

# EFFECTO DE LA ADICIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE ORO UTILIZANDO SÍNTESIS VERDE Y QUÍMICA EN PELÍCULAS DE ALGINATO DE SODIO

Vargas-Galina, Nuria Y.<sup>1</sup>; Hernández-Cázares, A.S.<sup>1</sup>; Real-Luna, N.<sup>1</sup>; Rojas-López, M.<sup>3</sup>; Hidalgo-Contreras, J.V.<sup>1</sup>; Ríos-Corripio, M.A.<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Colegio de Postgraduados Campus Córdoba. Carretera Federal Córdoba – Veracruz km 348, Amatlán de los Reyes, Veracruz, México. C.P. 94953.

<sup>2</sup>CONACYT- Colegio de Postgraduados Campus Córdoba. Carretera Federal Córdoba – Veracruz km 348, Amatlán de los Reyes, Veracruz, México. C.P. 94953.

<sup>3</sup>Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada. Ex-Hacienda San Juan Molino Carretera Estatal Tecuexcomac-Tepetitla km 1.5 Tlaxcala, México C.P. 90700.

## RESUMEN

Se prepararon películas biodegradables a base de alginato de sodio y glicerol como plastificante, incorporando nanopartículas de oro a diferentes concentraciones (1, 5 y 10 % v/v), sintetizadas por el método químico y método verde a partir de citrato de sodio y un extracto acuoso de pulpa de café como agente reductor. Se caracterizaron las películas a base de alginato de sodio con el objetivo de evaluar el efecto de la adición de las nanopartículas por síntesis química y nanopartículas por síntesis verde sobre propiedades físicas, mecánicas, de barrera, estructurales y antioxidantes. La presencia de las nanopartículas por síntesis química y nanopartículas por síntesis verde sobre las películas a base de alginato de sodio produce un cambio sobre las propiedades físicas, mecánicas, de barrera y estructurales. Además, la adición de nanopartículas por síntesis verde dotó a las películas de actividad antioxidante y se observó un aumento directamente proporcional a la concentración de nanopartículas por síntesis verde adicionadas. Los resultados plantean el uso de las nanopartículas como una innovación prometedora ya que tienen el potencial de mejorar las propiedades de las películas a base de alginato de sodio para su aplicación como película activa en empaques de productos alimenticios.

Palabras clave: películas activas, AuNPs, pulpa de café, alginato de sodio, propiedades mecánicas.

## ABSTRACT

Biodegradable films based on sodium alginate and glycerol as plasticizer were prepared, incorporating gold nanoparticles at different concentrations (1, 5 and 10% v/v), synthesized by the chemical method and the green method from sodium citrate and an aqueous extract of coffee pulp as a reducing agent. Films based on sodium alginate were characterized to evaluate the effect of the addition of nanoparticles by chemical synthesis and nanoparticles by green synthesis on physical, mechanical, barrier, structural and antioxidant properties. The presence of nanoparticles by chemical synthesis and nanoparticles by green synthesis on the sodium alginate-based films produces a change in the physical, mechanical, barrier and structural properties. In addition, the addition of nanoparticles by green synthesis provided the films with antioxidant activity and an increase directly proportional to the concentration of nanoparticles by green synthesis added was observed. The results suggest the use of nanoparticles as a promising innovation since they have the potential to improve the properties of sodium alginate-based films for their application as active film in food product packaging.

Keywords: active films, AuNPs, coffee pulp, sodium alginate, mechanical properties.

## 1. INTRODUCCIÓN

El empaque juega un papel importante en la conservación, distribución y comercialización de los productos alimenticios, algunas de sus funciones son proteger el producto de daños mecánicos, actividades físicas, químicas y microbiológicas; sin embargo, después que el alimento es consumido el empaque es desechado, al ser de plástico convencional que se obtiene a partir del petróleo tarda mucho tiempo en degradarse lo que genera acumulación y contaminación al ambiente. Como respuesta a esta problemática surgen los materiales biodegradables. Un ejemplo de ello son las películas biodegradables (PB) que son aquellos materiales que cuando son expuestos a condiciones determinadas de humedad, flora microbiana y oxígeno son transformados en sustancias sencillas (agua y CO<sub>2</sub>) y biomasa. Las unidades estructurales de las que se componen se conocen como biopolímeros y se obtienen principalmente de materias primas renovables de origen animal, vegetal o microbiano y existen como polisacáridos (alginato, pectina, almidones) y proteínas (suero, caseína, colágeno o proteína hidrolizada). Entre los biopolímeros más utilizados se encuentra el alginato de sodio, una sal de ácido algínico que se extrae de algas pardas (Siddhesh y Edgar, 2011). Este biopolímero permite obtener películas con buena elasticidad, transparentes, buenas propiedades de barrera y baja permeabilidad a aceites y oxígeno (Oliveira et al., 2018). Una funcionalidad importante de las PB es su habilidad para incorporar ingredientes activos como antimicrobianos, antioxidantes, vitaminas, prebióticos y probióticos con el objetivo de mejorar propiedades específicas como cambiar las condiciones del alimento, extender la vida de anaquel, mejorar la seguridad microbiológica o las propiedades sensoriales, además de monitorear y ofrecer información acerca de la calidad durante el transporte y el almacenamiento (Puligundla et al., 2012), que las convierten en películas activas. Por otra parte, la evaluación de las propiedades mecánicas es importante porque envases frágiles son inapropiados para el correcto almacenamiento de alimentos. Pagno et al. (2015) menciona que la presencia de nanopartículas de plata produce una mejora en las propiedades mecánicas, ópticas y morfológicas, manteniendo las propiedades térmicas y de barrera sin cambios en comparación con la película estándar. Sin embargo, hasta donde sabemos, el desarrollo de películas a base de alginato de sodio (PC) incorporadas con nanopartículas de oro (AuNPs) no ha sido descrito previamente. Además, se ha encontrado que las AuNPs obtenidas por síntesis verde (AuNPsV) pueden poseer algunas de las ventajas y propiedades conferidas por moléculas orgánicas contenidas en los extractos químicos de las plantas tales como compuestos antioxidantes antiinflamatorios, antibacterianos, entre otras moléculas con actividad biológica (Katas et al., 2019). En este contexto la pulpa de café (*Coffea arabica*) contiene compuestos fenólicos y derivados como el ácido clorogénico, cafeico

y ferúlico (Keijok et al., 2019) que sirven como agentes reductores para la síntesis de AuNPs y, además se contribuye en la reducción de este residuo agroindustrial (Bonilla-Nepomuceno et al., 2021). La adición de estos nanomateriales convierte a estas películas a base de alginato de sodio en un sistema innovador para contribuir a la preservación de la calidad de los alimentos. Esta investigación tuvo como objetivo desarrollar PC, así como evaluar el efecto sobre propiedades físicas, mecánicas, de barrera, estructurales y antioxidantes por la adición de nanopartículas de oro por síntesis química (AuNPsQ) y AuNPsV.

## 2. CALIDAD DE PROTEÍNAS

### 2.1. Materiales

Para la elaboración de las PC se utilizó alginato de sodio grado alimenticio (Sigma, St. Louis MO, USA), glicerol como plastificante (Monarca Aditivos, México), cloruro de calcio como agente reticulante (Meyer, México). Para la síntesis de AuNPs se utilizó ácido tetracloroáurico (HAuCl<sub>4</sub>) de Sigma Aldrich® (Toluca, México), citrato de sodio de Sigma Aldrich® (Toluca, México) y pulpa de café de Huatusco, Veracruz, México, como agentes reductores.

### 2.2. Síntesis química y verde de AuNPs

La obtención de AuNPsQ se llevó a cabo por el método de reducción química (Hermanson, 2008). Se añadió 0.5 mL de HAuCl<sub>4</sub> al 4% a 200 mL de agua destilada y la solución se llevó a ebullición en agitación constante. Una vez que la solución llegó a 97 °C, se agregó citrato de sodio al 1%. Después de 30 min, la reacción se completó y el color final de la solución fue rojo rubí, indicando la formación de las AuNPsQ. Después de enfriar la solución, las AuNPsQ se centrifugaron a 10,000 rpm durante 15 min, se eliminó el sobrenadante y las AuNPsQ se resuspendieron en 10 mL de agua destilada. La solución obtenida se almacenó en refrigeración a 4 °C hasta su uso.

La obtención de AuNPsV se realizó de acuerdo con la metodología establecida por Bonilla-Nepomuceno et al. (2021) siguiendo el método de oxidación-reducción, donde un extracto acuoso de pulpa de café (2 mg·mL<sup>-1</sup>) sirvió como agente reductor. La reacción consistió en calentar 200 mL de solución (extracto de pulpa de café) con agitación constante hasta alcanzar una temperatura de 95 °C, se añadió 1 mL de HAuCl<sub>4</sub> al 4% y después de 20 min la solución alcanzó el color rojo rubí que indica la formación de las AuNPsV. El almacenamiento fue similar a las AuNPsQ.

### 2.3 Caracterización de las AuNPs por espectrofotometría UV/Visible

Para medir la resonancia de plasmón superficial de las AuNPsQ y AuNPsV se utilizó un espectrómetro Thermo Scientific™ Evolution 300, se midió a una longitud de onda

de 190 a 900 nm.

### 2.4. Preparación de PC adicionadas con AuNPsQ y AuNPsV.

La elaboración de la PC se realizó mediante el método de casting (Escobar et al., 2009). La solución formadora de película (SFP) se elaboró disolviendo alginato al 1% p/v en agua destilada a 70 °C, se dejó en agitación constante por 30 min, se añadió glicerol al 1.5% v/v y se mantuvo en agitación por 30 min más. Las AuNPsQ y AuNPsV se añadieron a la SFP a diferentes concentraciones (1%, 5% y 10% v/v) en agitación constante por 30 min. Una vez que la temperatura descendió a 35-40 °C se sometió a vacío durante 20 min para eliminar las burbujas atrapadas en la solución. La SFP se vertió en placas de Petri (35 mL) y se colocaron en un deshidratador (Excalibur 4900, España) a 41 °C durante 16 h. Una vez obtenidas las películas se añadió 3 mL de cloruro de calcio al 1% para su reticulación, dejando secar por 15 min. Seis tipos de películas fueron producidas (película a base de alginato de sodio (PC), PC con AuNPsQ 1% (PAuNPsQ1%), PC con AuNPsQ 5% (PAuNPsQ5%), PC con AuNPsQ 10% (PAuNPsQ10%), PC con AuNPsV 1% (PAuNPsV1%), PC con AuNPsV 5% (PAuNPsV5%), PC con AuNPsV 10% (PAuNPsV10%). Todas las películas fueron acondicionadas en un desecador a 53% de humedad relativa hasta su análisis.

### 2.5 Caracterización de las PC con y sin AuNPs

#### 2.5.1. Espesor

El espesor se determinó con un micrómetro (Modelo 25, AMES, USA). Los valores promedio se calcularon utilizando 5 medidas para cada tipo de película en un punto diferente (mm).

#### 2.5.2. Color

El color se determinó con un colorímetro CR-400 Minolta Croma Meter (Konika Minolta, Valencia, España). Las diferentes películas se evaluaron utilizando la escala de colores CIELab: L\* = 0 (negro) a L\* = 100 (blanco), -a\* (verde), +a\* (enrojecimiento), -b\* (azul) y +b\* (amarillo). Para la calibración del equipo se utilizó una placa blanca estándar.

#### 2.5.3. Transparencia

La transparencia se midió con un espectrofotómetro UV-Vis (Genesys™ 10uv Scanning, Alemania) a 600 nm (Han y Floros, 1997). Las películas se cortaron en trozos rectangulares (4 x 1 cm) y se colocaron directamente en una celda de prueba para su lectura en el espectrofotómetro. Las mediciones se realizaron tomando como blanco el aire y se calculó con la ecuación (1):

$$\text{Transparencia} = A_{600} / \delta \quad \text{Ec.1}$$

Donde:  $A_{600}$  es la absorbancia y  $\delta$  es el espesor de la película (mm).

## 2.5.4 Propiedades de barrera

### 2.5.4.1 Contenido de humedad

El contenido de humedad se determinó con el método de Kurek et al. (2014). Se cortaron películas de 2 x 2 cm, se colocaron en charolas a peso constante, se pesaron y secaron en un horno durante 24 h a 105 °C. El contenido de humedad se determinó por la pérdida de peso de la película después del secado y se calculó con la ecuación (2):

$$\%CH = \frac{P_i - P_f}{P_i} \times 100 \quad \text{Ec. 2}$$

Donde:  $P_i$  es el peso inicial de la película,  $P_f$  es el peso de la película a peso constante.

### 2.5.4.2. Solubilidad en agua

La solubilidad se realizó en trozos de películas de 2 x 2 cm, secadas previamente en un horno a 105 °C a 24 h según el método establecido por Gontard et al. (1994), una vez obtenida la masa seca, las películas se sumergieron en 20 mL de agua destilada en agitación constante durante 24 h.

La solubilidad se expresó en porcentaje y se calculó con la siguiente ecuación (3):

$$\%S = \frac{S_i - S_f}{S_i} \times 100 \quad \text{Ec. 3}$$

Donde:  $S_i$  es el peso inicial de la película,  $S_f$  es el peso final de la película después de 24 h bajo agitación.

### 2.5.5. Permeabilidad al vapor de agua (PVA)

La PVA se realizó en base el método gravimétrico estándar E96M-16 (ASTM, 2010). Para ello se utilizaron pesa filtros de 3 cm de diámetro (PYREX®); en los cuales se colocaron 3 g de  $\text{CaCl}_2$  (Meyer, México, D.F.), y en la parte superior se colocó la película, que se sujetó con Parafilm. Los pesafiltros se colocaron dentro de un desecador que contenía una solución saturada de  $\text{MgCl}_2$  (33% de HR) a 25 °C. El agua transferida a través de la película se determinó a partir de la ponderación de 0.1 mg más cercano usando una balanza analítica. El pesafiltro se pesó cada 24 h por 5 d. La PVA se determinó de acuerdo con la siguiente ecuación (4 y 5):

$$VTVA = \left( \frac{g}{\text{hm}^2} \right) = \frac{G/t}{A} \quad \text{Ec. 4}$$

$$PVA = \left( \frac{g \text{ mm}}{\text{kPa h m}^2} \right) = \frac{VTVA}{\Delta P} \times e \quad \text{Ec. 5}$$

Donde:  $G/t$  es la pendiente de la línea recta (ganancia de peso vs tiempo, g/h),  $A$  es el área de la película (área de la abertura de la celda,  $\text{m}^2$ ),  $\Delta P$  es la diferencia de presiones de vapor (kPa) entre el cloruro de sodio y el cloruro de calcio,  $e$  es el espesor de la película (mm).

## 2.5.6. Propiedades mecánicas

Las propiedades mecánicas que se evaluaron fueron la fuerza tensil y elasticidad, según el método ASTM-D882 utilizando un texturómetro (Shimadzu EZ-S 500N, Japón). Las películas se cortaron en tiras rectangulares de 2 x 5 cm, se utilizó una separación inicial de 5 cm y una velocidad de 500 mm/min. La evaluación se realizó por triplicado.

### 2.5.7. Actividad antioxidante

Se evaluó la actividad antioxidante de la PC y PAuNPsV a diferentes concentraciones, se determinó con base al método 1,2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) descrito por Brand-Williams et al. (1995). Una muestra de 0.25 g de cada tipo de película se homogenizó con 10 mL de agua destilada en un vortex (Digital Vortex Mixer, USA), durante 10 s y se incubó durante 30 min a temperatura ambiente. Del extracto madre de la película se tomaron 0.25 mL y se aforó con 10 mL de agua destilada. De esta solución se tomó 1 mL, se mezcló con 3 mL de la solución DPPH (0.0039 g·100·mL<sup>-1</sup> de etanol), se agitó vigorosamente durante 10 s y se mantuvo en oscuridad por 30 min. Posteriormente, la mezcla se midió a 517 nm con un espectrofotómetro UV - Visible (Thermo Scientific, GENESYS 10S; Madison, Wisconsin, USA). La actividad antioxidante se calculó utilizando la ecuación (6):

$$I (\%) = \frac{1 - A_s}{A_c} \times 100 \quad \text{Ec. 6}$$

Donde:  $I$  es la inhibición (%),  $A_s$  representa la absorbancia de la muestra y  $A_c$  la absorbancia del blanco, disolución de muestra y agua sin DPPH.

### 2.5.8. Espectroscopia infrarroja

La caracterización estructural de los diferentes tipos de películas se determinó con un espectrofotómetro infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR) (Bruker, Vertex; Billerica, Massachusetts, USA) por el método de muestreo Reflectancia Total Atenuada (ATR). Los espectros de cada tratamiento se obtuvieron por triplicado y se promediaron. Se utilizaron 64 barridos con una resolución de 4  $\text{cm}^{-1}$  en la región espectral de 4000-400  $\text{cm}^{-1}$ . Para el análisis de los espectros se utilizó el programa Origin 6.1 (OriginLab Corporation; Northampton, Massachusetts, USA).

## 2.6 Análisis estadístico

Los datos se sometieron a un análisis de varianza de una vía (ANOVA) utilizando el software estadístico SAS® (Statistical Analysis System, USA). La comparación de medias se realizó con la prueba Tukey a un nivel de significancia de  $p \leq 0.05$ . Los análisis se realizaron por triplicado y los resultados se expresaron como media  $\pm$  desviación estándar.

## 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.1 Caracterización de las AuNPs por espectrofotometría UV/Visible

La Figura 1 muestra los espectros UV / Visible de las AuNPs obtenidas por los dos tipos de agentes reductores (citrato de sodio y extracto de pulpa de café). La oscilación colectiva de electrones en los espectros incluye una banda única y fuerte (indicativo de forma esférica) a 518 nm para las AuNPsQ y en 526 nm para la AuNPsV. Siguiendo la metodología de Haiss et al. (2007) se determinaron tamaños de 15 nm (AuNPsQ) y 20 nm (AuNPsV). El espectro de las AuNPsV muestra además una banda en la región de 200-300 nm que es causada por la absorción de compuestos fenólicos específicamente flavonoides (Cala et al., 2007), la pulpa de café contiene flavonoides, ácidos fenólicos lo que indica que estos compuestos forman parte de las AuNPsV.

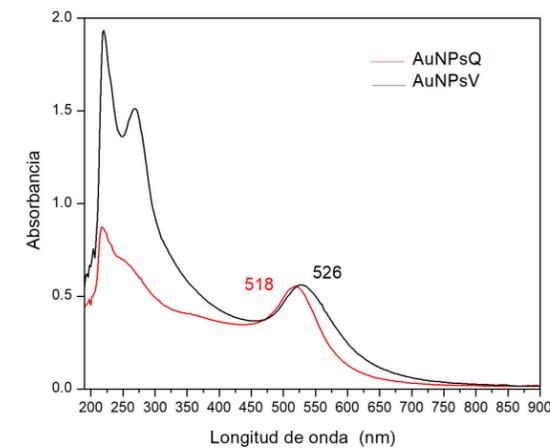


Figura 1. Espectro UV/Visible de AuNPsQ y AuNPsV

### 3.2 Obtención de PC adicionadas con AuNPsQ y AuNPsV

Las PC, PAuNPsQ y PAuNPsV a diferentes concentraciones se muestran en la Figura 2. En cuanto a su apariencia física para todas las películas su superficie fue uniforme sin presencia de poros o grietas. En cuanto al color, visualmente la PC era transparente, sin embargo, PAuNPsV y PAuNPsQ se tornaron de color rojizo y esto se observó en las concentraciones más altas de AuNPsQ y de AuNPsV. El

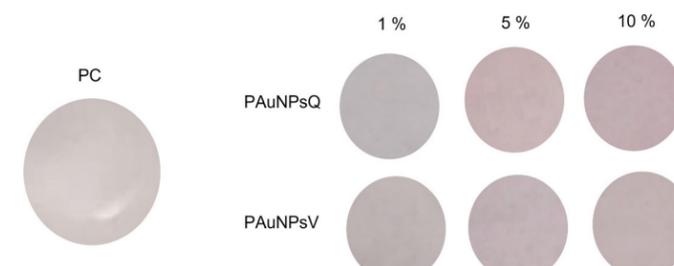


Figura 2. Apariencia de PC, PAuNPsQ y PAuNPsV a diferentes concentraciones de AuNPs.

color rojo es característico de las AuNPs de forma esférica y tamaño nanométrico de 10-20 nm lo que nos indica su presencia en la estructura de las películas.

### 3.3 Espesor

En cuanto al espesor la PC presentó un valor de  $0.10 \pm 0.00$  mm, fue posible observar ese valor en todas las películas desarrolladas, lo cual no fue significativamente diferente ( $p \leq 0.05$ ) por la adición de las AuNPsQ y AuNPsV a concentraciones de 1, 5 y 10 %, posiblemente esto se debe a que las AuNPs ocupan los espacios en la PC e interactúan con el alginato (Jafarzadeh et al., 2016); este resultado es mayor al reportado por Pagno et al. (2015) donde obtuvo películas de 0.08 mm de espesor para películas de quinoa (*Chenopodium quinoa* W.) adicionadas al 2.5 y 5% de AuNPs. Sebti et al. (2007) menciona que el espesor depende de la naturaleza y composición de la película y en gran medida del método y las condiciones de secado en la que es elaborada.

### 3.4 Color y transparencia

Los resultados de las mediciones de color de PC, PAuNPsQ y PAuNPsV a diferentes concentraciones se presentan en el Cuadro 1. Se puede observar que el valor de  $L^*$  disminuye para PAuNPsQ 10% y PAuNPsV 10% donde se presentó diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) respecto a PC. La disminución de este valor se presentó en las películas con mayor concentración de AuNPsV, obteniéndose los valores más bajos por lo que la adición de las AuNPs afecta el valor  $L^*$  haciendo las películas más oscuras. Las PAuNPsV 5% y PAuNPsV 10% mostraron los valores más altos en el parámetro  $a^*$  indicando un aumento en el enrojecimiento respecto a la PC. Pagno et al. (2015) obtuvieron valores similares para películas de quinoa con AuNPs mostrando que los parámetros de  $a^*$  más altos indican un color más rojizo característico de las AuNPs.

Cuadro 1. Valores de color de PC, PAuNPsQ y PAuNPsV a diferentes concentraciones de AuNPs.

Tratamiento	Color		
	$L^*$	$a^*$	$b^*$
PC	$78.70 \pm 0.41^{bc}$	$2.64 \pm 0.02^e$	$2.49 \pm 0.01^c$
PAuNPsQ 1%	$77.64 \pm 0.41^c$	$2.58 \pm 0.02^e$	$1.51 \pm 0.01^d$
PAuNPsQ 5%	$79.80 \pm 0.41^{ab}$	$4.74 \pm 0.02^d$	$3.42 \pm 0.01^a$
PAuNPsQ 10%	$75.60 \pm 0.41^d$	$5.48 \pm 0.02^c$	$2.59 \pm 0.01^b$
PAuNPsV 1%	$80.6 \pm 0.41^a$	$5.53 \pm 0.02^c$	$2.54 \pm 0.01^b$
PAuNPsV 5%	$78.37 \pm 0.41^{bc}$	$7.10 \pm 0.02^b$	$1.40 \pm 0.01^e$
PAuNPsV 10%	$73.56 \pm 0.41^e$	$7.49 \pm 0.02^a$	$1.19 \pm 0.01^f$

Media  $\pm$  desviación estándar ( $n=3$ ). Valores medios por columna con letra distinta son diferentes ( $p \leq 0.05$ , Tukey): DMS:  $L^* = 1.51$ ,  $a^* = 0.08$ ,  $b^* = 0.04$ . Película a base de alginato de sodio (PC), PC con AuNPsQ 1% (PAuNPsQ 1%), PC con AuNPsQ 5% (PAuNPsQ 5%), PC con AuNPsQ 10% (PAuNPsQ 10%), PC con AuNPsV 1% (PAuNPsV 1%), PC con AuNPsV 5% (PAuNPsV 5%), PC con AuNPsV 10% (PAuNPsV 10%).

Los valores de transparencia se muestran en la Figura 3. El valor de transparencia de PC presentó diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) respecto a la mayoría de los tratamientos. Los valores de transparencia aumentaron por la presencia de las AuNPs en PC. Por otro lado, hubo diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) entre PAuNPsV a 5 y 10%. Valores bajos de transparencia se observaron en las películas con AuNPsQ respecto a las películas con PAuNPsV a 5 y 10%. Este efecto se atribuye a la dispersión de luz de las AuNPs (Aristizabal-Gil et al., 2019).

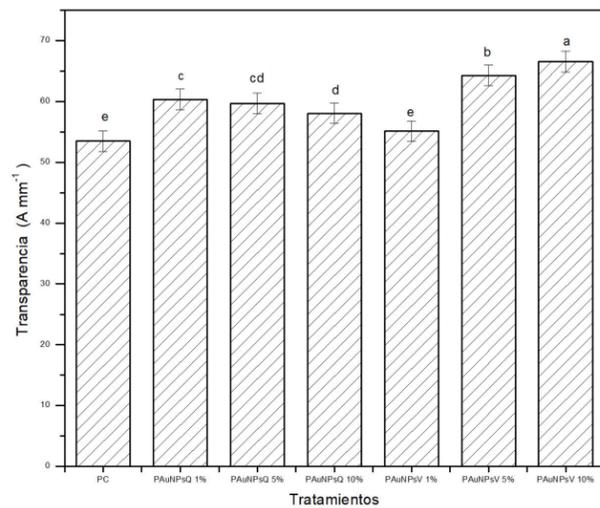


Figura 3. Transparencia de PC, PAuNPsQ y PAuNPsV a diferentes concentraciones de AuNPs. Media  $\pm$  desviación estándar ( $n=3$ ). Valores medios por columna con letra distinta son diferentes ( $p \leq 0.05$ , Tukey): DMS: transparencia=0.02. Película a base de alginato de sodio (PC), PC con AuNPsQ 1% (PAuNPsQ1%), PC con AuNPsQ 5% (PAuNPsQ5%), PC con AuNPsQ 10% (PAuNPsQ10%), PC con AuNPsV 1% (PAuNPsV1%), PC con AuNPsV 5% (PAuNPsV5%), PC con AuNPsV 10% (PAuNPsV10%).

### 3.5 Propiedades de barrera

#### 3.5.1 Contenido de humedad y solubilidad

Las propiedades de barrera en las PC juegan un papel importante para la conservación de los productos alimentación, además se utiliza para determinar el uso y aplicación de la película (Romani et al., 2018), en el Cuadro 2 se muestra el contenido de humedad y solubilidad.

Los valores de humedad se obtuvieron en un intervalo de 0.75 a 1.63 %, la PC presentó un valor de  $1.27 \pm 0.02\%$ , esto puede atribuirse a la presencia de grupos hidroxilos en el alginato, además presentó diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre los tratamientos. Por otro lado, se observó una reducción del contenido de humedad en PAuNPsQ y PAuNPsV al 5%, esto puede deberse a la interacción que existe entre el átomo de Au y grupos hidroxilo del alginato, lo que resulta en una red molecular más fuerte debido a los iones metálicos que interactúan con el alginato mejorando la estructura molecular y dando una mayor compactación en la matriz polimérica (Ramziia et al., 2017).

Cuadro 2. Contenido de humedad y solubilidad de PC, PAuNPsQ y PAuNPsV a diferentes concentraciones de AuNPs.

Tratamiento	Humedad (%)	Solubilidad (%)
PC	$1.27 \pm 0.02^c$	$100 \pm 0.00^a$
PAUNPSQ 1 %	$1.24 \pm 0.00^d$	$93.7 \pm 0.00^b$
PAUNPSQ 5 %	$0.83 \pm 0.00^f$	$90.6 \pm 0.00^d$
PAUNPSQ 10 %	$1.47 \pm 0.00^b$	$89.9 \pm 0.00^e$
PAUNPSV 1 %	$1.63 \pm 0.00^a$	$92.9 \pm 0.00^c$
PAUNPSV 5 %	$0.75 \pm 0.00^g$	$90.1 \pm 0.00^e$
PAUNPSV 10 %	$1.08 \pm 0.00^e$	$89.6 \pm 0.00^f$

Media  $\pm$  desviación estándar ( $n=3$ ). Valores medios por columna con letra distinta son diferentes ( $p \leq 0.05$ , Tukey): DMS: humedad=0.02, solubilidad=0.27. Película a base de alginato de sodio (PC), PC con AuNPsQ 1% (PAuNPsQ 1%), PC con AuNPsQ 5% (PAuNPsQ 5%), PC con AuNPsQ 10% (PAuNPsQ 10%), PC con AuNPsV 1% (PAuNPsV 1%), PC con AuNPsV 5% (PAuNPsV 5%), PC con AuNPsV 10% (PAuNPsV 10%).

La solubilidad de los tratamientos se encontró en un intervalo de 93.7 a 89.6 %. Se observó que todos los tratamientos mostraron una disminución significativa ( $p \leq 0.05$ ) en comparación con la PC con un valor de solubilidad del 100%, este efecto puede atribuirse a la ruptura entre los átomos de  $Ca^{2+}$  y las moléculas del alginato, mientras que en las PC con la adición de AuNPsQ y AuNPsV como se mencionó anteriormente presentaron menor solubilidad siendo la PAuNPsV 10% la que presentó el menor valor 89.6%, como se mencionó anteriormente, la presencia de las AuNPs en las PC genera una red polimérica más compacta que se ve reflejado en una disminución de la solubilidad. Estos resultados coinciden con lo reportado por Aristizabal-Gil et al. (2019) en el cual a medida que se incrementaba la concentración de nanopartículas de óxido de zinc (ZnO) se disminuía el valor de humedad, obteniendo valores de 75-78%.

#### 3.5.2 Permeabilidad al vapor de agua (PVA)

El deterioro de los alimentos se ve influenciado por el contenido de humedad presente en ellos, es por esto por lo que se sugieren valores bajos de PVA en PC. Los valores de PVA de PC, PAuNPsQ y PAuNPsV se muestran en la Figura 4. La PVA de PC fue de  $0.0376 \text{ g mm/kPa h m}^2$  y se redujo a  $0.0314 \text{ g mm/kPa h m}^2$  para PAuNPsQ 5% que fue el menor valor reportado. Se encontró diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) entre el valor PVA de la PC y PAuNPsV 5%. Por otro lado, PAuNPsQ 1% y 10%, y PAuNPsV al 1 y 10% no presentaron diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ), estos resultados coinciden con lo reportado por Wu et al. (2019) en películas aisladas de proteína de soya con nanopartículas de ZnO; y Ahmadi et al. (2021) en películas de gelatina y nanofibras de celulosa con nanopartículas de ZnO y Se, lo cual puede deberse a la disminución de la disponibilidad de grupos hidroxilo por la presencia de la AuNPs.

Filho et al. (2019) menciona que, al incorporar nanomateriales a una PB, existe una reducción en los sitios de la reticulación provocando la disminución de volumen libre, como consecuencia disminución de PVA. Solano-Doblado et al. (2018) refieren que la PVA depende de la porción hidrofóbica, en este caso del alginato de sodio, sin embargo, al adicionar las AuNPs existe una reticulación por iones metálicos, esta permite la formación de redes insolubles y reduce la PVA, además es posible que la presencia de iones  $Ca^{2+}$  tenga un efecto de reticulación más fuerte (Liling et al., 2016; Aristizabal-Gil et al., 2019).

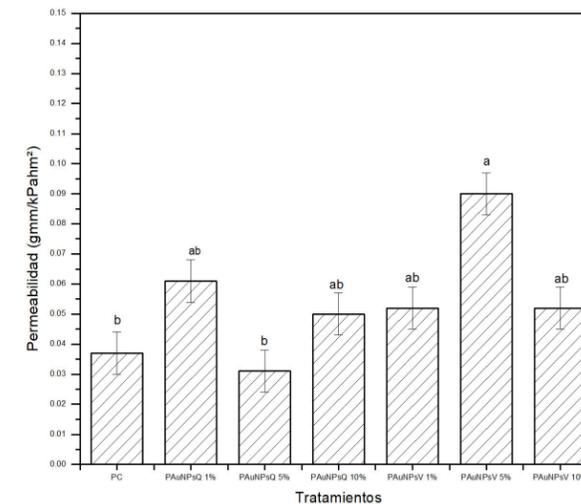


Figura 4. Permeabilidad de las PC, PAuNPsQ y PAuNPsV a diferentes concentraciones de AuNPs.

Media  $\pm$  desviación estándar ( $n=3$ ). Valores medios por columna con letra distinta son diferentes ( $p \leq 0.05$ , Tukey): DMS: permeabilidad=0.05. Película a base de alginato de sodio (PC), PC con AuNPsQ 1% (PAuNPsQ1%), PC con AuNPsQ 5% (PAuNPsQ5%), PC con AuNPsQ 10% (PAuNPsQ10%), PC con AuNPsV 1% (PAuNPsV1%), PC con AuNPsV 5% (PAuNPsV5%), PC con AuNPsV 10% (PAuNPsV10%).

### 3.6 Propiedades mecánicas

La fuerza tensil y elasticidad son valores importantes debido a que por medio de estos se puede evaluar la capacidad de mantener la integridad del producto frente a factores ambientales relacionados con la aplicación del empaque y el transporte (Kumar et al., 2018; Hanani et al., 2019). La fuerza tensil y elasticidad se muestran en la Figura 5. La fuerza tensil (Figura 5a) de la PC tuvo un valor de  $3.84 \pm 0.01 \text{ N/mm}^2$ . La adición de las AuNPsV trajo un aumento de este valor en PAuNPsV 10% con un valor de  $3.88 \pm 0.01 \text{ N/mm}^2$ , esto puede deberse a que estas AuNPsV presentan mayor tamaño que las AuNPsQ. Valores similares fueron reportados por Aristizabal-Gil et al. (2019) y Pagno et al. (2015).

Por otro se pudo observar un efecto inverso respecto a los resultados de fuerza tensil. Los valores de elasticidad para las PAuNPsQ y PAuNPsV a diferentes concentraciones se muestran en la Figura 5 (b). La adición de AuNPsQ y AuNPsV a las PC trajo una disminución en la elasticidad. La PC tuvo

un valor inicial de elasticidad de  $18.04 \pm 0.42\%$ , donde se observó diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) respecto a los tratamientos. El menor valor de elasticidad se presentó en PAuNPsV 1%, esto se relaciona con la presencia de iones metálicos formando uniones más fuertes en los enlaces, esto genera que la elasticidad disminuya (Alinaqi et al., 2021).

### 3.7 Actividad antioxidante

Los radicales de DPPH se utilizan para confirmar la presencia de actividad antioxidante, formando un radical libre estable que permita la donación de electrones para neutralizar estructura del anillo (Cuvelier et al., 1992). En la Figura 6 se presentan los valores de actividad antioxidante para PC y PAuNPsV a diferentes concentraciones. El valor de la actividad antioxidante de la PC mostro diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) respecto a los tratamientos. La PC no presento actividad antioxidante debido a que en su composición no se encuentran componentes que pudieran otorgarle esta actividad. Sin embargo, la adición de las AuNPsV a la PC trajo consigo la presencia de actividad antioxidante, esta propiedad de las AuNPsV esta otorgada por los ácidos hidroxixinámicos (ácido clorogénico, cafeico y ferúlico) presente en el extracto de pulpa de café (Duangjai et al., 2016); lo que permitió que las PAuNPsV mostraran actividad antioxidante, obteniendo valores de  $31.67 \pm 0.14$  a  $51.62 \pm 0.12\%$  de inhibición DPPH, creciendo conforme se aumentó la concentración de AuNPsV; sin embargo, las AuNPsQ debido a su naturaleza no presentan actividad antioxidante (datos no mostrados).

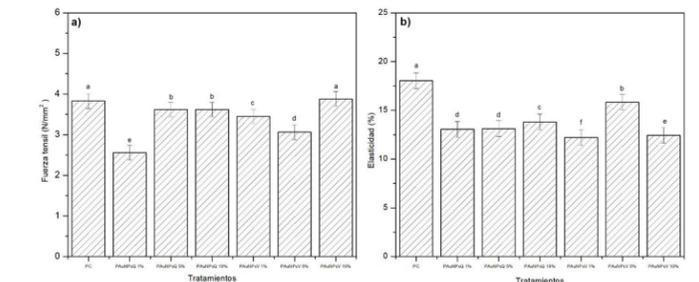


Figura 5. Fuerza tensil (a) y elasticidad (b) de PC, PAuNPsQ y PAuNPsV a diferentes concentraciones de AuNPs.

Media  $\pm$  desviación estándar ( $n=3$ ). Valores medios por columna con letra distinta son diferentes ( $p \leq 0.05$ , Tukey): DMS: fuerza tensil=0.05, elasticidad=0.12. Película a base de alginato de sodio (PC), PC con AuNPsQ 1% (PAuNPsQ1%), PC con AuNPsQ 5% (PAuNPsQ5%), PC con AuNPsQ 10% (PAuNPsQ10%), PC con AuNPsV 1% (PAuNPsV1%), PC con AuNPsV 5% (PAuNPsV5%), PC con AuNPsV 10% (PAuNPsV10%).

### 3.8 Espectroscopia infrarroja

En la Figura 7 se presentan los espectros FTIR de las PAuNPsQ y PAuNPsV, así como los componentes utilizados para su formación. En la Figura 7 (A) y (B) el espectro de alginato presenta bandas de absorción relacionadas a la

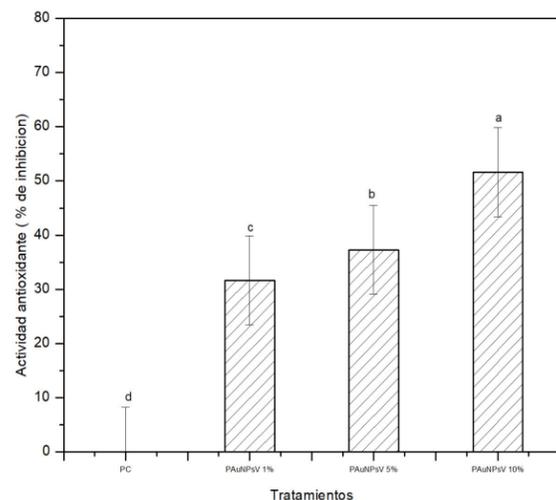


Figura 6. Actividad antioxidante de PC y PAuNPsV a diferentes concentraciones de AuNPs. Media  $\pm$  desviación estándar ( $n=3$ ). Valores medios por columna con letra distinta son diferentes ( $p \leq 0.05$ , Tukey): DMS: actividad antioxidante = 0.59. Película a base de alginato de sodio (PC), PC con AuNPsQ 1% (PAuNPsQ1%), PC con AuNPsQ 5% (PAuNPsQ5%), PC con AuNPsQ 10% (PAuNPsQ10%), PC con AuNPsV 1% (PAuNPsV1%), PC con AuNPsV 5% (PAuNPsV5%), PC con AuNPsV 10% (PAuNPsV10%).

presencia de enlaces C=O, C-O-C, COOH. En las bandas 1597 y 1410  $\text{cm}^{-1}$ , se observa un enlace doble C=O del grupo carboxilato. De igual forma, en 1300  $\text{cm}^{-1}$  se evidencian los enlaces simples entre carbono e hidrogeno C-H y a 1123  $\text{cm}^{-1}$  los enlaces C-C. El enlace C-O-C se observa en el pico de 1084  $\text{cm}^{-1}$  y en el pico de 948  $\text{cm}^{-1}$  se evidencia el tipo de enlace C-O (Coates, 2000). En la Figura 7 (A) y (B) el espectro del glicerol presento bandas características asociadas a grupos funcionales C-C en 850-995  $\text{cm}^{-1}$ , C-O en 1038  $\text{cm}^{-1}$  y 1110  $\text{cm}^{-1}$ . En la Figura 7 (A) y (B) el espectro de las AuNPs presento 2 bandas características en 1589 y 1403  $\text{cm}^{-1}$  relacionada con los enlaces CH<sub>2</sub>-O y C=O. En la Figura 7 (A) y (B) la PC presentó bandas intensas asociadas a alginato y glicerol, lo que nos indica la presencia de estos compuestos en la estructura de la PC. En la Figura 7 (A) se presentan los espectros de las PAuNPsQ a diferentes concentraciones, se observa que estos espectros presentan similitud de línea base con PC, sin embargo, la adición de las AuNPsQ trajo un desplazamiento en la banda en 1589  $\text{cm}^{-1}$  banda característica de las AuNPs, este desplazamiento pudiera estar asociado a la interacción entre los componentes (alginato, glicerol) de la PC y las AuNPsQ presentes en PAuNPsQ generando nuevos cambios estructurales en la matriz polimérica de PC, este mismo resultado se evidencio en la Figura 7 (B) para las PAuNPsV a diferentes concentraciones. Este efecto puede derivar en cambios estructurales, lo cual puede contribuir a controlar las propiedades mecánicas y de barrera.

## CONCLUSIONES

Los resultados mostraron que es posible obtener películas a

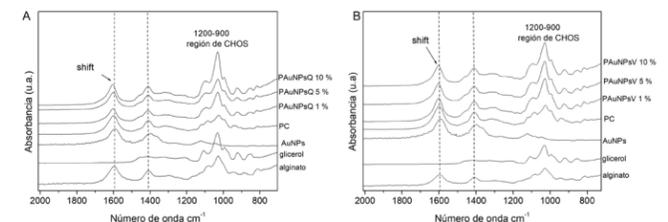


Figura 7. Espectros FTIR de alginato, glicerol, AuNPs, PAuNPsQ 1%, PAuNPsQ 5%, PAuNPsQ 10% (A), espectros FTIR de alginato, glicerol, AuNPs, PAuNPsV 1%, PAuNPsV 5%, PAuNPsV 10% (B) en la región de 2000-700  $\text{cm}^{-1}$ .

base de alginato adicionadas con nanopartículas de oro. Por otro lado, la adición de nanopartículas de oro por síntesis química y verde modifica las propiedades físicas, mecánicas, de barrera, antioxidantes y estructurales de las películas a base de alginato. Presencia de actividad antioxidante proporciona una mejor protección química en el empaque. Por lo que, se concluye que las nanopartículas de oro son una innovación prometedora para el desarrollo de películas activas.

## AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada (N° 956160) y al Colegio de Postgraduados, Campus Córdoba, Veracruz por el apoyo brindado para el desarrollo y financiamiento de la presente investigación.

## CONFLICTO DE INTERÉS

Los autores han declarado no tener ningún conflicto de intereses para este artículo.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Ahmadi A, Ahmadi P, Alizadeh M S, Ehsani A, Ghanbarzadeh B (2021) Functional biocompatible nanocomposite films consisting of selenium and zinc oxide nanoparticles embedded in gelatin/cellulose nanofiber matrices. *Int. J. Biol. Macromol.* 175 (1): 87-97.
- Alinaqi Z, Kezri A, Razaenia H (2021) Sustained release modeling of clove essential oil from the structure of starch-based bio-nanocomposite film reinforced by electrosprayed zein nanoparticles. *Int. J. Biol. Macromol.* 173 (15):193-202.
- Aristizabal-Gil M V, Santiago-Toro S, Sanchez L T, Pinzon M I, Gutierrez J A, Villa C C (2019) ZnO and ZnO/CaO nanoparticles in alginate films. Synthesis, mechanical characterization, barrier properties and release kinetics. *LTW.* 112: 108217.
- ASTM (2010) E96M-16 Standard test methods for water vapor transmission of materials (ASTM Inter). ASTM International. Available from <http://www.astm.org/cgi-bin/resolver.cgi?E96E96M-16>.
- ASTM (2018) D882-18 Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting (ASTM Inter). ASTM International. Available from <https://www.astm.org/search/fullsite-search.html?query=d882&>

Bonilla-Nepomuceno G, Gómez-Merino FC, Arcila-Lozano LS, Rojas-López M, Ríos-Corripio MA, Méndez-Rojas MA and Hernández-Cazares AS (2021) Analysis by response surface methodology of gold nanoparticles obtained by green chemical reduction using aqueous coffee pulp extract (*Coffea arabica*). *Can. J. Chem.* 99(6): 519-530.

Brand-Williams W, Cuvelier M E, Berset C (1995) Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Sci. Technol.* 28: 25-30.

Cala, M M, Vásquez C A, Martínez M J R, Stashenko E E (2007) Caracterización de compuestos fenólicos por electroforesis capilar de la especie *Phyllanthus acuminatus* (Euphorbiaceae) y estudio de su actividad antioxidante. *Scientia et Technica UTP.* 33: 173-175.

Cuvelier, M E, Richard H, Berset C (1992) Comparison of the antioxidative activity of some acid-phenols: Structure-activity relationship. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 56 (2):324-325.

Duangjai A, Suphrom N, Wungrath, J, Ontawong, A, Nuengchamng N, Yosboonruang A (2016) Comparison of antioxidant, antimicrobial activities and chemical profiles of three coffee (*Coffea arabica* L.) pulp aqueous extracts. *Integr. Medicina Res.* 4:324-331.

Escobar, D, Sala A, Silvera C, Harispe R, Márquez R (2009) Películas biodegradables y comestibles desarrolladas en base a aislado de proteínas de suero lácteo: estudio de dos métodos de elaboración y del uso de sorbato de potasio como conservador. *Innotec.* 4: 33-36.

Filho, de O J G, Rodrigues J M, Valadares A C F, Almeida de A B, Lima de T M, Takeuchi K P, Alves C C F, Sousa de F H A, Silva da E R, Dyszy F H, Egea M B (2019) Active food packaging: Alginate films with cottonseed protein hydrolysates. *Food Hydrocoll.* 92: 267-275.

Gontard N, Duchez C, Cuq J-L, Guilbert S (1994) Edible composite films of wheat gluten and lipids: water vapour permeability and other physical properties. *Int. J. Food Sci.* 29 (1): 39-50.

Haiss, W, Thanh N T K, Aveyard J, Fernig D G (2007) Determination of Size and Concentration of Gold Nanoparticles from UV-Vis Spectra. *Anal. Chem.* 79 (11): 4215-4221.

Hanani, Z A N, Cheng F Y, Nor-Khaizura M A R (2019) Effect of pomegranate (*Punica granatum* L.) peel powder on the antioxidant and antimicrobial properties of fish gelatin films as active packaging. *Food Hydrocolloids.* 89: 253-259.

Han, J H, Floros DJ (1997) Casting antimicrobial packaging films and measuring their physical properties and antimicrobial activity. *Plast. Film Sheeting.* 13(4): 287-298.

Hermanson G T (2008) Bioconjugate techniques. Academic Press Inc, San Diego. 2nd (Ed). (i.e., 1323 p.).

Jafarzadeh S, Karim A A, Ariffin F, Mahmud S y Najafi A (2016) Preparation and characterization of bionanocomposite films reinforced with nano kaolin. *J. Food Sci. Technol.* 53:1111-1119.

Katas H, Lim C S, Azlan A Y H N, Buang F, Busra M F M (2019)

Antibacterial activity of biosynthesized gold nanoparticles using biomolecules from *Lignosus rhinocerotis* and chitosan. *Saudi Pharm J.* 27 (2) 283-292.

Keijok WJ, Pereira R H A, Alvarez L A C, Prado A R, da Silva A R, Ribeiro J, Oliveira J P, Guimarães M C C (2019) Controlled biosynthesis of gold nanoparticles with *Coffea arabica* using factorial design. *Sci Rep.* 9:16019.

Kumar S, Shukla A, Pratim P B, Mitra A, Halder D (2018). Biodegradable hybrid nanocomposites of chitosan/gelatin and silver nanoparticles for active food packaging applications. *Food Packag. Shelf Life.* 16: 178-184.

Kurek M, Galus S, Debeaufort F (2014) Surface, mechanical and barrier properties of bio-based composite films based on chitosan and whey protein. *Food Packag. Shelf Life.* 1(1): 56-67.

Liling G, Di Z, Jiachao X, Xin G, Xiaoting F, Qing Z (2016) Effects of ionic crosslinking on physical and mechanical properties of alginate mulching films. *Carbohydr. Polym.* 136 (20): 259-265.

Oliveira, de N G C, Rodríguez L F P, Castro M P A, Giannetti B F and Villas C M, B de A (2018) A framework of actions for strong sustainability. *J. Clean. Prod.* 196: 1629-1643.

Pagno, C H, Costa T M H, de Menezes E W, Benvenuti E V, Hertz P F, Mate C. R, Tosati J V, Monteiro A. R, Ríos A.O, Flores S.H (2015) Development of active biofilms of quinoa (*Chenopodium quinoa* W.) starch containing gold nanoparticles and evaluation of antimicrobial activity. *Food Chem.* 173: 755-762.

Puligundla P, Jung J, Ko S (2012) Carbon dioxide sensors for intelligent food packaging applications. *Food Control.* 25 (1): 328-333.

Ramziia S, Ma H, Yao Y, Wei K, Huang Y (2017) Enhanced antioxidant activity of fish gelatin-chitosan edible films incorporated with procyanidin. *Journal of Applied Polymer Science.* 135: 45781.

Romani, P V, Hernández C P, Martins V G (2018) Pink pepper phenolic compounds incorporation in starch/protein blends and its potential to inhibit apple browning. *Food Packag. Shelf Life.* 15: 151-158.

Sebti I, Chollet E, Degraeve P, Noel C, Peyrol E (2007) Water sensitivity, antimicrobial, and physicochemical analyses of edible films based on HPMC and/or chitosan. *J. Agric. Food Chem.* 55(3):693-699

Siddhesh N P, Edgar K J (2011) Chemical modification of alginates in organic solvent systems. *Biomacromolecules.* 12 (11): 4095-4103

Solano-Doblado L G, Alamilla-Beltrán L, Jiménez-Martínez C (2018) Películas y recubrimientos comestibles funcionalizados. *TIP Rev. Esp. Cienc. Quím. Biol.* 21(2): 30-42.

Wu J, Sun Q, Huang H, Duan Y, Xiao G, Le T (2019) Enhanced physico-mechanical, barrier and antifungal properties of soy protein isolate film by incorporating both plant-sourced cinnamaldehyde and facile synthesized zinc oxide nanosheets. *Colloids Surf. B: Biointerfaces.* 180 (1): 31-38.

- Finnigan T, Needham L, Abbott C (2017) Mycoprotein: A healthy new protein with a low environmental impact. In: Sustainable Protein Sources. Academic Press. 305-325 pp.
- Fritz RD, Chen Y (2018) Oat safety for celiac disease patients: theoretical analysis correlates adverse symptoms in clinical studies to contaminated study oats. *Nutr. Res.* 60:54-67.
- Garibaldi LA, Andersson G, Fernández FC, Pérez-Méndez N (2018) Seguridad alimentaria, medio ambiente y nuestros hábitos de consumo. *Rev. Asoc. Argent. Ecol.* 3: 572-580.
- Giavasis I, Seviour RJ, Hudman P, McNeil B (2019) Fungal bioproducts for use in food: polysaccharides, organic acids, and mycoprotein. In advances in food bioproducts and bioprocessing technologies. 512-536 pp.
- Gorissen SH, Crombag JJ, Senden JM, Waterval WA, Bierau J, Verdijk LB, van Loon LJC (2018) Protein content and amino acid composition of commercially available plant-based protein isolates. *Amino Acids.* 50: 1685-1695.
- Gutiérrez C, Lares M, Sandoval J, Hernández MS (2020) Aminoácidos de cadena ramificada: implicaciones en la salud. *Rev. Digital Postgrado.* 9(2).
- Hashempour-Baltork F, Khosravi-Darani K, Hosseini H, Farshi P, Reihani SF (2020) Mycoproteins as safe meat substitutes. *J. Clean. Prod.* 253: 119958.
- Hernández C, L, Olvera TF, Luna FV, Sánchez C (2020) Diseño y determinación del valor nutritivo de una formulación de un alimento enriquecido con *Sphenarium purpurascens*. *Educatconciencia.* 25: 57-69.
- Hocquette J, Chriki S, Tourre L (2020) The myth of cultured meat: a review. *Front. Nutr.* 7:7.
- Huang S, Wang LM, Sivendiran T, Bohrer BM (2017) Review: Amino acid concentration of high protein food products and an overview of the current methods used to determine protein quality. *Crit. Rev. Food. Sci. Nutr.* 58(15): 2673-2678.
- Hughes GJ, Ryan DJ, Mukherjea R, Schasteen CS (2011) Protein Digestibility-Corrected Amino Acid Scores (PDCAAS) for Soy Protein Isolates and Concentrate: Criteria for Evaluation. *J. Agric. Food. Chem.* 59:12707-12712.
- Ibarra-Herrera CC, Acosta-Estrada B, Chuck-Hernández C, Serrano-Sandoval SN, Guardado-Félix D, Pérez-Carrillo E (2020) Nutritional content of edible grasshopper (*Sphenarium purpurascens*) fed on alfalfa (*Medicago sativa*) and maize (*Zea mays*). *CyTA. J. Food.* 18: 257-263.
- Jiang ZQ, Sontag-Strohm T, Salovaara H, Sibakov J, Kanerva P, Loponen J (2015) Oat protein solubility and emulsion properties improved by enzymatic deamidation. *J. Cereal. Sci.* 64:126-132.
- Kaleda A, Talvistu K, Tamm M, Viirma M, Rosend J, Tanilas K, Kriisa M, Part N, Tammik ML (2020) Impact of fermentation and phytase treatment of pea-oat protein blend on physicochemical, sensory, and nutritional properties of extruded meat analogs. *Foods.* 9: 1059.
- Karaca AC, Low N, Nickerson M (2011) Emulsifying properties of chickpea, faba bean, lentil and pea proteins produced by isoelectric precipitation and salt extraction. *Int. Food. Res. J.* 44: 2742-2750.
- Klose C, Arendt EK (2012) Proteins in oats; their synthesis and changes during germination: a review. *Crit. Rev. Food. Sci. Nutr.* 52: 629-639.
- Lam AC, Karaca AC, Tyler RT, Nickerson MT (2018) Pea protein isolates: structure, extraction and functionality. *Food. Rev. Int.* 34: 126-147.
- Liang HN, Tang CH (2013) pH-dependent emulsifying properties of pea [*Pisum sativum* (L.)] proteins. *Food. Hydrocoll.* 33: 309-319.
- Lu ZX, He JF, Zhang YC, Bing DJ (2019) Composition, physicochemical properties of pea protein and its application in functional foods. *Crit. Rev. Food. Sci. Nutr.* 60: 2593-2605.
- Lynch JV, Pierrehumbert R (2019) Climate Impacts of Cultured Meat and Beef Cattle. *Front Sustain. Food. Syst.* 3:5.
- Makinen OE, Sozer N, Ercili-Cura D, Ercili-Cura K (2017) Protein From Oat: Structure, Processes, Functionality, and Nutrition. In Sustainable Protein Sources. Academic Press. 105-119 pp.
- Martínez-Álvarez O, Iriando-DeHond A, Gómez-Estaca J, Dolores del Castillo M (2021) Nuevas tendencias en la producción y consumo alimentario. *Distr. Consum.* 1: 51-62.
- McCarthy NA, Kennedy D, Hogan SA, Kelly PM, Thapa K, Murphy KM, Fenelon MA (2016) Emulsification properties of pea protein isolate using homogenization, microfluidization and ultrasonication. *Int. Food. Res. J.* 415-421.
- Nie C, He T, Zhang W, Zhang G, Ma X (2018) Branched Chain Amino Acids: Beyond Nutrition Metabolism. *Int. J. Mol. Sci.* 19:954.
- Nishinari K, Fang Y, Nagano T, Guo S, Wang R (2018) Soy as a food ingredient. In Proteins in Food Processing. Woodhead Publishing. 149-186 pp.
- Nowak V, Persijn D, Rittenschober D, Charrondiere UR (2016) Review of food composition data for edible insects. *Food Chem.* 193: 39-46.
- Okuskhanova E, Assenova B, Rebezov M, Amirkhanov K, Yessimbekov Z, Smolnikova F, Nurgazezova A, Nurymkhan G, Stuart M (2017) Study of morphology, chemical, and amino acid composition of red deer meat. *Vet. World.* 10: 623-629.
- Post MJ (2014) Cultured beef: medical technology to produce food. *J. Sci. Food. Agric.* 94: 1039-1041.
- Quesada D, Gómez G (2019) ¿Proteínas de origen vegetal o de origen animal?: Una mirada a su impacto sobre la salud y el medio ambiente. *Rev. Nutr. Clin. Metab.* 2: 79-86.
- Ramos-Elorduy B, Pino MJ, Martínez CV (2012) Could Grasshoppers Be a Nutritive Meal? *Food. Sci. Nutr.* 3: 164-175.
- Ribotta PD, Colombo A, Rosell CM (2012) Enzymatic modifications of pea protein and its application in protein-cassava and corn starch gels. *Food. Hydrocoll.* 27: 185-190.
- Rodríguez-Miranda J, Alcántar-Vázquez JP, Zúñiga-Marroquín T, Juárez-Barrientos JM (2019) Insects as an alternative source of protein: a review of the potential use of grasshopper (*Sphenarium purpurascens* Ch.) as a food ingredient. *Eur. Food Res. Technol.* 245: 2613-2620.
- Schweiggert-Weisz U, Eisner P, Bader-Mittermaier S, Osen R (2020) Food proteins from plants and fungi. *Curr. Opin. Food. Sci.* 32: 156-162.
- Sey MS, Parfitt J, Parfitt J (2011) Prospective study of clinical and histological safety of pure and uncontaminated Canadian oats in the management of celiac disease. *JPEN. J. Parenter. Enteral. Nutr.* 459-464.