientos distintos. La curva azul (N) exhibe una intensidad que disminuye progresivamente desde el centro hacia los bordes, con un incremento notable hacia r/r_0 cercano a 1.0, indicando una acumulación en la periferia del depósito. Por otro lado, la curva verde (D) presenta una disminución más gradual y menos acentuada hacia los bordes, lo que sugiere una distribución de masa mayor en el centro y menor en la periferia. Para las soluciones al $\Phi = 0.1$ wt%, los perfiles de intensidad también revelan diferencias significativas entre los tratamientos N y D. La curva naranja (N) muestra una intensidad relativamente constante hasta aproximadamente $r/r_0 = 0.5$, seguida de un aumento gradual hacia el borde, reflejando la estructura de anillo de café observada en las imágenes. En cambio, la curva magenta (D) presenta un descenso

abrupto desde el centro hacia $r/r_0 = 0.5$, seguido de un incremento más pronunciado hacia el borde, lo que correlaciona con la formación densa de agregados en la región central y la estructura radial de anillo de café.

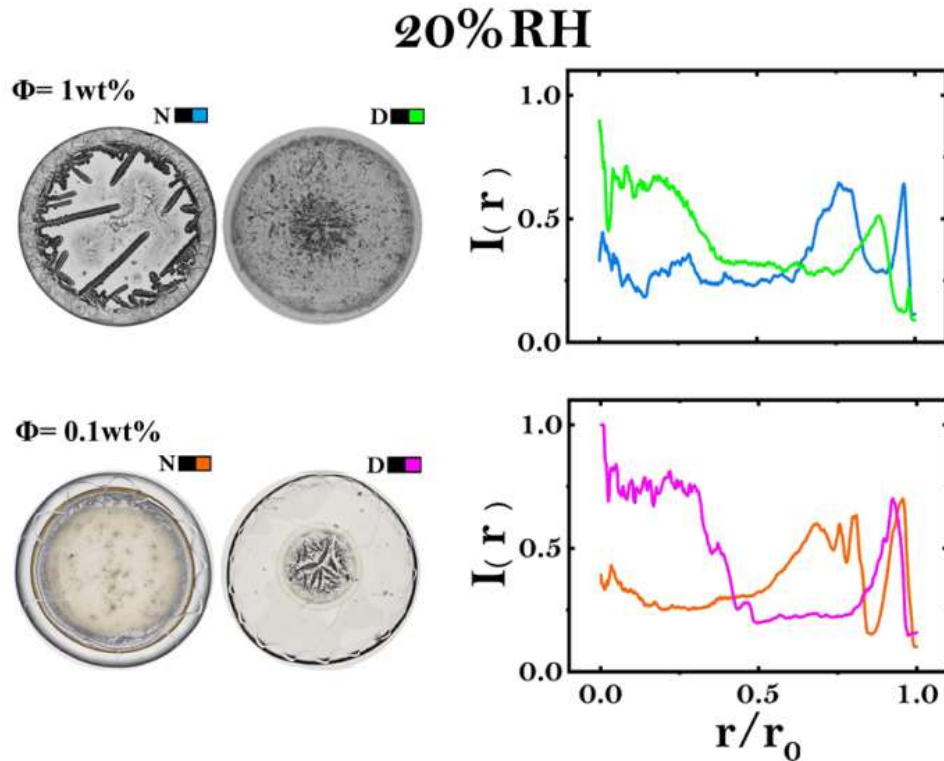


Figura 2.5: Perfiles de intensidad radial a 20 % RH de Nativa y Desnaturalizada para alta y baja concentración de NaCl. Las imágenes muestran depósitos de proteínas en su estado nativo (N) y desnaturalizado (D), con alta concentración $\Phi = 1 \text{ wt}\%$ (arriba) y baja concentración $\Phi = 0.1 \text{ wt}\%$ (abajo). Los gráficos laterales representan los perfiles de intensidad radial normalizada $I(r)$ en función de la posición radial relativa r/r_0 . La curva azul y verde corresponden a los perfiles de alta concentración de sal, mientras que las curvas naranja y magenta representan los perfiles de baja concentración de sal. Las barras negras representan 0.5 mm.

La Fig. 2.6 muestra que los perfiles de intensidad radial para las soluciones al $\Phi = 1 \text{ wt}\%$ bajo 40% RH presentan diferencias significativas entre la distribución de masa de depósitos de proteínas en estado nativo y desnaturalizado. La curva azul (N) exhibe una intensidad que varía radialmente, mostrando fluctuaciones significativas debidas a la distribución heterogénea de cristales en el depósito. La curva verde (D) presenta una disminución más gradual hacia los bordes, indicando una distribución más uniforme de partículas. Para las soluciones al $\Phi = 0.1 \text{ wt}\%$, los perfiles de intensidad radial también revelan diferencias

importantes entre los depósitos. La curva naranja (N) muestra una intensidad relativamente constante hasta aproximadamente $r/r_0 = 0.5$, seguida de un aumento gradual hacia el borde, reflejando la estructura de anillo de café. La curva magenta (D) presenta un descenso abrupto desde el centro hacia $r/r_0 = 0.5$, seguido de un incremento más pronunciado hacia el borde, lo cual correlaciona con la formación densa central y las estructuras radiales observadas.

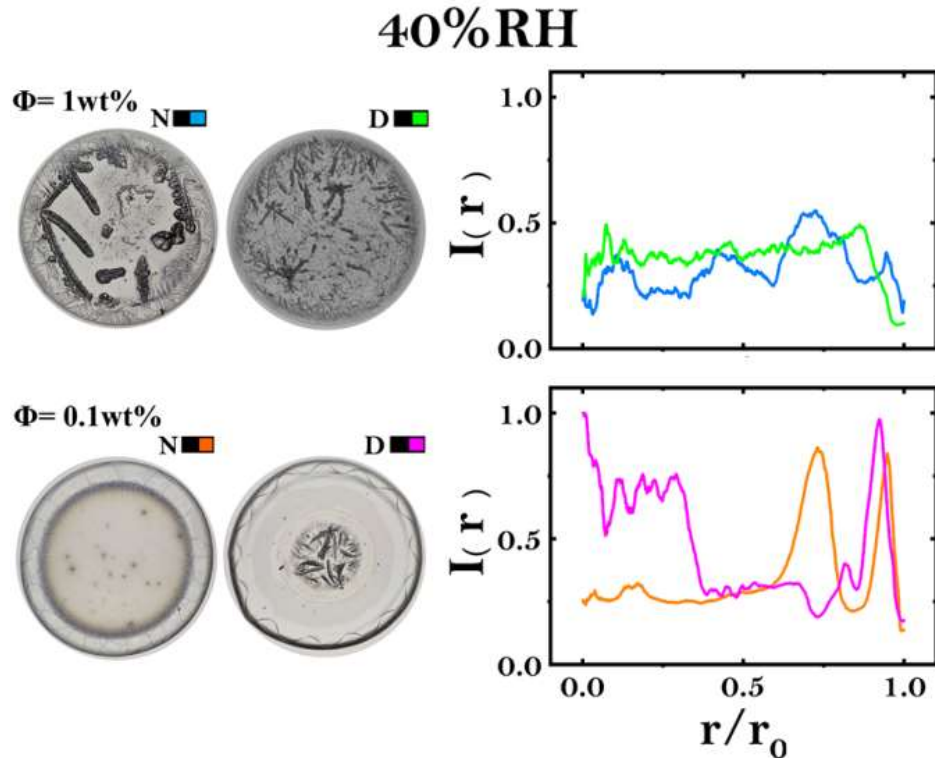


Figura 2.6: Perfiles de intensidad radial a 40 % RH de Nativa y Desnaturalizada para alta y baja concentración de NaCl. Las imágenes muestran depósitos de proteínas en su estado nativo (N) y desnaturalizado (D), con alta concentración $\Phi = 1 \text{ wt}\%$ (arriba) y baja concentración $\Phi = 0.1 \text{ wt}\%$, (abajo). Los gráficos laterales representan los perfiles de intensidad radial normalizada $I(r)$ en función de la posición radial relativa r/r_0 . La curva azul y verde corresponden a los perfiles de alta concentración de sal, mientras que las curvas naranja y magenta representan los perfiles de baja concentración de sal. Las barras negras representan 0.5 mm.

La Fig. 2.7 muestra los perfiles de intensidad radial para las soluciones al $\Phi = 1 \text{ wt}\%$ bajo 60 % RH. La curva azul (N) exhibe una intensidad que varía a lo largo del radio, con fluctuaciones importantes debidas a la distribución heterogénea de agregados. La curva verde (D) presenta una intensidad más uniforme a lo largo del radio, con una disminución

gradual hacia los bordes, lo que está en concordancia con una distribución de masa más homogénea. Para las soluciones al $\Phi = 0.1 \text{ wt } \%$, la curva naranja (N) muestra una intensidad relativamente constante hasta aproximadamente $r/r_0 = 0.5$, seguida de un aumento gradual hacia el borde. La curva magenta (D) presenta un descenso abrupto desde el centro hacia $r/r_0 = 0.5$, seguido de un incremento más pronunciado hacia el borde, derivado del patrón de ojo.

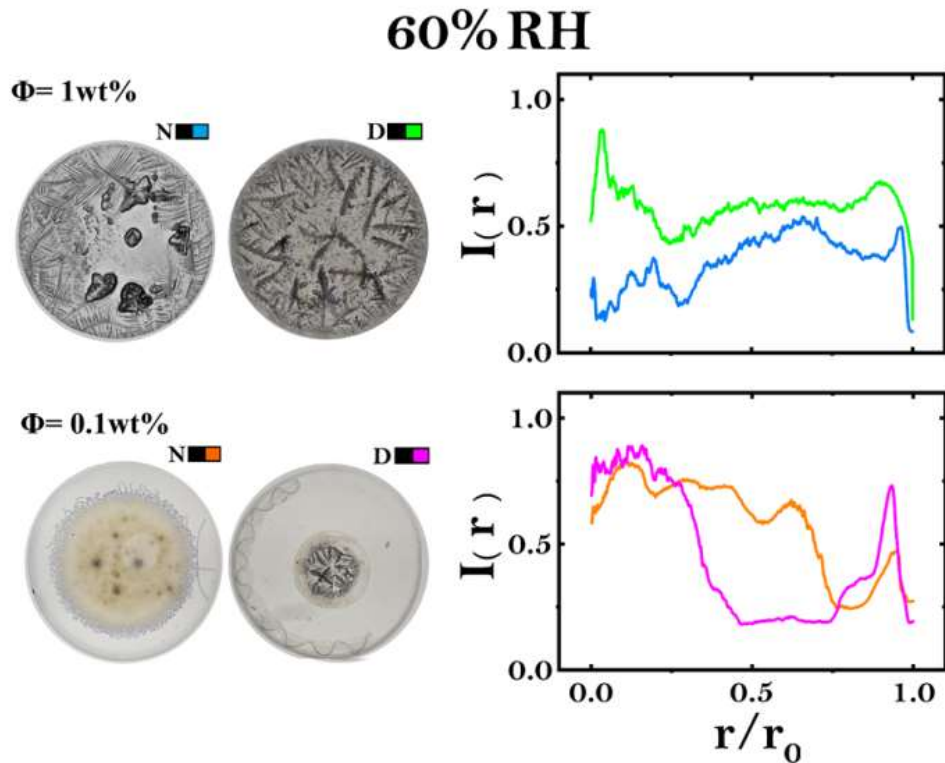


Figura 2.7: Perfiles de intensidad radial a 60 % RH de Nativa y Desnaturalizada para alta y baja concentración de NaCl. Las imágenes muestran depósitos de proteínas en su estado nativo (N) y desnaturalizado (D), con alta concentración $\Phi = 1 \text{ wt } \%$ (arriba) y baja concentración $\Phi = 0.1 \text{ wt } \%$, (abajo). Los gráficos laterales representan los perfiles de intensidad radial normalizada $I(r)$ en función de la posición radial relativa r/r_0 . La curva azul y verde corresponden a los perfiles de alta concentración de sal, mientras que las curvas naranja y magenta representan los perfiles de baja concentración de sal. Las barras negras representan 0.5 mm.

La Fig. 2.8 muestra que los perfiles de intensidad radial para las soluciones al $\Phi = 1 \text{ wt } \%$ bajo 90 % RH revelan semejanzas en la distribución de masa. La curva azul (N) exhibe una intensidad que varía suavemente a lo largo del radio, lo que es consistente con las

formaciones cristalinas que están distribuidas de manera heterogénea. La curva verde (D) también muestra una intensidad uniforme a lo largo del radio, con una disminución gradual hacia los bordes, lo que coincide con la distribución de cristales en todo el depósito. Para las soluciones al $\Phi = 0.1$ wt %, los perfiles de intensidad radial también revelan similitudes importantes entre los depósitos. Ambas curvas, naranja (N) y magenta (D), muestran una intensidad decreciente hacia le borde, con pequeñas fluctuaciones derivadas de la formación de los pequeños cristales.

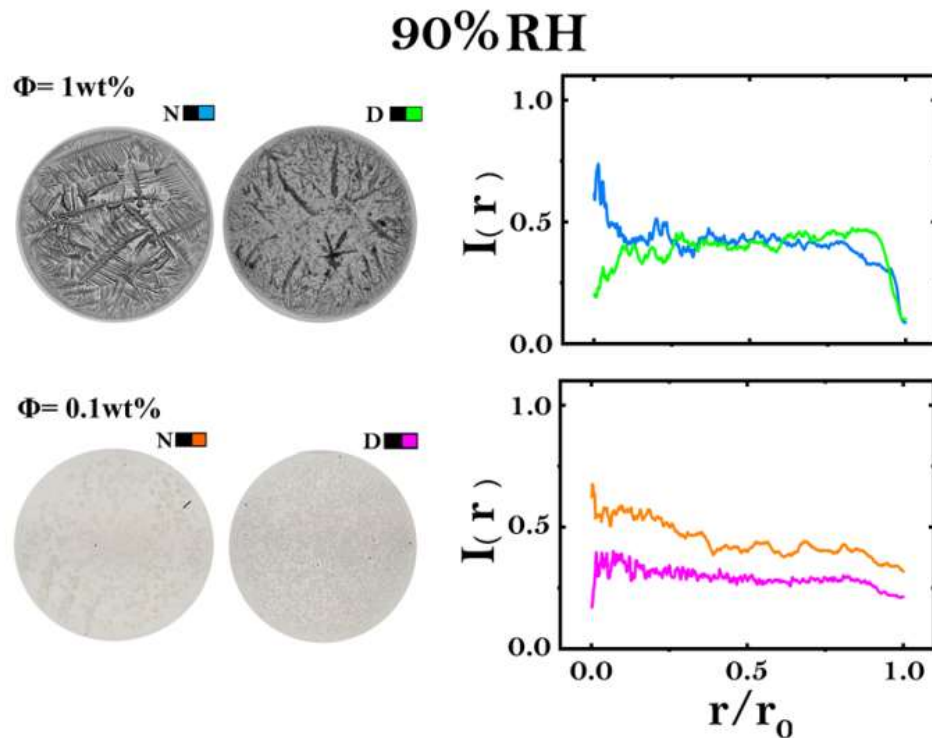


Figura 2.8: Perfiles de intensidad radial a 90 % RH de Nativa y Desnaturalizada para alta y baja concentración de NaCl. Las imágenes muestran depósitos de proteínas en su estado nativo (N) y desnaturalizado (D), con alta concentración $\Phi = 1$ wt % (arriba) y baja concentración $\Phi = 0.1$ wt %, (abajo). Los gráficos laterales representan los perfiles de intensidad radial normalizada $I(r)$ en función de la posición radial relativa r/r_0 . La curva azul y verde corresponden a los perfiles de alta concentración de sal, mientras que las curvas naranja y magenta representan los perfiles de baja concentración de sal. Las barras negras representan 0.5 mm.

2.2.1. Comparación estadística de los perfiles de intensidad radial

Para determinar la humedad relativa que distingue con mayor eficacia entre depósitos de proteínas nativas y desnaturalizadas, comparamos cuantitativamente los perfiles de intensidad radial utilizando cinco métricas: MAE, MSE, RMSE, correlación de Pearson y R^2 . La Tabla 2.1 muestra que la diferencia entre depósitos disminuye con el aumento de la humedad relativa. A 20 % RH, se observaron las mayores diferencias entre pares, con los valores medios más altos de MAE, MSE y RMSE, junto con una correlación negativa moderada. Por el contrario, a 90 % RH, se observaron las menores diferencias entre pares, con los valores más bajos de MAE, MSE y RMSE, y la mejor correlación positiva.

Los grupos, ordenados por similitud de mayor a menor, son los siguientes: Grupo 4 (RH= 90 %), que muestra la mayor similitud con errores mínimos y una fuerte correlación positiva; Grupo 3 (RH= 60 %), con una similitud moderada y una correlación positiva débil; Grupo 2 (RH= 40 %), que muestra una similitud baja y una correlación cercana a cero; y Grupo 1 (RH= 20 %), que es el menos similar, caracterizado por errores significativos, una correlación inversa débil y una escasa capacidad explicativa del modelo lineal. El análisis estadístico revela que el Grupo 1 presenta las mayores diferencias entre las muestras evaluadas. Prueba de ello es el mayor valor MAE (0,291864), que indica discrepancias significativas en los valores medios entre las distribuciones, así como el mayor MSE (0,118803) y RMSE (0,338274), que reflejan un alto grado de errores acumulados y variabilidad en los datos. Además, el coeficiente de correlación de Pearson negativo (-0,193586) sugiere una débil correlación inversa entre las muestras, mientras que el valor R^2 extremadamente negativo (-2,101776) indica una escasa capacidad explicativa del modelo lineal para describir la relación entre las distribuciones.

En cambio, el Grupo 4 muestra las diferencias más pequeñas, con un MAE de 0,090761, un MSE de 0,013973 y un RMSE de 0,109511, lo que refleja errores significativamente menores y una variabilidad reducida de los datos. Este grupo también presenta un coeficiente de correlación de Pearson de 0,872446, que indica una fuerte correlación positiva entre las muestras, y un valor R^2 de 0,695914, que sugiere una alta capacidad explicativa del modelo lineal para describir la relación entre las distribuciones. Estos resultados posicionan

al Grupo 4 como el conjunto con mayor similitud entre las muestras analizadas.

Grupo	MAE	MSE	RMSE	Correlación de Pearson	R-cuadrado
Grupo 1	0.291864*	0.118803*	0.338274*	-0.193586*	-2.101776*
Grupo 2	0.289645*	0.119196*	0.340752*	0.028270*	-1.616554*
Grupo 3	0.246368*	0.116194*	0.326364*	0.243896*	-1.254342*
Grupo 4	0.090761	0.013973	0.109511	0.872446	0.695914

Tabla 2.1: Diferencia de depósitos entre métricas. En la tabla, los valores marcados con (*) indican diferencias significativas que impiden determinar la similitud entre las dos muestras comparadas.

2.2.2. Clasificación de análisis basado en imágenes de depósitos de gotas secas

El desempeño del modelo de clasificación para distinguir entre depósitos de proteínas nativas y desnaturalizadas se evaluó utilizando métricas estándar de clasificación, que incluyen precisión, sensibilidad, especificidad y precisión general. Los resultados demuestran que el modelo mantiene una alta eficiencia en la discriminación entre ambas clases de depósitos en todas las condiciones de humedad relativa (HR), sin que la HR tenga un impacto significativo en su desempeño.[2.2](#)

A baja humedad relativa (20 % HR), el modelo mostró alta precisión y una precisión general del 99 %, lo que sugiere una morfología bien definida en los depósitos de proteínas bajo estas condiciones. La matriz de confusión indica que la clasificación de proteínas nativas y desnaturalizadas fue altamente efectiva, con valores de sensibilidad y especificidad cercanos al 99 %. A 40 % HR, el modelo mantuvo un desempeño robusto, logrando una precisión promedio del 98 % y una precisión general comparable. Sin embargo, se observó una ligera disminución en la especificidad de la clasificación, lo que indica un mayor solapamiento en las características estructurales de los depósitos formados bajo esta condición de humedad.

A medida que la HR aumentó al 60 %, se registró una leve disminución en la precisión general del modelo, alcanzando el 95 %. Bajo estas condiciones, la precisión de la clasificación disminuyó al 92 % para los depósitos de proteínas nativas, mientras que la sensibilidad para los depósitos de proteínas desnaturalizadas cayó al 92 %. Estos resultados sugieren

que la mayor disponibilidad de agua durante la evaporación promueve la formación de patrones con mayor variabilidad morfológica, lo que podría afectar la capacidad del modelo para distinguir entre ambas clases. Finalmente, a 90 % HR, el desempeño de la clasificación se recuperó, con precisión y precisión general alcanzando el 99 %, lo que indica que a altos niveles de humedad, los depósitos adoptan una morfología más predecible, lo que permite una mejor diferenciación por parte del modelo.

Para la condición de baja concentración de NaCl (0.1 wt %), el modelo mostró un comportamiento similar en respuesta a las variaciones de HR. A 20 % HR, se obtuvo una precisión general del 96 %, con precisión y sensibilidad equilibradas para ambas clases. En contraste, a 40 % HR, la precisión general disminuyó al 92 % debido a una mayor tasa de falsos positivos en la clasificación de depósitos de proteínas nativas, como se evidencia en la matriz de confusión. A 60 % HR, la precisión se estabilizó en un 98 %, con una recuperación en la especificidad de la clasificación. Finalmente, a 90 % HR, el modelo alcanzó un rendimiento óptimo, logrando una precisión general del 100 %, lo que refleja una morfología más distintiva entre ambas clases de depósitos.

Humedad relativa (RH)	Precisión (P)	Sensitividad (S)	Precisión general (A)
Alta concentración de NaCl (1 wt %)			
20 %	99.0	98.5	99.0
40 %	98.0	98.0	98.0
60 %	95.5	95.5	95.0
90 %	99.0	99.0	99.0
Baja concentración de (0.1 wt %)			
20 %	96.0	96.0	96.0
40 %	92.0	92.0	92.0
60 %	98.0	98.0	98.0
90 %	100.0	100.0	100.0

Tabla 2.2: Eficiencia de la red neuronal convolucional. Métricas de desempeño del modelo de clasificación en función de la humedad relativa (HR) y la concentración de NaCl. Se presentan los valores de precisión (P), sensibilidad (S) y precisión general (A).

2.3. Formación de Patrones de Gotas Secas a Diferentes Humedades Relativas

El análisis de la formación de patrones de gotas secas de proteínas nativas y desnaturalizadas bajo diferentes humedades relativas puede proporcionar información valiosa sobre la estabilidad conformacional y los mecanismos de agregación proteica. En esta sección, investigamos cómo variaciones en la humedad relativa afectan la morfología de los depósitos proteicos.

La Fig. 2.9 muestra la formación del patrón en depósitos de proteína nativa $\Phi = 1\%$ en condiciones de baja humedad relativa (20% RH). El proceso de secado de las gotas es rápido. Inicialmente, la evaporación ocurre de manera uniforme en la superficie de la gota ($t = 0\text{s}$ a 1600s). Además, se observa que la superficie de la gota es lisa, indicando una distribución homogénea de solutos (recuadro violeta). Conforme la evaporación avanza ($t = 2000\text{s}$), comienza a formarse un borde en la periferia debido a la acumulación de solutos, resultando en el conocido "efecto de anillo de café" (recuadro azul). A medida que el tiempo progresa ($t = 2610\text{s}$), se observan estructuras cristalinas en forma de aguja que empiezan a desarrollarse en el borde de la gota, indicando una nucleación rápida de cristales debido a la alta concentración local de solutos y a la rápida evaporación que no permite una redistribución uniforme (recuadro naranja). A 2700s , en la región central inicial el proceso de nucleación de las estructuras festoneadas (scalloped). Esto derivado de la alta concentración local de solutos, resultado de la evaporación avanzada de la gota. La nucleación es seguida rápidamente por el crecimiento cristalino, donde los cristales se extienden hacia el interior de la gota, formando patrones característicos. A 2800s , emerge la morfología final del depósito (recuadro rojo).

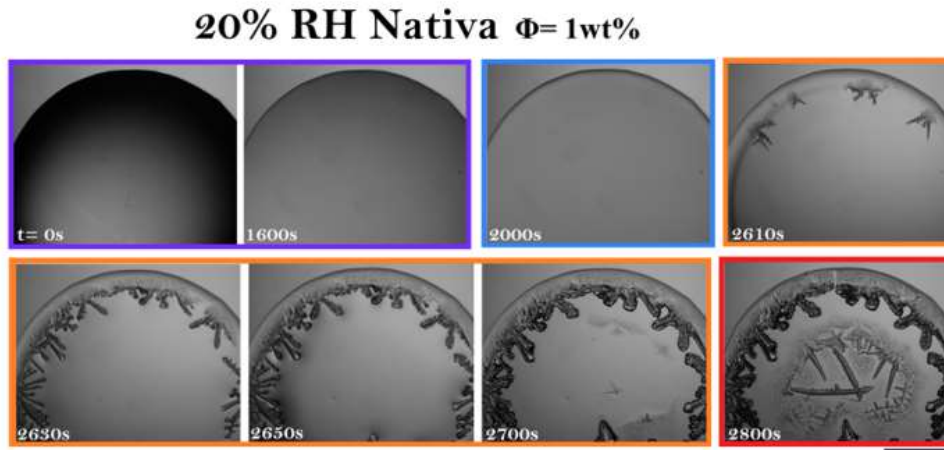


Figura 2.9: Formación del patrón en depósitos de proteína nativa ($\Phi = 1 \text{ wt } \%$) a 20 %RH. El recuadro morado destaca la homogeneidad del depósito inicial. El recuadro azul señala la formación del anillo de café, mientras que el recuadro naranja indica el inicio de los puntos de nucleación y la aparición de estructuras. Finalmente, el recuadro rojo muestra el patrón final del depósito. La barra negra representa 0,5 mm.

A RH = 40 %, la Fig. 2.10 el proceso de evaporación es más lento comparado con el 20 % RH, permitiendo un mayor tiempo de difusión para los solutos. Al inicio ($t = 0\text{s}$ a 2340s), la gota mantiene una distribución homogénea de solutos durante un periodo prolongado (recuadro violeta). La evaporación es más controlada en comparación con condiciones de menor RH, lo que permite una redistribución más homogénea de los solutos dentro de la gota. Este equilibrio en la evaporación minimiza la formación temprana de núcleos cristalinos, retrasando el inicio del proceso de nucleación observable. A $t = 4080$, es evidente la formación del anillo de café (recuadro azul). A partir de los 4150 segundos, se comienzan a formar los primeros núcleos cristalinos, predominantemente en la periferia de la gota. Este proceso de nucleación es inducido por la acumulación gradual de solutos en los bordes debido a flujos capilares que transportan proteínas y NaCl desde el centro hacia la periferia. La nucleación en esta etapa es más homogénea que a RH más bajas, debido a la mayor disponibilidad de tiempo para la redistribución de solutos antes de la saturación local. Entre los 4080 y 4310 segundos, los cristales en forma de aguja, las estructuras festoneadas (scalloped) y los agregados amorfos comienzan a coexistir, formando estructuras mixtas que reflejan el balance entre la evaporación y la cristalización (recuadro naranja). A los 4500 segundos emerge la morfología final del depósito (recuadro rojo).

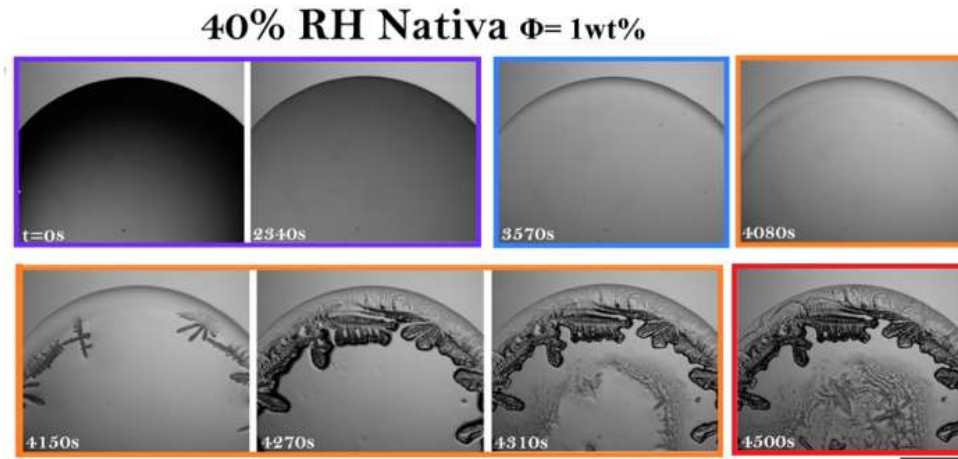


Figura 2.10: Formación del patrón en depósitos de proteína nativa ($\Phi = 1 \text{ wt } \%$) a 40 %RH. El recuadro morado destaca la homogeneidad del depósito inicial. El recuadro azul señala la formación del anillo de café, mientras que el recuadro naranja indica el inicio de los puntos de nucleación y la aparición de estructuras. Finalmente, el recuadro rojo muestra el patrón final del depósito. La barra negra representa 0,5 mm.

A RH=60 %, la Fig. 2.11 la evaporación es aún más lenta, favoreciendo la nucleación y el crecimiento cristalino ordenado. La gota permanece estable, y la evaporación lenta permite una redistribución uniforme de los solutos (recuadro violeta). A $t=5200\text{s}$, se inicia la formación de un anillo de café, cuyos vestigios son eventualmente desvanecidos por los agregados (recuadro azul). A partir de los 5540 segundos, se observa el inicio de la nucleación de cristales en forma de dendritas y helechos que surgen de la periferia (recuadro naranja). Estas se extienden hacia el interior de la gota, formando una red cristalina compleja, indicativo de un proceso de nucleación que ocurre en condiciones elevadas de concentración de soluto, pero con una tasa de evaporación moderada. En la región central la formación de grandes agregados absorbe una gran cantidad de solutos disponibles en su entorno inmediato, impidiendo la nucleación y el crecimiento de estructuras cristalinas en las áreas circundantes. Hacia el final del proceso de secado ($t = 7040\text{s}$), los depósitos muestran un alto grado de organización y densificación (recuadro rojo). Los cristales cubren gran parte de la superficie de la gota, indicando que los solutos han sido transportados eficientemente en todas las regiones del depósito.

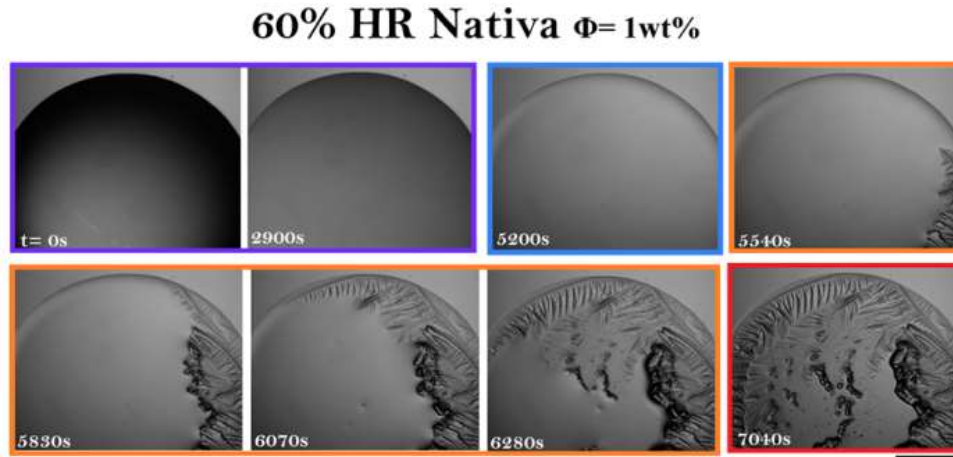


Figura 2.11: Formación del patrón en depósitos de proteína nativa ($\Phi = 1 \text{ wt } \%$) a 60 %RH. El recuadro morado destaca la homogeneidad del depósito inicial. El recuadro azul señala la formación del anillo de café, mientras que el recuadro naranja indica el inicio de los puntos de nucleación y la aparición de estructuras. Finalmente, el recuadro rojo muestra el patrón final del depósito. La barra negra representa 0,5 mm.

A RH=90 %, la Fig. 2.12 el proceso de evaporación es lento, permitiendo una máxima organización de los cristales. Desde $t = 0\text{s}$ hasta $t = 3630\text{s}$, la gota muestra una distribución homogénea de solutos (recuadro violeta). Alrededor de los 6000s, comienzan a aparecer estructuras dendríticas, que se vuelven más prominentes con el tiempo. Este crecimiento se caracteriza por la formación de estructuras ramificadas que se extienden hacia el centro de la gota (recuadro naranja). Entre los 6180s y 6250s, las dendritas se entrelazan y forman una red cristalina que cubre gran parte de la superficie de la gota, generando cristales dendríticos densamente empaquetados. En la etapa final del proceso de secado, alrededor de $t = 7040\text{s}$, el proceso de evaporación termina y los cristales cubren completamente la superficie del depósito (recuadro rojo).

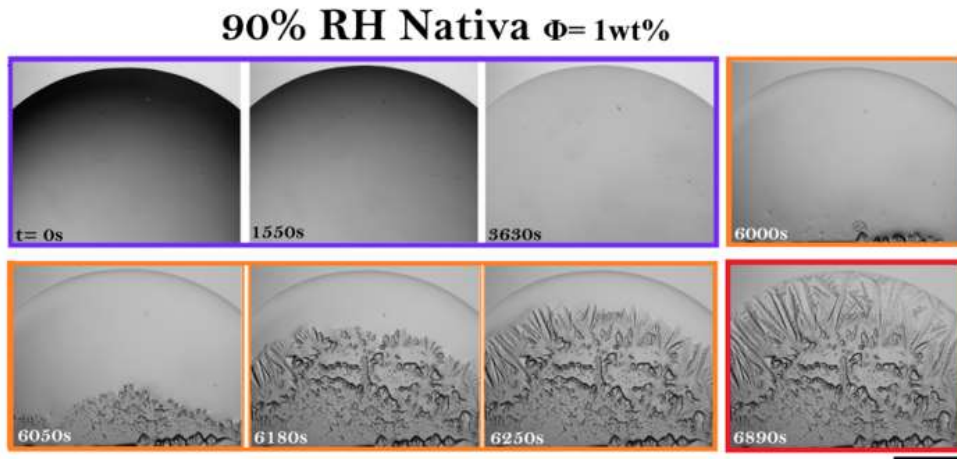


Figura 2.12: Formación del patrón en depósitos de proteína nativa ($\Phi = 1 \text{ wt } \%$) a 90 %RH. El recuadro morado destaca la homogeneidad del depósito inicial. El recuadro azul señala la formación del anillo de café, mientras que el recuadro naranja indica el inicio de los puntos de nucleación y la aparición de estructuras. Finalmente, el recuadro rojo muestra el patrón final del depósito. La barra negra representa 0,5 mm.

A continuación se muestra la formación de patrones en depósitos de proteínas desnaturalizadas ($\Phi = 1 \%$) bajo diferentes humedades relativas (RH). Sin importar la humedad relativa, el proceso de secado de todas las gotas inicia con una distribución no homogénea de solutos (recuadro verde). Además, a medida que avanza el proceso de secado, en todas las gotas tiempo comienza a formarse una capa delgada en la superficie de contacto con el sustrato, caracterizada por una textura no uniforme (recuadro amarillo). A RH=20 %, la Fig. 2.13 en $t=2460\text{s}$, se observa la migración de material de la periferia hacia el centro de la gota, formando una región periférica de textura lisa (recuadro café). Hacia los 2570s y 2630s, las irregularidades en la superficie se consolidan. A $t=2660$ en la región central emergen las estructuras cristalinas en forma de crucetas con helechos, indicando un régimen de crecimiento donde la nucleación y la agregación están en equilibrio (recuadro naranja). La morfología final del depósito emerge a $t=2900$, con una heterogeneidad marcada y una clara distinción entre la periferia lisa, las regiones rugosas, y la región central delimitada por cristales (recuadro rojo).

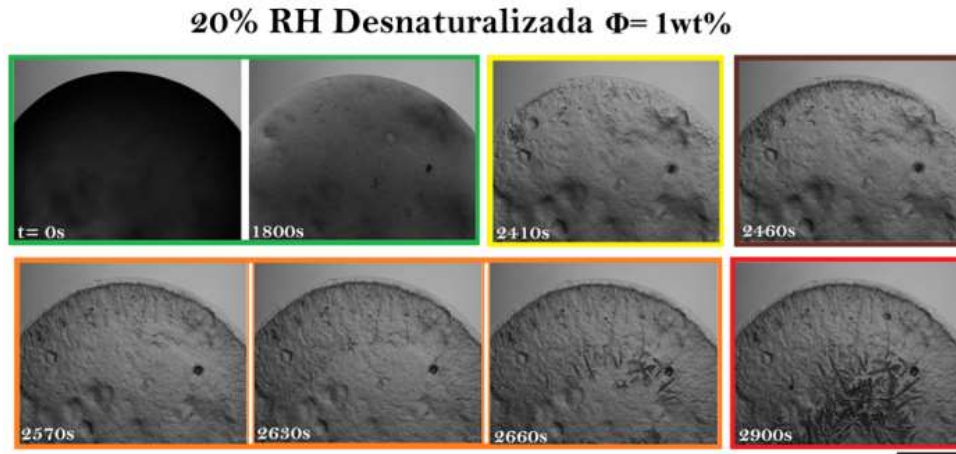


Figura 2.13: Formación del patrón en depósitos de proteína desnaturalizada ($\Phi = 1 \text{ wt}\%$) a 20 %RH. El recuadro verde destaca la no homogeneidad del depósito inicial. El recuadro amarillo señala la formación de una película entre la superficie de contacto y el sustrato, el recuadro café muestra la formación de la región periférica, mientras que el recuadro naranja indica el inicio de los puntos de nucleación y la aparición de estructuras. Finalmente, el recuadro rojo muestra la morfología final del depósito. La barra negra representa 0,5 mm.

La formación de patrones a RH = 40 %, 60 % y 90 % que se muestran en la Fig. 2.14 muestra una notable similitud en sus etapas y características. En todos estos casos, después del inicio de la formación de una capa delgada en la superficie de contacto con el sustrato, se desarrolla una región periférica con una estructura fibrosa (recuadro café). Esta estructura emerge concomitantemente con la contracción del líquido desde la periferia hacia el centro de la gota, lo que incrementa la concentración de solutos por encima del umbral crítico, facilitando así el proceso de nucleación. La migración de solutos desde la periferia hacia el centro permite la aparición de cristales con morfología de helechos (recuadro naranja). El proceso de formación de patrones concluye con la consolidación de estos cristales, que terminan colocados por toda la superficie del depósito (recuadro rojo).

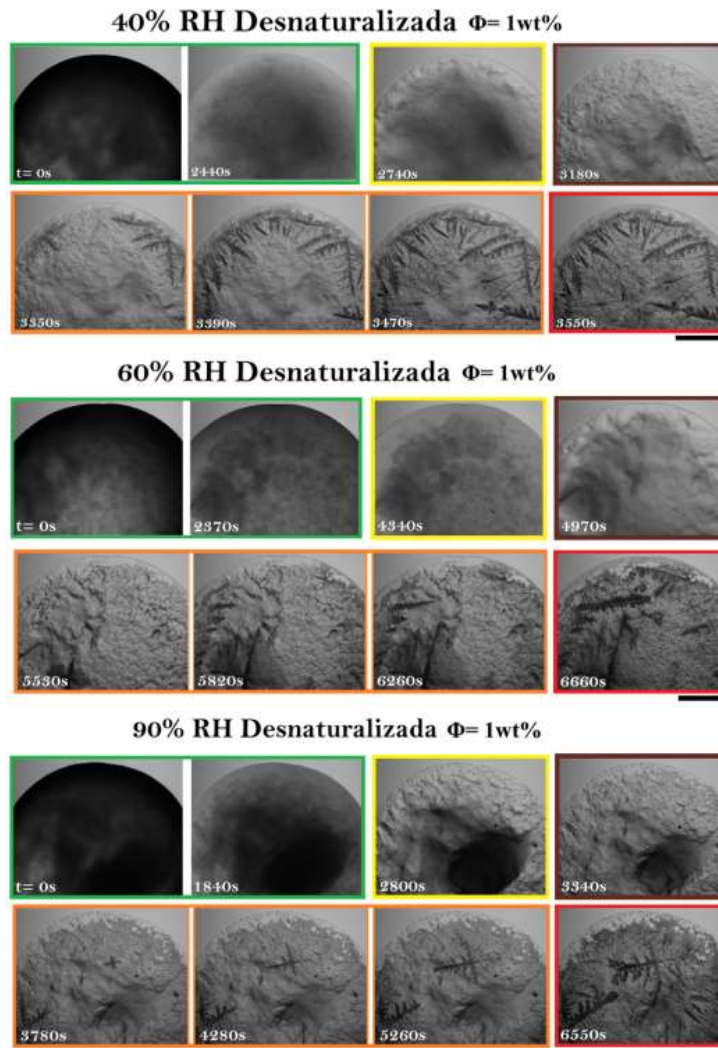


Figura 2.14: Formación del patrón en depósitos de proteína nativa ($\Phi = 1 \text{ wt } \%$) a 40 %, 60 % y 90 % RH. El recuadro verde destaca la homogeneidad del depósito inicial. El recuadro amarillo señala la formación del anillo de café, mientras que el recuadro naranja y café indica el inicio de los puntos de nucleación y la aparición de estructuras. Finalmente, el recuadro rojo muestra el patrón final del depósito. Las barras negra representa 0,5 mm.

La Fig. 2.15 muestra la secuencia temporal de la formación de depósitos de proteína nativa ($\Phi = 0.1 \%$) a diferentes niveles de humedad relativa (RH). La formación de patrones a RH = 20, 40 y 60 % sigue un proceso con etapas y características consistentemente parecidas. Al inicio, la gota presenta una superficie lisa, lo que es indicativo de una distribución homogénea de solutos (recuadro violeta). A medida que avanza el tiempo, se observa una leve acumulación de material en los bordes, indicando el surgimiento del efecto de anillo de café, que se vuelve más evidente a medida que la evaporación diferencial induce la

formación de un borde más grueso (recuadro azul). Una vez alcanzada la concentración de saturación, surgen puntos de nucleación dentro de la superficie de contacto (recuadro naranja). Después, inicia el crecimiento de estructuras dendríticas hasta cubrir toda la superficie con una red densa. Finalmente, emerge la morfología final de patrones (recuadro rojo).

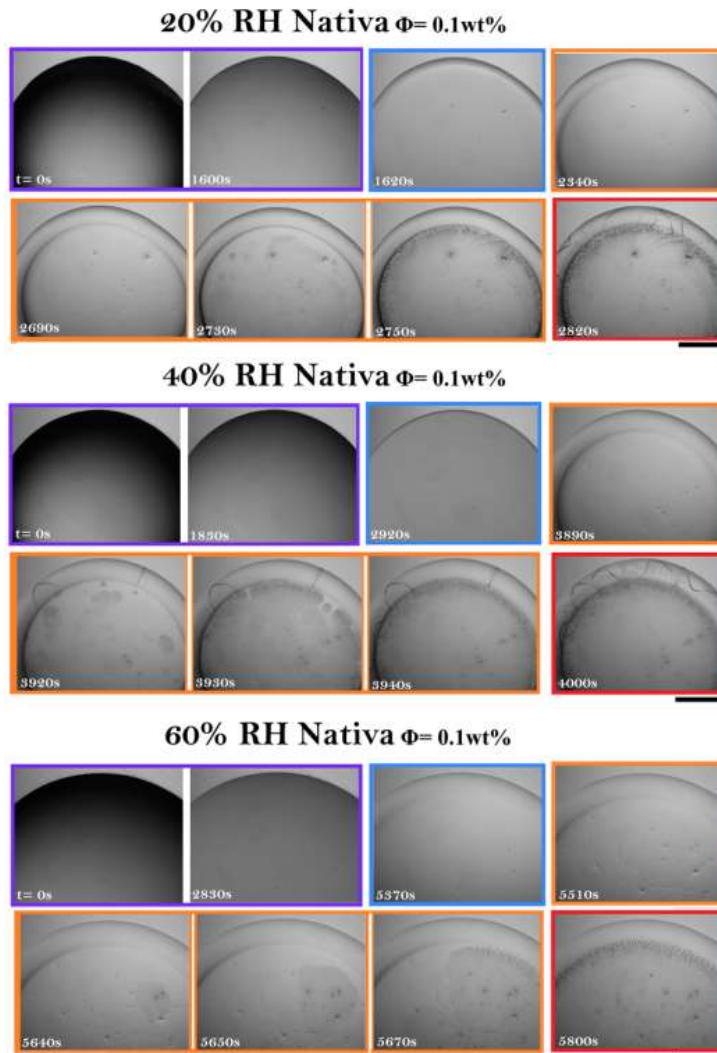


Figura 2.15: Formación del patrón en depósitos de proteína nativa ($\Phi = 0.1 \text{ wt } \%$) a 20 %, 40 % y 60 % RH. El recuadro morado destaca la homogeneidad del depósito inicial. El recuadro azul señala la formación del anillo de café, mientras que el recuadro naranja indica el inicio de los puntos de nucleación y la aparición de estructuras. Finalmente, el recuadro rojo muestra la morfología final del depósito. Las barras negra representa 0,5 mm.

En la Fig. 2.16, a una humedad relativa (RH) del 90 %, desde el inicio de la evapora-

ción ($t=0s$), la gota presenta una distribución homogénea de sus componentes, indicando una mezcla uniforme sin segregación de fases inicial (recuadro violeta). A medida que progresa el tiempo de secado (3010s), la homogeneidad en la distribución del material se mantiene, sin evidenciarse la formación del característico anillo de café, lo que sugiere un transporte de masa interno predominantemente controlado por procesos difusivos en lugar de convectivos. En una etapa posterior del secado (4730s), comienzan a aparecer pequeños agregados amorfos uniformemente distribuidos sobre la superficie de la gota, lo que indica una nucleación y crecimiento inicial de estructuras cristalinas (recuadro naranja). En las etapas finales del proceso de secado, la morfología de la gota cambia drásticamente, cubriéndose completamente de cristales dendríticos amorfos, que adoptan formas de dendritas y filamentos ondulados, señalando un régimen de evaporación que favorece la cristalización dendrítica (recuadro rojo).

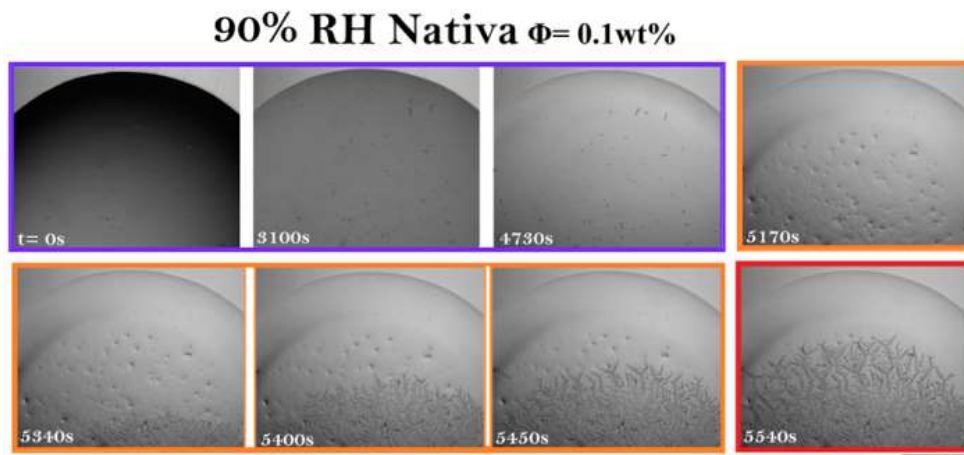


Figura 2.16: Formación del patrón en depósitos de proteína nativa ($\Phi = 0.1 \text{ wt } \%$) a 90 %RH. El recuadro morado destaca la homogeneidad del depósito inicial. El recuadro azul señala la formación del anillo de café, mientras que el recuadro naranja indica el inicio de los puntos de nucleación y la aparición de estructuras. Finalmente, el recuadro rojo muestra la morfología final del depósito. La barra negra representa 0,5 mm.

La Figura 2.17 ilustra la formación de depósitos de proteína desnaturada (con una concentración $\Phi = 0.1 \%$) bajo diferentes niveles de humedad relativa (RH). La generación de patrones a RH del 20 %, 40 % y 60 % muestra un proceso con etapas y características consistentemente similares. Las gotas inicialmente presentan una superficie lisa, indicando una distribución homogénea de los solutos (recuadro violeta). Se observa una rápida eva-

poración en los bordes debido al gradiente de concentración, lo que lleva a la formación incipiente de una estructura de anillo de café (recuadro azul). Esta evaporación diferencial intensifica la acumulación de material en los bordes. Mientras el líquido de la gota se contrae de la periferia hacia el centro preservando la simetría radial, no se desarrollan formaciones estructurales significativas en la periferia. En contraste, la concentración de solutos en el centro de la gota aumenta, iniciando el proceso de nucleación que resulta en la formación de cristales con una morfología similar a palmas (recuadro naranja). Este conjunto de cristales crea un patrón bien definido similar a un ojo (recuadro rojo).

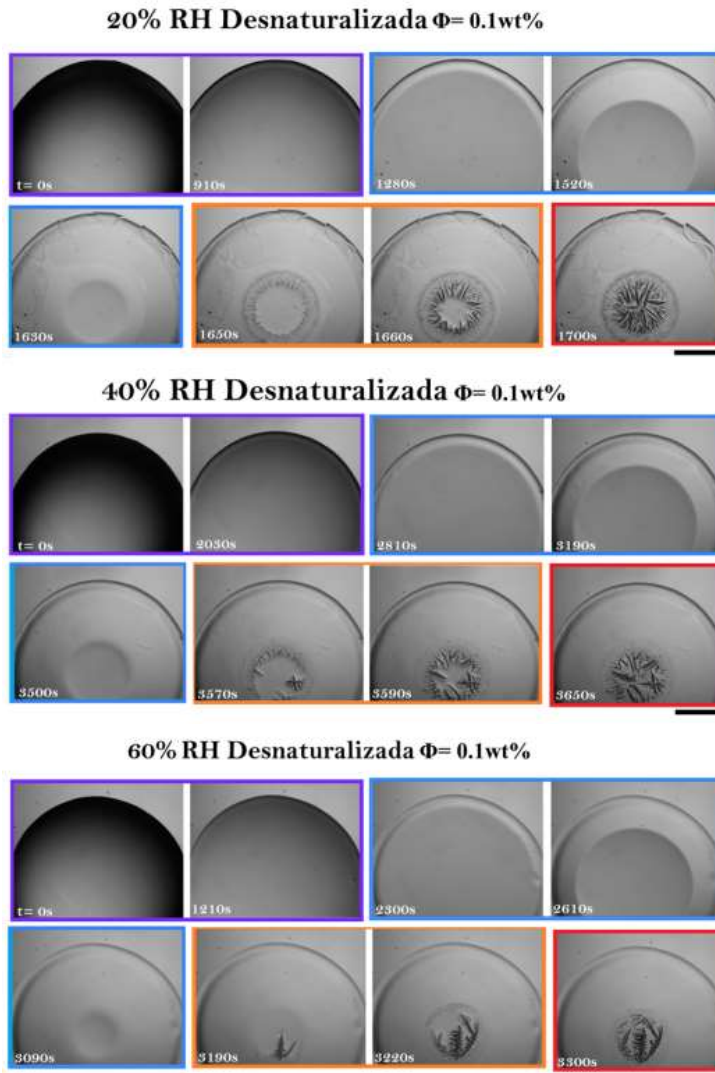


Figura 2.17: Formación del patrón en depósitos de proteína desnaturalizada ($\Phi = 0.1\%$) a 20%, 40% y 60% RH. El recuadro morado destaca la homogeneidad del depósito inicial. El recuadro azul señala la formación del anillo de café, el recuadro naranja indica el inicio de los puntos de nucleación estructuras. Finalmente, el recuadro rojo muestra el patrón final del depósito. Las barras negra representa 0,5 mm.

En la figura 2.18, desde el inicio de la evaporación de las gotas a una humedad relativa del 90% ($t=0s$), se observa una distribución homogénea de los componentes, indicando una mezcla uniforme sin evidencia de segregación de fases (recuadro violeta). Conforme avanza el proceso de secado (2250s), la homogeneidad en la distribución del material persiste, sin observarse la formación del característico anillo de café, lo que sugiere que el transporte de masa interno está predominantemente controlado por difusión en lugar de advección. Al

continuar el secado (3600s), emergen pequeñas irregularidades en la superficie de la gota, señalando la nucleación inicial y el crecimiento de estructuras amorfas (recuadro naranja). En etapas más avanzadas del secado (5860s y 6060s), se observan agregados amorfos más definidos dispersos sobre la superficie de la gota, indicando una mayor nucleación y crecimiento de estas estructuras. En las etapas finales del proceso de secado, la morfología de la gota cambia de manera significativa, con la superficie cubierta completamente de agregados amorfos que presentan una distribución más densa y uniforme (recuadro rojo). Esto indica un régimen de evaporación en el que la alta humedad relativa favorece la formación de estructuras complejas debido a una menor velocidad de evaporación y a un tiempo de residencia más prolongado para el crecimiento de estos agregados en la interfase líquido-sólido.

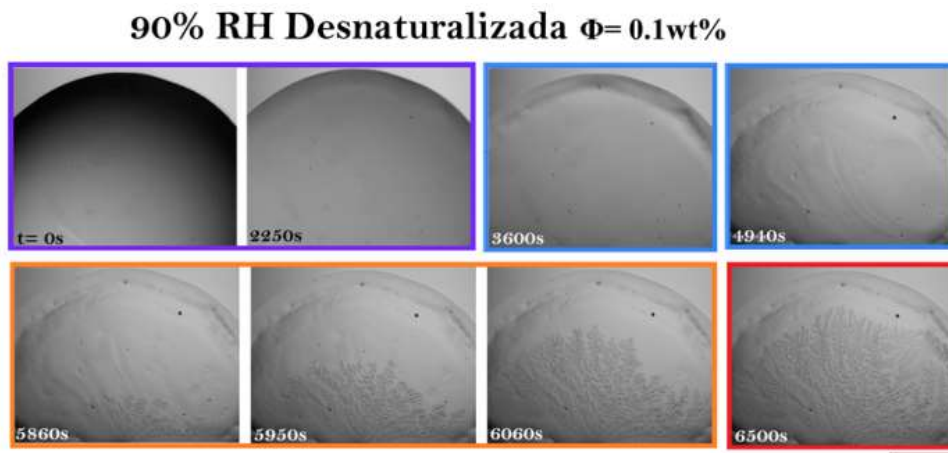


Figura 2.18: Formación del patrón en depósitos de proteína desnaturalizada ($\Phi = 0.1\%$) a 90%RH. El recuadro morado destaca la homogeneidad del depósito inicial. El recuadro azul señala la formación del anillo de café, mientras que el recuadro naranja indica el inicio de los puntos de nucleación y la aparición de estructuras. Finalmente, el recuadro rojo muestra la morfología final del depósito. La barra negra representa 0,5 mm.

2.4. Dinámica de secado de gotas de soluciones de proteína en estado nativo y desnaturalizado

Las siguientes figuras se presentan el comportamiento de gotas de soluciones de proteínas nativas con $\Phi = 1\text{ wt}\%$ y $0.1\text{ wt}\%$, respectivamente, expuestas a diferentes niveles

de humedad relativa (RH): 20 %, 40 %, 60 % y 90 %. Encontramos un comportamiento semejante en la dinámica de secado de las gotas.

A 20 % RH, la Fig. 2.19 las gotas muestran una rápida evaporación, completándose en aproximadamente 1500 segundos para la solución $\Phi = 1$ wt % y en 2290 segundos para la solución $\Phi = 0.1$ wt % . Inicialmente, las gotas presentan una forma cóncava elevada, que se aplanan progresivamente hasta desvanecerse por completo. En la etapa inicial, aunque la evaporación puede ocurrir en toda la superficie de la gota, tiende a ser más rápida en el borde debido a la mayor exposición al aire, lo que sugiere una tendencia hacia el modo de evaporación en el borde. A medida que el tiempo avanza ($t=1270s$ a $t=1690s$), la gota comienza a aplanarse. Este cambio sugiere que la evaporación se está produciendo de manera más uniforme en toda la superficie de la gota, una característica del modo de evaporación en el volumen. En este modo, la evaporación se distribuye de manera más uniforme en toda la superficie de la gota, sin un movimiento significativo de los solutos hacia el borde. Altas humedades relativas podrían ralentizar la evaporación en esta etapa, permitiendo que la gota mantenga su estructura por más tiempo. Los perfiles de altura normalizados indican la disminución uniforme y simétrica de la altura central, manteniendo la simetría radial durante todo el proceso de secado.

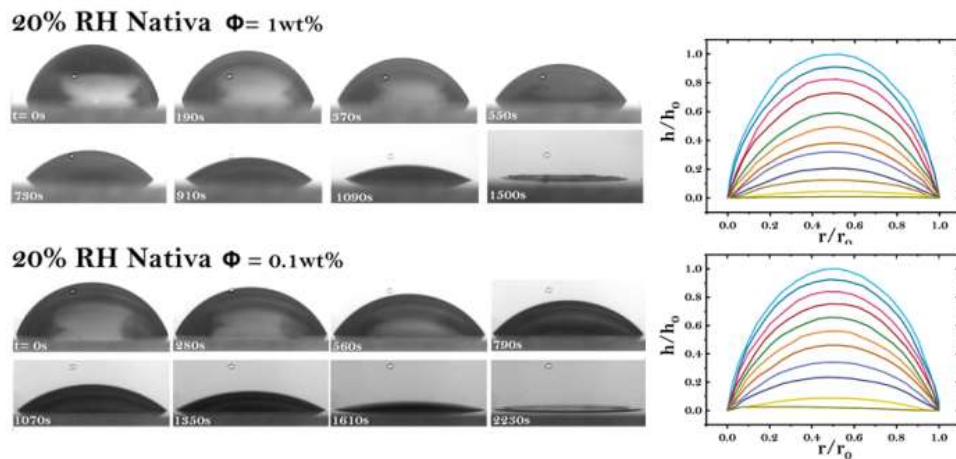


Figura 2.19: Dinámica de secado de gotas Nativas a 20 % RH para concentraciones altas y bajas de NaCl. La fila superior corresponde a gotas con $\Phi = 1$ wt % y la fila inferior a $\Phi = 0.1$ wt %. Las gráficas a la derecha ilustran los perfiles de altura normalizados, en función del radio normalizado

A 40% RH, la Fig. 2.20, la evaporación se prolonga, completándose en aproximadamente 2500 segundos para la solución $\Phi = 1$ wt% y en 2030 segundos para la solución $\Phi = 0.1$ wt%. Las gotas mantienen su forma cóncava durante un período más extenso antes de aplanarse gradualmente. Los perfiles de altura revelan una disminución continua y simétrica de la altura central, similar al comportamiento observado a menor humedad, pero extendido a lo largo de un período más largo. Este fenómeno indica una menor tasa de evaporación debido a la mayor saturación de vapor en el ambiente, lo que retarda la pérdida de masa de las gotas.

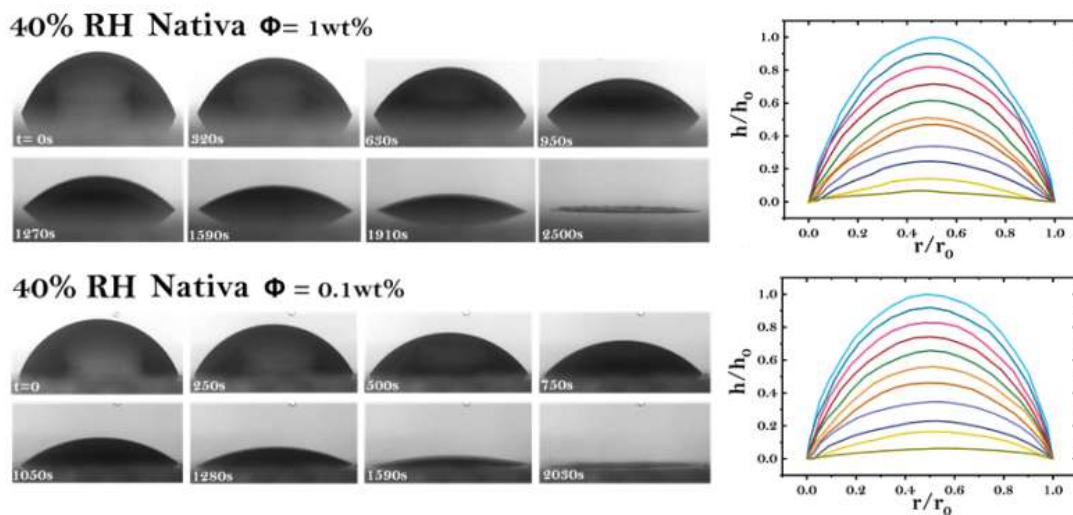


Figura 2.20: Dinámica de secado de gotas Nativas a 40% RH para concentraciones altas y bajas de NaCl. La fila superior corresponde a gotas con $\Phi = 1$ wt% y la fila inferior a $\Phi = 0.1$ wt%. Las gráficas a la derecha ilustran los perfiles de altura normalizados, en función del radio normalizado

A 60% RH, la Fig. 2.21, la evaporación es aún más lenta, completándose en aproximadamente 3100 segundos para la solución $\Phi = 1$ wt% y en 2900 segundos para la solución $\Phi = 0.1$ wt%. La forma cóncava inicial se mantiene por más tiempo antes de aplanarse por completo. Los perfiles de altura normalizados demuestran una disminución constante y simétrica, indicando una evaporación más controlada y lenta, reflejada en la prolongada estabilidad de la forma de la gota.

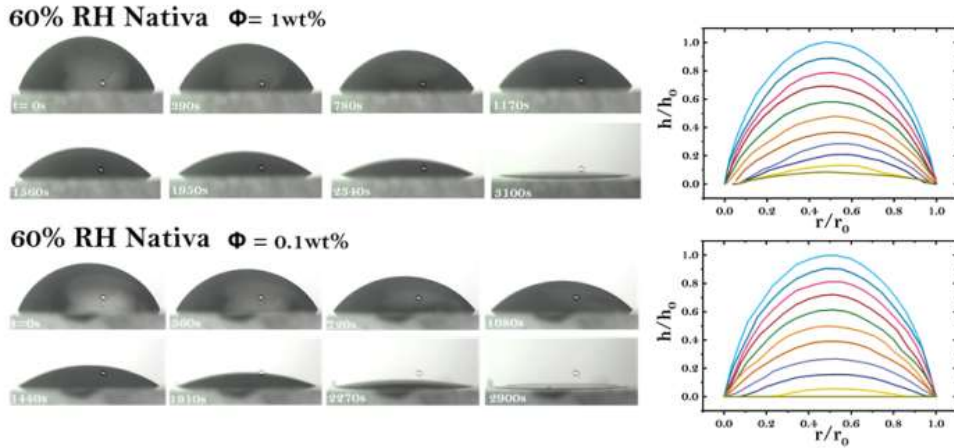


Figura 2.21: Dinámica de secado de gotas Nativas a 60 % R H para concentraciones altas y bajas de NaCl. La fila superior corresponde a gotas con $\Phi = 1 \text{ wt}\%$ y la fila inferior a $\Phi = 0.1 \text{ wt}\%$. Las gráficas a la derecha ilustran los perfiles de altura normalizados, en función del radio normalizado

Finalmente, a 90 % RH, la Fig. 2.22, el proceso de secado es el más lento, completándose en aproximadamente 4440 segundos para la solución $\Phi = 1 \text{ wt}\%$ y en 5550 segundos para la solución $\Phi = 0.1 \text{ wt}\%$. Las gotas mantienen su forma cóncava durante un período considerablemente largo antes de aplanarse por completo. La disminución de altura es progresiva y muy lenta, con los perfiles de altura correspondientes evidenciando una disminución simétrica y gradual de la altura central.

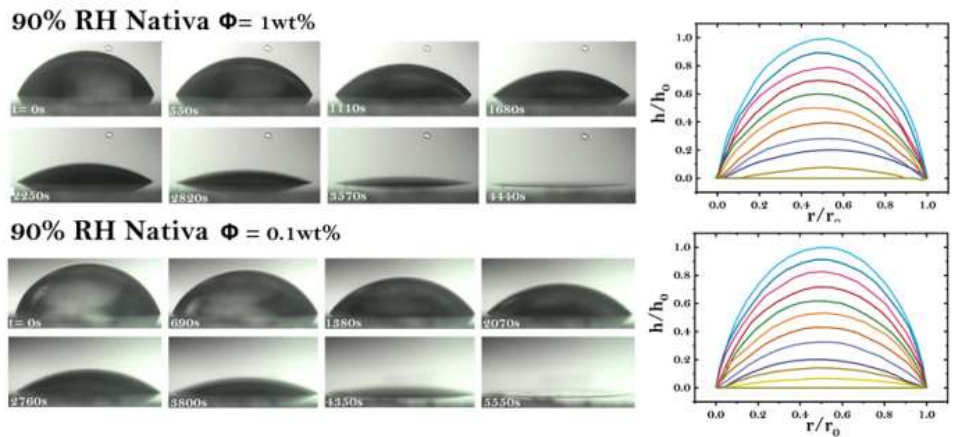


Figura 2.22: Dinámica de secado de gotas Nativas a 90 % R H para concentraciones altas y bajas de NaCl. La fila superior corresponde a gotas con $\Phi = 1 \text{ wt}\%$ y la fila inferior a $\Phi = 0.1 \text{ wt}\%$. Las gráficas a la derecha ilustran los perfiles de altura normalizados, en función del radio normalizado

Las siguientes figuras presentan el comportamiento de gotas de soluciones de proteínas desnaturalizadas con $\Phi = 1 \text{ wt } \%$ y $0.1 \text{ wt } \%$, respectivamente, expuestas a diferentes niveles de humedad relativa (RH): 20 %, 40 %, 60 % y 90 %. Para todas las soluciones y niveles de RH estudiados, se observa una dinámica de secado semejante.

A 20 % RH, la Fig. 2.23, las gotas muestran una rápida evaporación, completándose en aproximadamente 1400 segundos para la solución $\Phi = 1 \text{ wt } \%$ y en 1290 segundos para la solución $\Phi = 0.1 \text{ wt } \%$. Inicialmente, las gotas presentan una forma cóncava elevada, que se aplanan progresivamente hasta desvanecerse por completo. Los perfiles de altura normalizados indican una disminución uniforme y simétrica de la altura central, manteniendo la simetría radial durante un periodo prolongado del proceso de secado. Sin embargo, en la etapa final de evaporación, el fluido se desplaza hacia el centro mientras que la línea curva de la gota pierde su simetría. Esta distorsión en el perfil de la gota es mucho más evidente en gotas con $\Phi = 1 \text{ wt } \%$, lo que sugiere que ocurre el fenómeno está fuertemente influenciado por la agregación de proteínas impulsada por la presencia de NaCl. En esta etapa, la presencia de sal reduce la solubilidad de las proteínas al disminuir la interacción entre las moléculas de proteína y el agua (efecto salting-out), favoreciendo así las interacciones proteína-proteína. A medida que el solvente se evapora, estas interacciones se intensifican, resultando en la formación de estructuras agregadas y la consiguiente deformación de la gota.

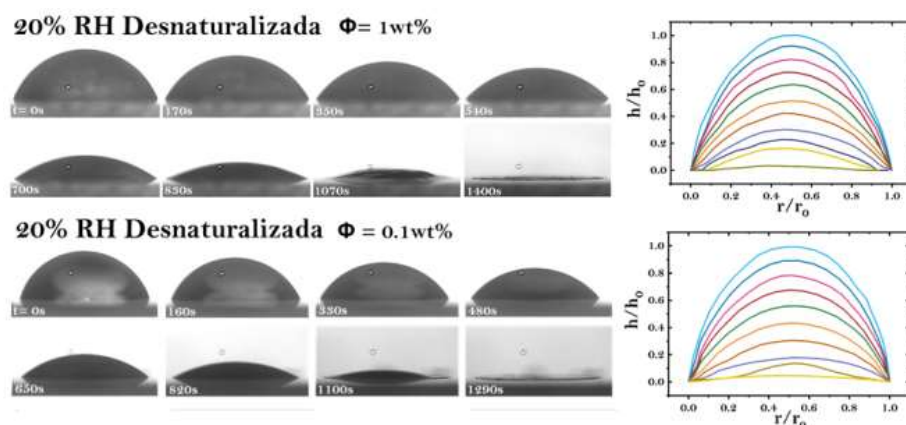


Figura 2.23: Dinámica de secado de gotas Desnaturalizadas a 20 % RH para concentraciones altas y bajas de NaCl. La fila superior corresponde a gotas con $\Phi = 1 \text{ wt } \%$ y la fila inferior a $\Phi = 0.1 \text{ wt } \%$. Las gráficas a la derecha ilustran los perfiles de altura normalizados, en función del radio normalizado

A 40 % RH, la Fig. 2.24, la evaporación es más prolongada, completándose en aproximadamente 2400 segundos para la solución $\Phi = 1$ wt % y en 2600 segundos para la solución $\Phi = 0.1$ wt %. Las gotas mantienen su forma cóncava durante un período más extenso antes de aplanarse gradualmente. Los perfiles de altura revelan una disminución continua y simétrica de la altura central, similar al comportamiento observado a menor humedad, pero extendido a lo largo de un período más largo. En ambas soluciones, las imágenes finales muestran una distorsión en la línea curva, con una mayor concentración de material en la región central.

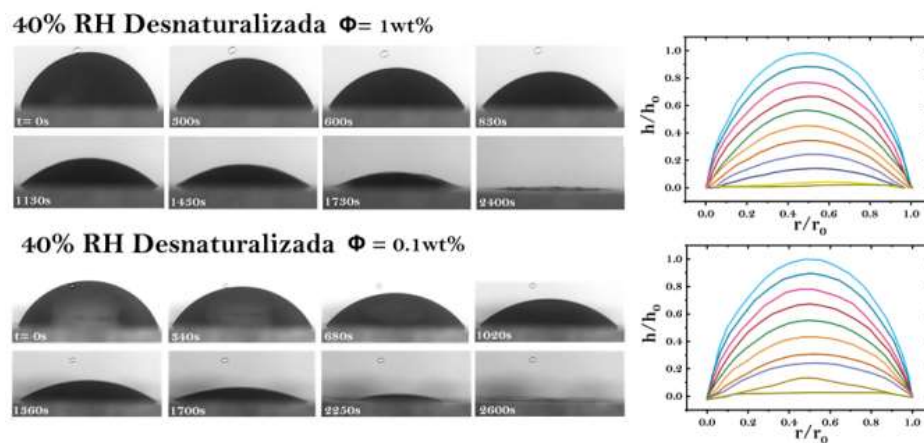


Figura 2.24: Dinámica de secado de gotas Desnaturalizadas a 40 % RH para concentraciones altas y bajas de NaCl. La fila superior corresponde a gotas con $\Phi = 1$ wt % y la fila inferior a $\Phi = 0.1$ wt %. Las gráficas a la derecha ilustran los perfiles de altura normalizados, en función del radio normalizado

A 60 % RH, la Fig. 2.25, la evaporación es aún más lenta, completándose en aproximadamente 3400 segundos para la solución $\Phi = 1$ wt % y en 3050 segundos para la solución $\Phi = 0.1$ wt %. La forma cóncava inicial se mantiene por más tiempo antes de aplanarse por completo. Los perfiles de altura normalizados demuestran una disminución constante y simétrica, indicando una evaporación más controlada y lenta, reflejada en la prolongada estabilidad de la forma de la gota. Las imágenes finales muestran una distorsión asimétrica, con una acumulación de material en el centro.

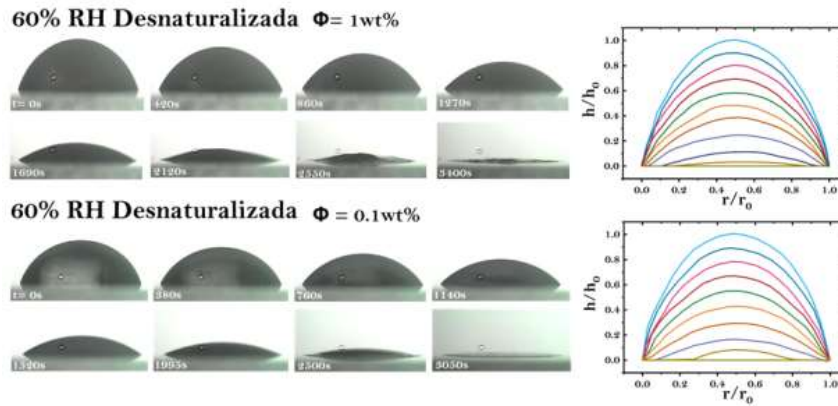


Figura 2.25: Dinámica de secado de gotas Desnaturalizadas a 60 % RH para concentraciones altas y bajas de NaCl. La fila superior corresponde a gotas con $\Phi = 1 \text{ wt \%}$ y la fila inferior a $\Phi = 0.1 \text{ wt \%}$. Las gráficas a la derecha ilustran los perfiles de altura normalizados, en función del radio normalizado

Finalmente, a 90 % RH, la Fig. 2.26, el proceso de secado es el más lento, completándose en aproximadamente 7680 segundos para la solución $\Phi = 1 \text{ wt \%}$ y en 5850 segundos para la solución $\Phi = 0.1 \text{ wt \%}$. Las gotas mantienen su forma cóncava durante un período considerablemente largo antes de aplanarse por completo. La disminución de altura es progresiva y muy lenta, con los perfiles de altura correspondientes evidenciando una disminución simétrica y gradual de la altura central. A esta humedad relativa, también se observa una distorsión en la línea curva, con una concentración de material en la región central.

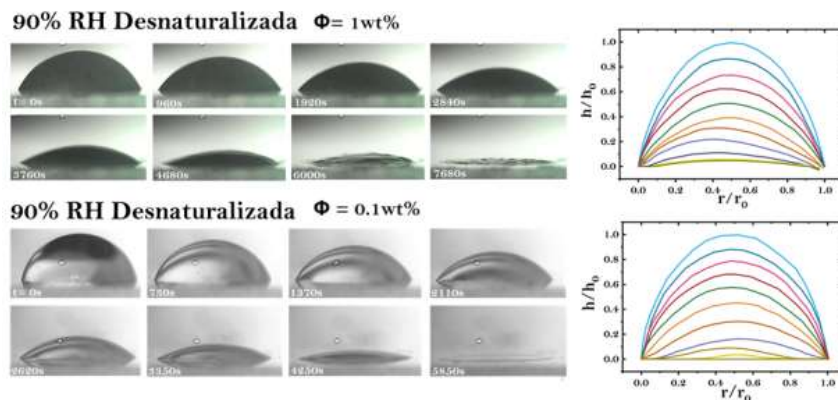


Figura 2.26: Dinámica de secado de gotas Desnaturalizadas a 90 % RH para concentraciones altas y bajas de NaCl. La fila superior corresponde a gotas con $\Phi = 1 \text{ wt \%}$ y la fila inferior a $\Phi = 0.1 \text{ wt \%}$. Las gráficas a la derecha ilustran los perfiles de altura normalizados, en función del radio normalizado

2.5. Propiedades físicas y dinámicas de las gotas

La Fig. 2.27 muestra la variación del ángulo de contacto inicial de gotas de proteínas en función de la humedad relativa (RH). Los resultados indican que no hay diferencias significativas en los ángulos de contacto entre gotas de proteínas en estado nativo y desnaturalizado, independientemente de la concentración de NaCl. Sin embargo, se observa una alta variabilidad en los valores del ángulo de contacto. Por ejemplo, las gotas de proteínas nativas con alta concentración de NaCl a RH=20 % muestran ángulos de contacto que oscilan entre 64 y 75 grados (Fig. 2.27 a), mientras que a RH=90 %, los ángulos varían entre 61 y 65 grados. Interesantemente, las gotas de proteínas con baja concentración de NaCl a RH del 90 % muestran diferencias significativas en los valores del ángulo de contacto inicial (Fig. 2.27 b).

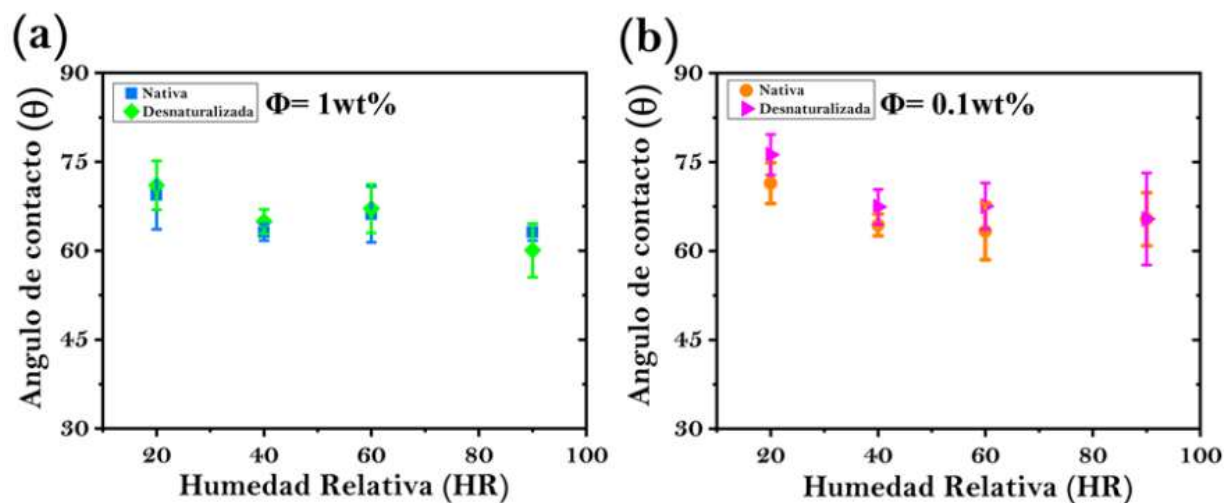


Figura 2.27: Ángulo de Contacto inicial. Ángulo de contacto inicial con función de la humedad relativa 20 %, 40 %, 60 % y 90 %. para gotas de proteína nativa (cuadro azul y círculo naranja) y desnaturalizada (rombo verde y triángulo magenta). (a) Gotas con concentración de $\Phi = 1 \text{ wt}\%$ (b) Gotas con concentración de $\Phi = 0.1 \text{ wt}\%$. Las barras de error representan la desviación estándar de $n=5$.

La Fig. 2.28 muestra el tiempo de evaporación de gotas de proteínas en función de la humedad relativa (RH). A medida que aumenta la RH, el tiempo de secado también incrementa. No se observan diferencias significativas en el tiempo de evaporación entre las gotas de proteínas en estado nativo y desnaturalizado, independientemente de la concentración

de NaCl.

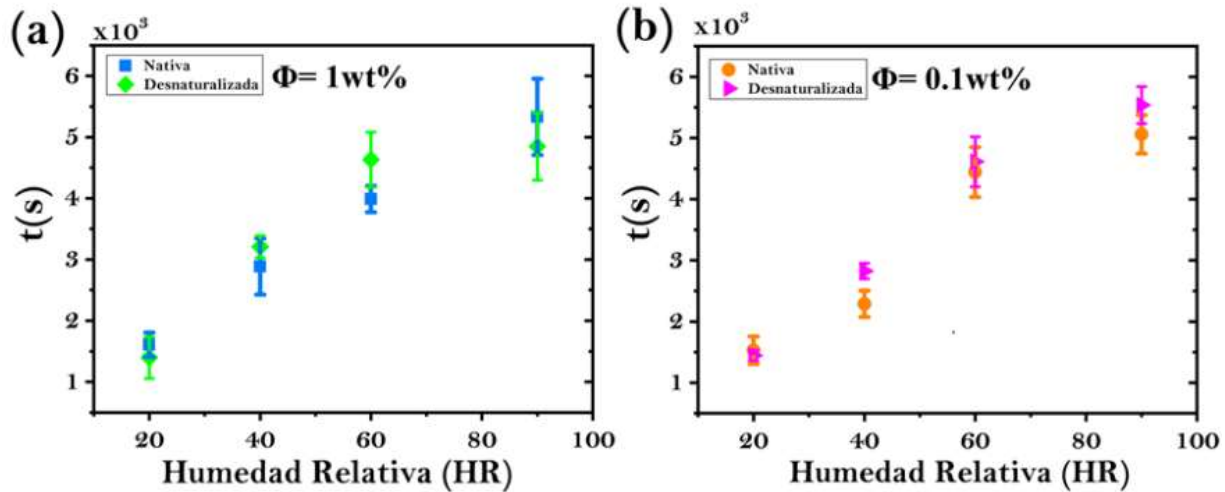


Figura 2.28: Tiempo de Secado.. Tiempo total de formación del patrón para gotas a diferentes niveles de humedad relativa 20 %, 40 %, 60 % y 90 % y concentraciones de NaCl. (a) Gotas con concentración de $\Phi = 1 \text{ wt}\%$ (b) Gotas con concentración de $\Phi = 0.1 \text{ wt}\%$. Los cuadros azules y círculos naranjas representan proteína nativa, mientras que los rombos verdes y triángulos magenta representan proteína desnaturalizada. Las barras de error representan la desviación estándar de $n=5$.

La Fig. 2.29 (a) y (b) muestra la evolución de la altura normalizada de la gota h/h_0 como función del tiempo normalizado t/t_0 , donde h_0 es la altura máxima inicial de la gota y t_0 corresponde al tiempo total de evaporación del agua en el depósito. La altura de la gota se calcula como la distancia entre la línea de contacto y el ápice de la gota. No se observan diferencias significativas en la evolución temporal de la altura normalizada entre las gotas con concentraciones de NaCl ($\Phi = 1 \text{ wt}\%$ y $\Phi = 0.1 \text{ wt}\%$). Sin embargo, se nota que la altura de las gotas con proteína desnaturalizada permanece por debajo de la de las gotas con proteína nativa.

Por otro lado, la Fig. 2.29 (c) y (d) muestra el radio normalizado r/r_0 como función del tiempo normalizado t/t_0 , donde r_0 es el radio inicial de la gota. El radio de la gota se determina como la distancia desde el centro de la gota hasta la línea de contacto. Independientemente de la concentración de NaCl, la línea de contacto de triple fase permanece fija en el sustrato y constante en el tiempo. Esto se debe a que, durante el proceso de secado, las tensiones superficiales entre las interfaces sólido-líquido, líquido-vapor y sólido-vapor

se mantienen en equilibrio.

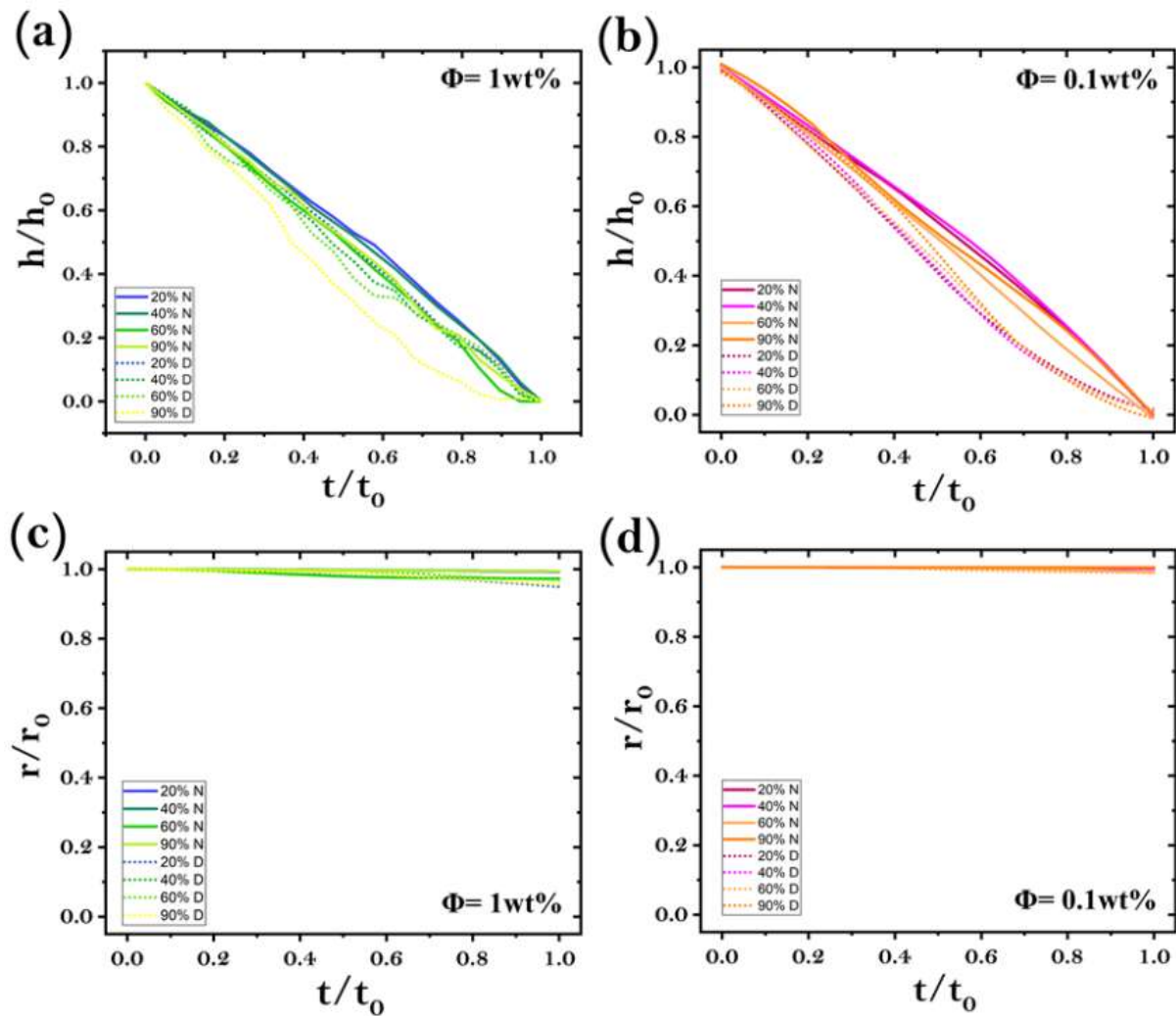


Figura 2.29: Evolución de la altura y el radio durante el secado de gotas. (a) y (b) Altura normalizada (h/h_0) en función del tiempo para gotas con $\Phi = 1 \text{ wt}\%$ y $\Phi = 0.1 \text{ wt}\%$, respectivamente. (c) y (d) Radio normalizado (r/r_0) en función del tiempo para concentraciones $\Phi = 1 \text{ wt}\%$ y $\Phi = 0.1 \text{ wt}\%$. Las líneas continuas representan proteína nativa (N) y las punteadas, proteína desnaturalizada (D).

2.6. Patrones formados con proteína desnaturalizada con UV-A.

Por ultimo pero no menos importante, exploramos el efecto de la humedad relativa en depósitos con proteínas irradiadas por luz ultravioleta. Encontramos que si los cambios conformacionales de la proteína son menores, los depósitos resultantes presentan una gran similitud morfológica.

La Figura 2.30 muestra los patrones generados por la evaporación de gotas de soluciones proteicas $\Phi = 1$ wt %, en dos estados conformacionales: nativo y desnaturalizado por exposición a radiación UV-A. En el estado nativo, se observa una transición progresiva de los patrones conforme aumenta la RH. A 20 % RH, predominan estructuras dendríticas periféricas, resultado de nucleación localizada promovida por tasas rápidas de evaporación y flujos convectivos intensos hacia los bordes. A 40 % RH, las dendritas se extienden hacia el centro del depósito, con un patrón más homogéneo pero aún dominado por cristales bien definidos. A 60 % RH, emergen estructuras jerárquicas de dendritas ramificadas que cubren la mayor parte de la superficie, reflejando una nucleación equilibrada por una evaporación más moderada. Finalmente, a 90 % RH, los depósitos presentan una distribución uniforme de dendritas con estructuras estrelladas prominentes en el centro, lo que indica un proceso de nucleación altamente controlado facilitado por la reducción extrema en la tasa de evaporación.

Por otro lado, las proteínas desnaturalizadas muestran patrones similares en morfología general, pero con características distintivas asociadas a su pérdida de estabilidad conformacional. A 20 % RH, las dendritas se distribuyen en toda la superficie, acompañadas de fracturas internas inducidas por tensiones acumuladas durante el secado. A 40 % RH, las dendritas son más definidas y se extienden hacia el centro, pero las fracturas permanecen visibles, reflejando un equilibrio inestable entre redistribución del soluto y tensiones internas. A 60 % RH, las fracturas se atenúan y las dendritas se densifican, indicando mayor estabilidad estructural debido a una evaporación más moderada. A 90 % RH, los patrones cristalinos se organizan de manera uniforme, con estructuras ramificadas distribuidas homogéneamente, resultado de la relajación progresiva de tensiones durante un secado lento.

Los correspondientes perfiles de intensidad radial se muestran en la Figura.2.31



Figura 2.30: Depósitos de proteína nativa e irradiada UV-A a diferentes condiciones de RH con alta concentración de NaCl. Depósitos compuestos por 1 wt% de BSA y 1 wt% de NaCl. Las filas corresponden a depósitos de proteínas nativas e irradiadas. Las columnas corresponden a las diferentes RH. Las barras negras representan 0.5 mm.

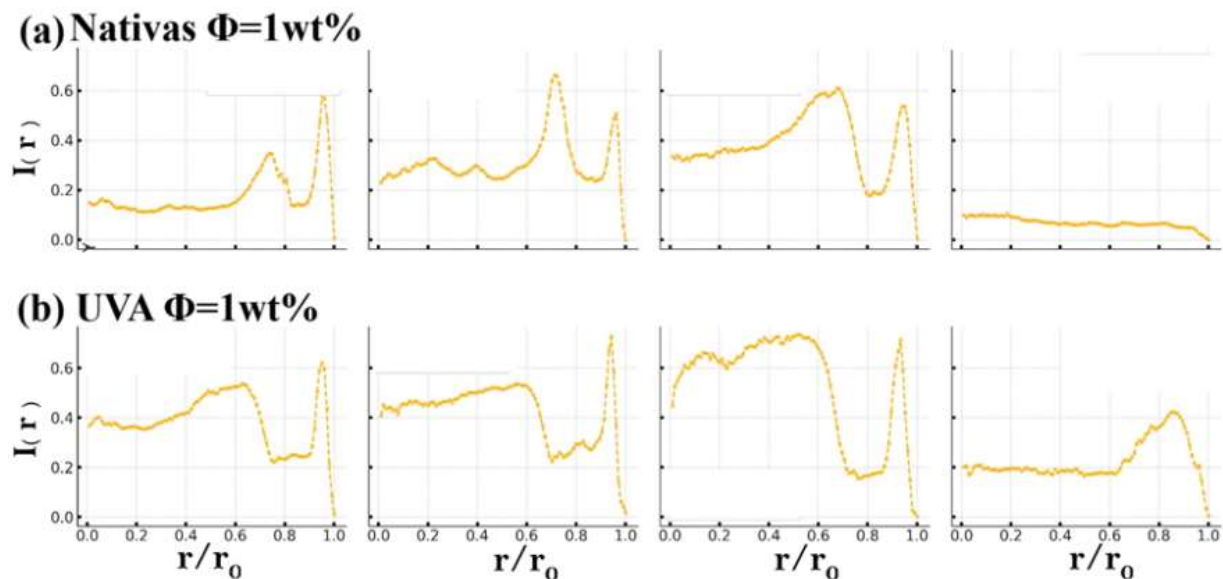


Figura 2.31: Perfiles de intensidad radial de depósitos de proteína nativa e irradiada. Los gráficos representan los perfiles de intensidad radial normalizada $I(r)$ en función de la posición radial relativa r/r_0 , para depósitos con alta concentración $\Phi = 1 \text{ wt} \%$.

La Figura 2.32 muestra los patrones de deposición formados en gotas secas de soluciones proteicas $\Phi = 0.1$ wt % en dos estados conformacionales, nativo y desnaturalizado, tras exposición a radiación UV-A. En el estado nativo, se observa una transición morfológica progresiva influenciada por la RH. A 20 % RH, los depósitos exhiben un “anillo de café” periférico, resultado de flujos convectivos dominantes, acompañado por agregados centrales dispersos. Con 40 % RH, los patrones son menos definidos, evidenciando una interacción entre flujos convectivos y difusivos que promueve una redistribución parcial del soluto. A 60 % RH, emergen dendritas cristalinas interconectadas, atribuibles a una nucleación ordenada favorecida por tasas moderadas de evaporación. A 90 % RH, la superficie se homogeneiza en una textura amorfa, resultado de una evaporación lenta que permite la redistribución completa del soluto antes de su solidificación.

En contraste, las proteínas desnaturalizadas exhiben una dinámica distinta. A 20 % RH, los depósitos contienen fracturas internas superpuestas al anillo periférico, atribuidas a tensiones generadas por la pérdida de estabilidad conformacional. A 40 % RH, las fracturas forman una malla uniforme, reflejando cierta reorganización del material antes de solidificarse. A 60 % RH, el soluto se concentra hacia el centro, con patrones fracturados y ausencia de estructuras cristalinas, indicativos de una distribución restringida del material. A 90 % RH, los depósitos muestran una superficie amorfa con líneas delgadas homogéneas, resultado de la relajación de tensiones internas y redistribución uniforme durante la evaporación prolongada. El perfil de intensidad radial confirma esta distribución de masa, ver Fig. [2.33](#)

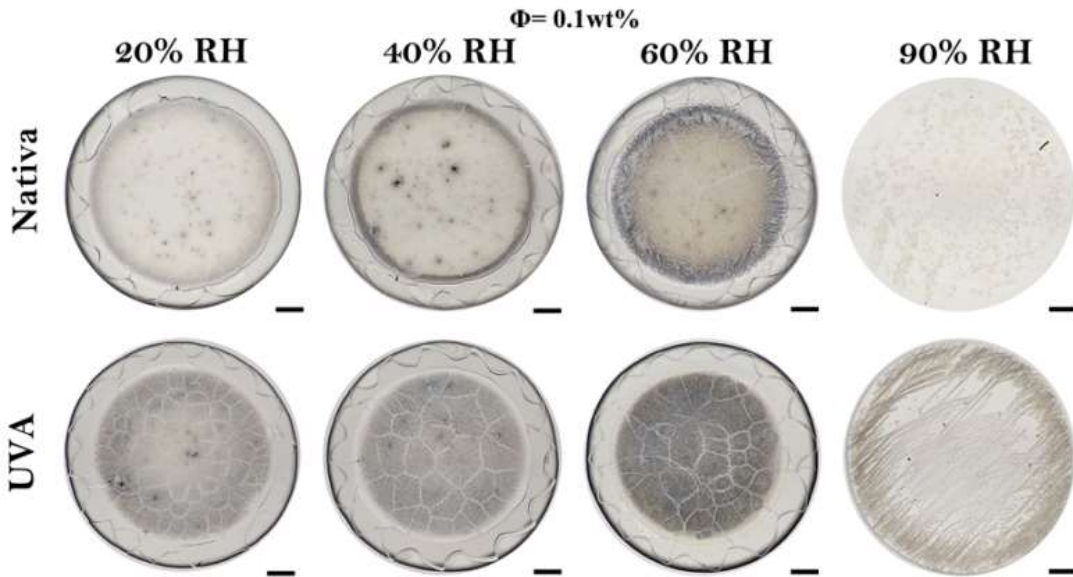


Figura 2.32: Depósitos de proteína nativa e irradiada UV-A a diferentes condiciones de RH con baja concentración de NaCl. Depósitos compuestos por 1 wt% de BSA y 0.1 wt% de NaCl. Las filas corresponden a depósitos de proteínas nativas e irradiadas. Las columnas corresponden a las diferentes RH. Las barras negras representan 0.5 mm.

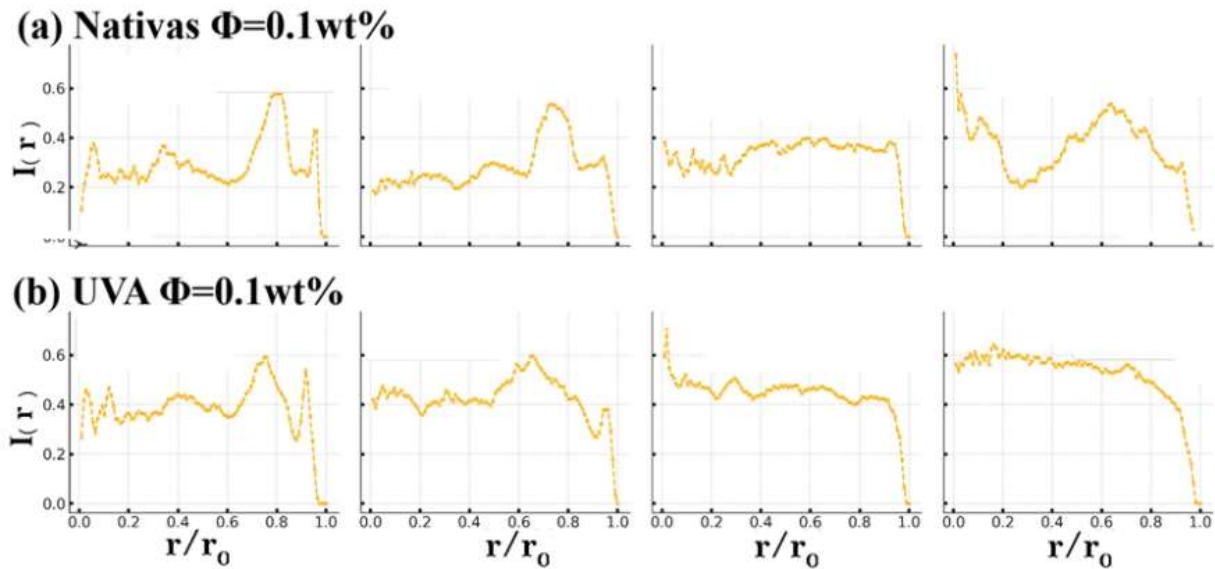


Figura 2.33: Perfiles de intensidad radial de depósitos de proteína nativa e irradiada. Los gráficos representan los perfiles de intensidad radial normalizada $I(r)$ en función de la posición radial relativa r/r_0 , para depósitos con alta concentración $\Phi = 0.1 \text{ wt} \%$.

Capítulo 3

Discusión y Conclusión

En el presente estudio, se investigó la formación de patrones en los depósitos de gotas secas de soluciones proteicas nativas y desnaturalizadas (con 1.0wt % y 0.1wt % de NaCl) bajo diferentes condiciones de humedad relativa (HR). Independientemente de la humedad relativa, las proteínas nativas tienden a formar estructuras más cristalinas y definidas, mientras que las proteínas desnaturalizadas muestran una mayor tendencia a formar agregados. Sin embargo, los resultados indican que la morfología y distribución de los depósitos están fuertemente influenciadas por la HR, reflejando procesos complejos de nucleación y agregación, así como mecanismos de transporte de líquidos y evaporación. Los depósitos de proteínas nativas y desnaturalizadas muestran estructuras cristalinas bien definidas con patrones de “anillo de café”, donde las proteínas nativas exhiben cristales en forma de aguja y estructuras dendríticas, mientras que las proteínas desnaturalizadas presentan agregados entrelazados y crisoles con helechos dispersos. A medida que la HR aumenta al 60 %, los depósitos de proteínas nativas desarrollan una abundancia de cristales en forma de helecho y dendritas, mientras que los depósitos de proteínas desnaturalizadas permanecen altamente desorganizados con estructuras rugosas y amorfas en el centro. Finalmente, a 90 % HR, los depósitos de proteínas nativas muestran una organización densa de cristales dendríticos a través de la superficie, y los depósitos de proteínas desnaturalizadas exhiben un patrón uniforme y amorfo con cristales delgados dispersos.

El análisis de $I(r)$ demuestra que una humedad relativa (HR) del 20 % discrimina de manera más eficiente entre los depósitos de proteínas en el estado nativo y desnaturalizado,

presentando los valores más altos en el error absoluto medio (MAE), el error cuadrático medio (MSE) y la raíz del error cuadrático medio (RMSE), junto con una correlación negativa moderada (Tabla 1). En contraste, a 90 % HR, las diferencias entre los depósitos disminuyen significativamente, mostrando los valores más bajos de MAE, MSE y RMSE, y la mejor correlación positiva, lo que indica que las diferencias morfológicas entre los estados nativos y desnaturalizados de las proteínas se atenúan a altas humedades relativas. Este comportamiento puede explicarse al considerar los mecanismos de evaporación y transporte de solutos en las gotas secas.

La red neuronal convolucional alcanzó una alta precisión en todas las condiciones de HR, con el mejor rendimiento a 20 % y 90 % HR, donde las diferencias morfológicas fueron más pronunciadas. En HR intermedias (40–60 %), una ligera disminución en la especificidad de clasificación sugiere un mayor solapamiento estructural entre los depósitos nativos y desnaturalizados, probablemente debido a una mayor redistribución de solutos. Estos hallazgos coinciden con el análisis de $I(r)$, que también muestra que una HR más baja mejora la diferenciación de patrones, mientras que una alta HR promueve la homogeneidad morfológica. El fuerte acuerdo entre la clasificación computacional y el análisis experimental de patrones demuestra el potencial del aprendizaje automático para automatizar la caracterización de depósitos, especialmente en aplicaciones de control de calidad donde la precisión y la reproducibilidad son críticas. Además, estos resultados sugieren que la humedad relativa no solo dicta la morfología de los depósitos a través de mecanismos impulsados por la evaporación, sino que también determina la eficacia de los enfoques computacionales para distinguir los estados de las proteínas.

A bajas humedades relativas, la evaporación de las gotas es rápida. Este proceso de evaporación rápida induce fuertes flujos convectivos dentro de la gota, promoviendo una acumulación de solutos en los bordes y formando el característico "anillo de café". Bajo estas condiciones, las diferencias en la conformación y agregación de proteínas nativas y desnaturalizadas son más pronunciadas. Las proteínas nativas, que mantienen su estructura tridimensional, tienden a formar estructuras cristalinas bien definidas, mientras que las proteínas desnaturalizadas, con su estructura alterada, forman agregados amorfos y estructuras menos organizadas. Esta evaporación rápida limita el tiempo disponible para

la redistribución de solutos, lo que resulta en una mayor heterogeneidad morfológica entre los depósitos de proteínas nativas y desnaturalizadas.

En contraste, a altas humedades relativas, la evaporación es mucho más lenta. Este proceso lento permite una mayor difusión de los solutos dentro de la gota, facilitando una redistribución más homogénea de los componentes. Bajo estas condiciones, la diferencia en el comportamiento de las proteínas nativas y desnaturalizadas se atenúa, ya que ambas tienen más tiempo para reorganizarse y cubrir todo el reservorio. Una alta HR reduce las tasas de evaporación y minimiza los gradientes de concentración dentro de la gota, lo que conduce a depósitos menos diferenciados en términos de su morfología. Además, una HR más alta puede favorecer la rehidratación parcial de las proteínas desnaturalizadas, lo que reduce la agregación amorfa y permite una estructura más uniforme. Este fenómeno explica por qué a 90% HR, las diferencias entre los depósitos de proteínas nativas y desnaturalizadas son menos pronunciadas, con valores más bajos de MAE, MSE y RMSE, y una mejor correlación positiva.

La alta reproducibilidad de los depósitos indica que el proceso de formación de patrones es extremadamente robusto y tolerante a variaciones en el ángulo de contacto. Esta robustez reduce significativamente el riesgo de defectos en el recubrimiento final. Además, la ausencia de diferencias significativas en el tiempo de secado de las gotas con proteínas nativas y desnaturalizadas asegura la estandarización del proceso de fabricación de recubrimientos. Por lo tanto, la formación de patrones a baja humedad relativa garantiza recubrimientos de mayor calidad y reproducibilidad en un tiempo más corto, lo que hace de esta condición la ideal para procesos de fabricación.

A pesar de los hallazgos significativos, este estudio tiene ciertas limitaciones. En primer lugar, la investigación se centró solo en dos tipos de proteínas (nativas y desnaturalizadas) y en dos concentraciones de NaCl. La inclusión de una mayor variedad de proteínas y concentraciones podría proporcionar una visión más completa de cómo estos factores influyen en la formación de patrones. Además, el estudio se realizó sobre un solo tipo de sustrato, temperatura y volumen inicial de gota. El trabajo futuro podría considerar explorar estas variables.

3.1. Conclusión

En conclusión, este estudio esclarece el papel crítico de la humedad relativa en la regulación de la formación de patrones de deposición de BSA en los estados nativo y desnaturalizado. Nuestros hallazgos demuestran que la humedad relativa influye significativamente en la dinámica de nucleación, el comportamiento de agregación y los mecanismos de transporte de solutos, modelando en última instancia la morfología del depósito final. A niveles bajos de HR, las soluciones de proteínas nativas acumulan preferentemente material en la periferia, impulsadas por la rápida evaporación y los efectos mejorados del anillo de café, mientras que las proteínas desnaturalizadas exhiben patrones morfológicos distintivos. Se observan mayores diferencias entre los depósitos nativos y desnaturalizados a menor HR, ya que la rápida evaporación amplifica la heterogeneidad en la distribución de solutos. Además, las condiciones de baja HR reducen los tiempos de evaporación, haciendo que el proceso sea más eficiente en tiempo y ideal para aplicaciones que requieren una formación de patrones más rápida.

El análisis cuantitativo de los perfiles de intensidad radial ($I(r)$) subraya estas tendencias, revelando una disminución consistente de las diferencias entre los depósitos nativos y desnaturalizados a medida que la HR aumenta. A niveles más altos de HR, la evaporación más lenta promueve una redistribución más uniforme de las partículas, reduciendo las diferencias y dando lugar a patrones con mayor similitud. Además, el modelo de red neuronal convolucional demostró un rendimiento robusto al clasificar los depósitos en todas las condiciones de HR, manteniendo una alta precisión a pesar de las variaciones en la distribución de solutos. El rendimiento de la clasificación fue óptimo a 20 % y 90 % HR, donde los depósitos exhibieron morfologías bien definidas, alcanzando niveles de precisión de 99-100 %. A niveles intermedios de humedad (40–60 % HR), se observó una ligera reducción en la especificidad de la clasificación, probablemente debido a un mayor solapamiento morfológico. Estos resultados validan la efectividad de los enfoques de aprendizaje profundo para distinguir los estados de las proteínas y destacan su potencial para la caracterización automatizada de las estructuras de los depósitos.

En general, los resultados sugieren que los niveles bajos de HR mejoran el contraste

morfológico y reducen significativamente el tiempo de evaporación, lo que ofrece ventajas para aplicaciones sensibles al tiempo. Por otro lado, las condiciones de HR más altas mejoran la homogeneidad y reproducibilidad, proporcionando caminos para optimizar los procesos de recubrimiento de proteínas para aplicaciones industriales y biomédicas donde la uniformidad es crítica.

Capítulo 4

Productos científicos

Publicaciones

Se elaborará un manuscrito que será puesto bajo consideración para su publicación, donde seré primer autor, es resultado de mi tesis de maestría: “Role of Relative Humidity in Protein Coating Processes” [4](#)

Participación en eventos científicos

Durante el desarrollo de este trabajo se participó en eventos científicos. Se participo en el XIV Congreso Nacional y IV Internacional de Tecnología Aplicada a Ciencias de la Salud; con el trabajo titulado “Presión de vapor en gotas secas: Avances en la detección de cambios conformacionales en proteína”. También participé en los talleres Red de la Materia Condensada Blanda 2023 y se participo en una exposición científica y cultural “Las reliquias del agua” Noviembre-Diciembre 2024 en el centro cultural Teatro Garcia Carrillo, Saltillo, Coahuila de Zaragoza. [4](#)

Role of Relative Humidity in Protein Coating Processes

Iris G. Velasco-Terán,[†] Monserrat Ancheyta-Palacios,[†] Mario Castelán,[‡] Yojana J. P. Carreón,^{*,†,¶} and Jorge González-Gutiérrez^{*,†}

[†]Facultad de Ciencias en Física y Matemáticas Universidad Autónoma de Chiapas, Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México

[‡]Robotics and Advanced Manufacturing, Center for Research and Advanced Studies of the National Polytechnic Institute, 25900 Ramos Arizpe, Mexico.

[¶]CONAHCYT, México City 03940, México

E-mail: *yojana.carreon@unach.mx; *jorge.ggutierrez@unach.mx

Total number of words: ****, tables: ***, and figures:****.

Abstract

The influence of relative humidity on droplet drying dynamics and pattern formation is critical to manufacturing coatings. This study examines the formation of patterns in dried droplets of native and denatured protein solutions under various relative humidities (20%, 40%, 60%, and 90%) with NaCl concentrations of 1 wt% and 0.1 wt%. The aim is to identify the relative humidity conditions that most effectively distinguish between native and denatured protein deposits. Optical microscopy revealed that at low relative humidities (20% and 40%), rapid evaporation intensifies the 'coffee ring' effect, whereas higher humidities (60%–90%) promote slower evaporation, facilitating homogeneous solute redistribution and the formation of complex, organized crystalline structures on the deposit surface. Denatured proteins can exhibit



40 IBERO

T

CONAHCYT

ICAT

BUAP

UPAEP

UASLP

El Comité Organizador del XIV Congreso Nacional y
IV Internacional de Tecnología Aplicada a Ciencias
de la Salud otorga la presente

CONSTANCIA

a:

Iris Gabriela Velasco Terán, Yojana Jautzi Carreón Herrera,
Jorge González Gutiérrez

por su valiosa participación con la presentación del cartel intitulado

**"PRESIÓN DE VAPOR EN GOTAS SECAS: AVANCES EN LA DETECCIÓN
DE CAMBIOS CONFORMACIONALES EN PROTEÍNA"**


 Mtra. Ana Mbreno Hernández
 Presidente del Comité Organizador Local,
 IBERO - PUEBLA


 Dr. Eduardo Tepichín Rodríguez
 Presidente del Comité Organizador Nacional,
 INAOE



**El Comité del Simposio de Química Aplicada a
Materiales 2024**

Agradece su participación a:

Iris Gabriela Velasco Terán, Yojana J. Carreon-Herrera y Jorge
Gonzales-Gutierrez

Por el trabajo titulado:

“Impacto de la presión de vapor en la detección de cambios
conformacionales en gotas secas de proteína”

en modalidad *póster virtual* el día 19 de septiembre de 2024



Dra. Mayeli Estrada Villegas
Coordinación General SQAM

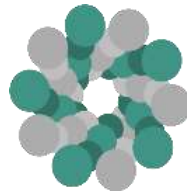


Dr. Ariad Espinosa Roa
Coordinación General SQAM

<https://www.sqam.org.mx>



<https://www.mexicansoftmatter.mx/>



Red de la Materia Condensada Blanda

A quien corresponda:

En nombre del Comité Técnico Académico (CTA) de la Red de la Materia Condensada Blanda (RMCB), hago constar que

Iris Gabriela Velasco Terán

Universidad autónoma de Chiapas

participó en los talleres de la Reunión General de la RMCB en su edición 2023, que se llevaron a cabo del 29 de Noviembre al 1 de Diciembre del 2023 de forma virtual con una duración de 9 horas.

Agradeciendo su atención quedo a sus órdenes para cualquier aclaración.

Atentamente

Dr. Erick Sarmiento Gómez
Coordinador de la Red de Materia Condensada Blanda



El Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, Unidad Saltillo; el Instituto Municipal de Cultura de Saltillo y la Secretaría de Cultura de Coahuila otorgan el presente

RECONOCIMIENTO


a:

Iris Gabriela Velasco Terán

Por su valiosa contribución a la fusión entre ciencia, arte visual y poesía, mediante el registro de una **gota seca de proteína albúmina sérica bovina**, en la exposición científica y cultural **Las reliquias del agua**, llevada a cabo del 8 de noviembre al 31 de diciembre de 2024, en el Centro Cultural Teatro García Carrillo, en la ciudad de Saltillo, Coahuila de Zaragoza.


Dr. Francisco Alfredo García Pastor
Director del Cinvestav,
Unidad Saltillo


Lic. Leticia Rodarte Rangel
Directora del Instituto Municipal
de Cultura de Saltillo


Lic. Esther Quintana Salinas
Secretaría de Cultura de Coahuila

Saltillo, Coahuila, a 8 de noviembre de 2024

Bibliografía

- [1] Anusuya Pal, Amalesh Gope, and Anupam Sengupta. Drying of bio-colloidal sessile droplets: Advances, applications, and perspectives. *Advances in Colloid and Interface Science*, 314:102870, 2023.
- [2] Monserrat Ancheyta-Palacios, Iris G Velasco-Terán, Yojana JP Carreón, and Jorge González-Gutiérrez. Dried droplets of diluted blood to detect a high concentration of lipids. *Processes*, 11(7):2047, 2023.
- [3] Laura A Arévalo, Stephen A O'Brien, Olga Antonova, and Andreas Seifert. Drying patterns of cerebrospinal fluid as indicator for alzheimer's disease by a machine learning framework. In *Journal of Physics: Conference Series*, volume 2407, page 012027. IOP Publishing, 2022.
- [4] Anusuya Pal, Amalesh Gope, and Germano S Iannacchione. Statistical image analysis of drying bovine serum albumin droplets in phosphate buffered saline. *Biomedical Data Mining for Information Retrieval: Methodologies, Techniques and Applications*, pages 213–235, 2021.
- [5] Anusuya Pal, Amalesh Gope, Ari S Athair, and Germano S Iannacchione. A comparative study of the drying evolution and dried morphology of two globular proteins in de-ionized water solutions. *RSC advances*, 10(29):16906–16916, 2020.
- [6] Anusuya Pal, Anupam Sengupta, and Miho Yanagisawa. Role of motility and nutrient availability in drying patterns of algal droplets. *Scientific Reports*, 14(1):23481, 2024.

- [7] Yojana JP Carreón, Orlando Díaz-Hernández, Gerardo J Escalera Santos, Ivan Cipriano-Urbano, Francisco J Solorio-Ordaz, Jorge González-Gutiérrez, and Roberto Zenit. Texture analysis of dried droplets for the quality control of medicines. *Sensors*, 21(12):4048, 2021.
- [8] Jing Yin, Guangwei Wang, Xianwen Zhang, Zhushanying Zhang, Yuan Gao, Wenchao Pan, and Huimin Cao. Advances in fourier infrared spectroscopy for noninvasive diagnosis of diabetes mellitus: Analysis and prospects for application based on blood, urine and saliva samples. *Microchemical Journal*, page 111764, 2024.
- [9] Leila Bahmani, Mahdi Neysari, and Maniya Maleki. The study of drying and pattern formation of whole human blood drops and the effect of thalassaemia and neonatal jaundice on the patterns. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 513:66–75, 2017.
- [10] Xiaolei Ma, Zhengyang Liu, Wei Zeng, Tianyi Lin, Xin Tian, and Xiang Cheng. Crack patterns of drying dense bacterial suspensions. *Soft Matter*, 18(28):5239–5248, 2022.
- [11] Maria Olga Kokornaczyk, Carlos Acuña, Alfonso Mier y Terán, Mario Castelán, and Stephan Baumgartner. Vortex-like vs. turbulent mixing of a viscum album preparation affects crystalline structures formed in dried droplets. *Scientific Reports*, 14(1):12965, 2024.
- [12] Eunsik Choi, Suwon Choi, Kunsik An, and Kyung-Tae Kang. Deep learning-based inkjet droplet detection for jetting characterizations and multijet synchronization. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 16(14):18040–18051, 2024.
- [13] Hua Hu and Ronald G Larson. Marangoni effect reverses coffee-ring depositions. *The Journal of Physical Chemistry B*, 110(14):7090–7094, 2006.
- [14] Robert D Deegan, Olgica Bakajin, Todd F Dupont, Greb Huber, Sidney R Nagel, and Thomas A Witten. Capillary flow as the cause of ring stains from dried liquid drops. *Nature*, 389(6653):827–829, 1997.

- [15] Tim Still, Peter J Yunker, and Arjun G Yodh. Surfactant-induced marangoni eddies alter the coffee-rings of evaporating colloidal drops. *Langmuir*, 28(11):4984–4988, 2012.
- [16] Robert D Deegan, Olgica Bakajin, Todd F Dupont, Greg Huber, Sidney R Nagel, and Thomas A Witten. Contact line deposits in an evaporating drop. *Physical review E*, 62(1):756, 2000.
- [17] Hyoungsoo Kim, François Boulogne, Eujin Um, Ian Jacobi, Ernie Button, and Howard A Stone. Controlled uniform coating from the interplay of marangoni flows and surface-adsorbed macromolecules. *Physical review letters*, 116(12):124501, 2016.
- [18] D Kaya, VA Belyi, and M Muthukumar. Pattern formation in drying droplets of polyelectrolyte and salt. *The Journal of chemical physics*, 133(11), 2010.
- [19] Jean-Baptiste Salmon, Frédéric Doumenc, and Béatrice Guerrier. Humidity-insensitive water evaporation from molecular complex fluids. *Physical Review E*, 96(3):032612, 2017.
- [20] A Manzur and J Cardoso. Velocidad de evaporación del agua. *Revista mexicana de física E*, 61(1):31–34, 2015.
- [21] Florence Gibouin, Dharshana Nalatomby, Pierre Lidon, and Yaocihuatl Medina-Gonzalez. Molecular rotors for in situ viscosity mapping during evaporation of confined fluid mixtures. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 16(6):8066–8076, 2024.
- [22] Kutbay Sezen and Afsin Gungor. Water droplet evaporation in atmospheric air stream. *Physics of Fluids*, 35(1), 2023.
- [23] James F Davies, Rachael EH Miles, Allen E Haddrell, and Jonathan P Reid. Temperature dependence of the vapor pressure and evaporation coefficient of supercooled water. *Journal of Geophysical Research: Atmospheres*, 119(18):10–931, 2014.
- [24] Dulli Chandra Agrawal and VJ Menon. Surface tension and evaporation: an empirical relation for water. *Physical Review A*, 46(4):2166, 1992.

- [25] Ghazal Biglari, Maedeh Saberi, Shervin Issakhani, Omid Jadidi, Jafar Farhadi, Vahid Bazargan, and Marco Marengo. Deposition patterns of evaporating sodium alginate sessile droplets cross-linked by calcium chloride. *Macromolecular Materials and Engineering*, 308(12):2300171, 2023.
- [26] Hanneke Gelderblom, Christian Diddens, and Alvaro Marin. Evaporation-driven liquid flow in sessile droplets. *Soft matter*, 18(45):8535–8553, 2022.
- [27] Biswajit Roy, Moutushi Dutta Choudhuri, Tapati Dutta, and Sujata Tarafdar. Multi-scale patterns formed by sodium sulphate in a drying droplet of gelatin. *Applied Surface Science*, 357:1000–1006, 2015.
- [28] Mengmeng Wu, Xingkun Man, and Masao Doi. Multi-ring deposition pattern of drying droplets. *Langmuir*, 34(32):9572–9578, 2018.
- [29] Lijun Thayyil Raju, Christian Diddens, Yaxing Li, Alvaro Marin, Marjolein N van der Linden, Xuehua Zhang, and Detlef Lohse. Evaporation of a sessile colloidal water-glycerol droplet: Marangoni ring formation. *Langmuir*, 38(39):12082–12094, 2022.
- [30] Anusuya Pal, Amalesh Gope, and Germano S Iannacchione. Exploring the pattern formation of lysozyme drying droplets in phosphate buffer saline solution. *arXiv preprint arXiv:2105.05945*, 2021.
- [31] Yojana JP Carreón, Mary Luz Gómez-López, Orlando Díaz-Hernández, Pamela Vazquez-Vergara, Rosario E Moctezuma, José M Saniger, and Jorge González-Gutiérrez. Patterns in dried droplets to detect unfolded bsa. *Sensors*, 22(3):1156, 2022.
- [32] Vera A Borzova, Kira A Markossian, Natalia A Chebotareva, Sergey Yu Kleymenov, Nikolay B Poliansky, Konstantin O Muranov, Vita A Stein-Margolina, Vladimir V Shubin, Denis I Markov, and Boris I Kurganov. Kinetics of thermal denaturation and aggregation of bovine serum albumin. *PloS one*, 11(4):e0153495, 2016.

- [33] Anusuya Pal and Miho Yanagisawa. Pattern recognition of drying lysozyme–glucose droplets using machine learning classifiers. *Physica A: Statistical Mechanics and its Applications*, 654:130141, 2024.
- [34] Safoura Vaez, Bahar Dadfar, Meike Koenig, Matthias Franzreb, and Joerg Lahann. Deep learning-based classification of histone–dna interactions using drying droplet patterns. *Small Science*, 4(11):2400252, 2024.
- [35] Carlos Acuña, Maria Olga Kokornaczyk, Stephan Baumgartner, and Mario Castellán. Unsupervised deep learning approach for characterizing fractality in dried drop patterns of differently mixed viscum album preparations. *Fractal and Fractional*, 7(10):733, 2023.
- [36] Carlos Acuña, Alfonso Mier y Terán, Maria Olga Kokornaczyk, Stephan Baumgartner, and Mario Castellán. Deep learning applied to analyze patterns from evaporated droplets of viscum album extracts. *Scientific Reports*, 12(1):15332, 2022.