



Imágenes de: Claudia Marcela Guillén Jiménez, Montserrat Calderón Santoyo, Katia Nayely González Gutiérrez

Extracto de *Randia monantha* encapsulado con proteína de haba (*Vicia faba*): actividad antifúngica *in vitro* y caracterización fisicoquímica

Randia monantha extract encapsulated with faba bean (*Vicia faba*) protein: *in vitro* antifungal activity and physicochemical characterization

Claudia Marcela Guillén-Jiménez, Montserrat Calderón-Santoyo, Katia Nayely González-Gutiérrez, Juan Arturo Ragazzo-Sánchez*

RESUMEN

Las proteínas vegetales han sido empleadas en diversos estudios como material de pared en la encapsulación de compuestos de alto valor biológico, debido a su buena accesibilidad y a la fácil liberación del principio activo. El haba (*Vicia faba*) es una legumbre con alto contenido de proteínas susceptible de ser utilizada como material encapsulante. *Randia monantha* contiene compuestos con actividad antifúngica, por lo que su extracción y encapsulación representa una alternativa para poder usarlos en el control post-cosecha de hongos fitopatógenos. El objetivo del presente trabajo fue encapsular por secado por aspersión un extracto etanólico de *R. monantha* utilizando como material de pared proteína de haba para el control de *Colletotrichum gloeosporioides*. El extracto se obtuvo mediante extracción etanólica asistida por ultrasonido y se encapsuló usando secado por aspersión con diferentes concentraciones de proteína de haba (15 %, 20 %, 25 % y 30 %). Posteriormente, se evaluó la actividad antifúngica del extracto encapsulado y se realizó la caracterización térmica y fisicoquímica de las cápsulas. El extracto encapsulado con proteína al 30 % presentó la mayor inhibición de la germinación de esporas (65.4 %) y del crecimiento micelial de *C. gloeosporioides* (55.23 %) y estabilidad a la temperatura y a la radiación UV. Las cápsulas registraron alta eficiencia de encapsulación y solubilidad, con baja actividad de agua e higroscopicidad, características deseables para un producto en polvo. La proteína de haba, como material encapsulante, mostró ser una alternativa prometedora para su uso en el control de *C. gloeosporioides*, ya que preservó la capacidad antifúngica del extracto de *R. monantha*, presentó propiedades fotoprotectoras y termoprotectoras y las cápsulas cumplieron con los parámetros fisicoquímicos de un producto en polvo.

PALABRAS CLAVE: proteína vegetal, secado por aspersión, encapsulación, capacidad inhibitoria.

ABSTRACT

Vegetable proteins have been used in various studies as wall material in the encapsulation of high biological value compounds, due to their good accessibility and the easy release of the active substance. Faba (*Vicia faba*) is a legume with a high protein content that can be used as an encapsulating material. *Randia monantha* contains compounds with antifungal activity, therefore their extraction and encapsulation represent an alternative for use in the postharvest control of phytopathogenic fungi. The objective of the present work was to encapsulate by spray drying an ethanolic extract of *R. monantha* using faba bean protein as a wall material for the control of *Colletotrichum gloeosporioides*. The extract was obtained through ultrasound-assisted ethanolic extraction and was encapsulated by spray drying with different concentrations of faba bean protein (15 %, 20 %, 25 %, and 30 %). Subsequently, the antifungal activity of the encapsulated extract was evaluated, and the thermal and physicochemical characterization of the capsules was performed. The 30 % protein-encapsulated extract showed the highest inhibition of spore germination (65.4 %) and mycelial growth of *C. gloeosporioides* (55.23 %) and stability to temperature and UV radiation. The capsules registered high encapsulation efficiency and solubility, with low water activity and hygroscopicity, desirable characteristics for a powder product. Faba bean protein, as an encapsulating material, proved to be a promising alternative for use in the control of *C. gloeosporioides* since it preserved the antifungal capacity of the *R. monantha* extract, presented photoprotective and thermoprotective properties and the capsules achieved the physicochemical parameters of a powder product.

KEYWORDS: vegetable protein, spray drying, encapsulation, inhibitory capacity.

*Correspondencia: jragazzo@tecip.tecnm.mx/ Fecha de recepción: 20 de septiembre de 2024/ Fecha de aceptación: 24 de enero de 2025/ Fecha de publicación: 31 de enero de 2025.

Tecnológico Nacional de México, Instituto Tecnológico de Tepic, Laboratorio Integral de Investigación en Alimentos, Av. Tecnológico núm. 2595, Lagos del Country, Tepic, Nayarit, México, C. P. 63175.

INTRODUCCIÓN

La accesibilidad de las proteínas derivadas de los productos vegetales las ha hecho cada vez más populares para su aprovechamiento. Entre sus aplicaciones se encuentra la sustitución de la proteína animal, en la elaboración de piensos (alimento para ganado) y como materiales de pared para la encapsulación de compuestos de alto valor biológico (CAVB), aunado a que se consideran biodegradables y con propiedades foto y termo protectoras (Ismail y col., 2020; Kumar y col. 2022).

Las proteínas como material de pared crean una coraza que actúa como agente estabilizante en la encapsulación y ayuda a proteger el núcleo. Entre las ventajas de utilizar proteínas vegetales destaca que son consideradas GRAS (por sus siglas en inglés: generally recognized as safe), de fácil accesibilidad, sostenibles y respetuosas con el medio ambiente (Dissanayake y Bandara, 2024). Entre las proteínas que se han utilizado como material de pared para encapsular CAVB, están las de lenteja (Wang y col., 2022), maíz (zeína), quinoa y el aislado de soya (Mahdi-Jafari y col., 2017). Sin embargo, existen proteínas que aún no han sido investigadas, tal es el caso de la proteína de haba (*Vicia faba*).

El haba es una de las legumbres más producidas a nivel mundial, ocupa una cuota anual de mercado de aproximadamente 4.84 millones de T de acuerdo a la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, por sus siglas en inglés: Food and Agriculture Organization of the United Nations) (FAO, 2021). Las habas se caracterizan por su composición de minerales, carbohidratos, fibra, lípidos, pero sobre todo destaca por su alta composición de proteínas (Rodiño y col., 2005; Karkanis y col., 2018). Existen diversos reportes del contenido de proteína de haba. Schumacher y col. (2011) indicaron un rango de 18 % a 29 % y Hacisalihoglu y col. (2020) documentaron dicho contenido en un rango de 12.6 % a 33.1 %. Su fracción proteica mayoritaria la representan las globulinas (42 % aproximadamente), constituidas por las fracciones

legúmina, vicilina y convicilina (Duodu y Apea-Bah, 2017), mismas que se consideran proteínas de reserva y se encuentran en los cuerpos proteicos. Otras proteínas de reserva presentes son las albúminas (20 %), caracterizadas por tener un elevado número de aminoácidos azufrados. Las glutelinas constituyen el 15 % y en menor proporción se encuentran las prolaminas con un 5 % (Duodu y Apea-Bah, 2017). Este alto contenido de proteínas la hace apta para la encapsulación, debido a que le confiere capacidad de formar una estructura tridimensional, con adecuada estabilidad, tamaño y forma (Warsame y col., 2020; Żmudziński y col., 2021).

Existen diversas tecnologías para la encapsulación, como los procesos *electrohidrodinámicos electrospraying* (electropulverización) y *electrospinning* (electrohilado) (Alehosseini y col., 2018), la coacervación, extrusión, emulsificación y secado por aspersion (Yan y col., 2022). Esta última se considera una de las más usadas a nivel industrial y destaca por su factibilidad, capacidad para obtener mayor rendimiento en tiempos más cortos de proceso, producción de partículas uniformes, mejorar la conservación del producto al evitar la descomposición de componentes sensibles al calor y posibilidad de ser escalada y operada como un proceso continuo y cerrado (Chamudeshwari y col., 2024).

El secado por aspersion transforma una solución polimérica en polvo mediante una corriente de aire caliente. Durante este proceso, el equipo, a través del uso de un atomizador, dispersa la solución en microgotas que se ponen en contacto con el aire caliente en la cámara de secado, deshidratándolo. Posteriormente, el producto seco se recolecta en el ciclón. Las cápsulas obtenidas pueden tener diversos usos, ya sea para aplicación en el área de la industria de los alimentos o en usos nutraceuticos (Fatnassi y col., 2013).

Actualmente, las prácticas agrícolas para el control de hongos en las frutas utilizan, por lo general, fungicidas sintéticos elaborados a ba-

se de sustancias químicas (Mariscal-Amaro y col., 2020), que causan problemas de toxicidad tanto en los seres humanos como en el medio ambiente. Debido a esto, se han desarrollado estrategias alternativas conocidas como biofungicidas o agentes naturales con actividad antifúngica, los cuales están elaborados a partir de productos o subproductos naturales. Existen productos vegetales subutilizados, que son una fuente importante de CAVB, tales como flavonoides, saponinas y fenoles, entre otros, que presentan actividad antifúngica (Gatto y col., 2011; Ojeda-Ayala y col., 2022). Estos compuestos bioactivos podrían ser encapsulados mediante secado por aspersion y las cápsulas podrían ser utilizadas para el control de las enfermedades fúngicas que presentan los frutos.

Estudios recientes han demostrado que los CAVB identificados en el extracto etanólico de *R. monantha* inhiben hongos fitopatógenos, tales como *Collectotrichum gloeosporioides* y *Penicillium digitatum*, agentes causales de la antracnosis y moho verde, respectivamente (Vilchis-Gómez y col., 2024). *R. monantha* es conocida comúnmente como “crucecillo” en localidades que van desde el sur de México hasta Panamá. Su fruto contiene una pulpa oscura, con presencia de compuestos fenólicos con actividad antioxidante, que incluyen el ácido clorogénico (81.11 µg/g de extracto), quercetina (1.61 µg/g de extracto), rutina (51.61 µg/g de extracto), ácido 4-cumárico (30.29 µg/g de extracto) y ácido cafeico (21.95 µg/g de extracto) (Méndez-Ventura y Hernández-Medel, 2009; Juárez-Trujillo y col., 2018). Se ha reportado que, de forma individual, estos compuestos presentan actividad antifúngica sobre las membranas celulares de los hongos, debido a su capacidad para interactuar con los lípidos y proteínas de la membrana, así como para reducir el pH extracelular e inhibir a la 1.6-β- y 1.3-β-glucano sintetasa (Simonetti y col., 2020; Oulahal y Degraeve, 2022).

La escasa información sobre la posible aplicación de la proteína de haba como material encapsulante abre una oportunidad y perspec-

tiva novedosa para explorar su potencial en la encapsulación de extractos vegetales como *R. monantha* para ser destinado al control de hongos fitopatógenos. Además, la utilización de la proteína de haba como material encapsulante podría ofrecer una alternativa más sostenible y económica en comparación con otros materiales de encapsulación sintéticos. Este enfoque también contribuye a la búsqueda de soluciones innovadoras para el control biológico de enfermedades fúngicas, alineándose con las tendencias actuales de utilizar recursos naturales y sostenibles en la agricultura (Pandit y col., 2022).

El objetivo del presente trabajo fue encapsular mediante secado por aspersion un extracto etanólico de *R. monantha*, empleando como material de pared las proteínas de haba, así como caracterizar las propiedades fisicoquímicas y térmicas de las cápsulas y determinar el efecto inhibitorio del extracto encapsulado sobre el hongo *C. gloeosporioides*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

El fruto de *R. monantha* fue obtenido de un huerto en La Vigüeta, Tecolotla, Veracruz, México (20°20'11" N y 96°52'50" W). Los frutos fueron lavados con agua corriente y secados a 50 °C en un horno de convección (Nova-tech, HS60-AID, Jalisco, México) durante 25 h. La proteína de haba fue obtenida de Quebec, Canadá, de la empresa AGT Food and Ingredients.

Obtención del extracto de *R. monantha*

Para obtener el extracto, se empleó la metodología propuesta por Vilchis-Gómez y col. (2024). Los frutos, previamente deshidratados, se pulverizaron en un molino eléctrico (Gustark, 2000 G, Ciudad de México, México) y el polvo obtenido se tamizó con una malla No. 100 (ASTM: 100; 150 µm. Posteriormente, para extraer los CAVB se mezcló el polvo del fruto con disolvente etanólico al 80 % en una proporción 1:30 (p/v). Después, para mejorar la extracción, se empleó ultrasonido (Branson Ultrasonics Corporation, 150D, Connecticut, EE. UU.)

con una amplitud del 60 % durante 7.5 min. Finalmente, se filtró con un papel filtro Whatman No. 1 (diámetro 150 mm) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EE. UU) y el extracto se concentró en un rotavapor (IKA, RV10, Flawil, Suiza) a 50 °C con una presión de vacío de 90 kPa.

Encapsulación del extracto de *R. monantha* mediante secado por aspersión

Determinación de la temperatura de entrada al secador

Para determinar la temperatura de secado se empleó la calorimetría diferencial de barrido (DSC, por sus siglas en inglés: Differential Scanning Calorimetry) (TA-Instruments, DSC 250, New Castle, EE. UU). Se colocaron 4 mg de proteína de haba en una charola de aluminio hermética. Se utilizó una charola de aluminio vacía como referencia. Se programó una rampa de calentamiento de 10 °C/min y el análisis se llevó a cabo de 25 °C hasta 400 °C/min, bajo atmósfera de nitrógeno y un caudal de 40 mL/min. La temperatura de transición vítrea (T_g) se determinó calculando el punto medio de la región de transición en la señal del flujo de calor. Los datos obtenidos se analizaron mediante el software TRIOS, 5.0.0.44616 (Ramos-Hernández y col., 2023).

Preparación de la solución polimérica

La proteína de haba se disolvió en agua destilada estéril, en un frasco ámbar, por 30 min a 22 °C a diferentes concentraciones (15 %, 20 %, 25 % y 30 %, p/p). Después, se le añadió el extracto de *R. monantha* al 3 % p/p y se homogeneizó en un agitador magnético (Pren-do, PCA-1500, Puebla, México) por 4 h a 22 °C. La solución se sometió al proceso de secado por aspersión.

Proceso de secado por aspersión

La solución polimérica, previamente preparada, se usó para alimentar un secador por aspersión Mini Spray Dreyer (Labortechnik, Büchi B-290, Flawil, Suiza). La solución se atomizó mediante una boquilla (Labortechnik, Büchi B-290-0.7mm, Flawil, Suiza) bajo las siguientes condiciones: temperatura del aire de

entrada al secador de 115 °C, flujo de alimentación de la muestra 3 mL/min, caudal de aire 35 m³/h y presión de aire de 0.5 MPa. La solución polimérica se mantuvo en agitación constante a 120 rpm y 22 ± 1 °C. Una vez terminado el proceso, las cápsulas se recolectaron del vaso colector del equipo y se conservaron en tubos falcón estériles dentro de un desecador para sus posteriores análisis.

Estudio de fotoprotección de las cápsulas

Se utilizó una lámpara de 300 W (Osram, Ultra Vitalux, Munich, Alemania) para simular la radiación de la luz solar. El procedimiento se realizó en una cámara oscura; la distancia entre la lámpara y la muestra fue de 40 cm. Se expusieron a la luz UV, 2.5 g de extracto crudo y extracto encapsulado (a las 4 concentraciones de proteína de haba). Se determinó, en cada muestra, la capacidad de oxidación relativa del radical de ABTS⁺, al finalizar cada tiempo de exposición UV (0 h, 6 h, 12 h, 24 h y 48 h), mediante lectura a 734 nm en un espectrofotómetro (Varian, Cary 50 Bio UV-Visible, Mulgrave, Australia), utilizando ABTS⁺ previamente preparado y ajustado a un radical de 0.70 con agua destilada. Para cada tiempo de exposición a radiación UV se aplicó un diseño estadístico unifactorial y la variable de respuesta evaluada fue la oxidación relativa. El análisis se realizó por triplicado y los resultados se representaron en una gráfica, de acuerdo con el porcentaje de oxidación de ABTS⁺ respecto al tiempo transcurrido (Calderón-Santoyo y col., 2022).

Análisis termogravimétrico (TGA) de las cápsulas

Las variaciones de masa y las temperaturas de descomposición de la proteína de haba, extracto y extracto encapsulado se determinaron mediante un análisis termogravimétrico en un equipo TGA (TA Instruments, TGA 550, New Castle, EE.UU.). Se colocaron 5 mg de muestra en una charola de platino de alta temperatura. La velocidad de calentamiento fue de 10 °C/min, en un rango de 25 °C a 800 °C bajo una atmósfera de nitrógeno. La pérdida de peso y la temperatura de descomposi-

ción (Td) se analizaron con el software TRIOS, 5.0.0.44616 (TA Instruments Universal Analysis, New Castle, EE. UU.) (Iñiguez-Moreno y col., 2022).

Eficiencia de carga

La eficiencia de carga (EC) se determinó según los datos obtenidos en el TGA con el software TRIOS 5.0.0.44616, utilizando la ecuación 1.

$$\% EC = \left(1 - \left(\frac{\text{Fracción total} - \text{Fracción final}}{\text{Fracción total}}\right)\right) * 100 \quad (1)$$

Eficiencia de encapsulación

Se homogeneizaron 5 mg de cápsulas con 1 mL de agua y se agitaron en vortex por 1 min a temperatura ambiente. Posteriormente, la mezcla se centrifugó (Hermle, Z326K, Wehingen, Alemania) a 10 000 rpm durante 1 min. Después, se separó la fracción soluble (sobrenadante) y se le determinó la absorbancia a 210 nm utilizando un espectrofotómetro (Varian, Cary 50 Bio UV-Visible, Mulgrave, Australia). Se consideró el % EC para calcular la cantidad de fracción cargada (ecuación 2). Una vez obtenidos los valores, se calculó el % de eficiencia de encapsulación (EE) según la ecuación 3. Se aplicó un diseño estadístico unifactorial, se consideró como variable independiente la concentración de proteína de haba y como variable dependiente la EC y EE.

$$\text{Fracción cargada} = \left(\frac{\% EC * \text{Fracción total}}{100}\right) \quad (2)$$

$$\% EE = \left(\frac{\text{Fracción cargada} - \text{Fracción en la superficie}}{\text{Fracción cargada}}\right) * 100 \quad (3)$$

Donde:

Fracción en la superficie = cantidad de extracto en la superficie de las cápsulas.

Fracción cargada = cantidad total de extracto en las cápsulas.

Caracterización fisicoquímica de las cápsulas

Actividad de agua

Se utilizó un equipo Aqualab 4TEV (Decagon

Devices Inc., WA, EE.UU.). Se colocaron 5 g de muestra dentro de la cámara y la lectura se realizó a 25 °C. La actividad de agua (Aw) se determinó mediante el principio del punto de rocío.

Humedad

Se determinó por el método de TGA. Se colocaron 5 mg del polvo en una charola de platino de alta temperatura. La velocidad de calentamiento fue de 10 °C/min en un rango de 25 °C a 800 °C bajo una atmósfera de nitrógeno. Los datos obtenidos se analizaron con el software TRIOS 5.0.0.44616.

Solubilidad

Se determinó siguiendo la metodología de Jiménez-Sánchez y col. (2018). Se diluyó un gramo de polvo en 100 mL de agua destilada, se agitó manualmente hasta solubilizar toda la muestra y se centrifugó durante 5 min. Se tomó una alícuota de 25 mL del sobrenadante y se colocó en cajas Petri. Finalmente, se secó en estufa (Novatech, HS60-AID, Jalisco, México) a 100 °C durante 5 h. La solubilidad (%) se calculó por diferencia de peso.

Densidad aparente

Se colocó 1 g de cápsulas en una probeta graduada de 10 mL. La probeta se movió hacia arriba y hacia abajo durante 1 min hasta que se obtuvo una lectura constante del volumen de polvo. La densidad se calculó con la ecuación 4 y se expresó en g/mL.

$$\text{Densidad} = \frac{\text{Masa de la muestra (g)}}{\text{Volumen ocupado en la probeta}} * 100 \quad (4)$$

Higroscopicidad

Se colocó 1 g de cápsulas en cajas Petri a peso constante y se almacenaron en un desecador de vidrio a una temperatura ambiente de 24 °C y 75 % de humedad relativa (36 g NaCl en 100 mL de agua). El peso del polvo se registró una vez al día durante 5 d. La higroscopicidad se determinó con la ecuación 5 y se expresó en gramos de agua absorbida por 100 g de muestra seca.

$$\text{Higroscopicidad} \left(\frac{g \text{ H}_2\text{O}}{100g \text{ muestra}} \right) = \frac{mf-mi}{mi} * 100 \quad (5)$$

Donde

mf = Peso en gramos del polvo al final del proceso

mi = Peso inicial del polvo (g)

Evaluación antifúngica *in vitro* del extracto encapsulado

Preparación del hongo fitopatógeno

C. gloeosporioides LMA-Mi01 (Número de acceso: MZ254665) fue aislado del epicarpio del fruto de mango y caracterizado filogenética y morfológicamente por López-Cruz y col. (2020). El hongo fue crioconservado en glicerol al 80 % (v/v) a - 80 °C hasta su uso. *C. gloeosporioides* se cultivó en cajas de Petri con Agar Papa Dextrosa (APD) (BD Bioxon, Estado de México, México) y se incubó durante 8 d a 28 °C. La suspensión de esporas se preparó a partir de un cultivo de 15 d de antigüedad, al cual se le añadieron 10 mL de solución NaCl 0.85 % estéril y se raspó con un asa estéril. El líquido se filtró con una gasa estéril y se recuperó en un tubo cónico. La concentración de esporas se ajustó a 1×10^5 esporas/mL con un hemocitómetro (LO-Laboroptik Ltd, Lancing, Reino Unido) (González-Gutiérrez y col., 2023).

Evaluación antifúngica *in vitro*

Se realizó de acuerdo a la metodología propuesta por González-Gutiérrez y col. (2024). Se disolvieron cápsulas en 10 mL de agua estéril; la cantidad de cápsulas en cada tratamiento se calculó para obtener la concentración mínima inhibitoria del extracto (17.65 mg/mL), previamente reportada por Vilchis-Gómez y col. (2024) para la inhibición de *C. gloeosporioides*. Posteriormente, se añadieron 500 μ L sobre cajas de Petri con APD previamente solidificado. La solución se esparció con ayuda de una varilla estéril y las cajas se dejaron secar por 1 h. Posteriormente, se perforó el centro de cada una de las cajas (7 mm) y se colocaron 20 μ L de suspensión de esporas (1×10^5 esporas/mL) o un tapón de micelio de *C. gloeos-*

porioides. Después, las cajas Petri se sellaron con parafilm y se incubaron durante 8 d a 28 °C. Para el tratamiento control, solo se inoculó el patógeno. Se aplicó un diseño estadístico unifactorial para la prueba con esporas y micelio, en ambos casos. La variable de respuesta evaluada fue el porcentaje de inhibición *in vitro*. El experimento se repitió 3 veces con 5 réplicas por tratamiento. La inhibición del crecimiento se calculó con la ecuación 6.

$$\text{Inhibición (\%)} = \frac{dc-dt}{dc} * 100 \quad (6)$$

Donde:

dc = diámetro en centímetros de la colonia fúngica en el control.

dt = diámetro en centímetros de la colonia fúngica en el tratamiento.

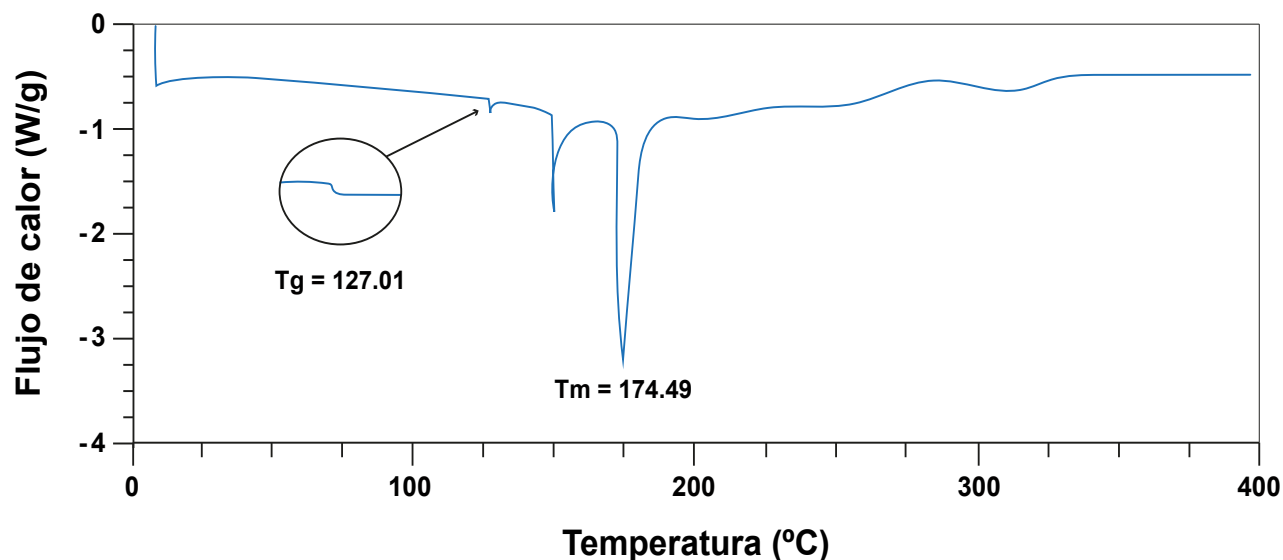
Análisis estadístico

Los parámetros fisicoquímicos se analizaron mediante una prueba t para poblaciones independientes. El resto de los experimentos se llevaron a cabo mediante análisis de varianza de una vía (ANOVA, por sus siglas en inglés: Analysis of Variance). Para la comparación de medias (\pm desviación estándar) se utilizó la prueba *Post-hoc* de diferencia mínima significativa (LSD, por sus siglas en inglés: least significance difference) de Fisher ($P < 0.05$). El análisis estadístico de los datos se realizó con el software STATISTICA v.12, StatSoft, Inc.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Calorimetría diferencial de barrido

En el termograma DSC de la proteína de haba (Figura 1) se puede observar que, la primera disrupción de la línea base se debió a la temperatura de transición vítrea (Tg) a 127.01 °C, que indica el cambio del polímero de un estado duro o vítreo a un estado blando o gomoso (Meng y Zhang, 2014). Posteriormente, se observaron dos picos endotérmicos, el primero a 149.57 °C, asociado con la evaporación del agua libre y ligada (Calderón-Santoyo y col., 2022) y el segundo a 174.49 °C, que se atribuye a la temperatura de fusión (Tm) (Alpizar-Reyes y col., 2018) del material polimérico. Se ha reportado como 130 °C el valor de Tg para la proteí-



■ Figura 1. Termograma (DSC) de la proteína de haba.
Figure 1. Thermogram (DSC) of faba bean protein.

na de haba (Saldanha-do-Carmo y col., 2021). Las diferencias respecto a este estudio pueden estar asociadas con la procedencia, la composición de las muestras y/o el procesamiento al cual ha sido sometida la proteína de haba.

El valor obtenido de la Tg permitió establecer en 115 °C la temperatura de entrada del aire al secador, para pulverizar la solución polimérica sin que pasara de su estado vítreo a uno gomoso, lo cual sucedería a los 127.01 °C, y provocaría que la proteína se aglomerase en la cámara de secado. Esto ocasiona que mejore su función como material de pared en las cápsulas, para el extracto.

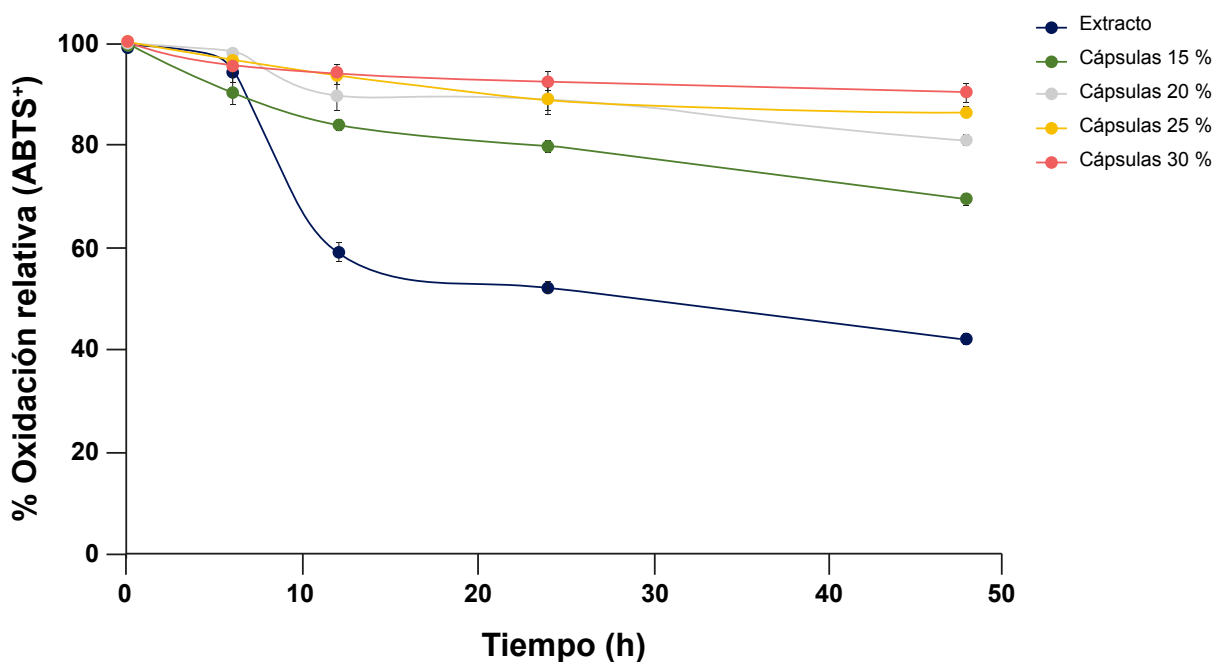
Evaluación de la fotoprotección de las cápsulas con extracto de *R. monantha*

En el análisis del efecto de la UV en el extracto crudo, se observó una pérdida del 58 % de su capacidad antioxidante inicial (ABTS⁺), después de 48 h de exposición a la luz UV (Figura 2). Las cápsulas mostraron capacidad fotoprotectora, que aumentó con la concentración proteica, pasando de conservar el 69 % de su capacidad antioxidante en la muestra con la menor concentración de proteína (15 %), a un 90 % ($P < 0.05$), en las cápsulas con 30 %

de proteína, es decir, una oxidación relativa del 10 %.

El efecto fotoprotector del material encapsulante, sobre los CAVB contenidos en el extracto de *R. monantha*, proporcional a la concentración proteica, podría deberse a que algunas estructuras moleculares de las proteínas vegetales pueden absorber la luz UV. Específicamente, la proteína de haba se caracteriza por contener aminoácidos azufrados, que son aminoácidos con cadenas laterales que contienen azufre. Cuando estos aminoácidos se exponen a la luz UV pueden provocar reacciones fotoquímicas. Estas reacciones implican la absorción de fotones UV por el átomo de azufre (Stampfli y Seebeck, 2020), lo que le confiere a la leguminosa esta capacidad fotoprotectora.

Estudios previos han reportado proteínas vegetales con efectos positivos sobre fotoprotección a compuestos, tal es el caso de González-Cruz y col. (2022), quienes documentaron que, la zeína utilizada como material encapsulante brindó una buena protección de hasta el 86 % ante la radiación UV. Así mismo, Vilchis-Gómez y col. (2024), documentaron la



■ Figura 2. Oxidación relativa del extracto sin encapsular y encapsulado con proteína de haba al 15 %, 20 %, 25 % y 30 %. Los puntos representan la media y las líneas verticales la desviación estándar. Figure 2. Relative oxidation of the non-encapsulated extract and encapsulated with 15 %, 20 %, 25 %, and 30 % of faba bean protein. The dots represent the mean and the vertical lines the standard deviation.

aplicación de la proteína de hoja de jaca como material emulsionante para el extracto de *R. monantha*, la cual brindó una protección de hasta el 90 % ante la radiación UV.

Análisis termogravimétrico (TGA) de las cápsulas

Se obtuvieron las temperaturas de descomposición y las variaciones de masa de las cápsulas y del extracto (Tabla 1). La primera disminución de peso del extracto (1.11 %) se atribuyó a la pérdida de humedad; y la segunda disminución (57.18 %) se atribuyó a la descomposición de la materia del extracto ($T_d = 211.85\text{ }^\circ\text{C}$). En el caso de las cápsulas con y sin extracto, la primera reducción de peso se debió a la pérdida de humedad con 4.97 % y 5.93 %, respectivamente. Para las cápsulas vacías, la segunda pérdida de peso (54.55 %) se atribuyó a la descomposición de las globulinas, albúminas y glutelinas ($T_d = 274.16\text{ }^\circ\text{C}$), mientras que para las cápsulas con extracto, la segunda pérdida de peso (54.49 %) se debió

a la descomposición del extracto y de la proteína ($T_d = 290.09\text{ }^\circ\text{C}$). La T_d del extracto encapsulado ($290.09\text{ }^\circ\text{C}$) fue superior a la T_d del extracto crudo ($211.85\text{ }^\circ\text{C}$). No se observó un evento simultáneo de descomposición (TGA) y fusión (DSC). Este comportamiento evidencia una mayor estabilidad de las cápsulas vacías y con extracto a temperaturas de $230.71\text{ }^\circ\text{C}$ y $260.67\text{ }^\circ\text{C}$ (inicio de la descomposición por TGA), las cuales son superiores a la T_m registrada en el DSC ($174.49\text{ }^\circ\text{C}$) para la proteína de haba (Figura 1).

Los hallazgos muestran que la proteína de haba ejerce un efecto termoprotector sobre el extracto de *R. monantha*, con un incremento de $T_d = 78.24\text{ }^\circ\text{C}$. Por otra parte, la T_d de las cápsulas vacías fue menor que la de las cápsulas con extracto, el incremento de $15.93\text{ }^\circ\text{C}$ muestra que el extracto encapsulado es más estable térmicamente que las cápsulas vacías. Por lo tanto, una vez que las cápsulas sean aplicadas en el epicarpio de los frutos, la pro-

■ **Tabla 1. Análisis termogravimétrico (TGA) de las cápsulas de proteína de haba con y sin extracto.**
Table 1. Thermogravimetric analysis (TGA) of faba bean protein capsules with and without extract.

Compuesto/ cápsula	Eventos térmicos por TGA					
	Temperatura de descomposición					Cambios observados
	Rango (°C)	Inicio (°C)	Punto medio (°C)	Final (°C)	Pérdida de peso (%)	Atribución de pérdida de peso
Extracto	24.87 a 100	83.63	89.86	98.77	1.118	Agua libre y ligada
	150 a 380	175.19	211.85	237.67	57.18	Descomposición de la materia del extracto
	500 a 793.03	642.68	689.06	784.77	19.605	Minerales
Cápsulas vacías	25 a 110	35.94	52.31	68.72	5.93	Agua libre y ligada
	149 a 372	230.71	274.16	317.55	54.55	Descomposición de las globulinas, albuminas y glutelinas
	500 a 792	561.84	590.61	619.34	16.91	Minerales
Cápsulas + extracto	25 a 100	31.64	47.02	60.69	4.97	Agua libre y ligada
	205 a 380	260.67	290.09	319.58	54.49	Descomposición del extracto y de la proteína
	486 a 800	753.53	774.42	762.84	8.96	Minerales

teína de haba podrá favorecer la conservación del extracto, brindando termoestabilidad a los compuestos fenólicos para ejercer su acción contra *C. gloeosporioides*.

Eficiencia de encapsulación y eficiencia de carga

Los datos obtenidos indican que a medida que aumentó el porcentaje de proteína, tanto la EE, como la de carga incrementaron (Tabla 2). Las cápsulas con el porcentaje más alto de proteína alcanzaron hasta un 70.15 % de EE, mien-

tras que el mayor valor de EC alcanzó hasta un 36.03 %. Dicho comportamiento es debido a las interacciones mejoradas entre la proteína de haba y el extracto, ya que, al momento de aplicar mayor porcentaje de polímero, este crea enlaces intermoleculares que forman una coraza más gruesa, que induce una encapsulación más eficiente (Selim y col., 2021). Los presentes hallazgos evidencian que el cambio de los porcentajes utilizados de la composición del material de la pared es una estrategia eficaz para mejorar la EE de las cápsulas a base

■ **Tabla 2. Eficiencia de encapsulación (EE %) y eficiencia de carga (EC %) de las cápsulas con extracto.**
Table 2. Encapsulation efficiency (EE %) and loading efficiency (LE %) of capsules with extract.

Tratamiento/Cápsula	EE (%)	EC (%)
Proteína de haba 15 %	49.83 ± 0.02 ^a	25.73 ± 0.32 ^a
Proteína de haba 20 %	57.22 ± 1.23 ^b	31.20 ± 1.43 ^b
Proteína de haba 25 %	63.78 ± 0.55 ^c	32.68 ± 0.63 ^c
Proteína de haba 30 %	70.15 ± 1.09 ^d	36.03 ± 0.89 ^d

Los valores representan la media ± desviación estándar. Para cada parámetro, los valores medios con la misma letra indican que no existe diferencia significativa entre los tratamientos según la prueba LSD de Fisher (P < 0.05).

de proteínas. Los resultados fueron mejores a los reportados por Suárez y Brito (2020), quienes obtuvieron una EE de 32.83 %, al utilizar proteína de zeína para encapsular antocianinas.

Caracterización fisicoquímica de las cápsulas

Se realizó la caracterización de las cápsulas al 30 % de proteína, ya que estas fueron las que obtuvieron mejores resultados en cuanto a la EE, EC, fotoprotección y consecuentemente, fueron las que presentaron mayor potencial de inhibición fúngica.

Actividad de agua

Todas las muestras presentaron una baja actividad de agua (A_w) (Tabla 3) indicando que eran estables, con reducida susceptibilidad a presentar desarrollo microbiano, o reacciones bioquímicas que deteriorasen el producto en polvo (Gabas y col., 2009), resultados esperados en la encapsulación mediante secado por aspersión, proceso que permite la estabilidad del extracto. Las cápsulas vacías presentaron mayor valor ($P < 0.05$) de A_w (0.32) y contenido de humedad (5.95 %) que las cápsulas con extracto ($A_w = 0.26$; 4.97 %) (Tabla 3). Esto indica que, la incorporación del extracto provocó un aumento en el contenido de sólidos, e indujo interacciones soluto-líquido, entre el extracto y los componentes de la cápsula (Gharsallaoui y col., 2012) que modificaron la cantidad de agua libre. En otros estudios, se han reportado valores de A_w menores de 0.70 en proteínas aplicadas como material de pared, lo

cual favorecen su conservación y evita el crecimiento de microorganismos (Dumitrașcu y col., 2021).

Determinación de humedad

El porcentaje de humedad de las cápsulas con extracto fue menor ($P < 0.05$) respecto a las cápsulas vacías (Tabla 3), ya que el extracto tenía una humedad inicial baja (1.11 %), por lo que no provocó un incremento en el contenido de humedad (Ulfa y col., 2023). Además, la adición de extracto aumentó el contenido de sólidos, lo que llevó a una disminución en el contenido de humedad de las cápsulas. Por otro lado, se ha reportado que los compuestos fenólicos tienen la capacidad de retener agua estructural mediante enlaces de hidrógeno fuertes (OH-O) y débiles (CH-O), así como favorecer la deshidratación durante el proceso de encapsulación (Malloum y Conradie, 2023).

Solubilidad de las cápsulas

Las cápsulas con extracto, así como las cápsulas vacías mostraron una solubilidad del 100 % (datos no mostrados en Tablas), lo que permite determinar qué se obtendrá una eficaz liberación del encapsulado. Esta alta solubilidad en agua de las cápsulas se atribuye al material encapsulante, ya que, como se ha reportado, la proteína de haba es totalmente soluble en agua, debido a su composición de aminoácidos, el tipo de enlaces intermoleculares (hidrofilicos) y la conformación estructural (Zhu y Huang, 2019).

■ **Tabla 3. Parámetros fisicoquímicos de las cápsulas.**

Table 3. Physicochemical parameters of the capsules.

Tratamiento	A_w	Humedad (%)	Higroscopicidad ($\text{g H}_2\text{O} / 100 \text{ g muestra}$)	Densidad aparente (g/mL)
Cápsulas vacías	0.3275 ± 0.01^a	5.95 ± 0.3^a	13.51 ± 0.1^a	0.33 ± 0.14^a
Cápsulas 30 % de proteína + extracto	0.2652 ± 0.02^b	4.97 ± 0.1^b	12.59 ± 0.2^b	0.28 ± 0.02^b

Los valores representan la media \pm desviación estándar. Para cada parámetro las letras diferentes significan diferencia significativa entre los tratamientos ($P < 0.05$).

Higroscopicidad de las cápsulas

Las cápsulas sin extracto presentaron mayor higroscopicidad (13.51 %), en comparación con las cápsulas que contenían el extracto (12.59 %) ($P < 0.05$) (Tabla 3). Una posible explicación es que el extracto podría haber actuado como una barrera contra la humedad, reduciendo la capacidad de la cápsula para absorber agua del entorno circundante (Sarabandi y col., 2018). Además, cuando se aplica el extracto, este puede formar enlaces intermoleculares que pueden evitar la interacción de los grupos OH de la proteína de haba con el agua del ambiente, afectando su capacidad de absorción de agua (Ramos-Hernández y col., 2021).

Densidad aparente

Las cápsulas con extracto presentaron densidad aparente de 0.28 g/mL, mientras que en las cápsulas vacías fue de 0.33 g/mL (Tabla 3). La diferencia pudo ser causada por distintos factores, como la presencia del extracto, contenido de humedad y la viscosidad de la solución polimérica. En estudios previos Wu y col. (2022) reportaron que la higroscopicidad puede afectar significativamente la densidad aparente del polvo, ya que la tendencia de un material a absorber humedad del entorno circundante puede impactar en su densidad aparente. A medida que aumenta la naturaleza higroscópica de un polvo puede conducir a la formación de una fina película de agua adsorbida en la superficie de las partículas. Esta película de agua puede llenar los huecos entre ellas, lo que resulta en el aumento de la densidad aparente del polvo (Mendoza-Corvis y col., 2016).

Inhibición antifúngica *in vitro* del extracto de *R. monantha* encapsulado

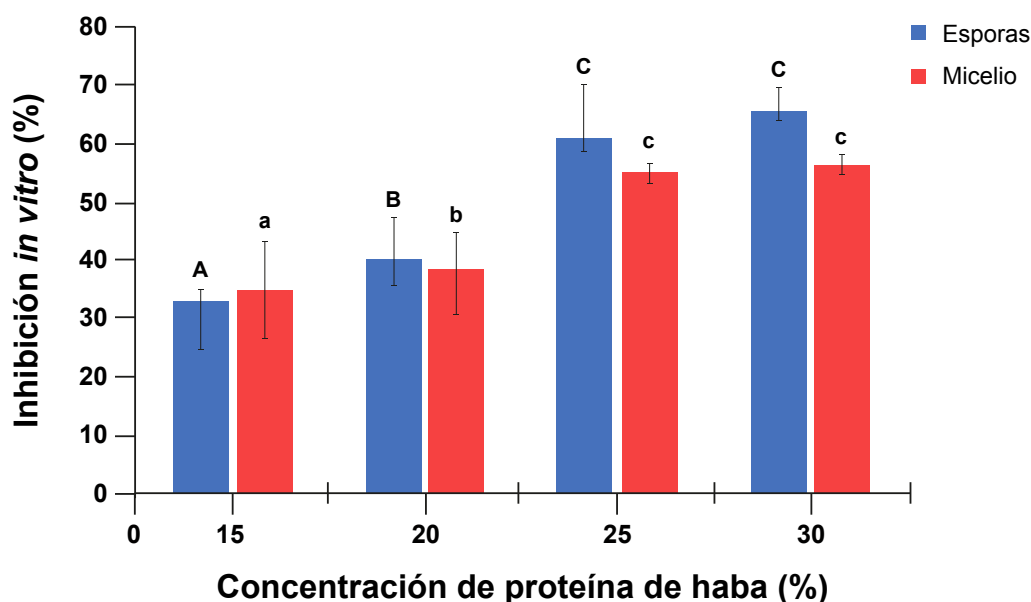
A medida que la concentración de proteína incrementó, se registró un aumento del porcentaje de inhibición ($P < 0.05$), con mayor efecto en la inhibición de la germinación de esporas que en la inhibición del crecimiento micelial (Figura 3). Lo anterior puede atribuirse al estado fisiológico del hongo; en el caso del micelio, la inhibición fue menor, debido a que el hongo se encuentra en su estado

activo, en una etapa de desarrollo más avanzada y con una pared celular más resistente (Iñiguez-Moreno y col., 2020). Esta característica le confiere una mayor resistencia frente a factores externos, lo que dificulta la acción de los compuestos fenólicos. Por el contrario, las esporas representan una de las primeras etapas del ciclo de vida del hongo y requieren germinar primero para iniciar el desarrollo del micelio.

Las esporas son más sensibles a los compuestos fenólicos debido a su menor desarrollo estructural. En este sentido, la escopoletina y la quercetina pueden interferir directamente en la inhibición de la germinación de esporas (Beyer y col., 2019). Sin embargo, las cápsulas con 25 % de proteína presentaron una inhibición del 60.54 % y 55.03 % con esporas y micelio, respectivamente, que no fueron significativamente diferentes ($P < 0.05$) a las obtenidas con 30 % de proteína (65.4 % y 55.23 %, con esporas y micelio, respectivamente), indicando que ambas concentraciones presentaron una capacidad similar para inhibir el hongo *C. gloeosporioides*.

El incremento en la capacidad de inhibición del hongo, asociado con una mayor concentración proteica, podría deberse a la formación de una cápsula con una pared más gruesa y estructurada, lo que induce una mayor protección de los CAVBs. De acuerdo con Ramos y col. (2022) la proteína crea una barrera mediante enlaces intermoleculares, lo que resulta en una mayor eficiencia de encapsulación utilizando concentraciones más altas de polímero.

Vilchis-Gómez y col. (2024) utilizaron un extracto etanólico de *R. monantha* para inhibir el hongo *C. gloeosporioides* y atribuyeron la actividad antifúngica del extracto a los compuestos fenólicos, como la escopoletina y la quercetina, que son capaces de interferir con la estructura de la pared celular del hongo y modificar su permeabilidad. Se ha establecido que la escopoletina aumenta la permeabilidad de la membrana celular fúngica, debido a la explosión de especies reactivas de oxígeno (ROS,



■ Figura 3. Efecto inhibitorio del extracto de *R. monantha* encapsulado con proteína de haba al 15 %, 20 %, 25 % y 30 % frente a *C. gloeosporioides* utilizando esporas y micelio. Cada barra representa la media y las líneas verticales la desviación estándar. Los valores medios con la misma letra minúscula y los valores medios con la misma letra mayúscula indican que no existe diferencia significativa entre los tratamientos según la prueba LSD de Fisher ($P < 0.05$).

Figure 3. Inhibitory effect of the *R. monantha* extract encapsulated with 15 %, 20 %, 25 %, and 30 % of faba bean protein against *C. gloeosporioides* using spores and mycelium. Each bar represents the mean and the vertical lines the standard deviation. Mean values with the same lowercase letter and mean values with the same uppercase letter indicate that there is no significant difference between treatments according to Fisher's LSD test ($P < 0.05$).

por sus siglas en inglés: reactive oxygen species) que dañan la membrana celular (Beyer y col., 2019). Las ROS como el peróxido de hidrógeno, el radical superóxido y el radical hidroxilo, incrementan significativamente su concentración dentro de las células fúngicas en respuesta al estrés oxidativo inducido por compuestos fenólicos. Al interactuar entre sí y con componentes celulares, como proteínas y ácidos nucleicos, las ROS generan daños en los lípidos de la membrana celular, lo que compromete su integridad estructural y funcional, provocando la apoptosis del hongo (Castano-Duque y col., 2024). Por otro lado, la quercetina puede interferir con la síntesis de la pared celular y alterar la permeabilidad de la membrana celular de los hongos fitopatógenos, causando la fuga de micronutrientes de la célula y finalmente la lisis (Aguilar-Veloz y col., 2020).

Ambos compuestos son susceptibles a cambios estructurales por efecto de la temperatura y la radiación UV, que disminuyen su efecto antifúngico (Vilchis-Gómez y col., 2024), por lo que es importante desarrollar estrategias de fotoprotección, como el encapsulamiento.

CONCLUSIONES

El secado por aspersion de la proteína de haba fue adecuado para la encapsulación del extracto de *R. monantha*. El uso de 30 % de proteína de haba permitió obtener alta eficiencia de encapsulación (70.15 %) y muy buenas propiedades termoprotectoras (~ 78.24 °C) y fotoprotectoras (10 % de oxidación relativa) sobre los CAVBs del extracto. Estas cápsulas preservaron la capacidad antifúngica *in vitro* del extracto, por lo que fueron adecuadas para el control de *C. gloeosporioides*, con una

inhibición de la germinación de esporas del 65.4 %. Además, presentaron calidad físico-química adecuada en cuanto a actividad de agua, solubilidad, higroscopicidad y densidad aparente, lo que sugiere su uso potencial en campo. Las características de estabilidad del encapsulado posicionan a la proteína de haba como una alternativa prometedora para ser utilizada como material encapsulante en otras sustancias bioactivas, con aplicaciones en la industria alimenticia y farmacéutica, en función de las propiedades biológicas de los compuestos que se busque proteger.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI) por la beca otorgada a Claudia Marcela Guillén-Jiménez para la realización de este trabajo.

DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declararon no tener conflictos de intereses de ningún tipo.

REFERENCIAS

- Aguilar-Veloz, L. M., Calderón-Santoyo, M., Vázquez-González, Y., & Ragazzo-Sánchez, J. A. (2020). Application of essential oils and polyphenols as natural antimicrobial agents in postharvest treatments: Advances and challenges. *Food Science & Nutrition*, 8(6), 2555-2568. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1437>
- Alehosseini, A., Ghorani, B., Sarabi-Jamab, M., & Tucker, N. (2018). Principles of electrospraying: A new approach in protection of bioactive compounds in foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58(14), 2346-2363. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1323723>
- Alpizar-Reyes, E., Castaño, J., Carrillo-Navas, H., Alvarez-Ramírez, J., Gallardo-Rivera, R., Pérez-Alonso, C., & Guadarrama-Lezama, A. Y. (2018). Thermodynamic sorption analysis and glass transition temperature of faba bean (*Vicia faba* L.) protein. *Journal of Food Science and Technology*, 55(3), 935-943. [doi:10.1007/s13197-017-3001-1](https://doi.org/10.1007/s13197-017-3001-1)
- Beyer, S. F., Beesley, A., Rohmann, P. F., Schultheiss, H., Conrath, U., & Langenbach, C. J. (2019). The *Arabidopsis* non-host defence-associated coumarin scopoletin protects soybean from asian soybean rust. *The Plant Journal*, 99(3), 397-413. <https://doi.org/10.1111/tpj.14426>
- Calderón-Santoyo, M., Iñiguez-Moreno, M., Barros-Castillo, J. C., Miss-Zacarías, D. M., Díaz, J. A., & Ragazzo-Sánchez, J. A. (2022). Microencapsulation of citral with Arabic gum and sodium alginate for the control of *Fusarium pseudocircinatum* in bananas. *Iranian Polymer Journal*, 31(5), 665-676. <https://doi.org/10.1007/s13726-022-01033-z>
- Castano-Duque, L., Lebar, M. D., Mack, B. M., Lohmar, J. M., & Carter-Wientjes, C. (2024). Investigating the impact of flavonoids on *Aspergillus flavus*: Insights into cell wall damage and biofilms. *Journal of Fungi*, 10(9), 665. <https://doi.org/10.3390/jof10090665>
- Chamudeshwari, J., Parthasarathi, S., & Ali, R. (2024). Chapter 4 - Spray drying of milk and milk products. In S. Mahdi-Jafari & K. Samborska (Eds.), *Spray drying for the food industry* (pp. 87-123). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819799-8.00002-8>
- Dissanayake, T. & Bandara, N. (2024). Protein-based encapsulation systems for codelivery of bioactive compounds: Recent studies and potential applications. *Current Opinion in Food Science*, 57, 101181. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2024.101181>
- Dumitraşcu, L., Stănciuc, N., & Aprodu, I. (2021). Encapsulation of anthocyanins from cornelian cherry fruits using heated or non-heated soy proteins. *Foods*, 10(6), 1342. <https://doi.org/10.3390/foods10061342>
- Duodu, K. G. & Apea-Bah, F. B. (2017). African legumes: Nutritional and health-promoting attributes. In R. N. John & J. M. Taylor (Eds.), *Gluten-Free ancient grains* (pp. 223-269). Elsevier. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition.
- FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations (2021). Cultivos y productos de ganadería. [En línea]. Disponible en: <https://www.fao.org/faostat/es/#data/QCL>. Fecha de consulta: 16 de mayo de 2023.
- Fatnassi, M., Tourné-Péteilh, C., Peralta, P., Cac-

- ciaguerra, T., Dieudonné, P., Devoisselle, J. M., & Alonso, B. (2013). Encapsulation of complementary model drugs in spray-dried nanostructured materials. *Journal of Sol-Gel Science and Technology*, 68(2), 307-316. <https://doi.org/10.1007/s10971-013-3170-y>
- Gabas, A. L., Telis-Romero, J., Giraldo-Gómez, G. I., & Telis, V. R. N. (2009). Propiedades termodinámicas de sorción de agua de la pulpa de lulo en polvo con encapsulantes. *Food Science and Technology*, 29(4), 911-918. <https://doi.org/10.1590/s0101-20612009000400032>
- Gatto, M. A., Ippolito, A., Linsalata, V., Cascarano, N. A., Nigro, F., Vanadia, S., & Di-Venere, D. (2011). Activity of extracts from wild edible herbs against postharvest fungal diseases of fruit and vegetables. *Postharvest Biology and Technology*, 61(1), 72-82. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2011.02.005>
- Gharsallaoui, A., Saurel, R., Chambin, O., & Voilley, A. (2012). Pea (*Pisum sativum*, L.) protein isolate stabilized emulsions: A novel system for microencapsulation of lipophilic ingredients by spray drying. *Food and Bioprocess Technology*, 5, 2211-2221. <https://doi.org/10.1007/s11947-010-0497-z>
- González-Cruz, E., Andrade-Gonzales, I., Prieto, C., Calderón-Santoyo, M., & Ragazzo-Sánchez, J. (2022). Nanoencapsulation of polyphenolic-rich extract from biloxi blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.) by electrospraying using zein as encapsulating material. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 13(1), 78. <https://doi.org/10.33263/BRIAC131.078>
- González-Gutiérrez, K. N., Ragazzo-Sánchez, J. A., Barros-Castillo, J. C., Narváez-Zapata, J. A., & Calderón-Santoyo, M. (2023). Yeasts with potential biocontrol of *Colletotrichum gloeosporioides* in avocado (*Persea americana* Mill. cv. Hass) and characterization of *Yamadazyma mexicana* mechanisms. *European Journal of Plant Pathology*, 165(3), 525-543. <https://doi.org/10.1007/s10658-022-02625-4>
- González-Gutiérrez, K. N., Ragazzo-Sánchez, J. A., & Calderón-Santoyo, M. (2024). Bioformulation of *Yamadazyma mexicana* LPa14 by electrospraying process: Anthracnose control and effect on postharvest quality of avocado fruit. *Biological Control*, 190, 105449. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2024.105449>
- Hacisalihoglu, G., Freeman, J., Armstrong, P. R., Seabourn, B. W., Porter, L. D., Settles, A. M., & Gustin, J. L. (2020). Protein, weight, and oil prediction by single-seed near-infrared spectroscopy for selection of seed quality and yield traits in pea (*Pisum sativum*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(8), 3488-3497. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10389>
- Iñiguez-Moreno, M., Calderón-Santoyo, M., Barros-Castillo, J. C., Miss-Zacarías, D. M., Díaz, J. A., & Ragazzo-Sánchez, J. A. (2022). Nanofibers added with citral: Characterization and their application to postharvest control of *Fusarium pseudocircinatum* in bananas. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46(12). <https://doi.org/10.1111/jfpp.17188>
- Iñiguez-Moreno, M., Ragazzo-Sánchez, J. A., Barros-Castillo, J. C., Sandoval-Contreras, T., & Calderón-Santoyo, M. (2020). Sodium alginate coatings added with *Meyerozyma caribbica*: Postharvest biocontrol of *Colletotrichum gloeosporioides* in avocado (*Persea americana* Mill. cv. Hass). *Postharvest Biology and Technology*, 163, 111123. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2020.111123>
- Ismail, B. P., Senaratne-Lenagala, L., Stube, A., & Brackenridge, A. (2020). Protein demand: Review of plant and animal proteins used in alternative protein product development and production. *Animal Frontiers*, 10(4), 53-63. <https://doi.org/10.1093/af/vfaa040>
- Jiménez-Sánchez, D. E., Calderón-Santoyo, M., Ortiz-Basurto, R. I., Bautista-Rosales, P. U., & Ragazzo-Sánchez, J. A. (2018). Effect of maltodextrin reduction and native agave fructans addition on the physicochemical properties of spray-dried mango and pineapple juices. *Food Science and Technology International*, 24(6), 519-532. <https://doi.org/10.1177/1082013218769168>
- Juárez-Trujillo, N., Monribot-Villanueva, J. L., Alvarado-Olivarez, M., Luna-Solano, G., Guerrero-Analco, J. A., & Jiménez-Fernández, M. (2018). Phenolic profile and antioxidative properties of pulp and seeds of *Randia monantha* Benth. *Industrial Crops and Products*, 124, 53-58. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.07.052>
- Karkanis, A., Ntatsi, G., Lepse, L., Fernández, J. A., Vågen, I. M., Rewald, B., Alsina, I., Kronberga, A., Balliu, A., Olle, M., Bodner, G., Dubova, L., Rosa, E., & Savvas, D. (2018). Faba bean cultivation – Revealing novel managing practices for more sustainable and competitive European cropping Systems. *Frontiers in Plant Science*, 9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01115>

- Kumar, M., Tomar, M., Punia, S., Dhakane-Lad, J., Dhumal, S., Changan, S., Senapathy, M., Berwal, M. K., Sampathrajan, V., Sayed, A. A. S., Chandran, D., Pandiselvam, R., Rais, N., Mahato, D. K., Udikeri, S. S., Satankar, V., Anitha, T., Reetu, R., & Kennedy, J. F. (2022). Plant-based proteins and their multifaceted industrial applications. *LWT- Food Science and Technology*, 154, 112620. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112620>
- López-Cruz, R., Ragazzo-Sánchez, J. A., & Calderón-Santoyo, M. (2020). Microencapsulation of *Meyerozyma guilliermondii* by spray drying using sodium alginate and soy protein isolate as wall materials: A biocontrol formulation for anthracnose disease of mango. *Biocontrol Science and Technology*, 30(10), 1116-1132. <https://doi.org/10.1080/09583157.2020.1793910>
- Mahdi-Jafari, S. (2017). An overview of nanoencapsulation techniques and their classification. In S. Mahdi-Jafari (Ed.), *Nanoencapsulation technologies for the food and nutraceutical industries* (pp. 1-34). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809436-5.00001-X>
- Malloum, A. & Conradie, J. (2023). Microsolvation of phenol in water: Structures, hydration free energy and enthalpy. *Molecular Simulation*, 49(4), 403-414. <https://doi.org/10.1080/08927022.2022.2163674>
- Mariscal-Amaro, L. A., Villaseñor-Mir, H. E., Solís-Moya, E., Hortelano-Santa Rosa, R. y Martínez-Cruz, E. (2020). Efecto de fungicidas sobre caracteres agronómicos, rendimiento y tizones foliares en trigo de temporal en México. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 43(1), 71. <https://doi.org/10.35196/rfm.2020.1.71>
- Méndez-Ventura, L. y Hernández-Medel, M. (2009). Evaluación de la toxicidad del fruto de *Randia monantha Benth.* *Revista Médica de la Universidad Veracruzana*, 9(1), 41-45.
- Mendoza-Corvis, F., Arteaga-Martinez, M. y Perez-Solis, O. (2016). Comportamiento de la vitamina c en un producto a base de lactosuero y pulpa de mango variedad magdalena river (*Mangifera indica* L.) durante el secado por aspersión. *Revista Chilena de Nutrición*, 43(2), 8. <https://doi.org/10.4067/s0717-75182016000200008>
- Meng, Y. & Zhang, X. (2014). Nanostructure formation in Thermoset/Block copolymer and Thermoset/Hyperbranched polymer blends. In S. Thomas, R. Shanks & S. Chandrasekharakurup (Eds.), *Nanostructured Polymer Blends* (pp. 161-194). Elsevier, London.
- Ojeda-Ayala, M., Gaxiola-Camacho, S. M., & Delgado-Vargas, F. (2022). Phytochemical composition and biological activities of the plants of the genus *Randia*. *Botanical Sciences*, 100(4), 779-796. <https://doi.org/10.17129/botsci.3004>
- Oulahal, N. & Degraeve, P. (2022). Phenolic-rich plant extracts with antimicrobial Activity: An alternative to food preservatives and biocides? *Frontiers in Microbiology*, 12(1). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.753518>
- Pandit, M. A., Kumar, J., Gulati, S., Bhandari, N., Mehta, P., Katyaj, R., Rawat, C. D., Mishra, V., & Kaur, J. (2022). Major biological control strategies for plant pathogens. *Pathogens*, 11(2), 273. <https://doi.org/10.3390/pathogens11020273>
- Ramos-Hernández, J. A., Calderón-Santoyo, M., Prieto, C., Lagarón, J. M., Navarro-Ocaña, A., & Ragazzo-Sanchez, J. A. (2023). Encapsulation with HDPAF-WP of the hexane fraction of sea grape (*Coccoloba uvifera* L.) leaf extract by electrospraying. *Polymer Bulletin*, 80(1), 959-975. [10.1007/s00289-022-04088-3](https://doi.org/10.1007/s00289-022-04088-3)
- Ramos-Hernández, J. A., Lagarón, J. M., Calderón-Santoyo, M., Prieto, C., & Ragazzo-Sánchez, J. A. (2021). Enhancing hygroscopic stability of agave fructans capsules obtained by electrospraying. *Journal of Food Science and Technology*, 58(4), 1593-1603. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04672-3>
- Ramos, R., Bernard, J., Ganachaud, F., & Miserez, A. (2022). Protein-based encapsulation strategies: Toward micro- and nanoscale carriers with increased functionality. *Small Science*, 2(3). <https://doi.org/10.1002/smssc.202100095>
- Rodiño, P., Santalla, M., De-Ron M, A., & Drevon-Jacques, J. (2005). Variability in symbiotic nitrogen fixation among white landraces of common bean from the Iberian peninsula. *Symbiosis*, 2, 69-78.
- Saldanha-do-Carmo, C., Knutsen, S. H., Malizia, G., Dessev, T., Geny, A., Zobel, H., Myhrer, K. S., Varela, P., & Sahlstrøm, S. (2021). Meat analogues from a faba bean concentrate can be generated by high moisture extrusion. *Future Foods*, 3, 100014. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2021.100014>
- Sarabandi, K., Sadeghi-Mahoonak, A., Hamishekar, H., Ghorbani, M., & Jafari, S. M. (2018). Microencapsulation of casein hydrolysates: Physicoche-

- mical, antioxidant and microstructure properties. *Journal of Food Engineering*, 237, 86-95. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2018.05.036>
- Schumacher, H., Paulsen, H. M., Gau, A. E., Link, W., Jürgens, H. U., Sass, O., & Dieterich, R. (2011). Seed protein amino acid composition of important local grain legumes *Lupinus angustifolius* L., *Lupinus luteus* L., *Pisum sativum* L. and *Vicia faba* L. *Plant Breeding*, 130(2), 156-164. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2010.01832.x>
- Selim, K. A., Alharthi, S. S., Abu El-Hassan, A. M., Elneairy, N. A., Rabee, L. A., & Abdel-Razek, A. G. (2021). The effect of wall material type on the encapsulation efficiency and oxidative stability of fish oils. *Molecules*, 26(20), 6-19. <https://doi.org/10.3390/molecules26206109>
- Simonetti, G., Brasili, E., & Pasqua, G. (2020). Antifungal activity of phenolic and polyphenolic compounds from different matrices of *Vitis vinifera* L. against human pathogens. *Molecules*, 25(16), 37-48. <https://doi.org/10.3390/molecules25163748>
- Stampfli, A. R. & Seebeck, F. P. (2020). The catalytic mechanism of sulfoxide synthases. *Current Opinion in Chemical Biology*, 59(1), 111-118. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2020.06.007>
- Suárez, H. M. y Brito, D. C. (2020). Eficiencia de encapsulación y capacidad de carga de antocianinas de *Vaccinium floribundum* kunt en nanopartículas de zeína. *Infoanalítica*, 8(1), 83-97. <https://doi.org/10.26807/ia.v8i1.98>
- Ulfa, A. S., Emelda, E., Munir, M. A., & Sulistyani, N. (2023). Pengaruh metode ekstraksi maserasi dan sokletasi terhadap standardisasi parameter spesifik dan non spesifik ekstrak etanol biji pepaya (*Carica papaya* L.). *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*, 6(1), 1-12. <https://doi.org/10.36387/jifi.v6i1.1387>
- Vilchis-Gómez, D. S., Calderón-Santoyo, M., Barros-Castillo, J. C., Zamora-Gasga, V. M., & Ragazzo-Sánchez, J. A. (2024). Ultrasound assisted extraction of polyphenols from *Randia monantha*: Optimization, characterization and antifungal activity. *Industrial Crops and Products*, 209, 117932. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2023.117932>
- Wang, Y., Ghosh, S., & Nickerson, M. T. (2022). Microencapsulation of flaxseed oil by lentil protein isolate - κ -carrageenan and - ι -carrageenan based wall materials through spray and freeze drying. *Molecules*, 27, 3195. <https://doi.org/10.3390/molecules27103195>
- Warsame, A. O., Michael, N., O'Sullivan, D. M., & Tosi, P. (2020). Identification and quantification of major faba bean seed proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(32), 8535-8544. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c02927>
- Wu, Z., Wu, Y., Zakhvatayeva, A., Wang, X., Liu, Z., Yang, M., Zheng, Q., & Wu, C. Y. (2022). Influence of moisture content on the filling of pharmaceutical powders. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 78, 103985. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2022.103985>
- Yan, C., Kim, S. R., Ruiz, D. R., & Farmer, J. R. (2022). Microencapsulation for food applications: A review. *ACS Applied Bio Materials*, 5(12), 5497-5512. <https://doi.org/10.1021/acsabm.2c00673>
- Zhu, J. & Huang, Q. (2019). Nanoencapsulation of functional food ingredients. In T. Mingquian (Ed.), *Advances in Food and Nutrition Research* (pp.129-165). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2019.03.005>
- Żmudziński, D., Goik, U., & Ptaszek, P. (2021). Functional and rheological properties of *Vicia faba* L. protein isolates. *Biomolecules*, 11(2), 178. <https://doi.org/10.3390/biom11020178>