

Estudio de los metabolitos secundarios de la *Alstroemeria* y sus actividades antioxidante y antifúngica

Diego Alejandro JIMÉNEZ QUINTERO

Trabajo de grado para optar al título de Químico

Directora:

Elena E. STASHENKO

Química, *Ph.D.*

Codirectora:

Lady Johanna SIERRA PRADA

Química, *Ph.D.*

Universidad Industrial de Santander

Facultad de Ciencias

Escuela de Química

Bucaramanga

2025

### **Agradecimientos**

A Dios, primeramente, por ayudarme a cumplir mi más anhelado sueño. A mis padres, por su compañía y apoyo incondicional a lo largo de este camino; a quienes debo todo lo que soy y a quienes agradezco por el esfuerzo que han realizado para que esto fuera una realidad. A mi hermana Ana Milena, por motivarme y estar a mi lado siempre, sin importar las circunstancias. A mis amigos más queridos, JR William y Angélica, gracias por estar desde el inicio y darme ánimo cuando lo necesité. A la profesora Dra. Elena E. STASHENKO por depositar su confianza en mí para este proyecto y transmitir parte de sus innumerables conocimientos junto al profesor Dr. Jairo René MARTÍNEZ. A la Dra. Lady SIERRA por su paciencia, instrucción y apoyo en la ejecución de este proyecto. A todo el personal de CENIVAM-CIBIMOL-CROM-MASS por su ayuda y respaldo en el proceso, en especial a la profesional Zuleima SANDOVAL, por cada momento compartido. A mis compañeros del grupo de investigación: Alejandra, Valeria, Daniela, Juan Diego, Edwin, Manuel, Silvia, Karen, Sebastián y Javier, infinitas gracias por las experiencias que sumaron a mi vida, junto con mis amigos de la carrera: Ella, Karen, Ely, Silvia, Juan Manuel, Camilo y Cathalina. A mi amiga Yesika, por ser un apoyo incondicional en el proceso.

A la profesora Dra. Mónica FAJARDO por su participación con los estudiantes de microbiología: María José, Joan y Yeffrey; y las técnicas de laboratorio, Natalia, Fanny, Claudia y Marta, gracias por toda la ayuda y el acompañamiento brindado; también a David por la ayuda y asesoría durante el proceso.

A la Universidad Industrial de Santander, la Facultad de Ciencias y la Escuela de Química, la empresa C.I. Flores Funza S.A.S., el proyecto Jardín Botánico Experimental\*Con\*Sentido (Un mundo en un jardín) del Centro Nacional de Excelencia de Investigaciones para la Agroindustrialización de Especies Vegetales Aromáticas y Medicinales Tropicales – CENIVAM,

y al programa Generación E – componente Excelencia, infinitas gracias por los recursos y el apoyo, indispensables para el desarrollo de esta investigación.

**Tabla de Contenido**

	<b>Pág.</b>
<b>INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>17</b>
<b>1. ESTADO DEL ARTE.....</b>	<b>22</b>
<b>2. MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>32</b>
2.1. Familia Alstroemeriaceae .....	32
2.2. Género <i>Alstroemeria</i> .....	32
2.2.1. <i>Alstroemeria</i> spp. var. <i>Nadya</i> .....	35
2.2.2. Cultivo y propagación.....	36
2.2.3. Requerimientos de exportación.....	37
2.2.4. Tratamiento postcosecha.....	39
2.2.5. Enfermedades y plagas en cultivos de flores .....	39
2.2.5.1. <i>Botrytis cinerea</i> .....	40
2.2.5.2. <i>Fusarium oxysporum</i> .....	43
2.3. Compuestos fenólicos .....	47
2.4. Alergias relacionadas con plantas.....	48
2.5. Técnicas analíticas .....	50
2.5.1. Cromatografía de gases.....	50
2.5.2. Cromatografía líquida .....	50
2.5.3. Detector de ionización en llama.....	51
2.5.4. Detector selectivo de masas .....	51
2.5.5. Analizador de masas cuadrupolar .....	52
2.5.6. Analizador de masas <i>Orbitrap</i> .....	52
2.5. Actividad antioxidante .....	53
2.5.1. Ensayo de decoloración del catión-radical ABTS <sup>+</sup> .....	54
2.5.2. Capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC).....	55
2.6. Actividad antifúngica de extractos de plantas .....	56
<b>3. OBJETIVOS.....</b>	<b>58</b>
3.1. Objetivo General .....	58
3.2. Objetivos Específicos.....	58

<b>4. DESARROLLO EXPERIMENTAL .....</b>	<b>59</b>
4.1. Reactivos.....	59
4.2. Material vegetal .....	59
4.3. Obtención de extractos.....	61
4.3.1. Extracción con solvente .....	61
4.3.2. Obtención de la fracción líquida de <i>Alstroemeria</i> .....	63
4.4. Análisis químico de extractos y fracción líquida.....	64
4.4.1. Análisis por cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas .....	64
4.4.2. Análisis por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas .....	66
4.4.3. Análisis por cromatografía de gases acoplada a detector de ionización en llama .....	68
4.5. Determinación de la capacidad antioxidante .....	69
4.5.1. Ensayo de decoloración del catión-radical ABTS <sup>•+</sup> .....	69
4.5.2. Evaluación de la capacidad de absorción de radicales de oxígeno.....	71
4.6. Determinación de la actividad antifúngica .....	72
<b>5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>75</b>
5.1. Evaluación de los parámetros de extracción.....	75
5.2. Caracterización química de extractos y fracción líquida de <i>Alstroemeria</i> spp. var. Nadya ..	79
5.2.1. Análisis por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas .....	79
5.2.2. Análisis por cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas .....	83
5.3. Actividad antioxidante de extractos hidroetanólicos y fracción líquida de <i>Alstroemeria</i> spp. var. Nadya.....	106
5.4. Actividad antifúngica <i>in vitro</i> de extractos hidroetanólicos y fracción líquida de <i>Alstroemeria</i> spp. var. Nadya .....	108
<b>6. CONCLUSIONES.....</b>	<b>118</b>
<b>Referencias Bibliográficas.....</b>	<b>120</b>

**Lista de Tablas**

	<b>Pág.</b>
Tabla 1. Métodos de extracción y análisis de antocianinas presentes en flores de algunas especies de <i>Alstroemeria</i> . .....	23
Tabla 2. Características de los almidones de <i>Alstroemeria</i> y papa. ....	30
Tabla 3. Variables estudiadas en el diseño experimental 2 <sup>3</sup> para la extracción de compuestos fenólicos de la biomasa no exportable de <i>Alstroemeria</i> spp. var. Nadya. ....	61
Tabla 4. Matriz de experimentos para el diseño factorial 2 <sup>3</sup> de la extracción con solvente de la biomasa no exportable de <i>Alstroemeria</i> spp. var. Nadya. ....	62
Tabla 5. Resultados del análisis de varianza aplicado al diseño factorial 2 <sup>3</sup> , con los efectos de las variables de extracción estudiadas y sus interacciones sobre el rendimiento de extracción y la actividad antioxidante del extracto hidroetanólico de la biomasa de <i>Alstroemeria</i> spp. var. Nadya. ....	75
Tabla 6. Mejores condiciones de extracción encontradas para <i>Alstroemeria</i> spp. var. Nadya. ....	78
Tabla 7. Condiciones experimentales para la obtención de la fracción líquida por prensado de <i>Alstroemeria</i> spp. var. Nadya. ....	78
Tabla 8. Composiciones químicas obtenidas por GC/MS de los extractos hidroetanólicos y fracción líquida liofilizada de <i>Alstroemeria</i> spp. var. Nadya. ....	82
Tabla 9. Masas exactas de iones [M] <sup>+</sup> o moléculas protonadas [M+H] <sup>+</sup> identificadas por UHPLC-ESI-Q- <i>Orbitrap</i> -MS en el extracto hidroetanólico de la biomasa no exportable de <i>Alstroemeria</i> spp. var. Nadya. ....	88
Tabla 10. Masas exactas de iones [M] <sup>+</sup> o moléculas protonadas [M+H] <sup>+</sup> identificadas por UHPLC-ESI-Q- <i>Orbitrap</i> -MS en el extracto hidroetanólico de flores frescas liofilizadas de <i>Alstroemeria</i> spp. var. Nadya. ....	89

Tabla 11. Masas exactas de iones  $[M]^+$  o moléculas protonadas  $[M+H]^+$  identificadas por UHPLC-ESI-Q-*Orbitrap*-MS en la fracción líquida liofilizada obtenida por el prensado de flores de *Alstroemeria* spp. var. Nadya..... 92

Tabla 12. Relaciones de áreas cromatográficas del compuesto y del estándar interno ( $A_i/A_{ISTD}$ ) de iones  $[M]^+$  o moléculas protonadas  $[M+H]^+$  detectadas por UHPLC/ESI-Q-*Orbitrap*-HRMS en extractos obtenidos de *Alstroemeria* spp. var. Nadya en modo *full scan*. ..... 105

Tabla 13. Resultados obtenidos sobre capacidad antioxidante medida por los ensayos ORAC y ABTS<sup>++</sup> de extractos hidroetanólicos y la fracción líquida de *Alstroemeria* spp. var. Nadya .... 106

## Lista de Figuras

	<b>Pág.</b>
Figura 1. Número de publicaciones anuales a partir del año 1950 para los tres géneros de flores ( <i>Alstroemeria</i> spp., <i>Dianthus caryophyllus</i> y <i>Rosa</i> spp.).....	24
Figura 2. Morfología de las flores de <i>Alstroemeria</i> . Imagen elaborada por Diego Alejandro JIMÉNEZ QUINTERO, Bucaramanga, 15 de enero de 2024. ....	34
Figura 3. Flores de <i>Alstroemeria</i> spp. var Nadya. Fotografías tomadas por Diego Alejandro JIMÉNEZ QUINTERO el 17 de marzo de 2025, en CENIVAM, UIS-Bucaramanga. ....	36
Figura 4. Especificaciones de producto final de <i>Alstroemeria</i> . A. Número mínimo de botones por grado de clasificación; apertura de la flor: B. Para Europa y C. Para Estados Unidos; D. Especificaciones del tallo. Tomado de documento interno C.I. Flores Funza [46]. ....	38
Figura 5. Infección por <i>Botrytis cinerea</i> . Podredumbres blandas y rápida aparición de masas grises de conidios son los síntomas más comunes en hojas y frutas blandas. A. Moho gris en fresa; B. Moho gris en frambuesa; C. Pétalos de rosa infectados; D. Expansión de lesiones en pétalos de rosa; E. Muerte del tallo en la etapa final de la infección, con gran cantidad de conidios en la superficie; F. Infección de un capullo en etapa temprana; G. Pudrición del capullo en la etapa final de la infección, con gran cantidad de conidios en su superficie; H. Hoja con mancha necrótica y crecimiento de <i>Botrytis</i> . Tomado de Williamson <i>et al.</i> [51], Ullah <i>et al.</i> [55] y Martínez [56]. ..	42
Figura 6. Compuestos fitotóxicos sintetizados por <i>B. cinerea</i> . A. Botridial; B. Dihidrobotridial; C. Ácido abscísico (ABA); D. Botrilactona y E. Botcinólido. Tomado de Collado <i>et al.</i> [48]. ....	43
Figura 7. Infección por <i>Fusarium oxysporum</i> . A. Corte transversal en la corona de plantas de clavel con el síntoma de pudrición; B. Marchitamiento del clavel; C. Marchitamiento de <i>Platycodon grandiflorum</i> (flor de globo); D. Necrosamiento de los haces vasculares en plantas de banano ( <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> ); E. Pudrición interna de la raíz de <i>Platycodon grandiflorum</i> . Tomado de Jeon <i>et al.</i> [12], Filgueira <i>et al.</i> [61] y Herbario Virtual Fitopatología, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires.....	45

- Figura 8. Metabolitos secundarios sintetizados por patógenos del género *Fusarium*. A. Zearalenona; B. Deoxinivalenol (DON); C. Fumonisina B1; D. Ácido fusárico. Tomado de Perincherry *et al.* [59]. ..... 46
- Figura 9. Esquema de reacción involucrado en el ensayo ABTS<sup>++</sup>. Modificado de Gulcin [84] y Munteanu y Apetrei [81]...... 55
- Figura 10. Esquema de reacción involucrado en el ensayo ORAC. Modificado de Munteanu y Apetrei [81]...... 56
- Figura 11. A. Molino de corte SM 100 *RETSCH*<sup>®</sup>; B. Biomasa no exportable de *Alstroemeria* spp. var. Nadya; C. Biomasa no exportable molida. Fotografías tomadas por Diego Alejandro JIMÉNEZ QUINTERO, pabellón “Sombra el Terrible” de CENIVAM, UIS, Bucaramanga, 2 de mayo de 2024. .... 60
- Figura 12. Proceso de prensado del material vegetal de *Alstroemeria* spp. var. Nadya para la obtención de la fracción líquida mediante una prensa con gato hidráulico *TÜV Rheinland*. Fotografías tomadas por Diego Alejandro JIMÉNEZ QUINTERO, pabellón “Sombra el Terrible” de CENIVAM, UIS, Bucaramanga, 17 de marzo de 2025. .... 63
- Figura 13. Cromatógrafo líquido de ultra-alta eficiencia *Vanquish*<sup>TM</sup> acoplado a un espectrómetro de masas de alta resolución *Q-Exactive*. Fotografía tomada por Diego Alejandro JIMÉNEZ QUINTERO, Laboratorio Alexander MAKÀROV de CROM-MASS, UIS, Bucaramanga, 10 de mayo de 2025. .... 65
- Figura 14. Cromatógrafo de gases *AT 6890 Plus*, equipado con un detector selectivo de masas *MS 5973 Network*. Fotografía tomada por Diego Alejandro JIMÉNEZ QUINTERO, Laboratorio de Instrumentación Analítica CROM-MASS, UIS, Bucaramanga, 10 de mayo de 2025. .... 67
- Figura 15. Cromatógrafo de gases *AT 6890N*, acoplado a un detector de ionización en llama (FID). Fotografía tomada por Diego Alejandro JIMÉNEZ QUINTERO, Laboratorio de Instrumentación Analítica CROM-MASS, UIS, Bucaramanga, 10 de mayo de 2025. .... 69

- Figura 16. Espectrofotómetro *Varioskan LUX VL0000D0* con microplacas transparentes. Fotografía tomada por Diego Alejandro JIMÉNEZ QUINTERO, complejo CENIVAM, UIS, Bucaramanga, 19 de junio de 2025..... 70
- Figura 17. Espectrofotómetro *Varioskan LUX VL0000D0* con microplacas negras. Fotografía tomada por Diego Alejandro JIMÉNEZ QUINTERO, complejo CENIVAM, UIS, Bucaramanga, 19 de junio de 2025..... 72
- Figura 18. Diagramas de Pareto estandarizados para: A. Rendimiento de extracción; B. Actividad antioxidante; C. Respuesta combinada. .... 76
- Figura 19. Gráfico de superficie de respuesta a tiempo de extracción constante, 15 min (nivel -1). ..... 77
- Figura 20. Perfiles cromatográficos obtenidos por GC/MS de los extractos hidroetanólicos de *Alstroemeria* spp. var. Nadya: A. Biomasa no exportable; B. Flores frescas liofilizadas; C. Fracción líquida liofilizada. Columna DB-5MS (60 m). *Split* 1:30. MSD (EI, 70 eV). Véase la identificación de cada pico cromatográfico en la Tabla 8. .... 80
- Figura 21. Espectro de masas obtenido por GC/MS de la  $\alpha$ -metileno- $\gamma$ -butirolactona (tulipalina-A)  $C_5H_6O_2$ , en el extracto de flores frescas y fracción líquida liofilizada de *Alstroemeria* spp. var. Nadya (EI, 70 eV).  $[M]^+$   $m/z$  98;  $[M-CH_2O]^+$   $m/z$  68;  $[M-COOH]^+$   $m/z$  53 y  $[M-CH_2O-CO]^+$   $m/z$  68. Véase pico cromatográfico N° 1 en la Tabla 8. .... 81
- Figura 22. Corriente iónica extraída (EIC) de iones  $[M]^+$  o moléculas protonadas  $[M+H]^+$  obtenidas por UHPLC/ESI-Q-*Orbitrap*-HRMS en modo *full scan* presentes en el extracto hidroetanólico de la biomasa no exportable de *Alstroemeria* spp. var. Nadya. Escala:  $1.25 \times 10^7$ . La identificación de picos aparece en la Tabla 9. .... 85
- Figura 23. Corriente iónica extraída (EIC) de iones  $[M]^+$  o moléculas protonadas  $[M+H]^+$  obtenidas por UHPLC/ESI-Q-*Orbitrap*-HRMS en modo *full scan* presentes en el extracto hidroetanólico de flores frescas liofilizadas de *Alstroemeria* spp. var. Nadya. Escala:  $1.25 \times 10^7$ . La identificación de picos aparece en la Tabla 10. .... 86

Figura 24. Corriente iónica extraída (EIC) de iones  $[M]^+$  o moléculas protonadas  $[M+H]^+$  obtenidas por UHPLC/ESI-Q-*Orbitrap*-HRMS en modo *full scan* presentes en la fracción líquida de *Alstroemeria* spp. var. Nadya obtenida por prensado. Escala:  $1.25 \times 10^7$ . La identificación de picos aparece en la Tabla 11..... 87

Figura 25. Espectros de masas obtenidos por UHPLC/ESI-Q-*Orbitrap*-MS del kaempferol 3-O-arabinósido. A. En el extracto hidroetanólico de la biomasa no exportable de *Alstroemeria* spp. var. Nadya; B. De la sustancia-patrón adquirida de *Sigma-Aldrich* (St. Louise, MO, EE.UU.) de la molécula protonada  $[M+H]^+$  en  $m/z$  419.09723; obtenido en el modo SIM y HCD a 10 eV, y C. En el modo SIM y HCD a 50 eV..... 95

Figura 26. Espectro de masas obtenido por UHPLC/ESI-Q-*Orbitrap*-HRMS de la molécula protonada de kaempferol-ramnósido-xilósido  $[M+H]^+$  en  $m/z$  565.15533, obtenido en el modo SIM y HCD a 10 eV..... 97

Figura 27. Mecanismo de reacción de la formación de tulipalina-A mediante la hidrólisis ácida de tulipósido-A. Tomado y adaptado de Christensen [36] y Químicaorgánica.org [111]..... 99

Figura 28. Corriente iónica extraída (EIC) de moléculas protonadas  $[M+H]^+$  obtenidas por UHPLC/ESI-Q-*Orbitrap*-HRMS en modo *full scan* y espectros de masas de los alérgenos y derivados, presentes en el extracto hidroetanólico de las flores frescas liofilizadas de *Alstroemeria* spp. var. Nadya. A. Tulipósido-A (*full scan*, HCD 0 eV), B. HMBA (HCD 10 eV), y C. Tulipalina-A (HCD 10 eV)..... 101

Figura 29. Espectro de masas obtenido por UHPLC/ESI-Q-*Orbitrap*-HRMS de la hidroxicianidina-rutinósido  $[M]^+$  en  $m/z$  611.16095, obtenido en el modo SIM y HCD a 10 eV. .... 103

Figura 30. Curvas de calibración de Trolox<sup>®</sup>. A. Ensayo ORAC; B. Ensayo ABTS<sup>+</sup>..... 106

Figura 31. Curvas de crecimiento micelial para cultivos de *Botrytis cinerea* y *Fusarium oxysporum* en medio PDA y PDA suplementado con los extractos hidroetanólicos de la biomasa no exportable y flores frescas liofilizadas, y la fracción líquida de *Alstroemeria* spp. var. Nadya para concentraciones finales de 500, 1000, 1500, 3000, 4000 y 5000 mg/L. El control (+)\* se preparó

usando los fungicidas comerciales Basamid® (*F. oxysporum*) y Format® 70WP (*B. cinerea*) a una concentración de 65 g/m<sup>2</sup> y 1.5 g/L, respectivamente. El blanco corresponde al hongo en medio de cultivo PDA. Cada curva representa la media de dos experimentos independientes, y las barras de error indican la desviación estándar correspondiente. .... 110

Figura 32. Comparaciones múltiples de medias mediante la prueba de Tukey (HSD) para el porcentaje de inhibición del crecimiento fúngico entre tratamientos con diferentes concentraciones de extractos hidroetanólicos de la biomasa no exportable y flores frescas liofilizadas, y fracción líquida de *Alstroemeria* spp. var. Nadya. Las barras representan intervalos de confianza al 95 %. Grupos cuyas barras no se solapan difieren significativamente ( $p = 0.05$ ). Los controles positivos Basamid® (100 ± 0 %) y Format® 70WP (49.4 ± 2.4 %) fueron omitidos del gráfico con el fin de mejorar la visualización de la escala. .... 111

Figura 33. Aspectos macroscópicos de *Fusarium oxysporum* cultivado en medio PDA suplementado con los extractos hidroetanólicos de la biomasa no exportable y flores frescas liofilizadas, y la fracción líquida de *Alstroemeria* spp. var. Nadya para concentraciones finales de 500, 1000, 1500, 3000, 4000 y 5000 mg/L. El control (+)\* se preparó usando el fungicida comercial Basamid® (65 g/m<sup>2</sup>) y el blanco corresponde al hongo en medio de cultivo PDA solo. .... 114

Figura 34. Aspectos macroscópicos de *Botrytis cinerea* cultivado en medio PDA suplementado con los extractos hidroetanólicos de la biomasa no exportable y flores frescas liofilizadas, y la fracción líquida de *Alstroemeria* spp. var. Nadya para concentraciones finales de 500, 1000, 1500, 3000, 4000 y 5000 mg/L. El control (+)\* se preparó usando el fungicida comercial Format® 70WP (1.5 g/L) y el blanco corresponde al hongo en medio de cultivo PDA solo. .... 115

## Glosario

<b>AAPH</b>	<i>2,2'-Azobisisobutyramidinium chloride</i> [Cloruro de 2,2'-azo-bis(2-amidinopropano)]
<b>ABTS<sup>+</sup></b>	Catión-radical del ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico)
<b>AT</b>	<i>Agilent Technologies</i>
<b>CA</b>	California
<b>CENIVAM</b>	Centro Nacional de Investigaciones para la Agroindustrialización de Especies Vegetales Aromáticas y Medicinales Tropicales
<b>CIELab</b>	Comisión Internacional de Iluminación, escala $L^*$ , $a^*$ , $b^*$
<b>D.I.</b>	Diámetro interno de la columna cromatográfica (mm)
<b>DAD</b>	<i>Diode-Array Detector</i> (Detector de arreglo de diodos)
<b>df</b>	Espesor de la fase estacionaria ( $\mu\text{m}$ )
<b>DPPH</b>	Ensayo del radical libre DPPH $\cdot$ (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo)
<b>e.g.</b>	<i>Exempli gratia</i> (Por ejemplo)
<b>EI</b>	<i>Electronic Ionization</i> (Ionización electrónica).
<b>EIC</b>	<i>Extracted Ion Current</i> (Corriente iónica extraída)
<b>ESI</b>	<i>Electrospray Ionization</i> (Ionización por electronebulización)
<b>ESI</b>	<i>Electrospray Ionitation</i> (Ionización por electronebulización)
<b>et al.</b>	<i>Et alii</i> (y otros)
<b>eV</b>	Electrón-voltio
<b>FID</b>	<i>Flame Ionization Detector</i> (Detector de ionización en llama)
<b>GC</b>	<i>Gas Chromatography</i> (Cromatografía de gases)
<b>HCD cell</b>	<i>Higher-Energy Collision Dissociation Cell</i> (Celda de colisiones activadas de alta energía)
<b>HCl</b>	Ácido clorhídrico
<b>HCO<sub>2</sub>H</b>	Ácido fórmico
<b>HOAc</b>	Ácido acético
<b>HPLC</b>	<i>High Performance Liquid Chromatography</i> (Cromatografía líquida de altaeficiencia)

<b>HPLC</b>	<i>High Performance Liquid Chromatography</i> (Cromatografía líquida de alta eficiencia)
<b>ICA</b>	Instituto Colombiano Agropecuario
<b>IRL</b>	Índice(s) de retención lineal(es)
<b>ISTD</b>	<i>Internal Standard</i> (estándar interno)
<b>L</b>	Longitud de la columna cromatográfica (m o cm)
<b>LC</b>	<i>Liquid Chromatography</i> (Cromatografía líquida)
<b>m/z</b>	Relación masa/carga
<b>MeOH</b>	Metanol
<b>MS</b>	<i>Mass Spectrometry</i> (Espectrometría de masas)
<b>ORAC</b>	<i>Oxygen Radical Absorbance Capacity</i> (Capacidad de absorción de radicales de oxígeno)
<b>ROS</b>	<i>Reactive Oxygen Species</i> (Especies reactivas de oxígeno)
<b>spp.</b>	<i>Species</i> (Especies)
<b>TBARS</b>	<i>Thiobarbituric Acid Reactive Substances Assay</i>
<b>TIC</b>	<i>Total Ion Current</i> (Corriente iónica total)
<b>TOF</b>	<i>Time-of-Flight</i> (Tiempo de vuelo)
<b>tr</b>	Tiempo de retención (min)
<b>Trolox<sup>®</sup></b>	<i>6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid</i> (Ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico)
<b>UHPLC</b>	<i>Ultra High Performance Liquid Chromatography</i> (Cromatografía líquida de ultra-alta eficiencia)
<b>USAE</b>	<i>Ultrasound-Assisted Solvent Extraction</i> (Extracción con solvente asistida por ultrasonido)
<b>UV</b>	Ultravioleta
<b>UV-vis</b>	Ultravioleta-Visible
<b>VOC</b>	<i>Volatile Organic Compounds</i> (Compuestos orgánicos volátiles)

### Resumen

**Título:** Estudio de los metabolitos secundarios de la *Alstroemeria* y sus actividades antioxidante y antifúngica\*

**Autor:** Diego Alejandro JIMÉNEZ QUINTERO\*\*

**Palabras Clave:** *Alstroemeria*, compuestos fenólicos, extracto vegetal, antioxidante, antifúngico.

**Descripción:** las flores del género *Alstroemeria* se usan como plantas ornamentales y de exportación debido a sus características estéticas. En Colombia, su cultivo constituye una fuente importante de ingresos. Ante la necesidad de alternativas sostenibles para el control de hongos patógenos, este estudio tuvo como objetivo caracterizar químicamente y evaluar la actividad antioxidante y antifúngica de extractos y de la fracción líquida de la variedad comercial *Alstroemeria* spp. var. Nadya. Los extractos se obtuvieron mediante extracción con solvente asistida por ultrasonido, a partir de la biomasa residual y de flores frescas liofilizadas. La fracción líquida se obtuvo por prensado manual del material vegetal fresco. La caracterización química se realizó mediante GC/MS, GC/FID y UHPLC-Q-Orbitrap-HRMS. La actividad antioxidante de los extractos y de la fracción líquida se determinó mediante los ensayos ORAC y ABTS<sup>++</sup>. La actividad antifúngica *in vitro* se evaluó por el método de difusión en agar contra los hongos patógenos *Fusarium oxysporum* y *Botrytis cinerea*.

Los flavonoles, antocianinas y alérgenos fueron los principales compuestos identificados en los extractos y fracción líquida de *Alstroemeria* spp. var. Nadya, destacándose la tulipalina-A, derivados glucosilados del kaempferol y la hidroxicianidina. Los extractos de biomasa residual y de flores frescas presentaron la actividad antioxidante más alta (ORAC:  $1700 \pm 77$ ,  $1710 \pm 83$  y ABTS<sup>++</sup>:  $88 \pm 1$ ,  $87.9 \pm 0.4$ ,  $\mu\text{mol Trolox}^{\circledR}/\text{g}$  muestra, respectivamente). El extracto de flores frescas mostró la actividad antifúngica más alta contra *F. oxysporum* ( $20 \pm 1.3$  % de inhibición) y *B. cinerea* ( $27.6 \pm 0.3$  % de inhibición), mientras que el extracto de biomasa residual no presentó actividad contra *F. oxysporum* (0 % de inhibición). Los resultados de esta investigación contribuyen al uso integral de los residuos postcosecha generados en los cultivos de flores para la obtención de compuestos bioactivos.

---

\*\* Facultad de Ciencias. Escuela de Química. Directora: Elena E. STASHENKO, Química, *Ph.D.*  
Codirectora: Lady Johanna SIERRA PRADA, Química, *Ph.D.*

### Abstract

**Title:** Study of the secondary metabolites of *Alstroemeria* and their antioxidant and antifungal activities\*

**Author:** Diego Alejandro JIMÉNEZ QUINTERO \*\*

**Key Words:** *Alstroemeria*, phenolic compounds, plant extract, antioxidant, antifungal

**Description:** flowers of the genus *Alstroemeria* are used as ornamental and export plants due to their aesthetic characteristics. In Colombia, their cultivation represents an important source of income. In view of the need for sustainable alternatives to control pathogenic fungi, this study aimed to chemically characterize and evaluate the antioxidant and antifungal activities of extracts and the liquid fraction of the commercial variety *Alstroemeria* spp. var. Nadya. Extracts were obtained by ultrasound-assisted solvent extraction from residual biomass and freeze-dried fresh flowers. The liquid fraction was obtained by manual pressing of fresh plant material. Chemical characterization was performed using GC/MS, GC/FID, and UHPLC-Q-Orbitrap-HRMS. The antioxidant activities of the extracts and the liquid fraction were determined using ORAC and ABTS<sup>+</sup> assays. In vitro antifungal activity was evaluated by the agar diffusion method against the pathogenic fungi *Fusarium oxysporum* and *Botrytis cinerea*.

Flavonols, anthocyanins, and allergens were the main compounds identified in the extracts and liquid fraction of *Alstroemeria* spp. var. Nadya, with tulipalin-A, kaempferol glycosides, and hydroxycyanidin being particularly noteworthy. Extracts from residual biomass and fresh flowers exhibited the highest antioxidant activity (ORAC:  $1700 \pm 77$  and  $1710 \pm 83$ ; ABTS<sup>+</sup>:  $88 \pm 1$  and  $87.9 \pm 0.4$   $\mu\text{mol Trolox}^{\text{®}}/\text{g}$  sample, respectively). The fresh flower extract showed the highest antifungal activity against *F. oxysporum* ( $20 \pm 1.3\%$  inhibition) and *B. cinerea* ( $27.6 \pm 0.3\%$  inhibition), whereas the residual biomass extract showed no activity against *F. oxysporum* (0% inhibition). The results of this research contribute to the integral utilization of postharvest residues generated in flower cultivation for the production of bioactive compounds.

---

\* Research Work

\*\* Science Faculty. School of Chemistry. Director: Elena E. STASHENKO, Chemist, *Ph.D.*  
Co-director: Lady Johanna SIERRA PRADA, Chemist, *Ph.D.*

## INTRODUCCIÓN

La floricultura es un sector agrícola que se dedica al cultivo, comercialización y propagación de flores, follajes, plantas de maceta y de jardín, donde la calidad es un factor muy importante y se relaciona directamente con la apariencia visual del producto (Ferrante & Ferrini, 2023). Inicialmente, las flores eran *cultivadas* por su valor estético, pero con el avance del comercio y la agricultura a nivel mundial, su producción ha alcanzado un nivel industrial, convirtiéndose en uno de los productos más comercializados en el mundo. Actualmente, las flores cortadas se venden en ramos, arreglos o *bouquets* para distintos fines y usos en fechas especiales, *e.g.*, cumpleaños, matrimonios, graduaciones y aniversarios. La producción de flores se lleva a cabo en invernaderos o campos tecnificados, lo que permite un manejo controlado de las condiciones externas, como el clima, la calidad y desinfección del suelo, el riego, el control de plagas, la intensidad de la luz, entre otros. Estos parámetros son fundamentales para regular el crecimiento y la floración continua de las plantas (Chandel *et al.*, 2023; Newman, 2019).

La producción de flores en todo el mundo ocupa más de 190.000 ha, lo que equivale a 16.000 millones de dólares en producción y venta anuales. Los principales países productores son Países Bajos, Estados Unidos y Japón. Estos tres países representan alrededor del 50 % de la producción mundial y más del 20 % del área de siembra. Las exportaciones se concentran en cinco países, *i.e.*, Países Bajos (55 %), Colombia (15 %), Ecuador (6 %) y Kenia (4 %). Las rosas y los claveles son los productos florícolas de mayor interés en el mundo (Cámara de Comercio de Bogotá, 2015).

La industria floricultora representa en Colombia una importante fuente de ingresos. Según el boletín de exportaciones del DANE de septiembre de 2024, las ventas de flores y follajes cortados presentaron un aumento del 24.8 % en comparación con lo informado en septiembre de

2023 (DANE, 2024). Las flores colombianas se han posicionado a nivel nacional e internacional gracias a su alta calidad y diversidad. Hoy en día se comercializan más de 60 especies y 1.600 variedades, las cuales llegan a más de 100 países, convirtiendo a Colombia en el segundo exportador de flores cortadas a nivel mundial y el principal abastecedor de flores para los Estados Unidos (Cámara de Comercio de Bogotá, 2015). Para el año 2023, los ingresos por exportación en Colombia superaron los 2.000 millones de dólares (TRADE MAP, 2023), y la producción de flores estuvo representada por 10.500 ha, distribuidas principalmente en los departamentos de Cundinamarca (71 %) y Antioquia (27 %). Las flores de mayor cultivo fueron las rosas (29.5 %), hortensias (15.5 %), claveles (13.7 %), crisantemos (9.2 %), astromelias (3.3 %), lirios (1.1 %) y otras variedades (28.8 %) (Asocolflores, 2024).

La *Alstroemeria* es una planta perenne nativa de Suramérica que, debido a sus vistosas y coloridas flores, así como a su facilidad de cultivo, ha sido adoptada en diversos países. Perteneciente a la familia Alstroemeriaceae y comprende alrededor de 90 especies. Esta planta destaca por su gran diversidad genética, que se manifiesta en distintos hábitos de crecimiento, colores, tamaños y formas. Esta variabilidad ofrece oportunidades para desarrollar variedades adaptadas y resistentes a diversas condiciones climáticas. Colombia ocupa el primer lugar en el mundo en cuanto a superficie de cultivo de *Alstroemeria* (Dhiman & Kashyap, 2021).

Las infecciones patógenas en los cultivos representan un problema debido a las pérdidas económicas que ocasionan, además de afectar el crecimiento y desarrollo de flores de calidad (Loyola *et al.*, 2019). A nivel mundial, se estima que entre el 20 % y 40 % de los daños en cultivos son causados por patógenos, lo cual equivale a pérdidas de 40 mil millones de dólares. Los hongos son responsables del 42 % de las pérdidas, mientras que las bacterias, del 27 % (Roca-Couso *et al.*, 2021). Los mercados internacionales de floricultura imponen rigurosos controles fitosanitarios

en los puertos de entrada como medida para evitar la introducción y propagación de plagas no deseadas. La fumigación química postcosecha y el baño insecticida por inmersión son algunos de los métodos tradicionales utilizados (Rigby, 2018).

Los hongos *Fusarium* y *Botrytis* se conocen por sus efectos nocivos en cultivos de flores y frutas. Los hongos patógenos vegetales de mayor importancia a nivel mundial son los del género *Fusarium*. Las especies *F. oxysporum* y *F. solani* son algunas de las más conocidas por causar la pudrición de la raíz, así como *F. proliferatum* y *F. roseum*, comunes en cultivos de flores (Jeon *et al.*, 2013). Estos microorganismos afectan principalmente las raíces, pero también pueden dañar otras partes de la planta, como el tallo, hojas, flores y frutos, a través de heridas. Los hongos producen toxinas que alteran las membranas plasmáticas de las plantas y obstruyen los vasos del xilema (Ohorella *et al.*, 2022).

Con el paso del tiempo, el uso de pesticidas para el control de plagas en los cultivos ha aumentado significativamente en todo el mundo, pasando de un millón de toneladas en 1950 a casi 50 millones de toneladas en el año 2000, con un crecimiento anual del 11 %. Su aplicación en los cultivos ha mejorado la productividad y la calidad de muchos productos agrícolas; sin embargo, solo el 1 % de los pesticidas se usan de forma efectiva en los cultivos objetivo, ya que estos alcanzan diversos ecosistemas, afectando plantas y animales nativos, microorganismos benéficos, fuentes hídricas, la fertilidad del suelo, y la salud humana (Safdar *et al.*, 2022). El uso de agentes de control biológico es una alternativa que puede reemplazar los fungicidas sintéticos. Algunos microorganismos, extractos vegetales y aceites de origen natural pueden desempeñar un papel antagonista frente a los hongos en las plantas (Mahmoud *et al.*, 2023).

Teniendo en cuenta el potencial de nuestro país en la producción y exportación de flores, así como la necesidad de implementar modelos agrícolas más sostenibles y amigables con el medio

ambiente, se considera importante estudiar los metabolitos presentes en las flores, así como en los residuos generados por su cultivo, con el propósito de encontrar compuestos con potencial actividad biológica que puedan utilizarse en mezclas de ingredientes naturales como un mecanismo alternativo, natural y de alta eficiencia para el control de plagas y enfermedades.

El objetivo principal de este proyecto fue determinar la composición química y las actividades antioxidante y antifúngica de extractos hidroetanólicos de flores de *Alstroemeria* spp. var. Nadya. La investigación se realizó en cuatro etapas: en la primera, se estudiaron las variables para la extracción de los compuestos fenólicos de la biomasa no exportable de flores de *Alstroemeria* spp. var. Nadya, las condiciones de extracción se replicaron en flores frescas liofilizadas y se obtuvo la fracción líquida por el prensado manual de flores frescas. En la segunda etapa, se caracterizaron químicamente por GC/MS, y LC/MS los extractos hidroetanólicos y la fracción líquida de flores de *Alstroemeria* spp. var. Nadya; en la tercera etapa, se evaluó la capacidad antioxidante mediante los métodos de decoloración del catión-radical ABTS<sup>•+</sup> y de capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC, por sus siglas en inglés). Finalmente, en la cuarta etapa, se evaluó la actividad antifúngica *in vitro* de los extractos hidroetanólicos y la fracción líquida de *Alstroemeria* spp. var. Nadya por el método de difusión en agar contra los patógenos *Fusarium oxysporum* y *Botrytis cinerea*.

Los resultados parciales de esta investigación se presentaron en el XI Congreso Colombiano de Cromatografía (COCOCRO), el XIX Congreso Latinoamericano de Cromatografía y Técnicas Afines (COLACRO), el III Simposio Panamericano de Aceites Esenciales (SPAEC), el XXVI *International Symposium on Advances in Extraction Technologies* (EXTECH), el XVI *Latin American Symposium on Environmental Analytical Chemistry* (LASEAC) y el *Workshop* sobre avances recientes en la preparación de muestras (WARPA),

realizados del 13 al 15 de noviembre de 2024 en la ciudad de Bucaramanga, Santander. El trabajo se presentó bajo la modalidad de ponencia oral, titulado *HPLC and LC/MS analysis of phenolic compounds extracted from Alstroemeria spp. var. Nadya flowers*.

El presente estudio hizo parte de los proyectos realizados en el Jardín Botánico Experimental\*Con\*Sentido (Un mundo en un jardín) del Centro Nacional de Excelencia de Investigaciones para la Agroindustrialización de Especies Vegetales Aromáticas y Medicinales Tropicales – CENIVAM, y del convenio especial de cooperación entre C.I. Flores Funza S.A.S. y la Universidad Industrial de Santander.

## 1. ESTADO DEL ARTE

Para conocer las investigaciones realizadas sobre las flores de *Alstroemeria*, se realizó una búsqueda bibliográfica de las publicaciones científicas. Se usó la base de datos *Scopus* (*Elsevier*), con la ecuación de búsqueda *TITLE-ABS-KEY* (“*Alstroemeria*”); el periodo de observación fue 1929-2025 (fecha de búsqueda: mayo de 2025). En total, se encontraron 534 publicaciones, de las cuales el 54.8 % están relacionadas con agricultura y ciencias biológicas, el 17.3% con bioquímica, genética y biología molecular; 10.3% con la medicina y tan solo el 1.1%, con química. Las publicaciones realizadas sobre las flores de *Alstroemeria* tuvieron que ver con métodos de propagación, prolongación de su vida útil postcosecha, informes sobre afectaciones por patógenos en cultivos, mejoramiento genético, hibridación, entre otros aspectos. Los estudios sobre *Alstroemeria* se han desarrollado principalmente en Países Bajos, con un 16.5 % del total de las publicaciones; seguido de Chile (12.7 %), Estados Unidos (11.1 %), Japón (9.9 %) y Argentina (7.5 %).

Las investigaciones sobre las flores de *Alstroemeria* han demostrado la presencia de antocianinas. Para extraer estos compuestos, se utilizó el método de extracción con solvente, empleando mezclas como HCl:MeOH, MeOH:HCO<sub>2</sub>H:H<sub>2</sub>O y HOAc:MeOH. En la **Tabla 1** se incluyen referencias a los estudios realizados sobre las flores, las condiciones de extracción, los métodos de análisis y las antocianinas identificadas.

**Tabla 1.**

*Métodos de extracción y análisis de antocianinas presentes en flores de algunas especies de Alstroemeria.*

Flor estudiada	Extracción	Método de análisis	Compuestos encontrados	Referencia
Flores rojas de <i>Alstroemeria</i>			6-Hidroxicianidina-3-rutinósido, 6-Hidroxicianidina-3-glucósido, Cianidina-3-rutinósido	(Saito <i>et al.</i> , 1985)
<i>A. violacea</i> <i>A. aurantiaca</i> <i>A. pulchellia</i> <i>A. ligtu</i> var. <i>angustifolia</i> x <i>A.</i> <i>haemantha</i>	0.1% HCl:MeOH (20 h)	Separación: TLC Identificación: <sup>1</sup> H-RMN (100 MHz) Determinación de <i>m/z</i> del M <sup>+</sup> : FAB-MS	Delfinidina-3-rutinósido, 6-Hidroxidelfinidina-3-rutinósido, Cianidina-3-glucósido	(Saito <i>et al.</i> , 1988)
28 Especies chilenas de <i>Alstroemeria</i>	MeOH:HCO <sub>2</sub> H:H <sub>2</sub> O (10:3:3)	HPLC/UV (535 nm) Identificación: <sup>1</sup> H-RMN e hidrólisis ácida con HCl Determinación de <i>m/z</i> del M <sup>+</sup> : FAB-MS	Delfinidina-3-glucósido	(Nørbaek <i>et al.</i> , 1996)
Flores naranjas y rojas de <i>Alstroemeria</i>	10% HOAc:MeOH (1:1)	TLC y HPLC/UV (200-700 nm) Identificación: <sup>1</sup> H-RMN (500 MHz) Determinación de <i>m/z</i> del M <sup>+</sup> : FAB-MS	6-Hidroxipelargonidina, 6-Hidroxipelargonidina-3-glucósido, 6-Hidroxipelargonidina-3-rutinósido	(Tatsuzawa <i>et al.</i> , 2003)
Flores de <i>Alstroemeria</i> <i>pallida</i>	MeOH:HCO <sub>2</sub> H:H <sub>2</sub> O (10:3:3) 1 h, 175 rpm	CIELab HPLC/UV (280 y 520 nm)	*	(Donoso <i>et al.</i> , 2021)

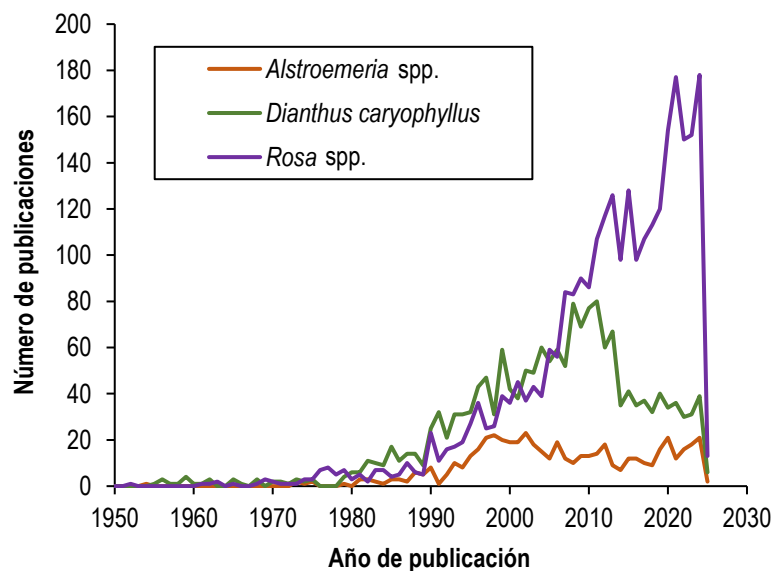
TLC: Cromatografía en capa fina; <sup>1</sup>H-RMN: Resonancia magnética nuclear de protones; FAB-MS: Espectrometría de masas de átomos acelerados; HPLC: Cromatografía líquida de alta eficiencia.

*Nota:* \*Las antocianinas se identificaron individualmente a partir de cada pico en el cromatograma HPLC utilizando los resultados de las investigaciones previas. Se correlacionó el color de las flores con parámetros CIELab y la composición de antocianinas.

Se realizó una búsqueda bibliográfica en la base de datos *Scopus (Elsevier)*, utilizando tres ecuaciones de búsqueda: *TITLE-ABS-KEY ("Alstroemeria")*, *TITLE-ABS-KEY ("Dianthus caryophyllus")* y *TITLE-ABS-KEY ("Rosa flower")*, en el periodo 1950-2025 (fecha de búsqueda: mayo de 2025), con el objetivo de comparar el interés científico sobre las flores de *Alstroemeria*, claveles (*Dianthus caryophyllus*) y rosas (*Rosa spp.*). Los resultados muestran que, mientras que las publicaciones sobre claveles y rosas aumentaron significativamente a partir de 1990, para las flores de *Alstroemeria* no han mostrado crecimiento. Además, se observa una disminución en los estudios de los tres tipos de flores en los últimos años. El alto número de investigaciones sobre rosas podría estar relacionado con su mayor distribución comercial y su uso en la industria de perfumes y cosméticos. Las rosas han sido utilizadas históricamente en medicina tradicional, destacándose por sus propiedades terapéuticas, como antidepresivos, antioxidantes y antimicrobianos (Mileva *et al.*, 2021).

### Figura 1.

Número de publicaciones anuales a partir del año 1950 para los tres géneros de flores (*Alstroemeria spp.*, *Dianthus caryophyllus* y *Rosa spp.*).



Cuadra *et al.* (2005) estudiaron la citotoxicidad y la toxicidad de los extractos etanólicos de plantas de los géneros *Senecio*, *Deschampsia*, *Alstroemeria*, *Anarthrophyllum*, *Chloraea* y *Geranium*, recolectadas en varias localidades de la región patagónica. Los autores usaron un ensayo de inhibición de la división celular (*ICDT: Inhibition of Cell Division Test*) en huevos fertilizados de erizos rojos de mar (*Loxechinus albus*) y embriones de camarón de salmuera (*Artemia salina*) (*BST: Brine Shrimp Test*), a diferentes concentraciones de los extractos etanólicos para evaluar la supervivencia o mortalidad después de 2 h y 24 h respectivamente. El extracto de las raíces de *Alstroemeria patagónica*, evaluado a 500 ppm, expresó un 96 % de inhibición en el ensayo ICDT, mientras que para el BST se encontró una concentración letal media ( $LC_{50}$ ) de 26 ppm. En este estudio (Cuadra *et al.*, 2005), se atribuyó la inhibición de la división celular del extracto de las raíces de *Alstroemeria patagónica* a la presencia de alcaloides, los cuales, sin embargo, no se especificaron.

El estudio realizado por Donoso *et al.* (2021), analizó por HPLC el extracto de los pétalos de flores de *Alstroemeria pallida* cultivadas en Chile. Se correlacionó el color de las flores, usando parámetros CIELab con la composición de antocianinas y se analizó la presencia de dos genes que participan en la expresión de enzimas clave en la ruta biosintética de flavonoides, chalcona sintasa (CHS) y antocianidina sintasa (ANS) mediante el ensayo de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Los autores sugieren que hay una correlación entre el fenotipo, el contenido de antocianinas y la expresión de ANS y CHS para la determinación del color de las flores de *A. pallida*, lo cual puede ser de interés para estudios futuros relacionados con el mejoramiento genético de la especie. Los investigadores recomendaron realizar el análisis de los extractos por cromatografía líquida de alta eficiencia acoplada a espectrometría de masas (HPLC/MS) para identificar los compuestos fenólicos.

Hasta la fecha, no se han encontrado estudios sobre la actividad antioxidante del extracto de las flores de *Alstroemeria*. Sin embargo, sí existen publicaciones sobre el género *Bomarea*, que, al igual que el género *Alstroemeria*, pertenece a la familia Alstroemeriaceae. Coyago *et al.* (2023) estudiaron las características físico-químicas y la actividad antioxidante de varias especies de flores del páramo de la provincia de Pichincha, en Ecuador, entre ellas *Bomarea glaucescens* (Kunth) Baker y *Bomarea multiflora* (L. f.) Mirb. En la investigación se determinaron algunas características como el peso, tamaño, color, pH, entre otras, así como la cuantificación de carotenoides, compuestos fenólicos y la actividad antioxidante. En este estudio (Coyago-Cruz *et al.*, 2023), los autores reportaron que los valores más altos de actividad antioxidante fueron para las especies *Bomarea multiflora* y *Bomarea glaucescens*. Además, destacaron que los resultados obtenidos podrían contribuir al desarrollo de nuevos productos en los campos de la medicina, la cosmética y la alimentación.

Alzate *et al.* (2011) evaluaron la actividad antioxidante de extractos etanólicos de 11 especies del género *Bomarea* (Alstroemeriaceae) mediante dos métodos *in vitro* (DPPH y TBARS), y el contenido de compuestos fenólicos totales. Los niveles más altos de actividad antioxidante fueron reportados para *B. glaucescens*, *B. setacea* y *B. pardina* por el método DPPH, mientras que, para el método TBARS, *B. hirsuta*, *B. bredemeyerana* y *B. callejasiana* presentaron la mayor actividad antioxidante. La especie *B. setacea* presentó el mayor contenido de compuestos fenólicos y las mayores propiedades antioxidantes de las 11 especies estudiadas. Los autores comentaron los resultados de una investigación paralela, en la que se determinó por GC/MS la presencia de fitosteroles en el género *Bomarea*, principalmente campesterol, stigmasterol y un alto contenido de  $\beta$ -sitosterol en todas las especies estudiadas.

De manera similar, Maldoni *et al.* (1993) determinaron por GC/FID y GC/MS hidrocarburos y esteroides de las hojas, raíces, flores y semillas de la planta *Alstroemeria aurantiaca*. En el estudio se realizó una extracción Soxhlet y se obtuvieron fracciones de hidrocarburos y esteroides, siendo estos últimos acetilados para su posterior análisis. Los autores reportaron la presencia de *n*-alcanos de 17 a 33 átomos de carbono, distribuidos principalmente en flores y semillas, mientras que en las hojas se encontró la menor cantidad de *n*-alcanos. La mayor parte de los esteroides se encontró en las semillas, siendo campesterol (39 %) y estigmasterol (38 %) los más abundantes. El  $\beta$ -sitosterol fue el único esteroide que se reportó en todos los órganos estudiados, distribuido así: hojas (85 %), raíces (73 %), flores (61 %) y semillas (27 %).

Por otro lado, se han realizado varios estudios sobre la emisión de compuestos orgánicos volátiles (VOC, por sus siglas en inglés) provenientes de flores de *Alstroemeria* y sus híbridos. Aros *et al.* (2012) estudiaron la emisión de compuestos volátiles de cuatro cultivares de *Alstroemeria*, creados a partir de la especie aromática *A. caryophyllaea*. Los volátiles del espacio de cabeza fueron analizados por la técnica HS-SPME-GC/MS utilizando tres tipos de fibras para la extracción de compuestos con distinta polaridad y volatilidad. En el experimento se usaron flores cortadas, las cuales fueron aisladas en un matraz con agua destilada a temperatura y luz ambiente. El estudio permitió determinar que el perfil aromático de los genotipos estudiados fue específico y diferente del de la especie parental aromática *A. caryophyllaea*. Los compuestos principales fueron *trans*- $\beta$ -cariofileno,  $\alpha$ -humuleno, un isómero de ocimeno y mirceno. Los autores comentaron que, para futuras investigaciones se podría realizar la determinación de volátiles a partir de la flor unida a la planta y bajo distintas condiciones ambientales. Aros *et al.* (2015) continuaron el estudio a partir de 13 híbridos de *A. caryophyllaea*. En total, los autores determinaron 23 compuestos terpénicos. El compuesto mayoritario para todas las líneas fue

identificado tentativamente como *trans*- $\beta$ -ocimeno. Aros *et al.* (2022) identificaron por primera vez dos ésteres (benzoato de metilo y salicilato de metilo) en el aroma floral de *Alstroemeria*, los cuales han sido asociados con la atracción de polinizadores y con su función como señales volátiles en la comunicación inter e intra-planta para activar la resistencia a enfermedades. Esto podría dar lugar a una nueva área de investigación sobre la ruta biosintética de estos compuestos y la búsqueda de nuevos genes vinculados al aroma floral en *Alstroemeria*, considerando la importancia de esta cualidad en la industria floricultora.

En la industria floricultora, la afectación de los trabajadores por dermatitis alérgica de contacto es un tema frecuente; en flores de *Alstroemeria*, la dermatitis es bien conocida y se han registrado muchos casos alrededor del tema, generalmente afecta las puntas y los lados de los dedos con un aspecto hiperqueratósico (engrosamiento de la capa externa de la piel) debido al deshoje manual de los tallos para separar las flores. Se han reportado casos de urticaria de contacto y rinoconjuntivitis debido a la exposición a *Alstroemeria* (Adams *et al.*, 1990; Hausen *et al.*, 1983). El alérgeno tulipalina-A ( $\alpha$ -metileno- $\gamma$ -butirolactona), es un producto de hidrólisis del tulipósido-A y se encuentra en mayor concentración en las flores. Este compuesto atraviesa los guantes de vinilo, pero no los de nitrilo (Lovell *et al.*, 2020). Bergman *et al.* (1967) encontraron por primera vez el alérgeno tulipalina-A en extractos de bulbos de tulipanes (*Tulipa* spp.) mediante espectrofotometría UV, mostrando un pico característico a 211 nm. Los autores obtuvieron extractos concentrados de diferentes partes de la planta y reportaron la tulipalina-A como un compuesto fungitóxico capaz de inhibir el crecimiento de algunos hongos patógenos como *Fusarium oxysporum*, *Botrytis allii* y *Aspergillus niger*, entre otros; las concentraciones mínimas del compuesto puro que inhiben el crecimiento fúngico (CMI) fueron 100, 50 y 500 mg/L,

respectivamente. Finalmente, los autores concluyeron que la concentración de tulipalina-A es de al menos 0.1 % del peso fresco del material vegetal.

Brongersma (Brongersma-Oosterhoff, 1967) estudió las propiedades químicas de un compuesto con efectos alérgicos, el cual provocaba una reacción cutánea característica, conocida como “dedos de tulipán”, en personas que manipulaban bulbos de tulipán (*Tulipa gesneriana*) en viveros. Los autores identificaron el compuesto activo como un glucósido de la tulipalina-A. Del mismo modo, Tschesche *et al.* (1969), aislaron y caracterizaron dos glicósidos antibióticos (tulipósido-A y su derivado  $\beta$ -hidroxilado, tulipósido-B) a partir de extractos metanólicos de estambres, tallos y hojas de *Tulipa gesneriana* L. La actividad antibacteriana se determinó contra *Bacillus subtilis*, encontrando una CMI de 100 mg/L para tulipósido-A, 40 mg/L para tulipósido-B y 200 mg/L para la tulipalina-A.

En flores de *Alstroemeria* spp., Christensen y Kristiansen (Christensen & Kristiansen, 1995), desarrollaron un método para la determinación de tulipósido-A y tulipalina-A en extractos acuosos de flores, tallos y hojas de 15 especies chilenas de *Alstroemeria* mediante cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) acoplado a un detector UV (208 nm). Para la extracción del material vegetal se usó un homogeneizador de alta velocidad con agua destilada como solvente. Los autores reportaron la presencia de tulipósido-A y tulipalina-A en todas las especies analizadas, la mayoría de ellas con grandes cantidades de tulipósido-A en los tallos y flores, mientras que solo unas pocas especies tienen grandes cantidades en las hojas. La tulipalina-A está mayormente presente en las flores. Por otro lado, los autores comentan que especies como *A. polyphylla*, *A. diluta* ssp. *chrysantha*, *A. ligtu* ssp. *ligtu* y *A. pelegrina* podrían ser usadas para el desarrollo de cultivares con bajo contenido de alérgenos. Christensen (1999) analizó la emisión de tulipalina-A en flores cortadas de *Alstroemeria* mediante GC/MS, encontrando que se liberaba principalmente

desde tallos cortados. Además, su concentración en hojas y flores fue mayor que la de los tulipósidos.

En cuanto al aprovechamiento del material vegetal, además del uso tradicional de las flores de *Alstroemeria* como producto de exportación, no se han encontrado datos publicados sobre el uso integral del material vegetal postcosecha. En la literatura, las publicaciones están relacionadas con la floración y el mejoramiento de cultivos ornamentales. Sin embargo, Correa *et al.* (2013), realizaron una primera aproximación al extraer y caracterizar fisicoquímicamente el almidón de los tubérculos silvestres de *Alstroemeria hookeri* spp. *hookeri*, provenientes de Concepción, Chile; que fue comparado con el almidón de papa. En la **Tabla 2** se muestra la composición química de ambos almidones. Los autores destacaron que el almidón de *Alstroemeria* presentó una mayor recuperación de almidón, mayor pureza (niveles bajos de lípidos, proteínas y cenizas) y mayores propiedades de hinchamiento. El bajo contenido de proteínas en los almidones es clave para evitar la formación de compuestos nocivos en la fabricación de jarabes de glucosa y fructosa (reacción de Maillard). Los autores sugirieron que el tubérculo de *Alstroemeria* es una opción viable para obtener almidón con propiedades fisicoquímicas funcionales en aplicaciones que requieran pureza, retención de agua y solubilidad.

**Tabla 2.**

*Características de los almidones de Alstroemeria y papa.*

<b>Contenido (%)</b>	<b><i>Alstroemeria</i></b>	<b>Papa</b>
Humedad	8.39 ± 0.25	6.17 ± 0.07
Almidón	86.40 ± 0.96	76.54 ± 0.64
Cenizas	0.28 ± 0.02	0.38 ± 0.03
Proteínas	0.07 ± 0.01	0.11 ± 0.01
Lípidos	0.16 ± 0.01	0.26 ± 0.04
Amilosa/amilopectina	29.25 ± 1.21	29.75 ± 1.95

La revisión de las publicaciones sobre la *Alstroemeria* y el estado-del-arte, permite concluir que es necesario investigar sobre la composición química y actividades antioxidante y antifúngica de los extractos de las flores, ya que los compuestos fenólicos y alérgenos estudiados en especies del género *Alstroemeria* indican potencial biológico alto, que podría ser aprovechado en el control biológico de cultivos afectados por hongos patógenos.

## 2. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Familia Alstroemeriaceae

La familia Alstroemeriaceae comprende más de 200 especies, distribuidas en cuatro géneros: *Bomarea*, con 120 especies en América Central y el norte-centro de Sudamérica; *Alstroemeria*, con alrededor de 90 especies en el sur de Sudamérica y el este de Brasil; *Luzuriaga*, con tres especies en Chile y una en Nueva Zelanda; y *Drymophila*, con una especie en Australia y una en Tasmania. La mayoría de las especies de Alstroemeriaceae se encuentran a elevaciones de 2500–3800 m en la Cordillera de los Andes (Chacón *et al.*, 2012) y presentan diversas formas de crecimiento, algunas son trepadores y se desarrollan en bosques, otras son erectas y pueden crecer en praderas. Se caracterizan por tener flores llamativas y frutos (en el caso del género *Luzuriaga*), lo cual las convierte en plantas de interés ornamental como flores de corte o de jardín (Jara-Seguel *et al.*, 2021).

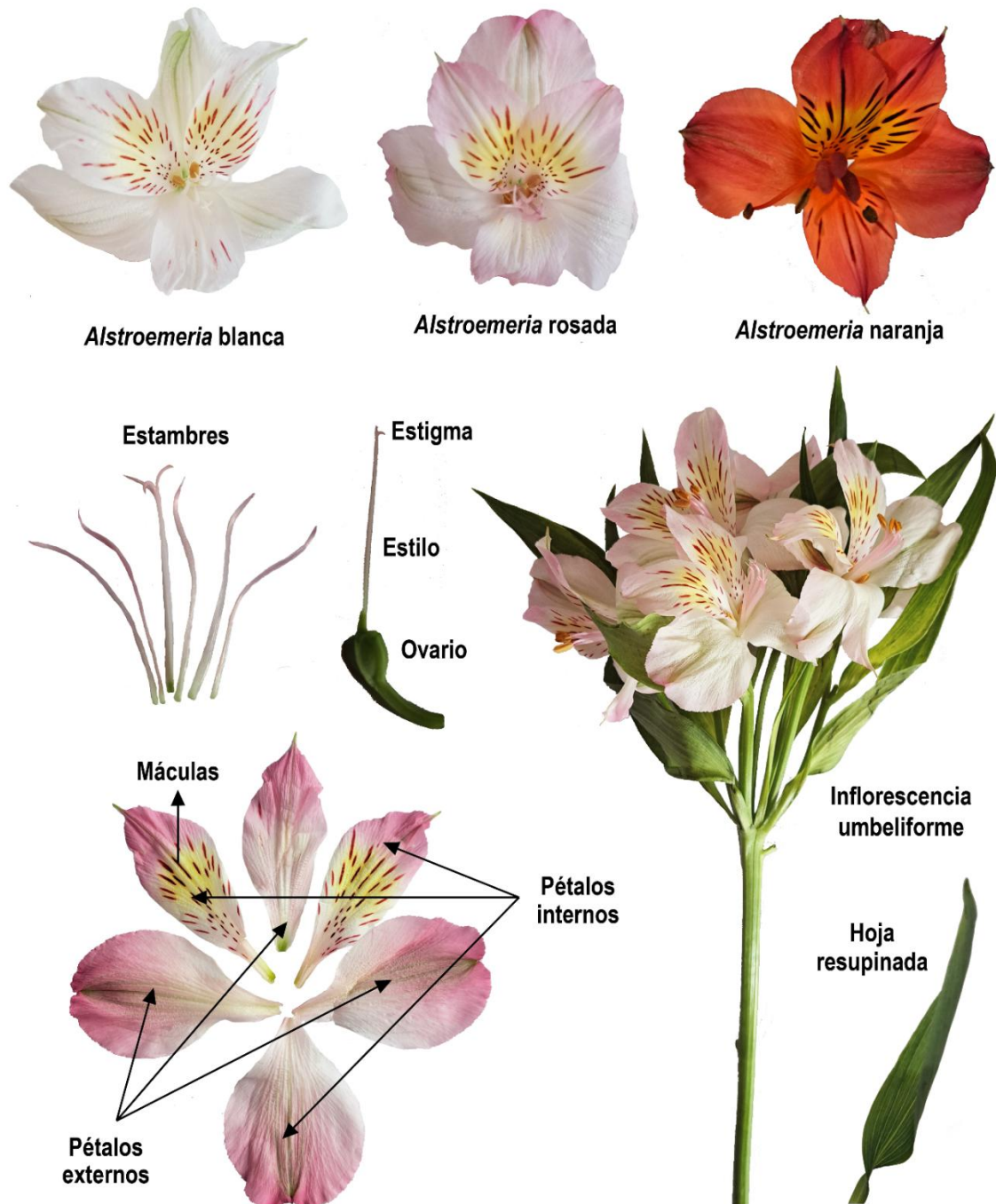
### 2.2. Género *Alstroemeria*

Las plantas del género *Alstroemeria* (*i.e.*, *A. aurea*, *A. caryophyllaea*, *A. diluta*, *A. ligtu* y *A. pelegrina*) se encuentran distribuidas principalmente en Chile y Brasil. Su flor, conocida como lirio de los Incas, lirio peruano o lirio inca, tiene una vida útil de más de dos semanas después de ser cortada. Las *Alstroemérias*, conocidas por su diversidad de colores, son plantas de gran interés comercial, utilizadas principalmente como ornamentales. Las raíces de *Alstroemeria* y *Bomarea* son comestibles debido a su alto contenido de almidón, presentando rizomas con raíces largas, cilíndricas y fibrosas, o tuberosas. En Chile, la harina extraída de la especie *Alstroemeria ligtu* se conoce como “el chuno” (Bayer, 1998).

Las inflorescencias de *Alstroemeria* son terminales y umbeliformes que componen cimas simples o compuestas. Cada cima puede constar de varias flores que surgen simpodialmente (**Figura 2**) (Healy & Wilkins, 2018). El perianto posee dos verticilos de diferente tamaño y forma, cada de uno de tres pétalos con manchas y estrías relacionadas con la atracción de polinizadores (Dhiman & Kashyap, 2021). Estas marcas, conocidas como máculas o guías de néctar, generalmente presentan colores contrastantes en relación con el color principal de la flor, visibles para el ojo humano como para los polinizadores (Finot *et al.*, 2018).

**Figura 2.**

*Morfología de las flores de Alstroemeria.*



*Nota:* imagen elaborada por Diego Alejandro JIMÉNEZ QUINTERO, Bucaramanga, 15 de enero de 2024.

El nombre de la flor se debe a un botánico sueco llamado barón Clas Alströmer, quien en 1753 recogió semillas de esta flor en España, las cuales provenían de Chile y Brasil. Un tiempo después, compró la planta y la llevó al resto de Europa permitiendo su distribución. Colombia encabeza la lista de superficie de cultivo de *Alstroemeria*, y Kenia ocupa el tercer lugar en cuanto al ingreso de divisas, después de las rosas y el estatices (Healy & Wilkins, 2018).

### **2.2.1. *Alstroemeria* spp. var. Nadya**

La variedad ‘Nadya’ de *Alstroemeria* (**Figura 3**) es un híbrido comercial cultivado y distribuido por la empresa C.I. Flores Funza S.A.S. Se caracteriza por sus flores de color rojo intenso y se posiciona como la de mayor relevancia comercial dentro del portafolio de la empresa. Asimismo, es la que registra el mayor porcentaje de siembras y la mayor disponibilidad de biomasa entre las 20 variedades actualmente cultivadas. El área cultivada de esta variedad es de 47 ha, corresponde aproximadamente al 20 % del total del área sembrada y al 10 % con respecto a las otras variedades de *Alstroemeria*. En promedio, el tiempo de vida de cada planta es de cinco años y presenta un ciclo de cultivo de 22 semanas, produciendo 240 tallos/m<sup>2</sup> al año (CI Flores Funza S.A.S., 2024).

**Figura 3.**

*Flores de Alstroemeria spp. var Nadya.*



*Nota:* fotografías tomadas por Diego Alejandro JIMÉNEZ QUINTERO el 17 de marzo de 2025, en CENIVAM, UIS-Bucaramanga.

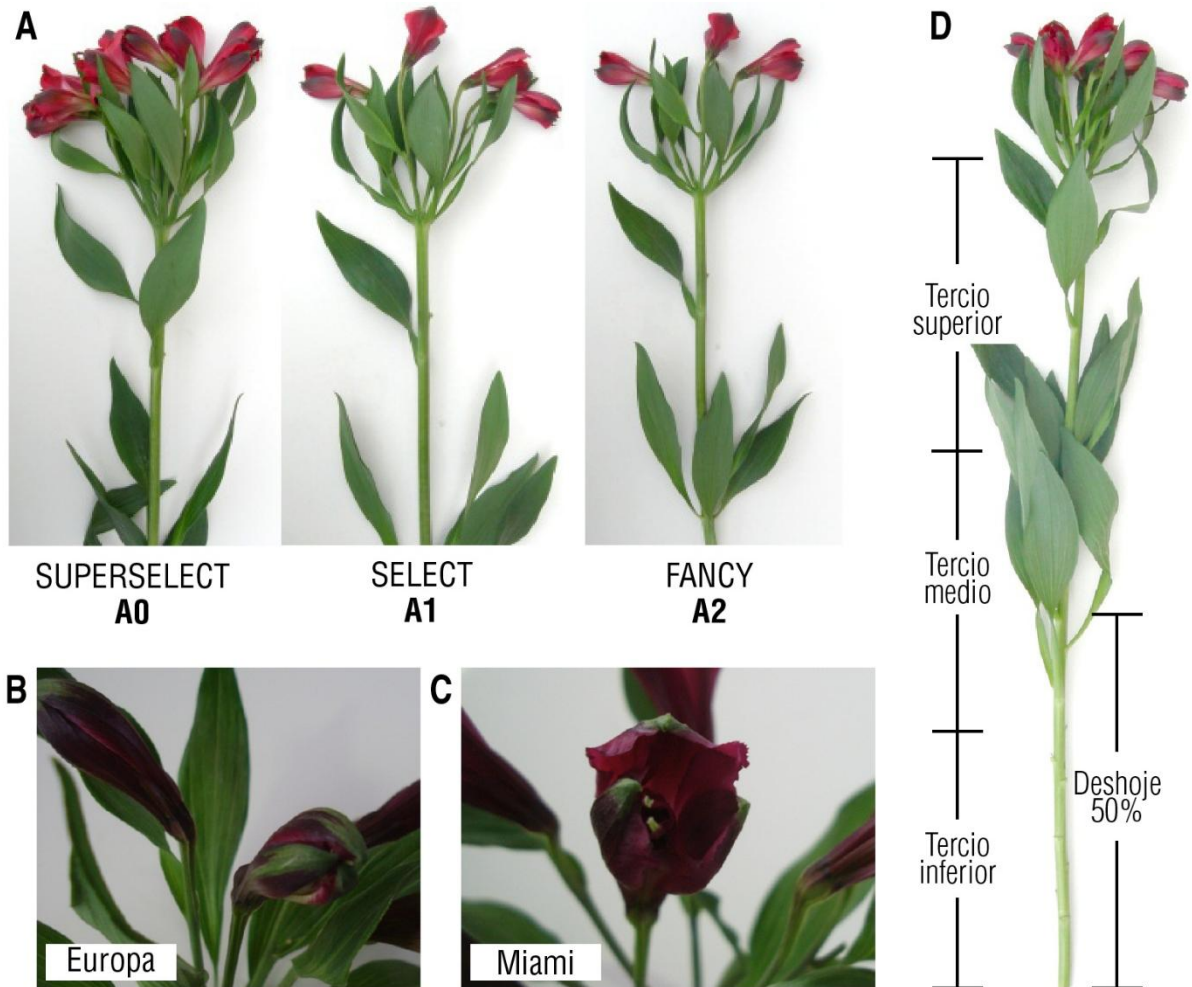
**2.2.2. Cultivo y propagación**

El proceso de cultivo consta de cuatro etapas que permiten el desarrollo de la flor: 1). Propagación (a partir de plantas madre, semillas, esquejes, *in vitro*, bulbos o rizomas); 2). Enraizamiento; 3). Producción (incluye la preparación y desinfección del suelo, control de plagas, siembra, riego, fertilización, cosecha y renovación de cultivo); 4). Postcosecha (selección de las flores, tratamiento sanitario, empaque y conservación de sus propiedades). Las condiciones de suelo son importantes para el buen desarrollo del cultivo, de manera que se garantice la aireación de las raíces, la retención de la humedad y el drenaje, pH y una textura adecuada del sustrato con proporciones bien definidas (ASOCOLFLORES, 2023; Cámara de Comercio de Bogotá, 2015). Para el caso de *Alstroemeria* spp. se requiere una temperatura de 13-16 °C, humedad del 70-80 %, pH de 6.5 y una profundidad en suelo de 40 cm (Cámara de Comercio de Bogotá, 2015). El método

de multiplicación de las plantas de *Alstroemeria* es por división de rizomas o meristemas. Las especies de esta flor presentan brotes vegetativos y generativos que inician en los rizomas subterráneos y se ramifican de forma simpodial. Una vez se han formado rizomas a partir de brotes nuevos, las plantas desarrollan raíces saludables y se establecen en invernadero por un periodo de tres a cuatro meses (Lim *et al.*, 2014).

### 2.2.3. Requerimientos de exportación

La exportación de flores y follajes cuenta con algunos requerimientos estéticos y de control fitosanitario. En cuanto a la estética, las flores se seleccionan de acuerdo con los siguientes parámetros: longitud del tallo, uniformidad y calidad del follaje, rectitud del tallo, ausencia de defectos (marchitez, daños mecánicos, falta de frescura, entre otros), tamaño del botón y número de botones por tallo. De acuerdo con la longitud del tallo, las flores se clasifican en tres categorías: *Standard* (40-49 cm), *Fancy* (50-59 cm) y *Select* (> 60 cm), siendo estas últimas, flores fuertes, resistentes y de mayor calidad (Cámara de Comercio de Bogotá, 2015). Por otro lado, la empresa C.I. Flores Funza S.A.S. también clasifica los productos finales de *Alstroemeria* spp. según el número de campanas o botones por tallo (**Figura 4A**), como A0 (cinco o más botones), A1 (cuatro botones) y A2 (tres botones). La apertura del botón dependerá del lugar de destino, Europa o Estados Unidos (**Figura 4B, 4C**). El tallo no puede presentar desviaciones ni torceduras, en especial, los tallos del producto A0. Solo se aceptan desviaciones en los últimos diez centímetros del tallo y el grosor de estos debe ser homogéneo o ser de tres calibres diferentes, siempre y cuando sean seguidos el uno del otro. El deshoje (**Figura 4D**) por tallo debe ser del 50% (CI Flores Funza S.A.S., 2024).

**Figura 4.***Especificaciones de producto final de Alstroemeria.*

*Nota:* A. Número mínimo de botones por grado de clasificación; apertura de la flor: B. Para Europa y C. Para Estados Unidos; D. Especificaciones del tallo. Tomado de documento interno C.I. Flores Funza (CI Flores Funza S.A.S., 2024).

El Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) regula la calidad y los procesos de cosecha y poscosecha en los cultivos del país. Las empresas productoras deben estar registradas y cumplir con los lineamientos del ICA, incluyendo monitoreos semanales de al menos el 50% del área sembrada y controles específicos el día del corte. Si se detectan plagas, no se puede realizar la

cosecha hasta aplicar medidas correctivas. En caso de tratamientos fitosanitarios, se requiere una inspección visual del 100% de las flores. Los agroquímicos utilizados deben estar certificados por el ICA y cumplir con los lineamientos establecidos por IRAC (*Insecticide Resistance Action Committee*), FRAC (*Fungicide Resistance Action Committee*) y EPA (*United States Environmental Protection Agency*). Además, el personal debe recibir capacitación mensual sobre el manejo de plagas de importancia económica (ICA, 2024).

#### **2.2.4. Tratamiento postcosecha**

Luego de la cosecha y clasificación, las flores se someten a un proceso de refrigeración y se preparan para su comercialización y transporte. Las flores que no cumplen con los estándares mínimos para su exportación (biomasa no exportable) son tratadas por la empresa C.I. Flores Funza S.A.S. para obtener abono orgánico útil para el mantenimiento de praderas. El 100 % de este residuo vegetal compuesto por flores, hojas, tallos y raíces, se pica, se muele y se seca. En el caso de *Alstroemeria* spp. var. Nadya, la producción de biomasa es de 170 t/ha/año. Durante la molienda de la biomasa no exportable, se genera una fracción líquida considerada un desecho del proceso (CI Flores Funza S.A.S., 2024).

#### **2.2.5. Enfermedades y plagas en cultivos de flores**

Los hongos patógenos causan algunas enfermedades en las especies vegetales. Atacan a las flores sin importar su fase de desarrollo y generan significativas pérdidas económicas. Los efectos de la infección se evidencian como manchas florales, destrucción del tejido y algunas deformaciones en las inflorescencias. Las flores, al producir secreciones, como el néctar, son una fuente de nutrientes para microorganismos tanto benéficos como patógenos. Los pétalos, a

diferencia de las hojas, tienen paredes finas que permiten una penetración fácil (Collado *et al.*, 2005).

La capacidad de los hongos patógenos para causar daño en un hospedador se debe a diversos mecanismos, entre los que se incluyen proteínas que degradan la pared celular, proteínas inhibidoras y enzimas involucradas en la síntesis de toxinas. Conocer estos factores es fundamental para implementar estrategias de control en los cultivos, como el uso de fungicidas, métodos de control biológico o el desarrollo de genotipos resistentes mediante el mejoramiento genético (González-Fernández *et al.*, 2010).

#### **2.2.5.1. *Botrytis cinerea***

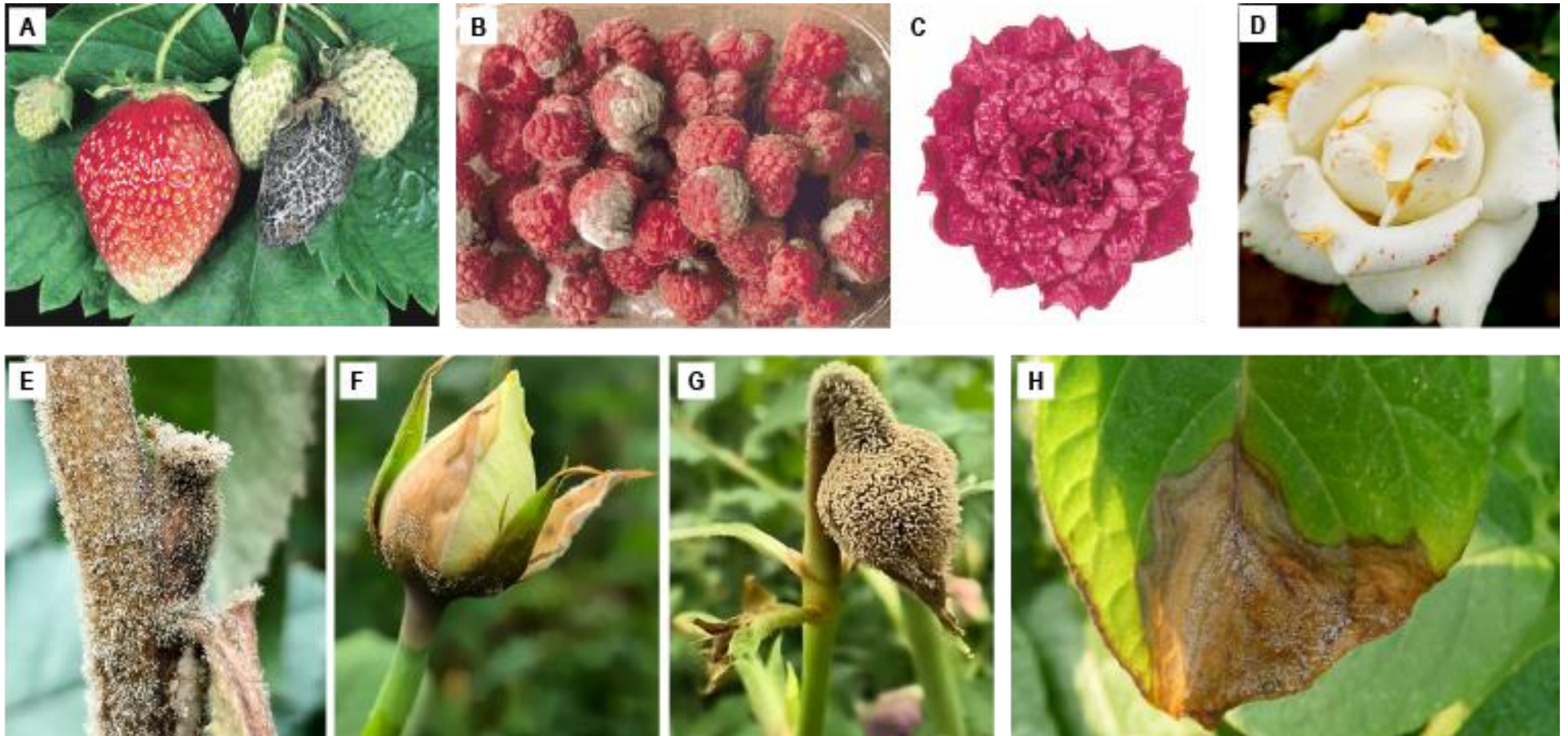
El hongo *Botrytis cinerea* (división: Ascomycota, subdivisión: Pezizomycotina, clase: Leotiomycetes, orden: Helotiales, Familia: Sclerotiniaceae, género: *Botrytis*, especie: *B. cinerea*) es conocido por causar la enfermedad del ‘moho gris’ en una amplia gama de frutas, verduras y plantas ornamentales; ocasiona pérdidas en más de 200 tipos de cultivos en el mundo (**Figura 5**). El hongo ingresa a los tejidos vegetales en una etapa temprana de la planta y permanece latente antes de ocasionar la pudrición. Por ende, genera también problemas postcosecha, pues se hace la recolección de cultivos visualmente sanos, pero durante el transporte a lugares lejanos, se evidencia su contaminación (Notte *et al.*, 2021; Williamson *et al.*, 2007). La mayoría de las especies del género *Botrytis* presentan un rango de hospedadores restringido y suelen infectar principalmente plantas monocotiledóneas. Sin embargo, *B. cinerea* se encuentra en un clado filogenético diferente, caracterizado por especies con un amplio espectro de hospedadores, entre los que predominan las plantas dicotiledóneas (Doehlemann *et al.*, 2017).

Los principales metabolitos fitotóxicos sintetizados por *B. cinerea* son terpenoides como el ácido abscísico (ABA), el botridial, dihidrobotridial y algunos derivados; también, policétidos altamente hidroxilados como el botcinólido, botcininas, ácido botrínico y botrilactona, además del ácido oxálico, el cual puede ser un cofactor en la patogénesis en lugar de un agente fitotóxico primario (**Figura 6**) (Collado *et al.*, 2005; Williamson *et al.*, 2007). Se han descrito alrededor de 275 enzimas secretadas por el hongo *B. cinerea* capaces de degradar los polisacáridos de la pared celular de la planta y superar esta barrera; los carbohidratos liberados se usan como fuente rica en nutrientes (Bi *et al.*, 2023). La melanina es uno de los metabolitos más evidentes producido por *B. cinerea* que le confiere el color gris y protege al hongo de la luz UV. El mecanismo de acción del botridial, una vez que ocurre la infección, es aún desconocido. Sin embargo, se sabe que actúa como iniciador de la muerte celular e induce la respuesta de hipersensibilidad, un mecanismo de defensa de la planta ante el ataque de patógenos (Fillinger & Elad, 2015).

Los problemas asociados con *B. cinerea* en cultivos, han sido tratados por sustancias o agentes agroquímicos (*e.g.*, ftalimida, ditiocarbamato, dicarboximida y anilopirimidina), a pesar de los efectos ambientales que estos generan como la acumulación en suelos y el desarrollo de resistencia por parte de los patógenos debido su deliberada aplicación. Como método alternativo se han usado biopesticidas para mejorar la sostenibilidad de los cultivos. Existen ciertas especies de bacterias, hongos y levaduras que presentan propiedades antifúngicas, por ejemplo, *Bacillus subtilis* y *Trichoderma harzianum*. El género *Bacillus* es uno de los agentes de biocontrol más estudiados y efectivos contra patógenos en cultivos. *T. harzianum* se emplea en plantaciones de tomate en combinación con el fungicida dicarboximida, pues en una sola aplicación se logra reducir a la mitad los tratamientos necesarios para controlar el hongo (Roca-Couso *et al.*, 2021).

**Figura 5.**

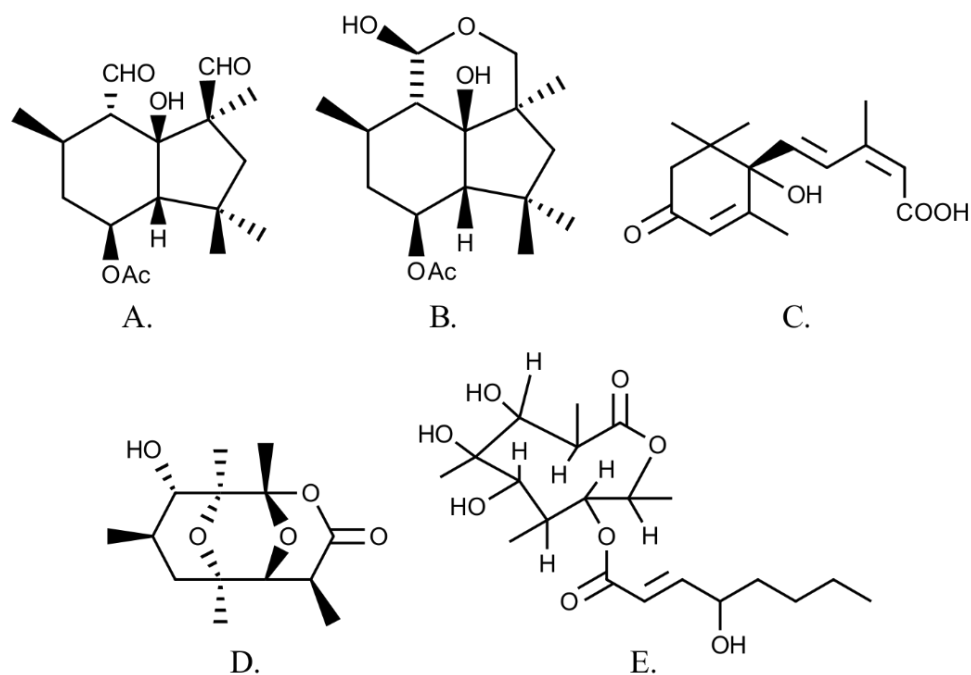
*Infección por Botrytis cinerea. Podredumbres blandas y rápida aparición de masas grises de conidios son los síntomas más comunes en hojas y frutas blandas.*



*Nota:* A. Moho gris en fresa; B. Moho gris en frambuesa; C. Pétalos de rosa infectados; D. Expansión de lesiones en pétalos de rosa; E. Muerte del tallo en la etapa final de la infección, con gran cantidad de conidios en la superficie; F. Infección de un capullo en etapa temprana; G. Pudrición del capullo en la etapa final de la infección, con gran cantidad de conidios en su superficie; H. Hoja con mancha necrótica y crecimiento de *Botrytis*. Tomado de Williamson *et al.*, 2007; Ullah *et al.*, 2024 y Martínez, 2024.

**Figura 6.**

*Compuestos fitotóxicos sintetizados por B. cinerea.*



**Nota:** A. Botridial; B. Dihidrobotridial; C. Ácido abscísico (ABA); D. Botrilactona y E. Botcinólido. Tomado de Collado *et al.*, 2005.

### 2.2.5.2. *Fusarium oxysporum*

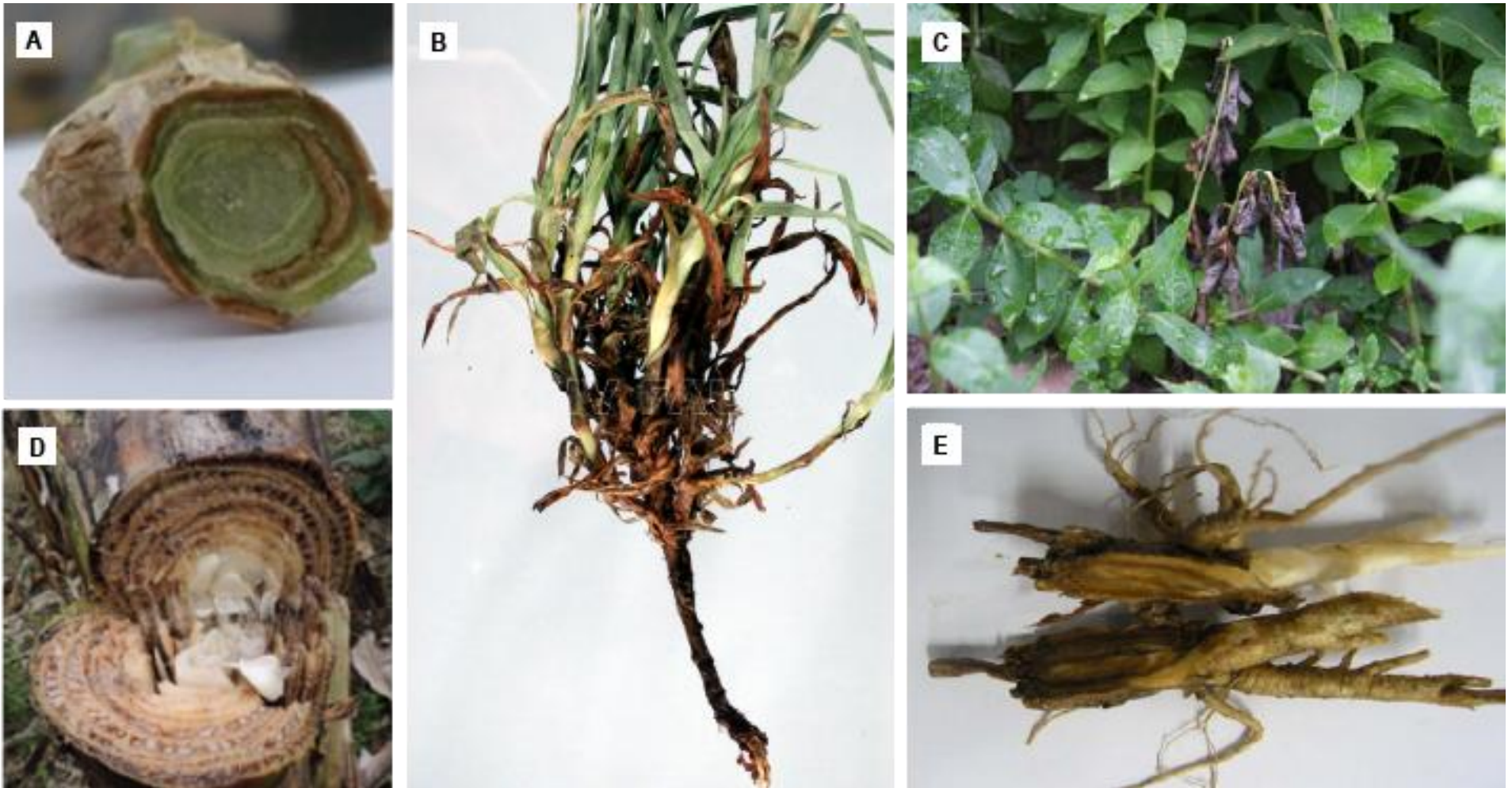
El género *Fusarium* comprende alrededor de 1.500 especies y se considera como uno de los patógenos vegetales más significativos. Entre estos figuran *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. fujikuroi* y *F. graminearum*, hongos más relevantes para las plantas (Arie, 2019). El hongo *F. oxysporum* (división: Ascomycota, subdivisión: Pezizomycotina, clase: Sordariomycetes, orden: Hypocreales, familia: Nectriaceae, género: *Fusarium*, especie: *F. oxysporum*) presenta múltiples formas patogénicas y puede afectar a más de 100 especies de gimnospermas y angiospermas, gracias a su capacidad de vencer los mecanismos de defensa de muchas plantas. En Colombia, la marchitez causada por *F. oxysporum* f. sp. *dianthi* en claveles representa un problema de gran

importancia. Sus principales síntomas incluyen el marchitamiento de la planta, la aparición de manchas amarillas en las hojas y una reducción en el crecimiento (**Figura 7**). La enfermedad suele comenzar con la penetración directa de las hifas en la epidermis de las raíces, avanzando hacia la corteza y los vasos del xilema. La colonización ocurre por el crecimiento del micelio o por el transporte de microconidias, lo que puede generar una distribución irregular de la infección. Como resultado, los esquejes de propagación pueden parecer sanos, dado que el hongo coloniza el sistema vascular antes de la manifestación de los síntomas (Garcés de Granada *et al.*, 2001).

Los patógenos *Fusarium* sintetizan toxinas y enzimas que intervienen en las rutas metabólicas del hospedador para poder establecerse y usar los nutrientes en su beneficio. Las micotoxinas principales producidas por *Fusarium* son los tricotecenos, fumonisinas y zearalenonas (**Figura 8**) (Perincherry *et al.*, 2019), que poseen una alta toxicidad para humanos, animales y cultivos. Se caracterizan por bloquear la síntesis de proteínas en eucariotas y se clasifican por el método de acción. Por ejemplo: la toxina T-2, nivalenol (NIV), fusarenon X, la verrucarina A, deoxinivalenol (DON), crotocina y el verrucarol, conocidas por hacer parte de las micotoxinas más citotóxicas y carcinogénicas. La fumonisina B1 es la más relevante y extendida en el cultivo de maíz, comprende sus análogos B1, B2 y B3. El ácido fusárico es una de las toxinas relacionadas con el marchitamiento del tomate por *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* que puede aumentar las especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés) y reducir la actividad de enzimas antioxidantes (Ekwomadu *et al.*, 2021; Perincherry *et al.*, 2019).

**Figura 7.**

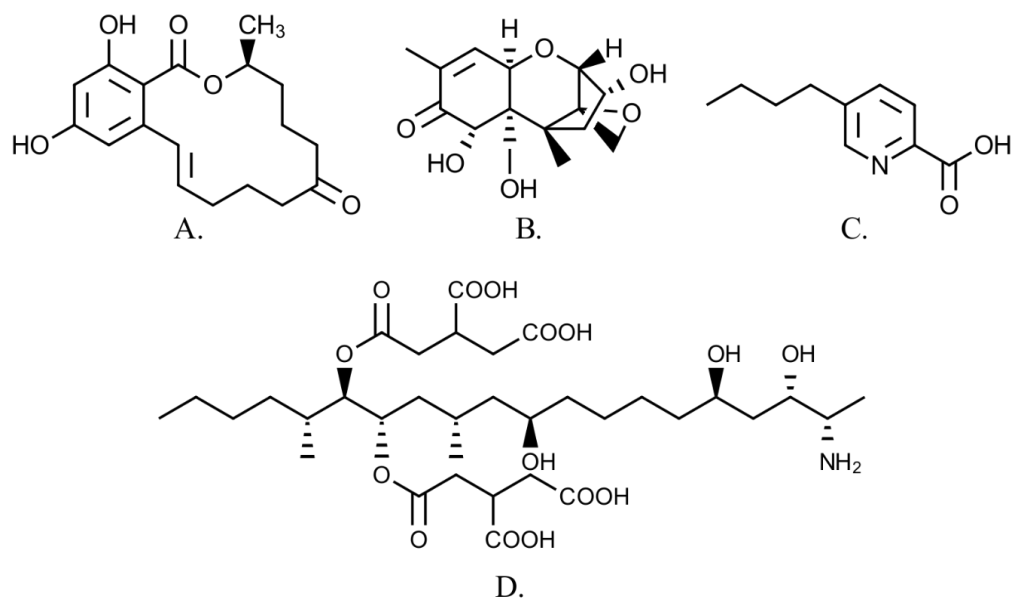
*Infección por Fusarium oxysporum.*



*Nota:* A. Corte transversal en la corona de plantas de clavel con el síntoma de pudrición; B. Marchitamiento del clavel; C. Marchitamiento de *Platycodon grandiflorum* (flor de globo); D. Necrosamiento de los haces vasculares en plantas de banano (*F. oxysporum* f. sp. *cubense*); E. Pudrición interna de la raíz de *Platycodon grandiflorum*. Tomado de Jeon *et al.*, 2013; Duarte *et al.*, 2022 y Herbario Virtual Fitopatología, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires.

**Figura 8.**

*Metabolitos secundarios sintetizados por patógenos del género Fusarium.*



*Nota:* A. Zearalenona; B. Deoxinivalenol (DON); C. Fumonisina B1; D. Ácido fusárico. Tomado de Perincherry *et al.*, 2019.

El control de *Fusarium* spp. en cultivos es un desafío debido a su persistencia en el suelo. Los métodos tradicionales, como agua caliente, solarización y fungicidas (cloropicrina, benomil, carbendazim, tiabendazol y tiofanato), presentan limitaciones, ya sea por su baja eficacia o por efectos negativos en el ambiente, incluyendo resistencia fúngica y mutagénesis en plantas. Estudios en raíces de cebolla han demostrado efectos genotóxicos del benomil (Arie, 2019; Villa-Martínez *et al.*, 2014). Como alternativas, se han desarrollado estrategias como el control biológico, el uso de hongos benéficos, la rotación de cultivos y extractos vegetales con actividad antifúngica. Entre los productos comerciales, destaca T34 *Biocontrol*<sup>®</sup>, basado en *Trichoderma asperellum*, producido por *BIOCONTROL Technologies* (España) (Ismaila *et al.*, 2023).

### 2.3. Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos son un grupo de metabolitos secundarios presentes en las plantas, como vegetales, frutas, especias, granos, legumbres y nueces, distribuidos en varios de sus órganos. Los compuestos fenólicos realizan funciones fisiológicas muy importantes como el color, sabor y resistencia al estrés. Las actividades biológicas (antioxidante, antimicrobiana, anticancerígena, antiinflamatoria, antidiabética y prevención de enfermedades cardiovasculares) de estos compuestos han sido foco de muchas investigaciones y aplicaciones. Su estructura química se reconoce por la presencia de un anillo aromático con uno o más grupos hidroxilo (Zhang *et al.*, 2022). Los compuestos fenólicos pueden clasificarse principalmente en flavonoides, ácidos fenólicos, lignanos, taninos y estilbenos, según sus diferencias estructurales (Lang *et al.*, 2024).

Los compuestos fenólicos desempeñan un papel fundamental en las plantas, participando en procesos como el crecimiento, la polinización y la defensa contra plagas. También actúan como filtro UV, protegiendo los tejidos vegetales de la radiación solar, y contribuyen a la coloración de flores y frutos, influyendo en su atractivo visual y en la interacción con los polinizadores. Los flavonoides son el grupo más grande y se clasifican en flavonas, isoflavonas, flavonoles, flavanonas, flavanonoles, catequinas, antocianinas y chalconas (Panche *et al.*, 2016). Dentro de este grupo, las antocianinas destacan como pigmentos naturales responsables de los colores azul, rojo y morado en las plantas, principalmente en flores, frutas y tubérculos. Las antocianinas son derivados del flavonol y tienen la estructura básica del ion flavilio ( $C_{15}H_{11}O^+$ , 207.24724 g/mol). Las antocianidinas o agliconas como la pelargonidina pueden unirse a uno o varios azúcares para formar antocianinas derivadas como pelargonidina-3-glucósido o pelargonidina-3,5-diglucósido, con el fin de mejorar su almacenamiento y metabolismo (Khoo *et al.*, 2017).

Las técnicas convencionales de extracción de los compuestos fenólicos incluyen la maceración, decocción, percolación, infusión, digestión, extracción exhaustiva en serie y extracción Soxhlet (Zhang *et al.*, 2022). Tradicionalmente, el aislamiento de flavonoides se realiza mediante extracción con solvente, un método que requiere calentamiento (Li *et al.*, 2005). Sin embargo, se han desarrollado técnicas avanzadas para la extracción de compuestos de interés biológico, como la extracción asistida por ultrasonido, la radiación de microondas, el uso de fluidos supercríticos y la extracción acelerada con solventes. Entre estas, la extracción asistida por ultrasonido destaca por su eficiencia, sencillez y bajo costo en comparación con métodos convencionales (Wang & Weller, 2006).

#### **2.4. Alergias relacionadas con plantas**

La piel, el órgano más grande del cuerpo humano, actúa como barrera anatómica, química e inmunológica frente al medio exterior y está formada por células estructurales e inmunitarias. Su función protectora se organiza en cuatro barreras: microbioma, química, física e inmunológica. El microbioma, la más externa, está compuesta por microorganismos benéficos; las barreras química y física incluyen la regulación del pH y compuestos que mantienen la hidratación, destacando el estrato córneo (SC) como principal barrera física, formado por corneocitos, lípidos, ceramidas, colesterol y ácidos grasos libres (Martin & Bonefeld, 2020). Muchos alérgenos son haptenos, compuestos de bajo peso molecular (<500 Da) que pueden ser de origen natural (extractos vegetales, resinas, fragancias) o sintético (conservantes, fármacos) (Rustemeyer, 2022).

La dermatitis alérgica de contacto se desarrolla en dos etapas bien diferenciadas. En la fase de sensibilización, el hapteno, atraviesa la barrera cutánea y se une covalentemente a proteínas cutáneas, generando complejos que el sistema inmunitario reconoce como extraños. Estos

complejos son captados por células presentadoras de antígeno, como las células de Langerhans y las células dendríticas dérmicas, que tras su activación migran hacia los ganglios linfáticos regionales. En este entorno, presentan el antígeno a linfocitos T vírgenes, induciendo su activación, los cuales permanecerán en circulación y en la piel, preparados para una futura exposición. La fase de elición se produce cuando el organismo entra nuevamente en contacto con el mismo hapteno. Este repite el proceso de unión a proteínas cutáneas y es reconocido por linfocitos T previamente sensibilizados, que se activan y liberan mediadores inflamatorios, provocando manifestaciones clínicas como eritema, edema, prurito, vesiculación y descamación, y tiene como objetivo la eliminación de las células cutáneas que contienen el hapteno. Posteriormente, la inflamación disminuye progresivamente gracias a mecanismos reguladores que restablecen la homeostasis tisular (Rustemeyer, 2022).

Las plantas pueden inducir reacciones cutáneas por diversos mecanismos: urticaria, reacciones irritantes mecánicas o químicas, fototoxicidad y dermatitis alérgica de contacto. Algunas plantas poseen espinas, bordes afilados de las hojas o sintetizan compuestos volátiles como defensa ante los depredadores. La dermatitis alérgica de contacto es inducida por un grupo selecto de moléculas, entre ellas se incluyen las  $\alpha$ -metileno- $\gamma$ -butirolactonas (como las lactonas sesquiterpénicas presentes en Asteraceae y la tulipalina-A en tulipanes y *Alstroemeria*), las quinonas (primina), los derivados fenólicos (urushiol de la hiedra venenosa), y los terpenos (fragancias de origen vegetal). Otros alérgenos pueden ser disulfuros, como en el caso del ajo (*Allium*) o derivados poliacetilénicos, como el falcarinol en la hiedra (*Hedera* spp.). El deshoje de los tallos de *Alstroemeria* se realiza de manera manual por los floristas, y la tasa de sensibilización por el alérgeno tulipalina-A puede superar el 50 % en cultivadores (Lovell *et al.*, 2020).

## **2.5. Técnicas analíticas**

### **2.5.1. Cromatografía de gases**

La cromatografía de gases (GC) es una técnica de separación que se fundamenta en la distribución de los analitos de una mezcla entre dos fases, una móvil, que es gaseosa, y la otra, estacionaria, que puede ser sólida o líquida. La fase móvil es un gas permanente, como helio, nitrógeno e hidrógeno, y se supone que su interacción con los analitos es mínima o nula. La separación de los analitos puede variar según sus propiedades químicas (volatilidad, polaridad, peso molecular, termoestabilidad, etc.) y en especial, la interacción que tenga con la fase estacionaria. Los equipos GC se componen de partes fundamentales: puerto de inyección, el horno que alberga la columna cromatográfica, un detector y un sistema de adquisición y análisis de datos. Además, el sistema puede acoplarse con equipos auxiliares, *e.g.*, pirolizador o muestreador *Headspace* (HS). Los análisis de aceites esenciales, compuestos orgánicos volátiles (VOCs), productos de origen natural, drogas, derivados del petróleo, pesticidas y explosivos, entre otros, son algunos de los analitos de interés para el análisis por cromatografía de gases (Stashenko & Martínez, 2010).

### **2.5.2. Cromatografía líquida**

La cromatografía líquida (LC) consiste en la distribución de los analitos de una mezcla entre una fase móvil líquida y una fase estacionaria sólida. La separación se puede realizar mediante cromatografía en fase reversa o fase normal, según la polaridad de la columna y la fase móvil. El proceso puede llevarse a cabo bajo condiciones isocráticas, con composición constante de la fase móvil, o mediante elución en gradiente, donde dicha composición varía durante la separación (Ahuja, 2003). En la cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC), el sistema cuenta

con un reservorio de fase móvil y una bomba que permite su paso constante a través de la columna, puerto de inyección, columna cromatográfica y un sistema de detección, destacando principalmente los acoplamientos con detectores de absorción ultravioleta (UV) o espectrometría de masas (MS). Una ventaja importante de HPLC, es que no está limitada por la volatilidad ni estabilidad térmica de la muestra, lo cual la hace útil para el análisis de macromoléculas y especies iónicas de interés biológico (Lee, 2011).

### **2.5.3. Detector de ionización en llama**

El detector de ionización en llama (FID) es uno de los más usados en cromatografía de gases (GC) para la detección de compuestos orgánicos, los cuales se ionizan mediante su combustión en una llama de hidrógeno ( $H_2$ ) y aire. La muestra en estado gaseoso, después de ser eluída de la columna cromatográfica, se introduce en la llama, donde se ioniza. Posteriormente, los iones son extraídos por un campo eléctrico, generando una corriente eléctrica proporcional al contenido de átomos de carbono en la muestra (Sugiharto *et al.*, 2022). El detector FID es considerado casi-universal, ya que no da respuesta a gases permanentes, agua ni compuestos que no contienen grupos carbonados, adicionalmente, es un detector destructivo y su respuesta es sensible al cambio de masa de los analitos (Stashenko & Martínez, 2009).

### **2.5.4. Detector selectivo de masas**

La espectrometría de masas (MS) se fundamenta en la generación de iones a partir de compuestos inorgánicos u orgánicos, los cuales se separan según su relación masa-carga ( $m/z$ ) y se detectan cualitativa y cuantitativamente en función de su  $m/z$  y abundancia, generando lo que se conoce como un espectro de masas. Todos los espectrómetros de masas presentan una estructura

básica compuesta por una fuente de iones, un analizador de masas y un detector, que operan bajo condiciones de alto vacío (Gross, 2011). El detector selectivo de masas (MSD, por sus siglas en inglés) es un sistema de detección cromatográfica que puede funcionar como detector universal, selectivo o específico, dependiendo del modo de adquisición de iones y del procesamiento de la corriente iónica. Los analizadores de masas se clasifican según su resolución, es decir, la capacidad que poseen para separar señales adyacentes. Los analizadores de baja resolución miden masas nominales y no distinguen entre especies isobáricas, mientras que los analizadores de alta resolución permiten determinar masas exactas, lo que representa una ventaja en la determinación de la composición elemental (Stashenko & Martínez, 2010).

#### **2.5.5. Analizador de masas cuadrupolar**

El cuadrupolo (Q) es un analizador selectivo de masas que consta de cuatro barras metálicas, a las que se les aplica corriente directa y alterna para permitir la separación de los iones provenientes de la cámara de ionización según su relación masa-carga ( $m/z$ ). Solo los iones que tengan una masa específica ( $m/z$ ) podrán atravesar el cuadrupolo sin desviar su trayectoria. A la salida, su corriente iónica se mide, se amplifica y se digitaliza para obtener un espectro de masas que muestre la intensidad o abundancia de los iones formados. El cuadrupolo es el analizador más usado en el acoplamiento GC-MS debido a sus ventajas operativas, robustez y su amplio rango de trabajo (Stashenko & Martínez, 2010).

#### **2.4.6. Analizador de masas *Orbitrap***

El analizador *Orbitrap* es una trampa de iones compuesta por dos electrodos externos y uno central. Los iones se transfieren a la región comprendida entre los electrodos, donde son

atrapados y un campo eléctrico los hace orbitar alrededor del electrodo central. La frecuencia de oscilación generada por el movimiento de los iones es detectada por los electrodos externos, la cual es directamente proporcional a su relación masa-carga ( $m/z$ ); esta se mide y se somete a un proceso de deconvolución mediante la transformada de Fourier, para luego digitalizarse como la intensidad de la señal en función de  $m/z$  en el espectro de masas. El *Orbitrap* ofrece alta resolución y gran exactitud en la determinación de masas, y se ha aplicado al análisis de una amplia variedad de analitos, especialmente proteínas, péptidos y oligosacáridos (Hu *et al.*, 2005).

## 2.5. Actividad antioxidante

De manera general, Halliwell (Halliwell, 1990) define un antioxidante (AH) como “cualquier sustancia que, presente en bajas concentraciones comparadas con las de un sustrato oxidable, inhibe o previene la oxidación de este sustrato”, siendo el sustrato oxidable un lípido, proteína, carbohidrato o ácido nucleico. Desde el punto de vista biológico, los antioxidantes son compuestos que, al estar presentes en alimentos o sistemas vivos, en concentraciones bajas, retrasan, controlan o previenen los procesos de oxidación que generan disminución en la calidad de los alimentos y deterioro de la salud por la propagación de enfermedades degenerativas (Munteanu & Apetrei, 2021).

Los antioxidantes pueden ser naturales o sintéticos, según su origen. Los naturales incluyen los endógenos, producidos por el organismo, y los exógenos, obtenidos a través de la dieta (como vitaminas, carotenoides y compuestos fenólicos). Los sintéticos, como el butilhidroxianisol (BHA), el butilhidroxitolueno (BHT) y la tert-butilhidroquinona (TBHQ), se utilizan en las industrias alimentaria, cosmética y farmacéutica para evitar la oxidación y la rancidez de los lípidos. La actividad antioxidante depende de la capacidad de los compuestos para neutralizar

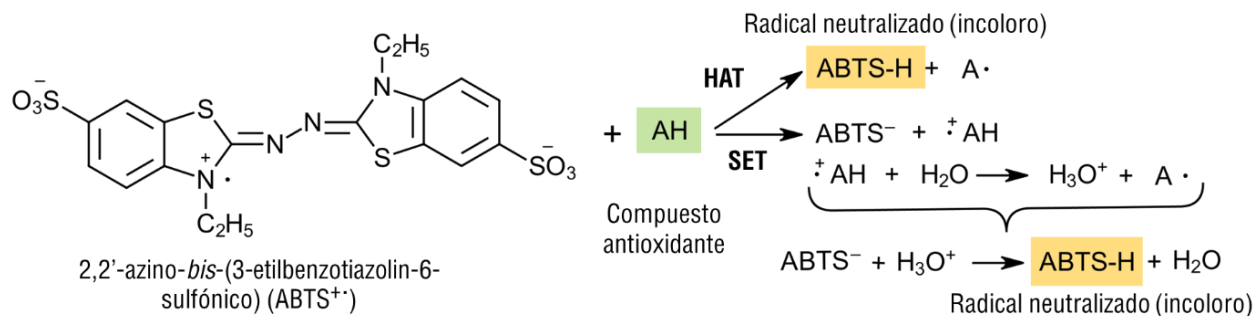
especies radicalarias, donando hidrógenos o aceptando electrones de las especies reactivas de oxígeno (ROS). Los resultados varían según el método *in vitro* empleado, por lo que se recomienda usar más de un ensayo de capacidad antioxidante. Estos métodos se dividen en dos tipos según la reacción química involucrada: transferencia de átomos de hidrógeno (HAT) y transferencia de un solo electrón (SET) (Flieger *et al.*, 2021; Munteanu & Apetrei, 2021).

### **2.5.1. Ensayo de decoloración del catión-radical ABTS<sup>•+</sup>**

Este ensayo mide la capacidad de los antioxidantes para neutralizar el radical 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS<sup>•+</sup>), el cual se obtiene a partir de la reacción del ABTS con persulfato de potasio, tiene un intenso color azul-verdoso y presenta una máxima absorción a 734 nm. En presencia de antioxidantes se da la decoloración de la solución y una disminución de la absorbancia (Munteanu & Apetrei, 2021). Los antioxidantes pueden neutralizar el catión radical ABTS<sup>•+</sup> por la donación de electrones (SET) o átomos de hidrogeno (TAH) (véase **Figura 9**), el equilibrio entre ambos mecanismos está regulado por la estructura del antioxidante y el pH del medio. Los resultados se reportan en unidades TEAC, capacidad antioxidante equivalente a Trolox<sup>®</sup> (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametil-croman-2-carboxílico), análogo de la vitamina E (Shahidi & Zhong, 2015).

**Figura 9.**

Esquema de reacción involucrado en el ensayo  $ABTS^{+}$ .



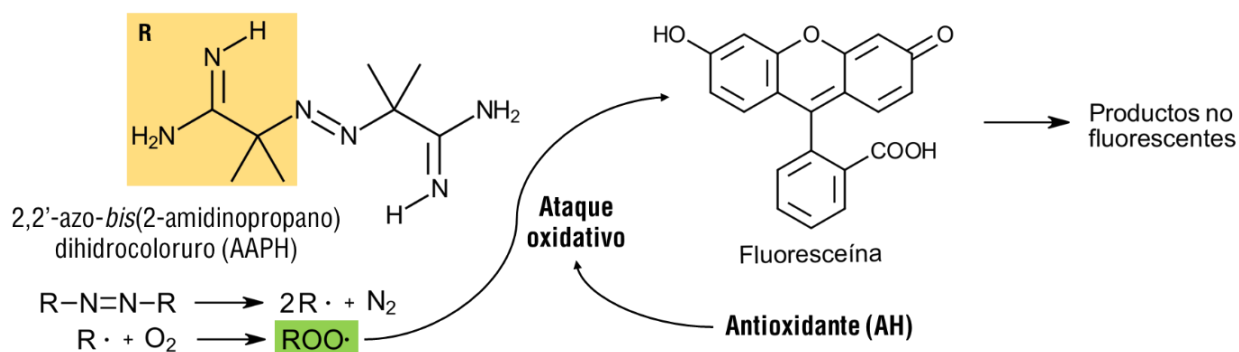
Nota: Modificado de Gulcin, 2020 y Munteanu & Apetrei, 2021.

### 2.5.2. Capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC)

El ensayo ORAC mide la capacidad de los antioxidantes de inhibir la oxidación del radical peroxilo, el cual se forma a partir de la oxidación lipídica en sistemas biológicos, bajo condiciones fisiológicas. Los radicales peroxilo ( $ROO\cdot$ ) se generan a partir del cloruro de 2,2'-azo-bis(2-amidinopropano) (AAPH) y reaccionan con una muestra fluorescente (fluoresceína), generando una disminución en la fluorescencia. Los antioxidantes protegen la fluoresceína de la degradación oxidativa, transfiriendo un átomo de hidrógeno a los radicales peroxilo del medio (véase **Figura 10**). Para la cuantificación se usa la diferencia entre el área bajo la curva de fluorescencia en presencia y ausencia del compuesto antioxidante. Como compuesto de referencia se usa Trolox<sup>®</sup>, un antioxidante estándar, con el cual se realiza una curva de calibración y a partir del área bajo la curva se calculan los  $\mu\text{mol}$  de Trolox<sup>®</sup>/g muestra (Rojas *et al.*, 2015).

**Figura 10.**

Esquema de reacción involucrado en el ensayo ORAC.



Nota: modificado de Munteanu & Apetrei, 2021.

## 2.6. Actividad antifúngica de extractos de plantas

La medicina contemporánea ha respaldado el uso tradicional de las plantas medicinales, reconociendo su capacidad para generar compuestos bioactivos con aplicaciones terapéuticas en la prevención y el tratamiento de enfermedades y plagas. Los flavonoides, metabolitos secundarios presentes en las plantas, han demostrado ser agentes antifúngicos eficaces frente a una amplia gama de organismos patógenos (e.g., *Candida albicans*, *Aspergillus flavus*, *A. fumigatus*, *Penicillium expansum*, entre otros). Compuestos como la cianidina, pelargonidina, pinocembrina, catequina, apigenina, así como sus derivados glucosilados, han sido reportados por actividad antifúngica alta. Los mecanismos asociados pueden estar relacionados con la alteración de la membrana plasmática, la inducción de disfunción mitocondrial y la inhibición de procesos como la formación de la pared celular, la división celular, la síntesis de ARN y proteínas. Los compuestos antifúngicos pueden inhibir la biosíntesis de ergosterol,  $\beta$ -glucano y quitina, componentes esenciales para la formación de la pared y membrana celular, además de interferir en las bombas de protones en las mitocondrias, reduciendo la síntesis de ATP y ocasionando la muerte celular.

Para la determinación de la actividad antifúngica se han usado métodos como la dilución en caldo, germinación de esporas, y difusión en agar por pocillo o disco (Abody & Mickymaray, 2020).

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1. Objetivo General

Extraer y analizar los compuestos fenólicos obtenidos de la *Alstroemeria* spp. var. Nadya y evaluar *in vitro* sus propiedades antioxidante y antifúngica.

#### 3.2. Objetivos Específicos

Realizar un diseño experimental para la extracción de los compuestos fenólicos de la biomasa no exportable proveniente de cultivos de *Alstroemeria* spp. var. Nadya.

Determinar la composición química por GC/MS y LC/MS de los extractos hidroetanólicos de *Alstroemeria* spp. var. Nadya.

Evaluar la actividad antioxidante por los métodos ABTS<sup>+</sup> y ORAC de los extractos hidroetanólicos de *Alstroemeria* spp. var. Nadya.

Determinar la actividad antifúngica *in vitro* por el método de difusión en agar de los extractos hidroetanólicos de *Alstroemeria* spp. var. Nadya contra hongos *Fusarium* y *Botrytis*.

## 4. DESARROLLO EXPERIMENTAL

### 4.1. Reactivos

Para el desarrollo de este trabajo se utilizaron los siguientes reactivos y sustancias patrón: ácido 2,2'-azino-bis-etilbenzotiazolin-6-sulfónico (ABTS, 98%), clorhidrato de 2,2'-azo-bis-(2-amidino-propano) (AAPH, 97%), Trolox<sup>®</sup> (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametil-cromán-2-carboxílico) (97%), quercetina (98%), galangina (95 %), kaempferol 3-O-galactósido ( $\geq 98$  %), kaempferol 3-O-arabinósido ( $\geq 98$  %), fluoresceína [benzoato disódico de 2-(3-oxo-6-óxido-3H-xanten-9-il)] (99%), bifosfato de potasio (99%), fosfato dipotásico (99%), persulfato de potasio (97%), acetato de sodio (99%), todos adquiridos de *Sigma-Aldrich* (St. Louis, MO, EE. UU.). Ácido fórmico grado HPLC, metanol grado HPLC, formiato de amonio ( $\geq 99$ %), ácido acético (99%) y el metanol grado LC/MS se obtuvieron de *Merck* (Darmstadt, Alemania). El agua Tipo I fue producida en un equipo purificador *Synergy UV*, de *Merck Millipore* (Darmstadt, Alemania). La mezcla de *n*-alcanos C<sub>6</sub>-C<sub>25</sub> y el *n*-tetradecano se obtuvieron de *AccuStandard Inc.* (New Haven, CT, EE. UU.). Los gases helio, aire, hidrógeno y nitrógeno (99.995%) se adquirieron en la empresa *Messer* (Bucaramanga, Colombia). El etanol industrial (96%) se compró a *SUQUIN* (Bucaramanga, Colombia). El medio de cultivo PDA (*potato dextrose agar*, *OXOID*<sup>™</sup>) se compró a *Thermo Fisher Scientific* (Waltham, Massachusetts, Estados Unidos).

### 4.2. Material vegetal

La biomasa no exportable de *Alstroemeria* spp. var. *Nadya* fue proporcionada por la empresa C.I. Flores Funza S.A.S. (Funza, Cundinamarca) seca y picada. Este material vegetal se procesó en un molino de corte SM 100 *RETSCH*<sup>®</sup> (Haan, Alemania) con un tamiz de abertura

cuadrada (2.00 mm) (**Figura 11**) y se almacenó a temperatura ambiente (25 °C), en ausencia de luz. Adicionalmente se recibieron flores frescas de *Alstroemeria* spp. var. Nadya, las cuales se secaron en un liofilizador de bandejas *VirTis Advantage Plus* (Gardiner, New York, EE. UU.), se molieron y se almacenaron a temperatura ambiente (25 °C), en ausencia de luz.

**Figura 11.**

A. Molino de corte SM 100 RETSCH®; B. Biomasa no exportable de *Alstroemeria* spp. var. Nadya; C. Biomasa no exportable molida.



*Nota:* fotografías tomadas por Diego Alejandro JIMÉNEZ QUINTERO, pabellón “Sombra el Terrible” de CENIVAM, UIS, Bucaramanga, 2 de mayo de 2024.

### 4.3. Obtención de extractos

#### 4.3.1. Extracción con solvente

Para determinar las mejores condiciones de extracción a partir de la biomasa no exportable de *Alstroemeria* spp. var. Nadya, se desarrolló un diseño experimental factorial  $2^3$ . El procedimiento se llevó a cabo usando la técnica de extracción con solvente asistida con ultrasonido (USAE, por sus siglas en inglés), según Mejía *et al.* (Mejía, 2022) y Porras *et al.* (Porras, 2023) con algunas modificaciones. Las variables estudiadas fueron: la relación EtOH:H<sub>2</sub>O (A), temperatura (B) y tiempo de extracción (C). Las variables de respuesta fueron el rendimiento de extracción y la actividad antioxidante, medida por el método ORAC. La respuesta combinada se determinó sumando los valores normalizados de rendimiento de extracción y de actividad antioxidante. Las mediciones se realizaron por triplicado para cada punto del diseño y cinco réplicas para el punto medio. En la **Tabla 3** se observan las variables estudiadas y sus niveles.

**Tabla 3.**

*Variables estudiadas en el diseño experimental  $2^3$  para la extracción de compuestos fenólicos de la biomasa no exportable de Alstroemeria spp. var. Nadya.*

Símbolo	Factor	Niveles			Unidades	Y
		-1	0	+1		
A	Etanol en agua*	30	50	70	% v/v	Rendimiento de extracción y actividad antioxidante (ORAC)
B	Temperatura	35	45	55	°C	
C	Tiempo	15	30	45	min	

*Nota:* \*La concentración de ácido acético se mantuvo fija al 1% v/v.

Los extractos hidroetanólicos de la biomasa no exportable de *Alstroemeria* spp. var. Nadya se obtuvieron según las condiciones descritas en la **Tabla 4**. El material vegetal seco y molido (50 g) se mezcló con una solución de EtOH:H<sub>2</sub>O (1 L, 1% de CH<sub>3</sub>COOH) y se llevó a un baño de

ultrasonido (*Elmasonic S15H*, 37 kHz; Singen, Alemania). El extracto se filtró en un embudo *Büchner* (papel filtro *BOECO Germany 388*, 12-15  $\mu\text{m}$ ), un matraz *Kitasato* y una bomba de vacío (*Vacuubrand*, Wertheim, Alemania). El residuo se extrajo una vez más con solvente nuevo y los extractos obtenidos se rotoevaporaron en el equipo *Heidolph (Hei-VAP, Advantage HL*, Chicago, EE. UU.), se secaron en un liofilizador de bandejas *VirTis AdVantage Plus (SP Scientific*, Gardiner, New York, EE. UU.) y se almacenaron (4 °C), en ausencia de luz.

**Tabla 4.**

*Matriz de experimentos para el diseño factorial 2<sup>3</sup> de la extracción con solvente de la biomasa no exportable de Alstroemeria spp. var. Nadya.*

Número	A (EtOH:H <sub>2</sub> O, % v/v)	B (Temperatura, °C)	C (Tiempo, min)
1	-1	-1	-1
2	1	-1	-1
3	-1	1	-1
4	1	1	-1
5	-1	-1	1
6	1	-1	1
7	-1	1	1
8	1	1	1
9	0	0	0
10	0	0	0
11	0	0	0
12	0	0	0
13	0	0	0

El análisis estadístico de los datos recolectados se llevó a cabo en el *software Statgraphics Centurion XVI.I* mediante un análisis de varianza (ANOVA, por sus siglas en inglés) y diagramas de Pareto. Las mejores condiciones de extracción obtenidas se aplicaron a la biomasa no exportable de *Alstroemeria spp. var. Nadya* y también a las flores frescas liofilizadas; cada experimento se realizó por triplicado. Los resultados para la capacidad antioxidante ( $\mu\text{mol Trolox}^{\text{®}}$ /g extracto) y

el rendimiento de extracción (% p/p) se expresaron como el valor promedio  $\pm$  la desviación estándar.

#### 4.3.2. Obtención de la fracción líquida de *Alstroemeria*

Las flores frescas de *Alstroemeria* spp. var. *Nadya* se prensaron en una prensa equipada con un gato hidráulico (10.000 kg, TÜV Rheinland, Mülheim an der Ruhr, Alemania) (**Figura 12**) a una presión aproximada de 400 bar. La fracción líquida se recogió en bandejas, se filtró en un embudo Büchner (papel filtro *BOECO Germany* 388, 12-15  $\mu$ m), un matraz Kitasato y una bomba de vacío (*Vacuubrand*, Wertheim, Alemania), y posteriormente se almacenó (-16 °C) en ausencia de luz.

#### Figura 12.

*Proceso de prensado del material vegetal de Alstroemeria spp. var. Nadya para la obtención de la fracción líquida mediante una prensa con gato hidráulico TÜV Rheinland.*



*Nota:* fotografías tomadas por Diego Alejandro JIMÉNEZ QUINTERO, pabellón “Sombra el Terrible” de CENIVAM, UIS, Bucaramanga, 17 de marzo de 2025.

#### 4.4. Análisis químico de extractos y fracción líquida

##### 4.4.1. Análisis por cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas

Los extractos hidroetanólicos y la fracción líquida liofilizada de *Alstroemeria* spp. var. Nadya se pesaron (1 mg) y se disolvieron en fase móvil (1 mL) metanol-agua 50:50 (0.1 % de ácido fórmico y 5 mM de formiato de amonio). Las muestras se analizaron en un cromatógrafo líquido acoplado a un espectrómetro de masas en un sistema UHPLC/ESI-Q-Orbitrap-MS. Se usó un cromatógrafo líquido de ultra-alta eficiencia *Vanquish<sup>TM</sup>* (*Thermo Scientific*, Waltham, MA, EE. UU.), equipado con una unidad termostatada (40 °C) para la columna, una unidad de desgasificación (SRD-3400), una bomba binaria de gradiente y un automuestreador (10 °C). La separación se realizó en una columna *Zorbax Eclipse XDB C<sub>18</sub>*, 50 mm L x 2.1 mm D.I., con tamaño de partícula de 1.8 µm (*Sigma-Aldrich*, St. Louis, MO, EE. UU.). El volumen de inyección fue de 2 µL y el caudal de la fase móvil fue de 300 µL/min, compuesta por: (A) agua (0.1 % ácido fórmico + 5 mM formiato de amonio) y (B) metanol (0.1 % ácido fórmico + 5 mM formiato de amonio). El gradiente de fase móvil inició con 100 % de A, el cual cambió linealmente a 100 % de B en 8 min y permaneció así por 5 min, luego volvió a 100 % de A en 1 min y se mantuvo por 4 min. El cromatógrafo líquido se acopló a un espectrómetro de masas (**Figura 13**) *Q-Exactive Plus Orbitrap* (*Thermo Scientific*, Bremen, Alemania) con una fuente de ionización por electronebulización con calentamiento (HESI-II). El voltaje del capilar fue de 3.5 kV a una temperatura de 320 °C, la temperatura del nebulizador fue de 350 °C y el gas de secado y el gas auxiliar (N<sub>2</sub>) se ajustaron a 40 y 140 unidades arbitrarias, respectivamente. El nitrógeno (pureza > 99 %) se obtuvo de un generador (NM32LA, *Peak Scientific*, Escocia, Reino Unido). Los iones inyectados a la celda HCD (*Higher-Energy Collision Dissociation Cell*), luego de ser almacenados

en la *C-trap*, se fragmentaron con energías normalizadas por pasos de 10 a 70 eV y el espectrómetro de masas cubrió el rango de  $m/z$  80-1000 durante el escaneo.

**Figura 13.**

Cromatógrafo líquido de ultra-alta eficiencia *Vanquish™* acoplado a un espectrómetro de masas de alta resolución *Q-Exactive*.



*Nota:* fotografía tomada por Diego Alejandro JIMÉNEZ QUINTERO, Laboratorio Alexander MAKÀROV de CROM-MASS, UIS, Bucaramanga, 10 de mayo de 2025.

Los datos fueron adquiridos en los modos de ionización de iones positivos y negativos, y se analizaron con el *software Thermo Scientific™ Dionex™ Chromeleon™ Chromatography Data System (CDS)*, versión 7.2, y el *software Thermo Xcalibur 3.1 (Thermo Scientific, San José, CA, EE. UU.)*. La identificación de los compuestos se llevó a cabo comparando sus tiempos de retención ( $t_R$ ), espectros de masas, relaciones isotópicas y fórmulas moleculares exactas con los de las sustancias-patrón disponibles y con los de las bases de datos. Los espectros de masas se analizaron en modo de adquisición de iones seleccionados (SIM), se adquirieron en los modos de

ionización de iones positivos o negativos. La cuantificación de los compuestos fenólicos se realizó por el método de estándar interno y se expresaron como relación  $A_i/A_{istd}$ , usando la sustancia de referencia galangina (95 %).

#### 4.4.2. Análisis por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas

Los extractos hidroetanólicos y la fracción líquida liofilizada de *Alstroemeria* spp. var. Nadya se pesaron (30 mg) y se disolvieron en una solución de *n*-tetradecano (1 mL, 100 ppm en metanol). La muestra (2  $\mu$ L) se inyectó a un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas (GC/MS). El análisis de la fracción volátil de los extractos se realizó en un cromatógrafo GC 6890 Plus (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, EE. UU.), equipado con un detector selectivo de masas MSD 5973 Network (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, EE. UU.) mediante ionización por impacto con electrones (EI, 70 eV) (**Figura 14**). El modo de inyección usado fue *split* (30:1) y la temperatura del inyector se ajustó a 250 °C. La temperatura del horno cromatográfico se programó desde 50 °C (5 min) hasta 150 °C (2 min), a una velocidad de 5 °C/min y luego, hasta 230 °C (10 min), a una velocidad de 5 °C/min. Para la columna DB-5MS, se añadió una rampa de temperatura hasta 275 °C (15 min), a una velocidad de 10 °C/min.

**Figura 14.**

*Cromatógrafo de gases AT 6890 Plus, equipado con un detector selectivo de masas MS 5973 Network.*



*Nota:* fotografía tomada por Diego Alejandro JIMÉNEZ QUINTERO, Laboratorio de Instrumentación Analítica CROM-MASS, UIS, Bucaramanga, 10 de mayo de 2025.

La cámara de ionización y el cuadrupolo estuvieron a una temperatura de 230 y 150 °C, respectivamente. El rango de masas usado fue de  $m/z$  45-450, con una velocidad de adquisición de 3.58 *scan/s*. Los datos recolectados se analizaron en el *software MSDChemStation G1701DA* (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, EE. UU.). La columna cromatográfica usada fue apolar, DB-5MS (J&W Scientific, Folsom, CA, EE. UU.) con fase estacionaria de 5%-fenil-poli(metilsiloxano) de 60 m x 0.25 mm, D.I. x 0.25  $\mu\text{m}$ ,  $d_f$ . Como criterios de identificación se emplearon los índices de retención lineales (IRL) calculados partir de una mezcla de hidrocarburos (**Ecuación 1**), C<sub>6</sub>-C<sub>25</sub>. Los espectros de masas obtenidos se compararon con los de bases de datos (Adams, 2007; Wiley, 2008; NIST, 2017) y con los de sustancias de referencia disponibles.

$$\text{IRL} = 100n + 100 \left[ \frac{t_{R(x)} - t_{R(n)}}{t_{R(N)} - t_{R(n)}} \right] \quad \text{Ecuación 1}$$

Donde:

- IRL = Índice de retención lineal del compuesto de interés;
- n y N = Números de átomos de carbono del *n*-alcano que eluye antes (n) y después (N) del compuesto de interés.
- $t_{R(x)}$  = Tiempo de retención del compuesto de interés (x).
- $t_{R(n)}$  y  $t_{R(N)}$  = Tiempos de retención del *n*-alcano que eluye antes (n) y después (N) del compuesto de interés.

#### 4.4.3. Análisis por cromatografía de gases acoplada a detector de ionización en llama

La cuantificación de los metabolitos presentes en los extractos hidroetanólicos y la fracción líquida liofilizada de *Alstroemeria* spp. var. Nadya se realizó en un cromatógrafo de gases AT 6890N (AT, Palo Alto, CA, EE. UU.), acoplado a un detector de ionización en llama (GC/FID), con una columna apolar DB-5MS (*J&W Scientific*, Folsom, CA, EE. UU.), con fase estacionaria de 5%-fenil-poli(metilsiloxano), de 60 m x 0.25 mm, D.I. x 0.25  $\mu\text{m}$ ,  $d_f$ , idéntica a la descrita en el análisis por GC/MS, así como otras variables y parámetros de gas de arrastre, su flujo y la programación de temperatura del horno cromatográfico (**Figura 15**). Las muestras se inyectaron en la misma cantidad que el análisis por GC/MS. La cuantificación se realizó usando el método del estándar interno.

**Figura 15.**

*Cromatógrafo de gases AT 6890N, acoplado a un detector de ionización en llama (FID).*



*Nota:* fotografía tomada por Diego Alejandro JIMÉNEZ QUINTERO, Laboratorio de Instrumentación Analítica CROM-MASS, UIS, Bucaramanga, 10 de mayo de 2025.

**4.5. Determinación de la capacidad antioxidante****4.5.1. Ensayo de decoloración del catión-radical ABTS<sup>•+</sup>**

Los ensayos de decoloración del catión-radical ABTS<sup>•+</sup> de los extractos hidroetanólicos de *Alstroemeria* spp. var. Nadya y la fracción líquida obtenida por prensado se determinaron, según el procedimiento descrito por Re *et al.* (Re *et al.*, 1999) con algunas modificaciones. El ABTS (7 mM) y el persulfato de potasio (PDS, 2.45 mM) se mezclaron por sonicación (30 min) y se almacenaron a 4 °C durante 24 h, en ausencia de luz, para obtener una solución del catión-radical ABTS<sup>•+</sup> estable. Luego, se tomó el ABTS<sup>•+</sup> para diluirlo en *buffer* acetato de sodio (pH 4.5) hasta alcanzar una absorbancia de  $0.70 \pm 0.20$  a  $\lambda=750$  nm, finalmente esta solución se almacenó a 4 °C por 30 min antes de ser usada. Las mediciones se realizaron en un espectrofotómetro (**Figura 16**)

*Varioskan LUX VL0000D0* (Thermo Scientific, República de Singapur, Asia), con microplacas de poli(estireno) de 96 pozos, a una longitud de onda de  $\lambda=750$  nm y una temperatura de 25 °C.

**Figura 16.**

*Espectrofotómetro Varioskan LUX VL0000D0 con microplacas transparentes.*



*Nota:* fotografía tomada por Diego Alejandro JIMÉNEZ QUINTERO, complejo CENIVAM, UIS, Bucaramanga, 19 de junio de 2025.

Los extractos hidroetanólicos y la fracción líquida liofilizada de *Alstroemeria* spp. var. Nadya se pesaron (50 mg), se disolvieron en metanol (1 mL) y se diluyeron en *buffer* acetato (20 mM, pH 4.5). Los extractos y la fracción líquida diluidos (10  $\mu$ L) se depositaron en cada pozo de la placa junto con la solución de ABTS<sup>++</sup> (190  $\mu$ L), se agitó durante 2 min y se midió la absorbancia durante 60 min. La capacidad antioxidante se determinó a partir de una curva de calibración con Trolox<sup>®</sup> (50-560  $\mu$ M). Para cada concentración de la curva se calculó el porcentaje de inhibición utilizando la **Ecuación 2**. Las mediciones se realizaron por triplicado y los resultados se expresaron como valor promedio  $\pm$  desviación estándar de  $\mu$ mol Trolox<sup>®</sup>/g de extracto.

$$\text{Inhibición, \%} = \left( \frac{A_{\text{blanco}} - A_{\text{muestra}}}{A_{\text{blanco}}} \right) \times 100 \quad \text{Ecuación 2}$$

Donde:

$A_{\text{blanco}}$  = Absorbancia del blanco (mezcla de 190  $\mu\text{L}$  de solución de catión-radical ABTS<sup>+</sup> y 10  $\mu\text{L}$  de *buffer* acetato);

$A_{\text{muestra}}$  = Absorbancia de la muestra.

#### 4.5.2. Evaluación de la capacidad de absorción de radicales de oxígeno

La capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC) se determinó, según la metodología desarrollada por Porras *et al.* (Porras *et al.*, 2023) Se empleó un espectrofotómetro *Varioskan LUX VL0000D0* (*Thermo Scientific*, Singapur, Asia), equipado con microplacas negras de poli(estireno) de 96 pozos con capacidad de 200  $\mu\text{L}$ , utilizando el módulo de fluorescencia (**Figura 17**). Los extractos hidroetanólicos y la fracción líquida liofilizada de *Alstroemeria* spp. var. *Nadya* se pesaron (10 mg) y se disolvieron en 1 mL de metanol grado HPLC y luego se diluyeron en un *buffer* de fosfato (75 mM, pH 7.4). En cada pozo de la placa se añadieron 25  $\mu\text{L}$  del extracto diluido y 150  $\mu\text{L}$  de una solución de fluoresceína (0.0838 mM en *buffer* de fosfato). La mezcla se incubó a 37 °C durante 20 min, después de lo cual se agregaron 25  $\mu\text{L}$  de una solución de 2,2'-azinobis-(2-amidino-propano) diclorhidrato (AAPH) (78 mM en *buffer* de fosfato). La fluorescencia se midió a 37 °C durante 90 min, utilizando longitudes de onda de excitación de  $\lambda=490$  nm y emisión de  $\lambda=510$  nm. La capacidad antioxidante se calculó a partir de la diferencia en el área bajo la curva (ABC) de fluorescencia entre cada muestra y el blanco (25  $\mu\text{L}$  de *buffer* de fosfato), y se determinó mediante una curva de calibración con Trolox<sup>®</sup> (8-160  $\mu\text{M}$ ). Las mediciones se realizaron por triplicado y los resultados se expresaron como el valor promedio  $\pm$  desviación estándar de  $\mu\text{mol Trolox}^{\text{®}}/\text{g}$  de extracto.

**Figura 17.**

*Espectrofotómetro Varioskan LUX VL0000D0 con microplacas negras.*



*Nota:* fotografía tomada por Diego Alejandro JIMÉNEZ QUINTERO, complejo CENIVAM, UIS, Bucaramanga, 19 de junio de 2025.

**4.6. Determinación de la actividad antifúngica**

La actividad antifúngica *in vitro* de los extractos hidroetanólicos y la fracción líquida liofilizada de *Alstroemeria* spp. var. Nadya se realizó según la metodología descrita por Passão *et al.* (2023), Hendricks *et al.* (2017) y la asesoría de la profesora Dra. Mónica FAJARDO LÓPEZ, de la Escuela de Microbiología, UIS. Los hongos patógenos *Fusarium oxysporum* y *Botrytis cinerea* fueron proporcionados por el cepario del Laboratorio de Micología, adscrito a la Escuela de Microbiología, Facultad de Salud, de la Universidad Industrial de Santander. Las cepas se reactivaron en medio de cultivo PDA y se llevaron a incubación a 25 °C ( $\pm 2$  °C) para su posterior uso en los ensayos de actividad antifúngica.

Los extractos hidroetanólicos y la fracción líquida liofilizada se disolvieron en agua destilada estéril y se filtraron con un equipo de filtración al vacío con filtro de membrana de 0.45  $\mu$ m. Antes de la solidificación, las soluciones de extracto y fracción líquida se mezclaron con el

medio de cultivo PDA, obteniendo concentraciones finales de 500, 1000, 1500, 3000, 4000 y 5000 mg/L, y se vertieron inmediatamente en cajas de Petri. El medio PDA solo se usó como blanco, y como controles positivos se usaron fungicidas sintéticos comerciales para el manejo de hongos patógenos en cultivos florícolas de la empresa C.I. Flores Funza S.A; Format<sup>®</sup> 70WP para *B. cinerea* y Basamid<sup>®</sup> para *F. oxysporum*, los cuales se usaron a las concentraciones recomendadas en las fichas técnicas para su aplicación en cultivos, 1.5 g/L y 65 g/m<sup>2</sup>, respectivamente. Los fungicidas se disolvieron en el medio de cultivo PDA antes de su solidificación y se vertieron inmediatamente en cajas de Petri. Tras la solidificación de los medios de cultivo, se colocó en el centro de las placas de PDA con y sin extractos y fracción líquida, un disco micelial de 6 mm de diámetro, tomado del margen de crecimiento activo de un cultivo puro de hongo de 8 días de edad. Los cultivos se incubaron a 25 °C ( $\pm 2$  °C), hasta que el micelio alcanzó el borde de la caja de Petri o detuvo su crecimiento. En la base de las placas Petri se trazaron dos líneas perpendiculares que intersecaban el centro del inóculo, y se midieron los dos diámetros cada día (con mediciones separadas de 24 h) con un calibrador pie de rey digital (0-150 mm, Brooklyn, *Builder Commerce* Colombia S.A.S) para calcular el diámetro de crecimiento micelial promedio. Se realizaron tres réplicas por aislamiento, concentración de fungicidas y extractos, y el experimento completo se repitió dos veces.

Las curvas de crecimiento micelial se construyeron a partir del diámetro promedio, registrado diariamente para cada uno de los tratamientos y controles. El porcentaje de inhibición del crecimiento fúngico se calculó usando los diámetros promedio del control de PDA solo ( $D_C$ ) y los tratamientos ( $D_T$ ) realizados con los extractos hidroetanólicos y fracción líquida de *Alstroemeria* spp. var. Nadya mediante la **Ecuación 3**.

$$\text{Inhibición del crecimiento fúngico (\%)} = \frac{(D_C - D_T)}{D_C} \times 100\% \quad \text{Ecuación 3}$$

Los resultados se presentan como promedio  $\pm$  desviación estándar. Los datos se analizaron mediante el análisis de varianza (ANOVA), seguido de una prueba *post hoc* de Tukey para comparaciones múltiples en el software *Statgraphics Centurion XVI.I*. Se consideró estadísticamente significativo un valor  $p < 0.05$ .

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1. Evaluación de los parámetros de extracción

Las mejores condiciones para la extracción de compuestos fenólicos se determinaron mediante un diseño factorial 2<sup>3</sup>. Se utilizó la biomasa no exportable de *Alstroemeria* spp. var. Nadya debido a su alta disponibilidad. Las variables evaluadas fueron la temperatura, el tiempo y la relación EtOH:H<sub>2</sub>O. Para establecer la significancia de estas variables sobre el rendimiento de extracción y la actividad antioxidante (ORAC) del extracto obtenido, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y se identificaron los efectos principales mediante la prueba de *Fisher* a un nivel de confianza del 95 % (**Tabla 5**).

**Tabla 5.**

*Resultados del análisis de varianza aplicado al diseño factorial 2<sup>3</sup>, con los efectos de las variables de extracción estudiadas y sus interacciones sobre el rendimiento de extracción y la actividad antioxidante del extracto hidroetanólico de la biomasa de Alstroemeria spp. var. Nadya.*

Variable	Rendimiento de extracción		Actividad antioxidante		Respuesta combinada	
	Valor <i>F</i>	Valor <i>p</i>	Valor <i>F</i>	Valor <i>p</i>	Valor <i>F</i>	Valor <i>p</i>
A: EtOH:H <sub>2</sub> O	149.85	0.000	187.39	0.000	7.91	0.011
B: Temperatura	2.33	0.143	49.46	0.000	106.33	0.000
C: Tiempo	3.59	0.073	20.28	0.0002	5.21	0.034
AB	1.37	0.255	4.89	0.039	18.34	0.0004
AC	2.67	0.118	6.85	0.017	29.53	0.000
BC	0.82	0.377	25.96	0.0001	19.75	0.0002

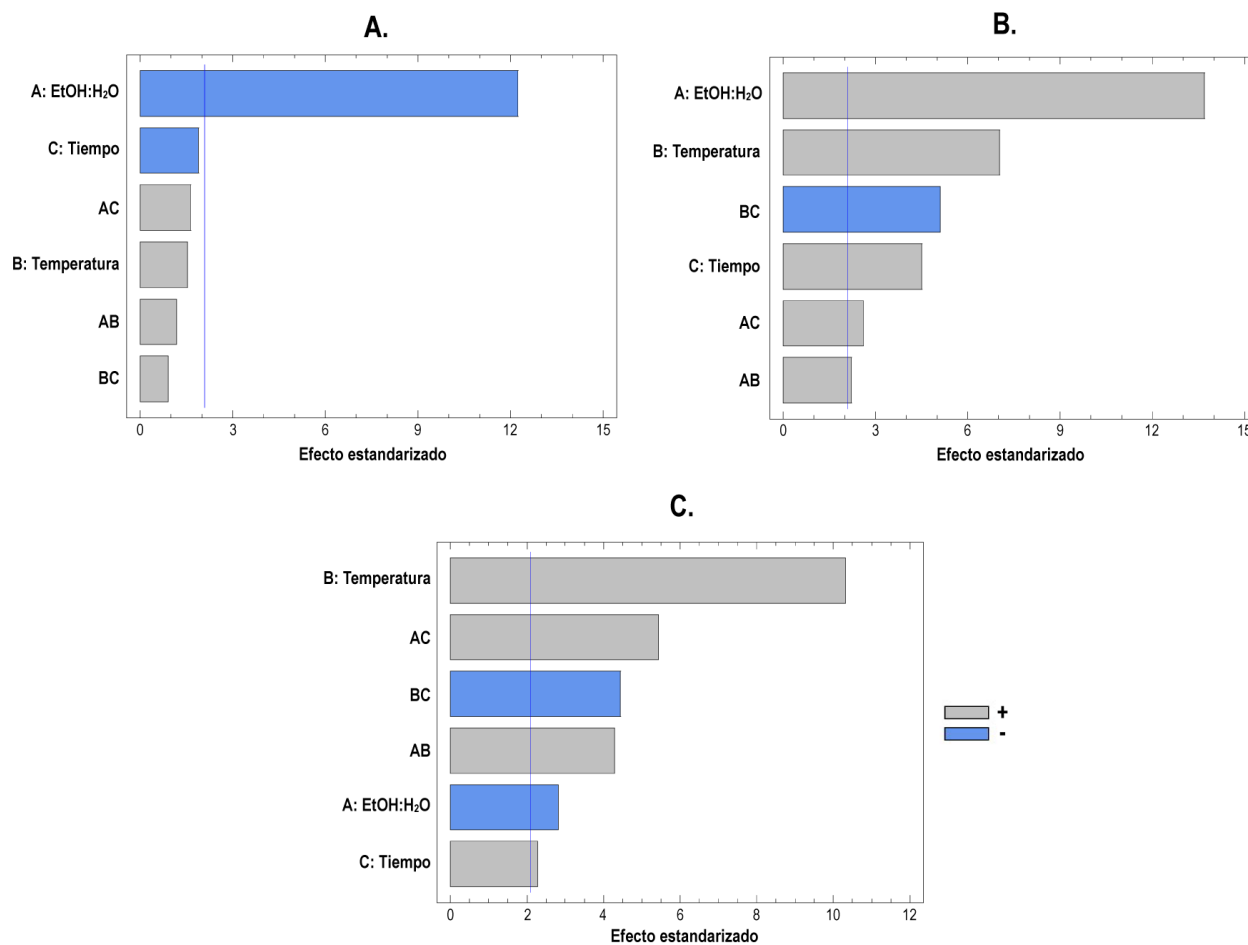
Valor *p* < 0.05 indica que es significativamente diferente de cero, con un nivel de confianza del 95 %.

Los resultados del análisis estadístico, mostraron que la relación EtOH:H<sub>2</sub>O fue la única variable con efecto significativo sobre el rendimiento de extracción de la biomasa no exportable de *Alstroemeria* spp. var. Nadya (**Figura 18A**). En el caso de la actividad antioxidante, todas las

variables independientes tuvieron efecto, destacando entre ellas la relación EtOH:H<sub>2</sub>O (**Figura 18B**), del mismo modo ocurrió sobre la respuesta combinada rendimiento de extracción-actividad antioxidante, siendo la temperatura la variable con efecto más alto (**Figura 18C**).

**Figura 18.**

*Diagramas de Pareto estandarizados para: A. Rendimiento de extracción; B. Actividad antioxidante; C. Respuesta combinada.*

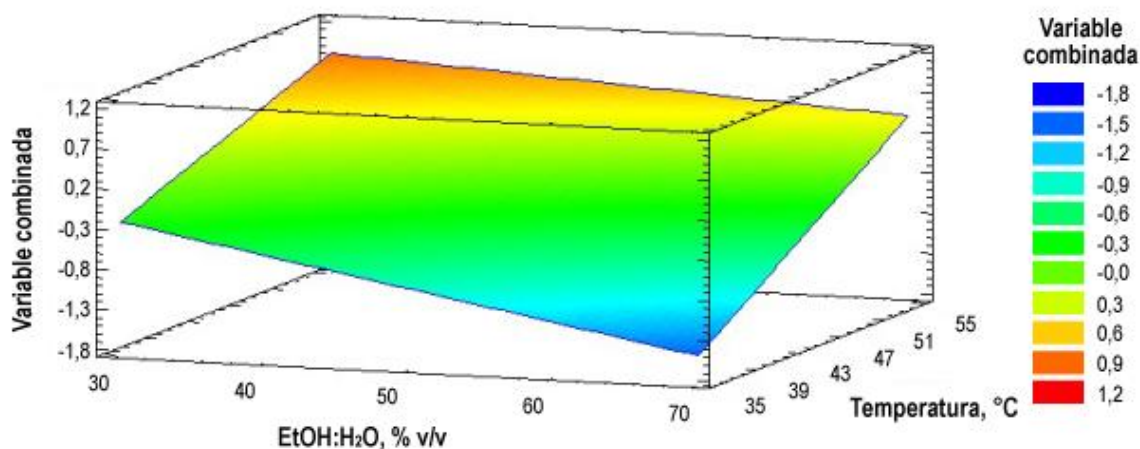


En la **Figura 19**, se muestra el efecto de los niveles de las variables temperatura de extracción y relación EtOH:H<sub>2</sub>O sobre la respuesta combinada rendimiento de extracción-

actividad antioxidante, del extracto biomasa no exportable de *Alstroemeria* spp. var. Nadya, cuando la variable tiempo de extracción es constante (15 min, nivel -1). En el gráfico de superficie se muestra que los extractos con valores más altos de capacidad antioxidante y rendimiento de extracción se obtienen en el nivel alto de temperatura y el nivel bajo de la relación EtOH:H<sub>2</sub>O, para un tiempo de extracción de 15 min.

**Figura 19.**

Gráfico de superficie de respuesta a tiempo de extracción constante, 15 min (nivel -1).



Las mejores condiciones de extracción para obtener extractos con mayor rendimiento y actividad antioxidante fueron: temperatura de 55 °C, tiempo de extracción de 15 min y proporción EtOH:H<sub>2</sub>O de 30:70 (% v/v). Estas condiciones, determinadas a partir del diseño experimental, se aplicaron a flores frescas liofilizadas de *Alstroemeria* spp. var. Nadya. Los resultados obtenidos se presentan en la **Tabla 6**. El extracto obtenido a partir de las flores liofilizadas de *Alstroemeria* spp. var. Nadya presentó el mayor rendimiento de extracción. Los estudios previos sobre flores del género *Alstroemeria* reportados en la literatura no registran valores de rendimiento de extracción.

**Tabla 6.**


*Mejores condiciones de extracción encontradas para Alstroemeria spp. var. Nadya.*

Extracto	Variables de extracción			Respuesta combinada	
	Temperatura, °C	EtOH:H <sub>2</sub> O, % v/v	Tiempo, min	Rendimiento, % ± s (n=3)	µmol Trolox <sup>®</sup> /g extracto ± s (n=3)
Biomasa no exportable	55	30:70	15	9.50 ± 0.74	1701 ± 77
Flores frescas liofilizadas	55	30:70	15	49.58 ± 0.34	1709 ± 83

En la **Tabla 7** se registran las condiciones experimentales para la obtención de la fracción líquida de *Alstroemeria* spp. var. Nadya mediante prensado manual. La fracción líquida obtenida fue un líquido turbio color marrón oscuro, como se observa en la imagen de la **Tabla 7**, el cual se filtró y se liofilizó, obteniendo un polvo seco del mismo color.

**Tabla 7.**

*Condiciones experimentales para la obtención de la fracción líquida por prensado de Alstroemeria spp. var. Nadya.*

	Parámetros	Especificaciones
	Presión	~ 400 mbar
	Material vegetal	598 ± 1.98 g
	Densidad de material vegetal	0.166 ± 0.004 g/cm <sup>3</sup>
	Rendimiento <sup>a</sup>	22.7 ± 1.43 %
	Fracción líquida liofilizada <sup>b</sup>	5.52 ± 0.13 g

<sup>a</sup> Expresado como mL de fracción líquida/g de material vegetal (n=10).

<sup>b</sup> Expresado como la cantidad de fracción seca obtenida por cada 100 mL de fracción líquida.

## 5.2. Caracterización química de extractos y fracción líquida de *Alstroemeria* spp. var. Nadya

### 5.2.1. Análisis por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas

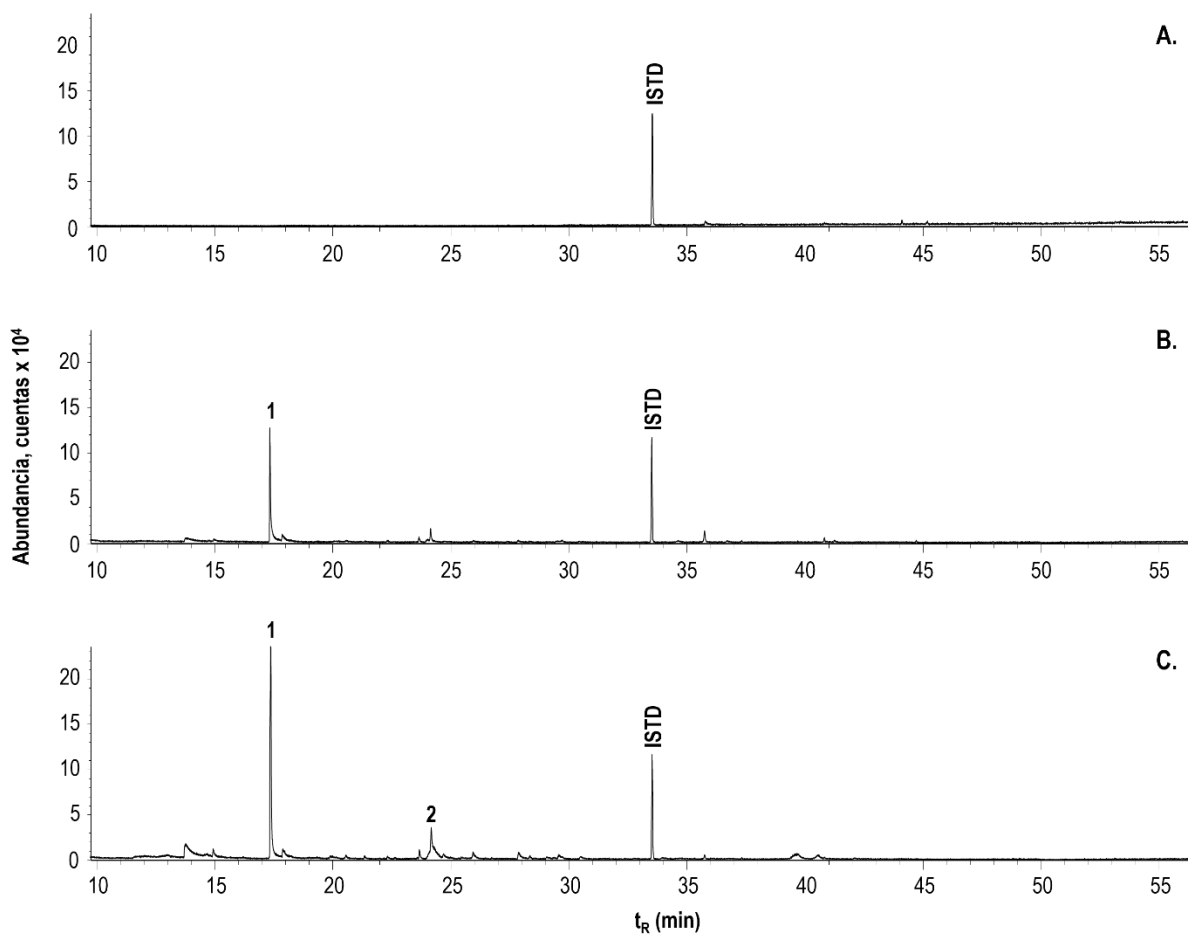
Los metabolitos secundarios volátiles presentes en los extractos hidroetanólicos y la fracción líquida liofilizada de *Alstroemeria* spp. var. Nadya, se analizaron por GC/MS, utilizando los siguientes parámetros de integración de los picos cromatográficos. El área de rechazo del pico cromatográfico fue igual a 0.1 y el umbral de integración, *threshold*, 16.5. Los perfiles cromatográficos, obtenidos por GC/MS en columna apolar (DB-5MS) de los extractos y la fracción líquida se muestran en la **Figura 20**. Se realizó una comparación de los espectros de masas y los índices de retención lineales (IRL) experimentales calculados para la columna con fase estacionaria apolar, con los reportados en la literatura (Babushock *et al.* (Babushok, 2011)), bases de datos (Adams (R. Adams, 2007), NIST (Standard reference data program of the National Institute of Standards and Technology., 2017) y Wiley) y con las sustancias de referencia disponibles en el laboratorio. La cuantificación de los componentes en los extractos hidroetanólicos y fracción líquida de *Alstroemeria* spp. var. Nadya se realizó mediante la relación de área del compuesto ( $A_i$ ) y la del patrón interno ( $A_i/A_{istd}$ ) de los picos cromatográficos obtenidos por GC/FID en una columna con fase estacionaria apolar.

En la **Tabla 8** se presentan los compuestos detectados en los extractos y en la fracción líquida de *Alstroemeria* spp. var. Nadya. En total, únicamente se identificaron dos compuestos con áreas de picos GC relativas superiores al 0.1 %. Estos resultados evidencian la baja concentración de compuestos volátiles presentes tanto en los extractos como en la fracción líquida. El compuesto mayoritario fue la tulipalina-A, el cual no se detectó en el extracto de la biomasa; sin embargo, su cantidad relativa aumentó progresivamente en el extracto de flores frescas ( $1.71 \pm 0.02$  %) y en la fracción líquida ( $3.97 \pm 0.02$  %), respectivamente. En el caso de las flores frescas y de la fracción

líquida, el prensado del material vegetal induce una mayor hidrólisis enzimática del alérgeno tulipósido-A para formar tulipalina-A; por lo tanto, esta última se encuentra en mayor concentración en la fracción líquida liofilizada. En la **Figura 21** se observa el espectro de masas de la tulipalina-A.

### Figura 20.

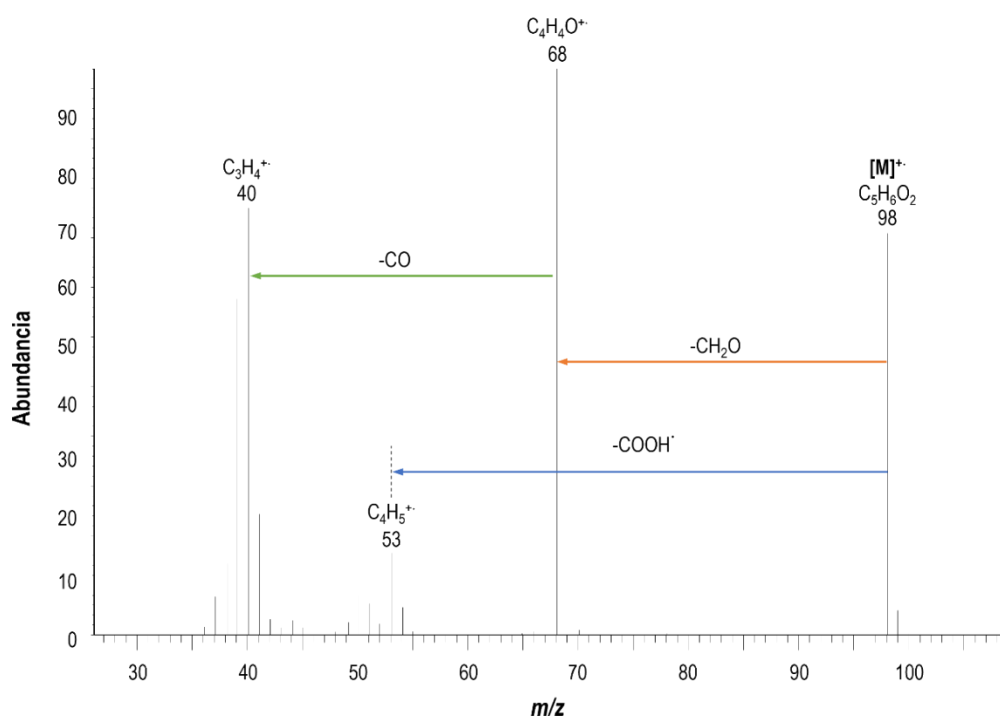
*Perfiles cromatográficos obtenidos por GC/MS de los extractos hidroetanólicos de Alstroemeria spp. var. Nadya: A. Biomasa no exportable; B. Flores frescas liofilizadas; C. Fracción líquida liofilizada.*



*Nota:* columna DB-5MS (60 m). *Split* 1:30. MSD (EI, 70 eV). Véase la identificación de cada pico cromatográfico en la **Tabla 8**.

**Figura 21.**

Espectro de masas obtenido por GC/MS de la  $\alpha$ -metileno- $\gamma$ -butirolactona (tulipalina-A)  $C_5H_6O_2$ , en el extracto de flores frescas y fracción líquida liofilizada de *Alstroemeria* spp. var. *Nadya* (EI, 70 eV).  $[M]^+$  m/z 98;  $[M-CH_2O]^+$  m/z 68;  $[M-COOH]^+$  m/z 53 y  $[M-CH_2O-CO]^+$  m/z 40.



Nota: véase pico cromatográfico N° 1 en la **Tabla 8**.

En el estudio realizado por Christensen (1999) se recolectó mediante *headspace* dinámico el alérgeno tulipalina-A liberado a partir de flores cortadas de dos híbridos de *Alstroemeria*. El compuesto se identificó y cuantificó mediante GC y GC/MS, y las emisiones aéreas se relacionaron con el contenido de alérgenos totales (tulipalina A y tulipósidos) presentes en los tejidos vegetales. La tulipalina-A se liberó principalmente de las zonas dañadas o cortadas. Las concentraciones de tulipalina-A en los tallos de los híbridos de *Alstroemeria* analizados fueron del 0.06 % y 0.13 % del peso fresco, respectivamente, y las cantidades liberadas directamente por las flores cortadas fueron de 0.4 y 2.2  $\mu\text{g}$  (flor cortada)<sup>-1</sup>h<sup>-1</sup>, respectivamente. El contenido total de los alérgenos a

partir de peso fresco se determinó mediante el análisis por HPLC de extractos acuosos del material vegetal, lo que implica que la variedad de *Alstroemeria* con concentraciones más altas de alérgenos emitirá mayores cantidades de tulipalina-A al aire. Finalmente, el autor concluyó que la tulipalina-A se libera directamente de las plantas y que su cantidad puede variar según la estación, condiciones de cultivo y genotipo de la planta.

**Tabla 8.**

Composiciones químicas obtenidas por GC/MS de los extractos hidroetanólicos y fracción líquida liofilizada de *Alstroemeria* spp. var. Nadya.

N° Fig. 20	Compuesto	Índices de retención lineales (DB-5MS)		Cantidad relativa, % $\bar{x} \pm s$ , ( $n = 3$ )		
		Exp.	Lit.	Biomasa	Flor fresca	Fracción Líquida
1	$\alpha$ -Metileno- $\gamma$ -butirolactona (tulipalina-A) <sup>a, b</sup>	979	892 <sup>f</sup>	-	1.71 $\pm$ 0.02	3.97 $\pm$ 0.02
2	3,5-Dihidroxi-6-metil-2,3- dihidro-4H-piran-4-ona <sup>a, b</sup>	1145	1151 <sup>f</sup>	-	-	0.145 $\pm$ 0.001

<sup>a</sup> Identificación tentativa basada en los espectros de masas (EI, 70 eV, grado de coincidencia > 90 %).

<sup>b</sup> Identificación tentativa basada en los índices de retención lineales medidos en la columna DB-5MS.

<sup>c</sup> Identificación confirmatoria basada en sustancias de referencia (STD).

<sup>d</sup> Adams (2007) (R. Adams, 2007).

<sup>e</sup> Babushok *et al.* (2011) (Babushok, 2011).

<sup>f</sup> NIST (2017) (Standard reference data program of the National Institute of Standards and Technology., 2017).

Adicionalmente, en la fracción líquida liofilizada de *Alstroemeria* spp. var. Nadya se identificó tentativamente la 3,5-dihidroxi-6-metil-2,3-dihidro-4H-piran-4-ona (DDMP), compuesto que ha sido reportado como un producto volátil derivado de la degradación de azúcares mediante la reacción de Maillard. La DDMP se asocia con un olor amargo intenso y con una posible toxicidad en alimentos sometidos a procesos de horneado, como los de panadería y pastelería. Se ha determinado que su formación está relacionada con el calentamiento de hexosas

(*e.g.*, glucosa, fructosa y galactosa) (Qiao *et al.*, 2022). Es probable que su detección en este estudio se deba a la descomposición de compuestos glucosilados en el puerto de inyección del equipo de GC, cuya temperatura (entre 200 y 300 °C) es suficiente para inducir la degradación térmica de los azúcares.

### 5.2.2. Análisis por cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas

Los estudios encontrados Saito *et al.*, 1985, 1988; Tatsuzawa & Shinoda, 2005; Tatsuzawa *et al.*, 2001, 2003 y Nørbaek *et al.*, 1996; sobre la composición química de extractos de *Alstroemeria* spp. reportan únicamente la presencia de antocianinas (véase **Tabla 1**). En todos los estudios, los extractos fueron obtenidos a partir de pétalos frescos de flores comerciales de color rojo, naranja, amarillo, rojo-púrpura, rojo-amarillo, rosado y púrpura de *Alstroemeria* y sus híbridos.

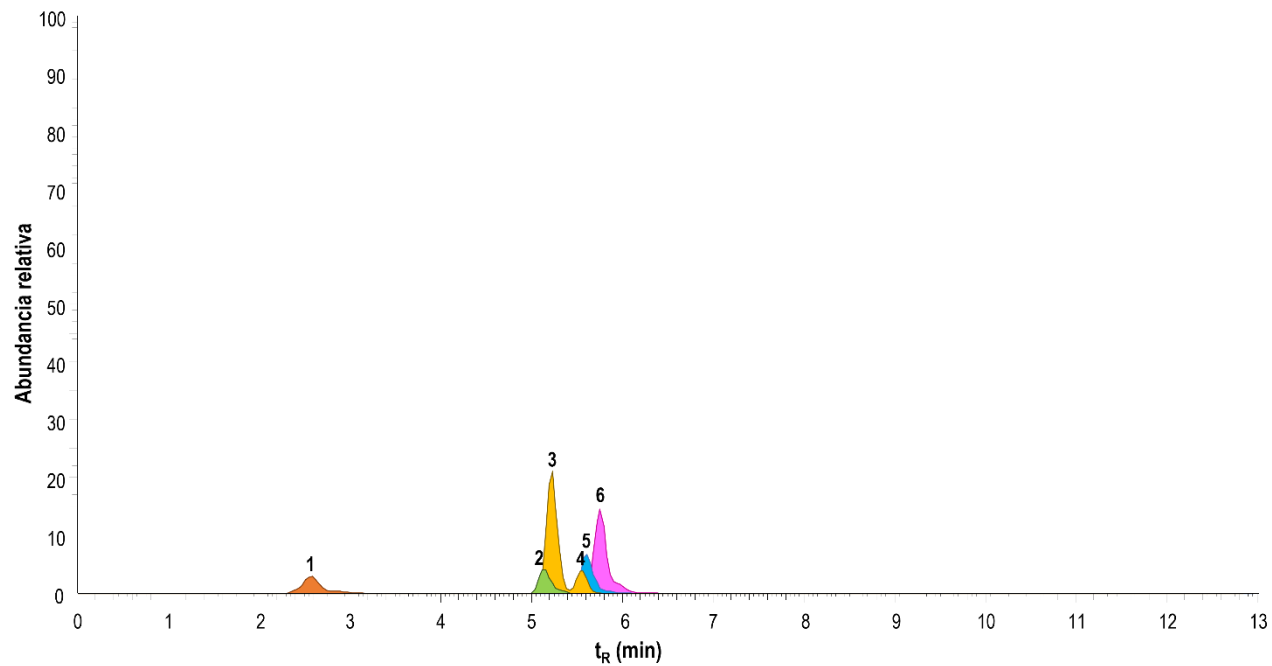
El análisis por cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (UHPLC/ESI-Q-Orbitrap-MS) de los metabolitos secundarios presentes en los extractos hidroetanólicos de *Alstroemeria* spp. var. Nadya, se llevó a cabo en el modo de adquisición dual de iones positivos y negativos. En la corriente iónica total, los compuestos se detectaron usando las masas exactas de iones  $[M]^+$ , moléculas protonadas  $[M+H]^+$  o deprotonadas  $[M-H]^-$ , medidas con un error de masa  $\Delta$  ppm < 5. Para el estudio del patrón de fragmentación, se usaron diferentes energías de colisión (10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 eV) en la cámara de colisiones activadas (HCD, por sus siglas en inglés); se seleccionó la energía que permitiera observar iones-producto junto con la señal  $[M]^+$ ,  $[M+H]^+$  o  $[M-H]^-$ .

En las **Tablas 9, 10 y 11**, se muestran los compuestos detectados en los extractos de la biomasa no exportable, flores frescas liofilizadas y la fracción líquida liofilizada obtenida por prensado de *Alstroemeria* spp. var. Nadya, respectivamente. En el extracto de la biomasa no exportable (**Tabla 9**), se identificaron seis compuestos, tres de ellos, de manera confirmatoria, usando sustanciaspatrón y comparando sus espectros de masas y tiempos de retención (kaempferol-3-O-galactósido y kaempferol-3-O-arabinósido); mientras que, en el extracto de flores frescas liofilizadas (**Tabla 10**), se identificaron 15 compuestos, y para la fracción líquida liofilizada (**Tabla 11**), nueve compuestos. La identificación tentativa de los compuestos se realizó mediante la comparación con los espectros reportados en la literatura y en bases de datos espectrales, estudiando el patrón de fragmentación, masas exactas y relación isotópica de moléculas protonadas o deprotonadas.

Los metabolitos secundarios identificados se clasificaron según sus características estructurales como antocianinas y flavonoles, y adicionalmente, como alérgenos o sus derivados. Las **Figuras 22, 23 y 24**, muestran las corrientes iónicas extraídas (EIC) adquiridas por UHPLC/ESI-Q-Orbitrap-HRMS, en modo *full scan*, de los compuestos detectados.

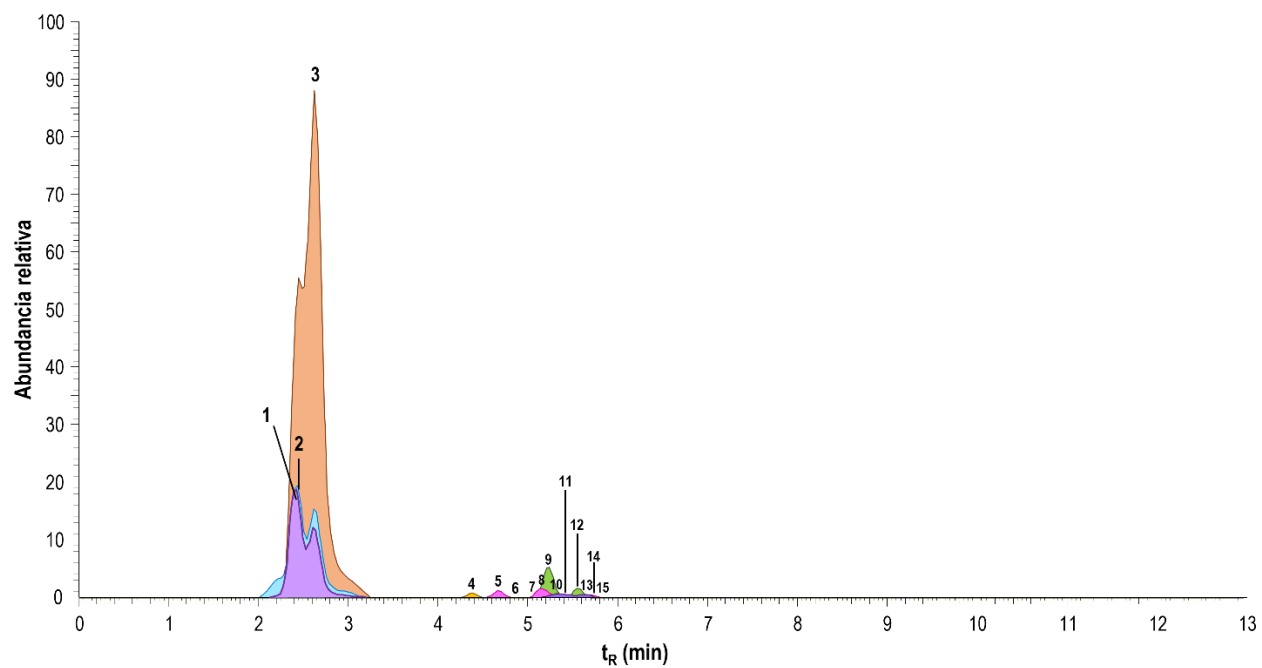
**Figura 22.**

Corriente iónica extraída (EIC) de iones  $[M]^+$  o moléculas protonadas  $[M+H]^+$  obtenidas por UHPLC/ESI-Q-Orbitrap-HRMS en modo full scan presentes en el extracto hidroetanólico de la biomasa no exportable de *Alstroemeria* spp. var. *Nadya*. Escala:  $1.25 \times 10^7$ . La identificación de picos aparece en la **Tabla 9**.



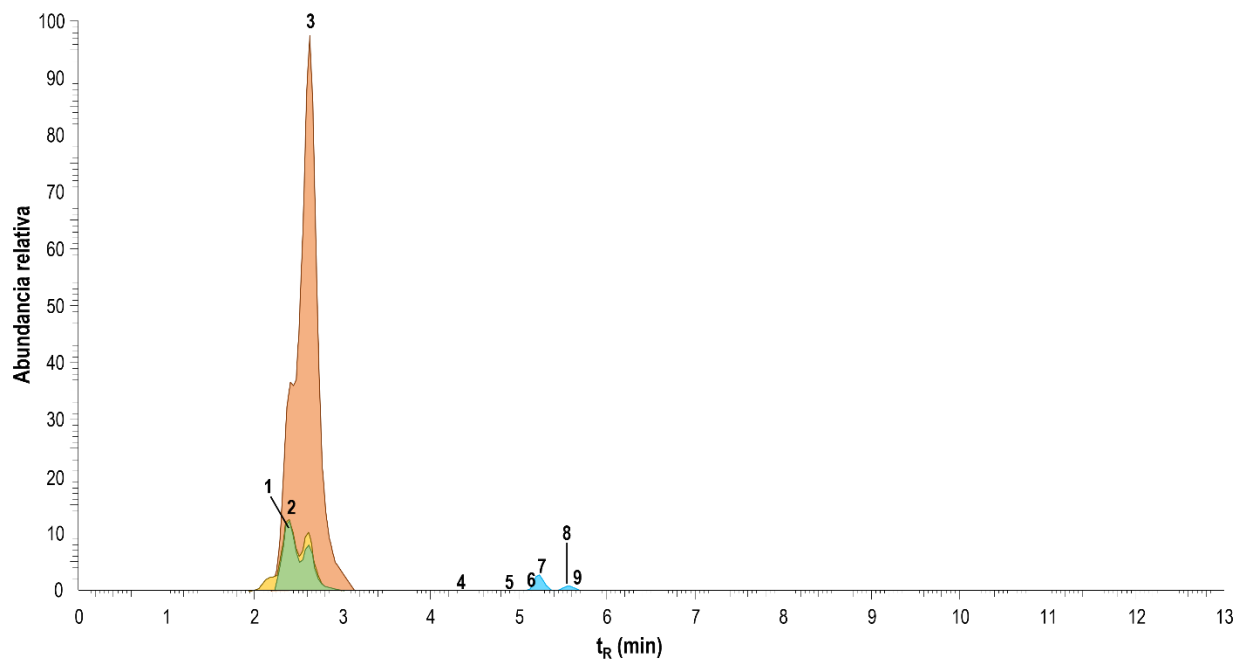
**Figura 23.**

Corriente iónica extraída (EIC) de iones  $[M]^+$  o moléculas protonadas  $[M+H]^+$  obtenidas por UHPLC/ESI-Q-Orbitrap-HRMS en modo full scan presentes en el extracto hidroetanólico de flores frescas liofilizadas de *Alstroemeria* spp. var. *Nadya*. Escala:  $1.25 \times 10^7$ . La identificación de picos aparece en la **Tabla 10**.



**Figura 24.**

Corriente iónica extraída (EIC) de iones  $[M]^+$  o moléculas protonadas  $[M+H]^+$  obtenidas por UHPLC/ESI-Q-Orbitrap-HRMS en modo full scan presentes en la fracción líquida de *Alstroemeria* spp. var. *Nadya* obtenida por prensado. Escala:  $1.25 \times 10^7$ . La identificación de picos aparece en la **Tabla 11**.



**Tabla 9.** Masas exactas de iones  $[M]^+$  o moléculas protonadas  $[M+H]^+$  identificadas por UHPLC-ESI-Q-Orbitrap-MS en el extracto hidroetanólico de la biomasa no exportable de *Alstroemeria* spp. var. *Nadya*.

N° Fig. 20	t <sub>R</sub> , min	Compuesto	Fórmula	Masa calculada		Masa <sub>Exp.</sub> (%)	Δ ppm	HCD, eV	Iones producto			Criterio	Ref.
				[M] <sup>+</sup>	[M+H] <sup>+</sup>				Fragmento	Fórmula	m/z (%)		
1	2.56	α-Metileno-γ-butirolactona (tulipalina-A)	C <sub>5</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	-	99.04405	99.04450 (100)	4.50	10	[(M+H)-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup>	C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> O	81.03404 (57)	a, b	Christensen & Kristiansen, 1995; Wang <i>et al.</i> , 2021
									[(M+H)-CO] <sup>+</sup> o [(M+H)-C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>4</sub> H <sub>7</sub> O	71.04975 (18)		
									[(M+H)-H <sub>2</sub> O-C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>3</sub> H <sub>3</sub> O	55.01848 (9)		
									[(M+H)-H <sub>2</sub> O-CO] <sup>+</sup>	C <sub>4</sub> H <sub>5</sub>	53.03926 (83)		
2	5.16	Kaempferol-ramnósido-glucósido	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>15</sub>	-	595.16574	595.16760 (16)	3.12	10	[(M+H)-C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>21</sub> O <sub>11</sub>	449.10873 (3)	b	Abad-García <i>et al.</i> , 2009; Chonghui <i>et al.</i> , 2009
									[(M+H)-C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O <sub>5</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>21</sub> O <sub>10</sub>	433.11322 (100)		
									[(M+H)-C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O <sub>5</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>11</sub> O <sub>6</sub>	287.05494 (30)		
3	5.24	Kaempferol-ramnósido-xilósido	C <sub>26</sub> H <sub>28</sub> O <sub>14</sub>	-	565.15518	565.15333 (19)	0.27	10	[(M+H)-C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> O <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>21</sub> O <sub>10</sub>	433.11301 (100)	b	Unterlander <i>et al.</i> , 2022
									[(M+H)-C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>20</sub> H <sub>19</sub> O <sub>10</sub>	419.09818 (4)		
									[(M+H)-C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> O <sub>4</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>11</sub> O <sub>6</sub>	287.05478 (19)		
4	5.57	Isómero de kaempferol-ramnósido-xilósido	C <sub>26</sub> H <sub>28</sub> O <sub>14</sub>	-	565.15518	565.15333 (12)	0.05	10	[(M+H)-C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> O <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>21</sub> O <sub>10</sub>	433.11331 (100)	b	Unterlander <i>et al.</i> , 2022
									[(M+H)-C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>20</sub> H <sub>19</sub> O <sub>10</sub>	419.09726 (6)		
									[(M+H)-C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> O <sub>4</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>11</sub> O <sub>6</sub>	287.05502 (26)		
5	5.61	Kaempferol 3-O-galactósido	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>	-	449.10783	449.10837 (5)	1.18	10	[(M+H)-C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O <sub>5</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>11</sub> O <sub>6</sub>	287.05524 (100)	b, c	Chonghui <i>et al.</i> , 2009
6	5.77	Kaempferol 3-O-arabinósido	C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>10</sub>	-	419.09727	419.09723 (4)	-0.11	10	[(M+H)-C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> O <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>11</sub> O <sub>6</sub>	287.05515 (100)	b, c	Zhang <i>et al.</i> , 2010
									[(M+H)-2CO-2C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup>	C <sub>8</sub> H <sub>5</sub> O <sub>3</sub>	149.02344 (2)		

<sup>a</sup> Identificación basada en datos de la literatura científica sobre especies del género *Alstroemeria* (Christensen, 1999); (Nørbek *et al.*, 1998); (Tatsuzawa & Shinoda, 2005); (Saito *et al.*, 1985); (Schütz *et al.*, 2006); (Tatsuzawa *et al.*, 2001); (Christensen & Kristiansen, 1995).

<sup>b</sup> Identificación tentativa basada en el estudio del patrón de fragmentación (ESI<sup>+</sup>-HRMS) y consulta con lo reportado en artículos científicos y base de datos espectrales (*SciFinder*<sup>n</sup>, HMDB 4.0 y *MassBank*).

<sup>c</sup> Identificación confirmatoria basada en espectro de masas (ESI<sup>+</sup>-HRMS) y en la comparación con espectros de masas y t<sub>R</sub> de sustancia de referencia certificada.

**Tabla 10.** Masas exactas de iones  $[M]^+$  o moléculas protonadas  $[M+H]^+$  identificadas por UHPLC-ESI-Q-Orbitrap-MS en el extracto hidroetanólico de flores frescas liofilizadas de *Alstroemeria spp. var. Nadya*.

N° Fig. 21	t <sub>R</sub> , min	Compuesto	Fórmula	Masa calculada		Masa <sub>Exp.</sub> (%)	Δ ppm	HCD, eV	Iones producto			Criterio	Ref.
				[M] <sup>+</sup>	[M+H] <sup>+</sup>				Fragmento	Fórmula	m/z (%)		
1	2.42	Tulipósido-A	C <sub>11</sub> H <sub>18</sub> O <sub>8</sub>	-	279.10744	279.10721 (27)	-0.84	0	[(M+H)-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup>	C <sub>11</sub> H <sub>17</sub> O <sub>7</sub>	261.09671 (100)	a	Bergman <i>et al.</i> , 1967; Christensen & Kristiansen, 1995
									[(M+H)-2H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup>	C <sub>11</sub> H <sub>15</sub> O <sub>6</sub>	243.08631 (12)		
									[(M+H)-C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O <sub>5</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> O <sub>3</sub>	117.05481 (27)		
									[(M+H)-C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O <sub>5</sub> - H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup>	C <sub>5</sub> H <sub>7</sub> O <sub>2</sub>	99.04437 (81)		
									[(M+H)-C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O <sub>5</sub> - 2H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup>	C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> O	81.03391 (4)		
2	2.44	Ácido 4-hidroxi-2- metileno-butanoico (HMBA)	C <sub>5</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	-	117.05462	117.05487 (0.5)	2.10	10	[(M+H)-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup>	C <sub>5</sub> H <sub>7</sub> O <sub>2</sub>	99.04452 (100)	a, b	Christensen, 1999
									[(M+H)-2H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup>	C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> O	81.03406 (45)		
									[(M+H)-CO] <sup>+</sup>	C <sub>4</sub> H <sub>7</sub> O	71.04977 (8)		
									[(M+H)-H <sub>2</sub> O- C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>3</sub> H <sub>3</sub> O	55.01850 (2)		
									[(M+H)-H <sub>2</sub> O-CO] <sup>+</sup>	C <sub>4</sub> H <sub>5</sub>	53.03927 (37)		
3	2.63	α-Metileno-γ- butirolactona (tulipalina-A)	C <sub>5</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	-	99.04405	99.04449 (100)	4.40	10	[(M+H)-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup>	C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> O	81.03403 (66)	a, b	Christensen & Kristiansen, 1995; Wang <i>et al.</i> , 2021
									[(M+H)-CO] <sup>+</sup> o [(M+H)-C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>4</sub> H <sub>7</sub> O	71.04976 (9)		
									[(M+H)-H <sub>2</sub> O- C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>3</sub> H <sub>3</sub> O	55.01852 (10)		
									[(M+H)-H <sub>2</sub> O-CO] <sup>+</sup>	C <sub>4</sub> H <sub>5</sub>	53.03925 (94)		
									[M-C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>21</sub> O <sub>12</sub>	465.10303 (100)		
4	4.37	Hidroxicianidina- rutinosido	C <sub>27</sub> H <sub>31</sub> O <sub>16</sub>	611.16066	-	611.16095 (25)	0.47	10	[M-C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O <sub>5</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>21</sub> O <sub>11</sub>	449.10803 (9.5)	a, b	Saito <i>et al.</i> , 1985; Tatsuzawa & Shinoda, 2005
									[M-C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O <sub>4</sub> - C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>11</sub> O <sub>7</sub>	303.04993 (25)		
									[M-C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O <sub>4</sub> - C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O <sub>6</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>11</sub> O <sub>6</sub>	287.05582 (1.5)		

**Tabla 10.** Continuación.

5	4.69	Isómero de kaempferol-ramnósido-glucósido	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>15</sub>	-	595.16574	595.16669 (40)	1.60	10	[(M+H)-C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>21</sub> O <sub>11</sub>	449.10846 (100)	b	Abad-García <i>et al.</i> , 2009; Chonghui <i>et al.</i> , 2009
									[(M+H)-C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O <sub>5</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>21</sub> O <sub>10</sub>	433.11456 (6)		
									[(M+H)-C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O <sub>5</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>11</sub> O <sub>6</sub>	287.05511 (23)		
6	4.93	Hidroxicianidina-malonilglucósido	C <sub>24</sub> H <sub>23</sub> O <sub>15</sub>	551.10314	-	551.10284 (5)	-0.50	10	[M-C <sub>3</sub> H <sub>3</sub> O <sub>3</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>21</sub> O <sub>12</sub>	465.10397 (1.5)	a	Tatsuzawa <i>et al.</i> , 2001
									[M-C <sub>9</sub> H <sub>13</sub> O <sub>8</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>11</sub> O <sub>7</sub>	303.05017 (100)		
7	5.23	Cianidina-malonilglucósido	C <sub>24</sub> H <sub>23</sub> O <sub>14</sub>	535.10823	-	535.10895 (100)	1.30	10	[M-C <sub>9</sub> H <sub>13</sub> O <sub>8</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>11</sub> O <sub>6</sub>	287.05487 (33)	a, b	Nørbek <i>et al.</i> , 1998; Schütz <i>et al.</i> , 2006
8	5.15	Kaempferol-ramnósido-glucósido	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>15</sub>	-	595.16574	595.16547 (17)	-0.50	10	[(M+H)-C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>21</sub> O <sub>11</sub>	449.10757 (4)	b	Abad-García <i>et al.</i> , 2009; Chonghui <i>et al.</i> , 2009
									[(M+H)-C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O <sub>5</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>21</sub> O <sub>10</sub>	433.11340 (100)		
									[(M+H)-C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O <sub>5</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>11</sub> O <sub>6</sub>	287.05499 (35)		
9	5.23	Kaempferol-ramnósido-xilósido	C <sub>26</sub> H <sub>28</sub> O <sub>14</sub>	-	565.15518	565.15576 (14)	1.03	10	[(M+H)-C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> O <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>21</sub> O <sub>10</sub>	433.11331 (100)	b	Unterlander <i>et al.</i> , 2022
									[(M+H)-C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>20</sub> H <sub>19</sub> O <sub>10</sub>	419,09760 (4,5)		
									[(M+H)-C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> O <sub>4</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>11</sub> O <sub>6</sub>	287,05505 (21)		
10	5.35	Isómero de hidroxicianidina-rutinósido	C <sub>27</sub> H <sub>31</sub> O <sub>16</sub>	611.16066	-	611.15985 (9)	-1.30	10	[M-C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>21</sub> O <sub>12</sub>	465.10309 (40)	a, b	Saito <i>et al.</i> , 1985; Tatsuzawa & Shinoda, 2005
									[M-C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O <sub>5</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>21</sub> O <sub>11</sub>	449.10898 (4)		
									[M-C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O <sub>4</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>11</sub> O <sub>7</sub>	303.05017 (100)		
11	5.35	Hidroxicianidina	C <sub>15</sub> H <sub>11</sub> O <sub>7</sub>	303.04992	-	303.05023 (100)	1.00	40	[M-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>9</sub> O <sub>6</sub>	285.04092 (2)	a, b	Abad-García <i>et al.</i> , 2009; Saito <i>et al.</i> , 1985; Tatsuzawa & Shinoda, 2005
									[M-H <sub>2</sub> O-CO] <sup>+</sup>	C <sub>14</sub> H <sub>9</sub> O <sub>5</sub>	257.04483 (7)		
									[M-H <sub>2</sub> O-2CO] <sup>+</sup>	C <sub>13</sub> H <sub>9</sub> O <sub>4</sub>	229.04997 (9)		
									[M-C <sub>8</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>7</sub> H <sub>5</sub> O <sub>4</sub>	153.01828 (5)		
									[M-C <sub>8</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>7</sub> H <sub>5</sub> O <sub>3</sub>	137.02316 (3)		
12	5.58	Isómero de kaempferol-ramnósido-xilósido	C <sub>26</sub> H <sub>28</sub> O <sub>14</sub>	-	565.15518	565.15479 (10)	-0.70	10	[(M+H)-C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> O <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>21</sub> O <sub>10</sub>	433.11325 (100)	b	Unterlander <i>et al.</i> , 2022
									[(M+H)-C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>20</sub> H <sub>19</sub> O <sub>10</sub>	419.09738 (4)		
									[(M+H)-C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> O <sub>4</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>11</sub> O <sub>6</sub>	287.05502 (26)		

**Tabla 10.** Continuación.

13	5.65	Isómero de hidroxicianidina	C <sub>15</sub> H <sub>11</sub> O <sub>7</sub>	303.04992	-	303.05017 (100)	0.80	40	[M-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>9</sub> O <sub>6</sub>	285.03922 (2)	a, b	Abad-García <i>et al.</i> , 2009; Saito <i>et al.</i> , 1985; Tatsuzawa & Shinoda, 2005
									[M-H <sub>2</sub> O-CO] <sup>+</sup>	C <sub>14</sub> H <sub>9</sub> O <sub>5</sub>	257.04459 (6)		
									[M-H <sub>2</sub> O-2CO] <sup>+</sup>	C <sub>13</sub> H <sub>9</sub> O <sub>4</sub>	229.04971 (8)		
									[M-C <sub>8</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>7</sub> H <sub>5</sub> O <sub>4</sub>	153.01848 (5)		
14	5.67	Isómero de cianidina-malonilglucósido	C <sub>24</sub> H <sub>23</sub> O <sub>14</sub>	535.10823	-	535.10822 (10)	-0.03	10	[M-C <sub>9</sub> H <sub>13</sub> O <sub>8</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>11</sub> O <sub>6</sub>	287.05511 (100)	a, b	Nørbek <i>et al.</i> , 1998; Schütz <i>et al.</i> , 2006
15	5.69	Isómero de kaempferol-ramnósido-glucósido	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>15</sub>	-	595.16574	595.16626 (11)	0.90	10	[(M+H)-C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>21</sub> O <sub>11</sub>	449.10867 (38)	b	Abad-García <i>et al.</i> , 2009; Chonghui <i>et al.</i> , 2009
									[(M+H)-C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O <sub>5</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>21</sub> O <sub>10</sub>	433.11365 (3)		
									[(M+H)-C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O <sub>5</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>11</sub> O <sub>6</sub>	287.05536 (100)		

<sup>a</sup> Identificación basada en datos de la literatura científica sobre especies del género *Alstroemeria* (Christensen, 1999); (Nørbek *et al.*, 1998); (Tatsuzawa & Shinoda, 2005); (Saito *et al.*, 1985); (Schütz *et al.*, 2006); (Tatsuzawa *et al.*, 2001); (Christensen & Kristiansen, 1995)).

<sup>b</sup> Identificación tentativa basada en el estudio del patrón de fragmentación (ESI<sup>+</sup>-HRMS) y consulta con lo reportado en artículos científicos y base de datos espectrales (*SciFinder*<sup>n</sup>, HMDB 4.0 y *MassBank*).

<sup>c</sup> Identificación confirmatoria basada en espectro de masas (ESI<sup>+</sup>-HRMS) y en la comparación con espectros de masas y t<sub>R</sub> de sustancia de referencia certificada.

**Tabla 11.** Masas exactas de iones  $[M]^+$  o moléculas protonadas  $[M+H]^+$  identificadas por UHPLC-ESI-Q-Orbitrap-MS en la fracción líquida liofilizada obtenida por el prensado de flores de *Alstroemeria* spp. var. *Nadya*.

N° Fig. 22	tr, min	Compuesto	Fórmula	Masa calculada		Masa <sub>Exp.</sub> (%)	$\Delta$ ppm	HCD, eV	Iones producto			Criterio	Ref.
				$[M]^+$	$[M+H]^+$				Fragmento	Fórmula	m/z (%)		
1	2.40	Tulipósido-A	C <sub>11</sub> H <sub>18</sub> O <sub>8</sub>	-	279.10744	279.10744 (27)	-0.02	0	$[(M+H)-H_2O]^+$	C <sub>11</sub> H <sub>17</sub> O <sub>7</sub>	261.09671 (100)	a	Bergman <i>et al.</i> , 1967; Christensen & Kristiansen, 1995
									$[(M+H)-2H_2O]^+$	C <sub>11</sub> H <sub>15</sub> O <sub>6</sub>	243.08582 (12)		
									$[(M+H)-C_6H_{11}O_5]^+$	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> O <sub>3</sub>	117.05464 (23)		
									$[(M+H)-C_6H_{11}O_5-H_2O]^+$	C <sub>5</sub> H <sub>7</sub> O <sub>2</sub>	99.04425 (60)		
2	2.40	Ácido 4-hidroxi-2-metilenobutanoico (HMBA)	C <sub>5</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	-	117.05462	117.05506 (2)	3.80	10	$[(M+H)-H_2O]^+$	C <sub>5</sub> H <sub>7</sub> O <sub>2</sub>	99.04405 (100)	a, b	Christensen, 1999
									$[(M+H)-2H_2O]^+$	C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> O	81.03406 (45)		
									$[(M+H)-CO]^+$	C <sub>4</sub> H <sub>7</sub> O	71.04977 (6,5)		
									$[(M+H)-H_2O-C_2H_2]^+$	C <sub>3</sub> H <sub>3</sub> O	55.01844 (2)		
3	2.63	$\alpha$ -Metileno- $\gamma$ -butirolactona (tulipalina-A)	C <sub>5</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	-	99.04405	99.04447 (100)	4.20	10	$[(M+H)-H_2O]^+$	C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> O	81.03402 (65)	a, b	Christensen & Kristiansen, 1995; Wang <i>et al.</i> , 2021
									$[(M+H)-CO]^+$	C <sub>4</sub> H <sub>7</sub> O	71.04975 (8,5)		
									$[(M+H)-H_2O-C_2H_2]^+$	C <sub>3</sub> H <sub>3</sub> O	55.01851 (10)		
									$[(M+H)-H_2O-CO]^+$	C <sub>4</sub> H <sub>5</sub>	53.03925 (92)		
4	4.39	Hidroxicianidina-rutinósido	C <sub>27</sub> H <sub>31</sub> O <sub>16</sub>	611.16066	-	611.16083 (32)	0.30	10	$[M-C_6H_{11}O_4]^+$	C <sub>21</sub> H <sub>21</sub> O <sub>12</sub>	465.10327 (100)	a, b	Saito <i>et al.</i> , 1985; Tatsuzawa & Shinoda, 2005
									$[M-C_6H_{11}O_5]^+$	C <sub>21</sub> H <sub>21</sub> O <sub>11</sub>	449.10959 (21)		
									$[M-C_6H_{11}O_4-C_6H_{10}O_5]^+$	C <sub>15</sub> H <sub>11</sub> O <sub>7</sub>	303.05029 (26)		
5	4.95	Hidroxicianidina-malonilglucósido	C <sub>24</sub> H <sub>23</sub> O <sub>15</sub>	551.10314	-	551.10437 (7)	2.20	20	$[M-C_3H_3O_3]^+$	C <sub>21</sub> H <sub>21</sub> O <sub>12</sub>	465.10205 (6)	a	Tatsuzawa <i>et al.</i> , 2001
									$[M-C_9H_{13}O_8]^+$	C <sub>15</sub> H <sub>11</sub> O <sub>7</sub>	303.05020 (100)		
6	5.22	Cianidina-malonilglucósido	C <sub>24</sub> H <sub>23</sub> O <sub>14</sub>	535.10823	-	535.10870 (100)	0.90	10	$[M-C_9H_{13}O_8]^+$	C <sub>15</sub> H <sub>11</sub> O <sub>6</sub>	287.05508 (31)	a, b	Nörbek <i>et al.</i> , 1998; Schütz <i>et al.</i> , 2006

**Tabla 11.** Continuación.

7	5.24	Kaempferol-ramnósido-xilósido	C <sub>26</sub> H <sub>28</sub> O <sub>14</sub>	-	565.15518	565.15552 (17)	0.60	10	[(M+H)-C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> O <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>21</sub> O <sub>10</sub>	433.11319 (100)	b	Unterlander <i>et al.</i> , 2022
									[(M+H)-C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>10</sub>	419.09750 (3)		
									[(M+H)-C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> O <sub>4</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>11</sub> O <sub>6</sub>	287.05501 (17)		
8	5.57	Isómero de kaempferol-ramnósido-xilósido	C <sub>26</sub> H <sub>28</sub> O <sub>14</sub>	-	565.15518	565.15582 (12)	1.13	10	[(M+H)-C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> O <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>21</sub> O <sub>10</sub>	433.11337 (100)	b	Unterlander <i>et al.</i> , 2022
									[(M+H)-C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>10</sub>	419,09680 (6)		
									[(M+H)-C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> O <sub>4</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>11</sub> O <sub>6</sub>	287.05527 (23)		
9	5.66	Isómero de cianidina-malonilglucósido	C <sub>24</sub> H <sub>23</sub> O <sub>14</sub>	535.10823	-	535.10834 (15)	0.20	10	[M-C <sub>9</sub> H <sub>13</sub> O <sub>8</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>11</sub> O <sub>6</sub>	28705508 (100)	a, b	Nørbek <i>et al.</i> , 1998; Schütz <i>et al.</i> , 2006

<sup>a</sup> Identificación basada en datos de la literatura científica sobre especies del género *Alstroemeria* (Christensen, 1999); (Nørbek *et al.*, 1998); (Tatsuzawa & Shinoda, 2005); (Saito *et al.*, 1985); (Schütz *et al.*, 2006); (Tatsuzawa *et al.*, 2001); (Christensen & Kristiansen, 1995).

<sup>b</sup> Identificación tentativa basada en el estudio del patrón de fragmentación (ESI<sup>+</sup>-HRMS) y consulta con lo reportado en artículos científicos y base de datos espectrales (*SciFinder*<sup>n</sup>, HMDB 4.0 y *MassBank*).

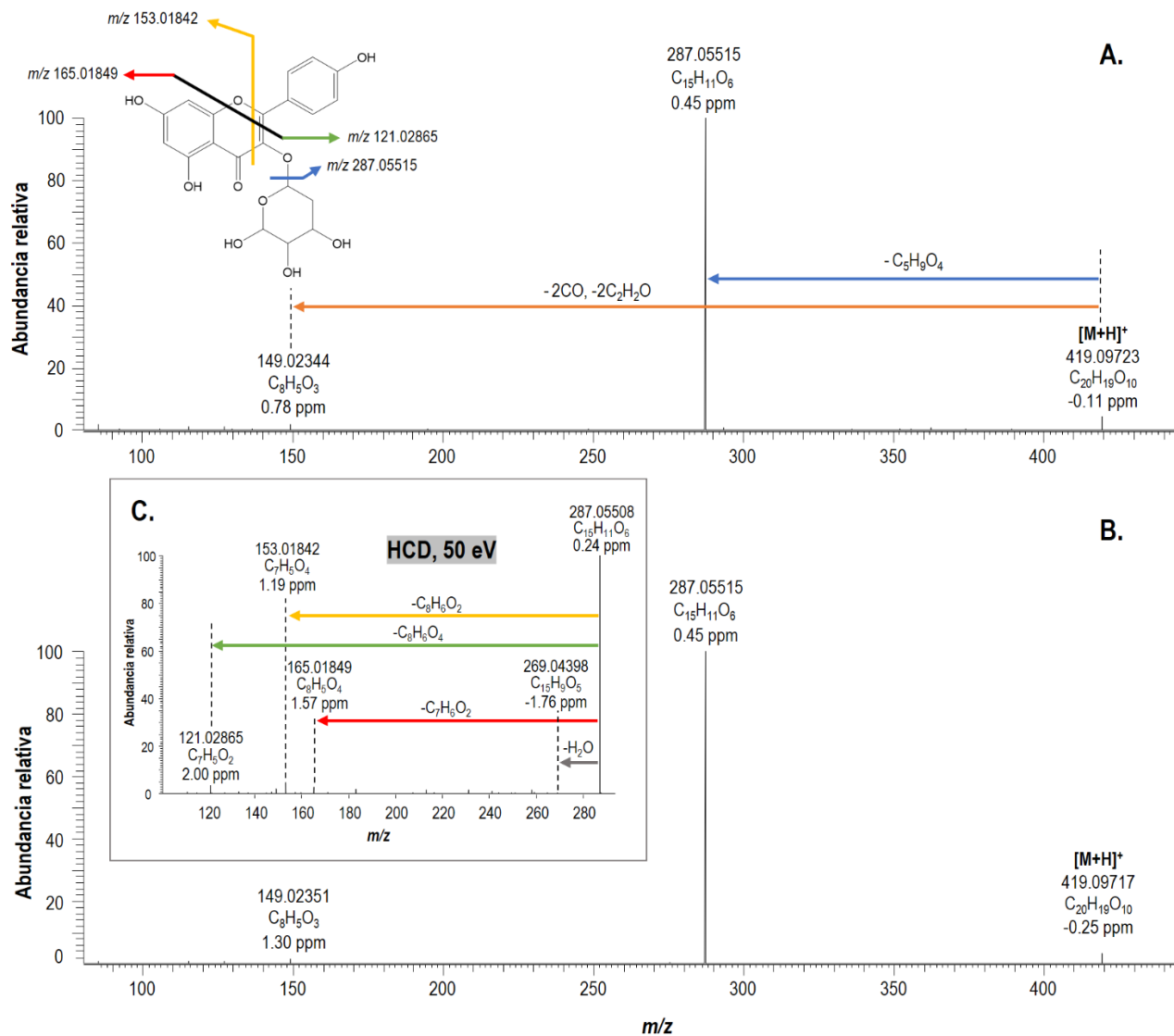
<sup>c</sup> Identificación confirmatoria basada en espectro de masas (ESI<sup>+</sup>-HRMS) y en la comparación con espectros de masas y t<sub>R</sub> de sustancia de referencia certificada.

En el extracto hidroetanólico de la biomasa no exportable de *Alstroemeria* spp. var. Nadya, el compuesto mayoritario fue identificado confirmatoriamente como kaempferol-3-O-arabinósido, mediante la comparación de su espectro de masas con el de la sustancia-patrón, usando el modo SIM y HCD a 10 eV. En la **Figura 25A** se observa el espectro de masas del kaempferol-3-O-arabinósido  $[M+H]^+$  en  $m/z$  419.09723 y sus fragmentos generados a partir de la ruptura del enlace O-glucosídico  $[(M+H)-C_5H_9O_4]^+$  en  $m/z$  287.05515, correspondiente a la aglicona; así como la pérdida consecutiva de dos moléculas de CO y C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O  $[(M+H)-2CO-2C_2H_2O]^+$  en  $m/z$  149.02344, reportado por Abad *et al.* (2009).

En la **Figura 25C** se observa el espectro de masas del kaempferol 3-O-arabinósido obtenido a una energía de colisión de 50 eV, en donde no se registra la señal de la molécula protonada  $[M+H]^+$ , pero se observan fragmentos provenientes de la aglicona protonada, como la pérdida de agua  $[(M+H)-C_5H_9O_4-H_2O]^+$  en  $m/z$  269.04398 y la ruptura del anillo C mediante una reacción Retro Diels-Alder, generando el fragmento  $[(M+H)-C_5H_9O_4-C_8H_6O_2]^+$  en  $m/z$  153.01842. Así como la formación de los iones  $[(M+H)-C_5H_9O_4-C_7H_6O_2]^+$  en  $m/z$  165.01849 y  $[(M+H)-C_5H_9O_4-C_8H_6O_4]^+$  en  $m/z$  121.02865, los cuales ya han sido reportados para flavonoles por Ma *et al.* (1997) y Wolfender *et al.* (2000).

**Figura 25.**

Espectros de masas obtenidos por UHPLC/ESI-Q-Orbitrap-MS del kaempferol 3-O-arabinósido.



Nota: A. En el extracto hidroetanólico de la biomasa no exportable de *Alstroemeria* spp. var. Nadya; B. De la sustancia-patrón adquirida de *Sigma-Aldrich* (St. Louise, MO, EE.UU.) de la molécula protonada [M+H]<sup>+</sup> en  $m/z$  419.09723; obtenido en el modo SIM y HCD a 10 eV, y C. En el modo SIM y HCD a 50 eV.

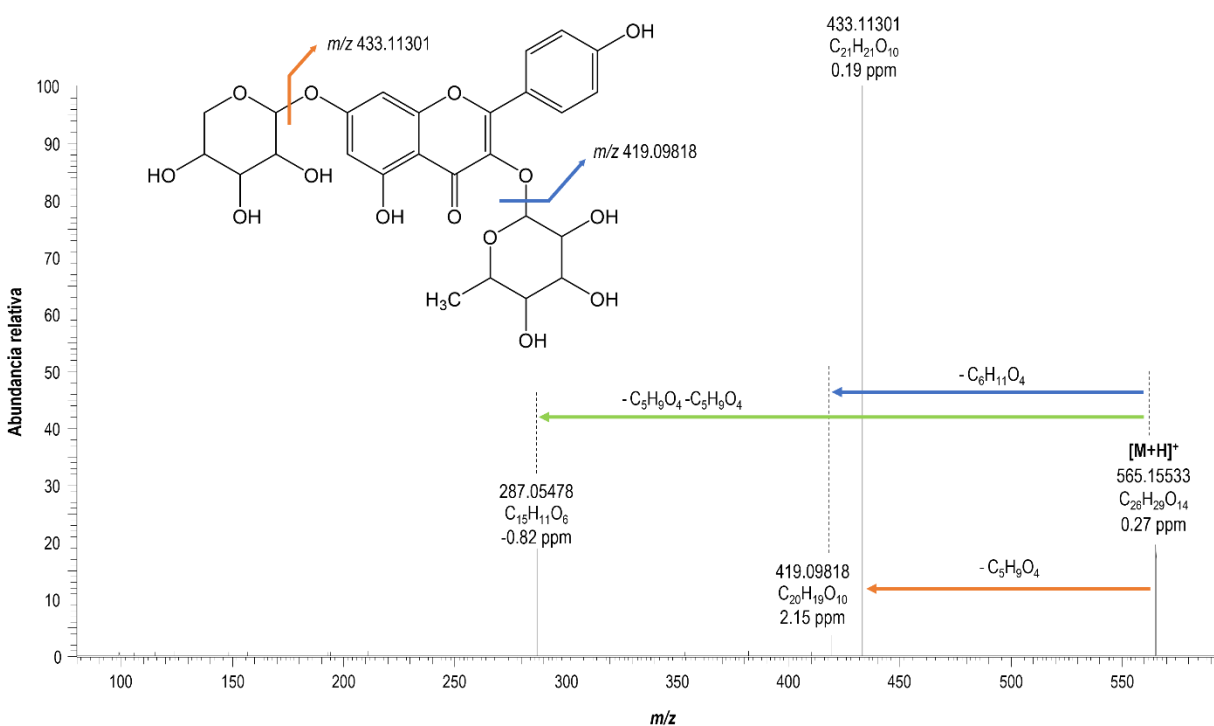
Sá *et al.* (2017) reportaron el kaempferol-3-O-arabinósido como un compuesto con actividad antimicrobiana. En su estudio, evaluaron *in vitro* extractos etanólicos de hojas de *Myrcia*

*tomentosa* frente a hongos y bacterias. Los resultados evidenciaron que el kaempferol-3-O-arabinósido presenta actividad antifúngica específica contra *Candida parapsilosis*. Asimismo, los autores propusieron que el mecanismo de acción de los compuestos fenólicos presentes en extractos vegetales, está relacionado con el daño inducido en la membrana fúngica y el incremento de la permeabilidad celular.

Otro de los compuestos mayoritarios en el extracto de la biomasa no exportable de *Alstroemeria* spp. var. Nadya, fue identificado tentativamente como kaempferol-ramnósido-xilósido. En la **Figura 26** se observa el espectro de masas del kaempferol-ramnósido-xilósido  $[M+H]^+$  en  $m/z$  565.15533 y sus fragmentos en  $m/z$  419.09818 y  $m/z$  433.11301, que corresponden a las pérdidas de la ramnosa  $[(M+H)-C_6H_{11}O_4]^+$  y la xilosa  $[(M+H)-C_5H_9O_4]^+$ , respectivamente; además, de la señal correspondiente a la aglicona  $[(M+H)-C_5H_9O_4-C_6H_{11}O_4]^+$  en  $m/z$  287.05478.

**Figura 26.**

*Espectro de masas obtenido por UHPLC/ESI-Q-Orbitrap-HRMS de la molécula protonada de kaempferol-ramnósido-xilósido  $[M+H]^+$  en  $m/z$  565.15533, obtenido en el modo SIM y HCD a 10 eV.*



La biomasa no exportable de *Alstroemeria* spp. var. *Nadya*, descrita en la **Sección 2.2.4.**, corresponde a flores que no cumplen con los criterios establecidos para su comercialización. Este material vegetal se transforma y se utiliza en la producción de abono orgánico. Durante dicho proceso, algunos compuestos pueden sufrir degradación; tal es el caso de las antocianinas presentes en las flores, las cuales son sensibles a factores externos como la luz, el pH y la temperatura. Bajo estas condiciones, las antocianinas pueden cambiar de color, dando lugar a productos de degradación amarillos o incoloros (Alappat & Alappat, 2020). El secado del material se realiza al aire libre, lo que podría explicar la ausencia de antocianinas en el extracto hidroetanólico obtenido de esta biomasa no exportable.

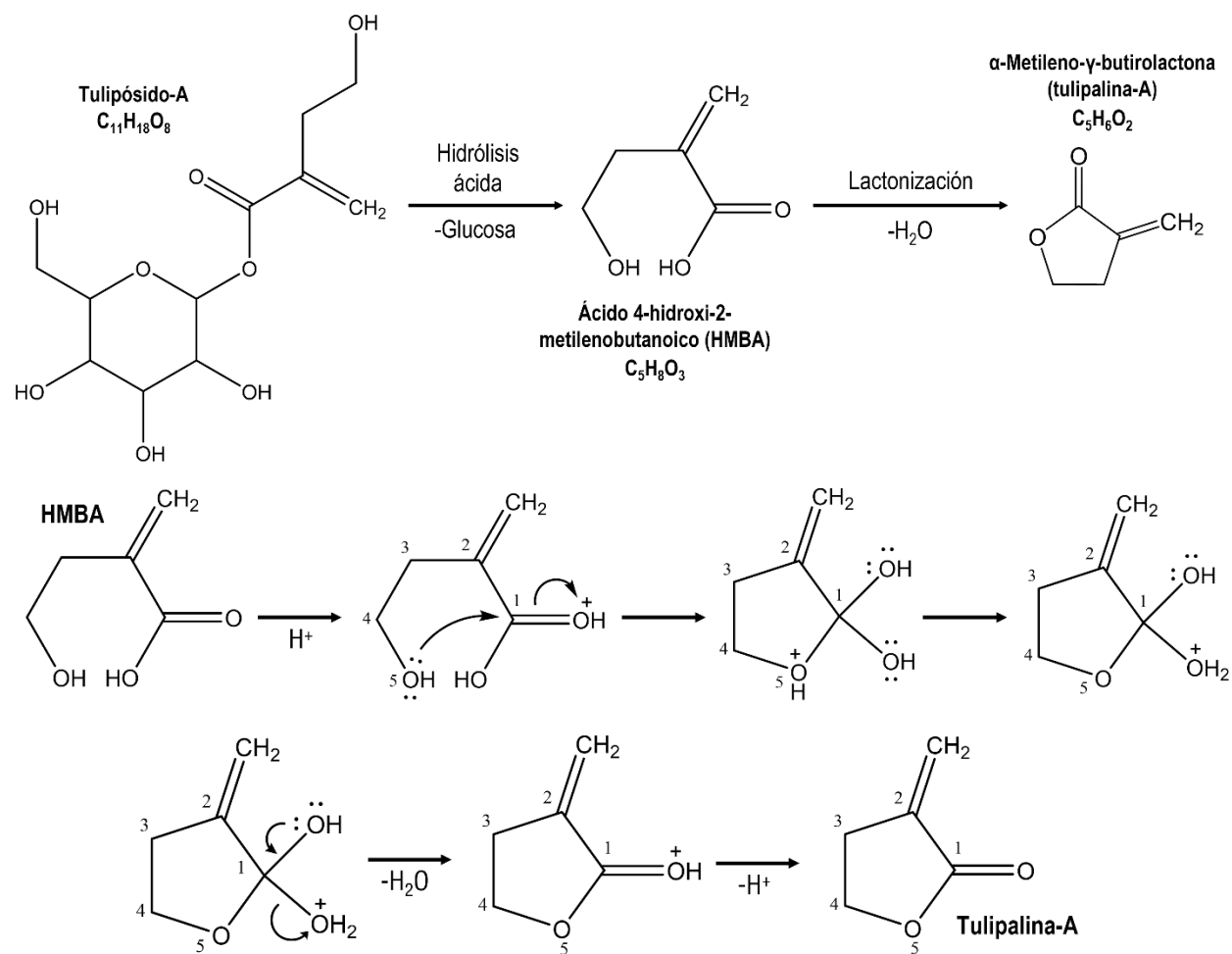
En el extracto hidroetanólico obtenido a partir de flores frescas liofilizadas de *Alstroemeria* spp. var. Nadya, el compuesto mayoritario fue  $\alpha$ -metileno- $\gamma$ -butirolactona (tulipalina-A), alérgeno reportado en flores del género *Alstroemeria* y *Tulipa*. En la **Figura 28C** se observa el espectro de masas de  $\alpha$ -metileno- $\gamma$ -butirolactona en  $[M+H]^+$  en  $m/z$  99.04449 y sus fragmentos  $[(M+H)-CO]^+$  en  $m/z$  71.04976 y  $[(M+H)-H_2O]^+$  en  $m/z$  81.03403, que a su vez pierde una molécula de acetileno y monóxido de carbono para formar los fragmentos  $[(M+H)-H_2O-C_2H_2]^+$  en  $m/z$  55.01852 y  $[(M+H)-H_2O-CO]^+$  en  $m/z$  53.03925. Adicionalmente, se observa que para la tulipalina-A, la exactitud de masa de los fragmentos generados en el espectro de masas está por encima de 5 ppm, debido al rango de masas tan bajo que se está trabajando.

En relación con los alérgenos reportados para las flores de *Alstroemeria*, se encuentran principalmente el tulipósido-A y el producto de su hidrólisis, la tulipalina-A. En la planta, la tulipalina-A se produce por hidrólisis enzimática del tulipósido-A, como respuesta a factores externos o mecanismo de defensa; por ejemplo, contra ataques fúngicos o daños mecánicos, por lo que la concentración de tulipalina-A en las zonas afectadas puede superar la cantidad presente de forma natural en la planta (Christensen, 1999). La conversión de tulipósido-A en tulipalina-A se da por hidrólisis ácida, mediante la adición de HCl y calentamiento, según lo reportado por Christensen y Kristiansen (Christensen & Kristiansen, 1999), lo cual da lugar a la formación de un intermediario, el ácido 4-hidroxi-2-metilenobutanoico (HMBA), que por un proceso de lactonización y pérdida de agua forma la tulipalina-A (**Figura 27**). Durante la reacción, el grupo hidroxilo (-OH) y el grupo carboxilo (-COOH) de la misma molécula reaccionan para formar un anillo éster cíclico, conocido como lactona. El proceso inicia con la protonación del grupo carboxílico y la adición nucleofílica del grupo OH al carbono del grupo carboxilo (etapa de ciclación). Posteriormente, se produce una transferencia de protones dentro del sistema,

estabilizando la estructura intermedia, se elimina una molécula de  $\text{H}_2\text{O}$  y se desprotona el oxígeno del éster, estabilizando la lactona formada (Fernández, 2024).

**Figura 27.**

*Mecanismo de reacción de la formación de la tulipalina-A mediante la hidrólisis ácida de tulipósido-A.*



*Nota:* tomado y adaptado de Christensen (1999) y Químicaorgánica.org (Fernández, 2024).

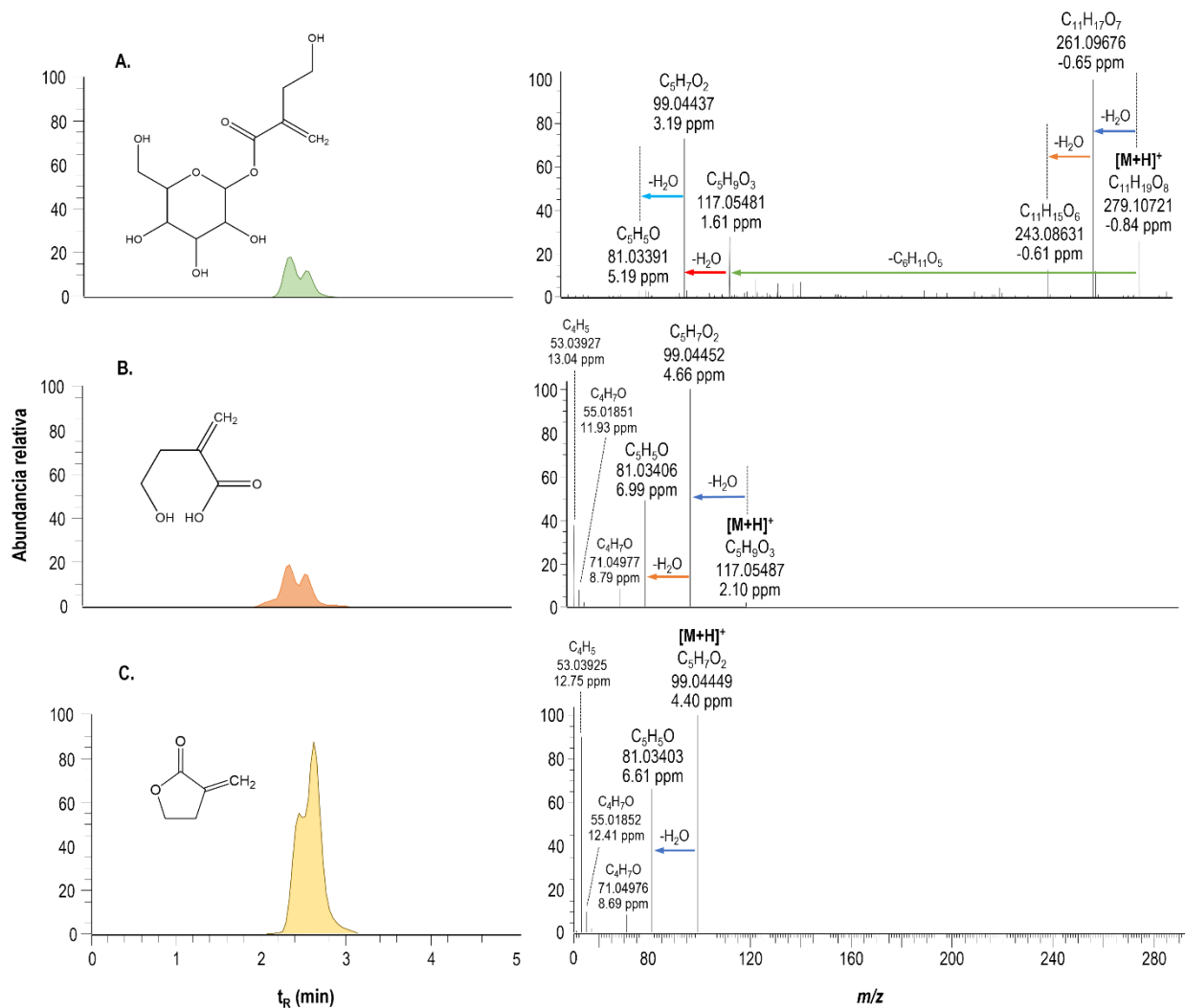
En el extracto hidroetanólico de flores frescas liofilizadas de *Alstroemeria* spp. var. Nadya, se identificaron los tres compuestos involucrados en la reacción de hidrólisis: el tulipósido-A, el

HMBA y la tulipalina-A. En la **Figura 28** se observa la corriente iónica extraída (EIC) para los tres compuestos mencionados, junto a sus respectivos espectros de masas. Para el tulipósido-A, la literatura reporta la existencia de dos isómeros estructurales, diferenciados entre sí por la ubicación del grupo glucosídico, dando lugar a 1-tulipósido-A y 6-tulipósido-A (Christensen & Kristiansen, 1995, 1999). En el espectro de masas del tulipósido-A (**Figura 28A**) se observa la pérdida consecutiva de agua a partir de la molécula protonada  $[M+H]^+$  en  $m/z$  279.10721, para generar los fragmentos  $[(M+H)^+-H_2O]^+$  en  $m/z$  261.09676 y  $[(M+H)^+-2H_2O]^+$  en  $m/z$  243.08631, y adicionalmente, la señal correspondiente a la pérdida de la glucosa o aglicona  $[(M+H)^+-C_5H_9O_2]^+$  en  $m/z$  117.05481, que, a su vez, por pérdida de agua forma los fragmentos  $[(M+H)^+-C_5H_9O_2-H_2O]^+$  en  $m/z$  99.04437 y  $[(M+H)^+-C_5H_9O_2-2H_2O]^+$  en  $m/z$  81.03391.

Con respecto al HMBA, intermediario de la reacción de hidrólisis del tulipósido-A, se observa en el espectro de masas un comportamiento similar a lo anteriormente descrito (**Figura 28B**), dado que la señal de la molécula protonada  $[M+H]^+$  en  $m/z$  117.05487, por pérdida consecutiva de dos moléculas de agua, genera los mismos fragmentos que se observan en el espectro de masas del tulipósido-A, equivalentes a  $[(M+H)^+-H_2O]^+$  en  $m/z$  99.04452 y  $[(M+H)^+-2H_2O]^+$  en  $m/z$  81.03406, adicionalmente, se observan los fragmentos  $[(M+H)-CO]^+$  en  $m/z$  71.04977,  $[(M+H)-H_2O-C_2H_2]^+$  en  $m/z$  55.01851 y  $[(M+H)-H_2O-CO]^+$  en  $m/z$  53.03927, los cuales coinciden con el espectro de masas de la tulipalina-A, descrito anteriormente e ilustrado en la **Figura 28C**.

**Figura 28.**

Corriente iónica extraída (EIC) de moléculas protonadas  $[M+H]^+$  obtenidas por UHPLC/ESI-Q-Orbitrap-HRMS en modo full scan y espectros de masas de los alérgenos y derivados, presentes en el extracto hidroetanólico de las flores frescas liofilizadas de *Alstroemeria* spp. var. *Nadya*. A. Tulipósido-A (full scan, HCD 0 eV), B. HMBA (HCD 10 eV), y C. Tulipalina-A (HCD 10 eV).



La similitud entre los espectros de masas del tulipósido-A, el ácido  $\alpha$ -metileno- $\gamma$ -hidroxibutírico y la tulipalina-A sugiere que hay una mezcla entre los tres compuestos durante el análisis por LC/ESI-MS. La señal en  $m/z$  117.05481 corresponde al ácido protonado, generado

tanto por pérdida de glucosa desde el tulipósido-A como por ionización directa del ácido, y por ende la señal se observa tanto en el espectro de masas del tulipósido-A, como en el del HMBA. Del mismo modo, ocurre con el ion en  $m/z$  99.04437, correspondiente a la tulipalina-A protonada. La coincidencia de fragmentos en los espectros de masas refuerza la idea de que estas especies comparten una misma aglicona y pueden transformarse entre sí. La asimetría de los picos cromatográficos (**Figura 28**) puede atribuirse a la coelución parcial de los tres compuestos: tulipósido-A, HMBA y tulipalina-A, presentes en el extracto.

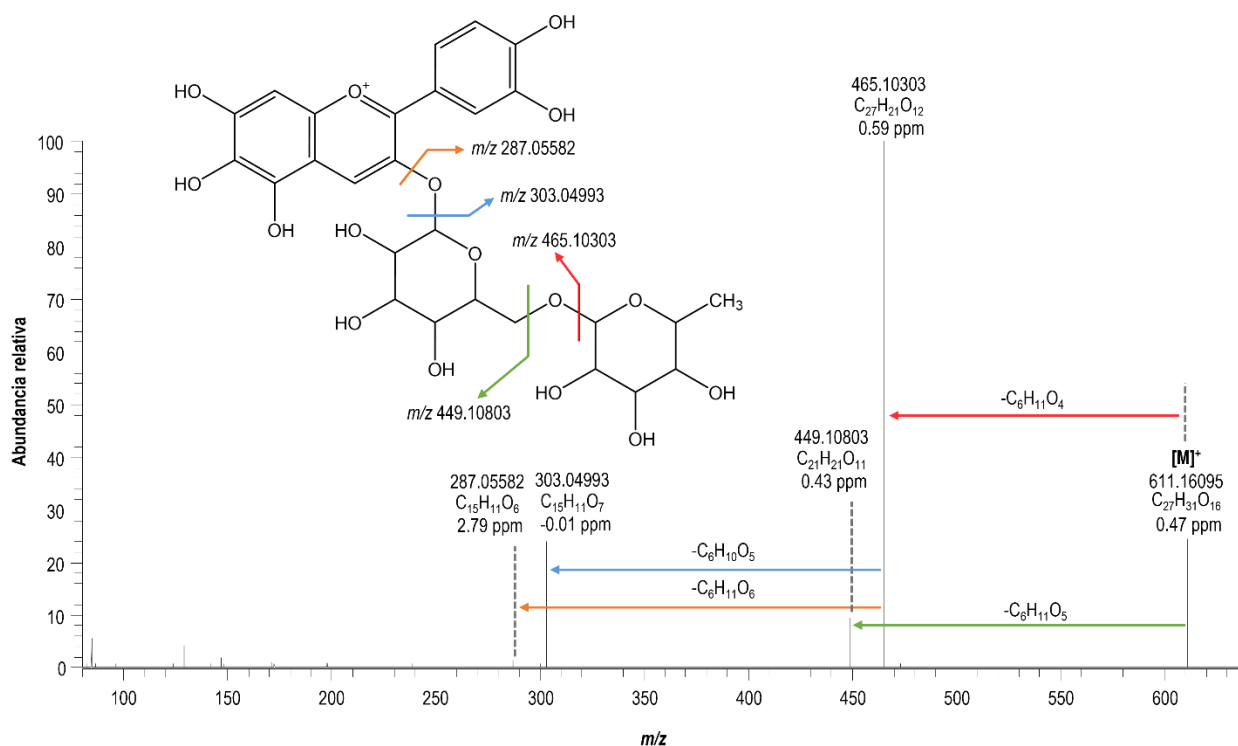
La tulipalina-A fue reportada por Bergman *et al.* (1967) como un compuesto fungitóxico aislado de extractos de bulbos de tulipán, con capacidad para inhibir el crecimiento de diversos hongos patógenos, entre ellos *Fusarium oxysporum*, *Botrytis allii* y *Aspergillus niger*. Según los autores, *F. oxysporum* es incapaz de penetrar las capas de los bulbos jóvenes, y la concentración de tulipalina-A disminuye rápidamente en las últimas semanas de crecimiento, periodo en el que se registra la mayor incidencia de infecciones por *F. oxysporum* en campo, previo a la cosecha. A partir de estas observaciones, se plantea que la tulipalina-A actúa como agente protector frente a la infección fúngica durante el desarrollo de los bulbos jóvenes de tulipán, salvo en las etapas finales de su maduración.

Por otro lado, dentro de los compuestos identificados en el extracto hidroetanólico de flores frescas liofilizadas de *Alstroemeria* spp. var. Nadya, se encuentran la hidroxicianidina y sus análogos glucosilados, la hidroxicianidina-rutinósido e hidroxicianidina-malonilglucósido, reportadas también para flores de *Alstroemeria*, así como la cianidina-malonilglucósido (Saito *et al.*, 1985; Tatsuzawa *et al.*, 2001). En la **Figura 29** se observa el espectro de masas de la hidroxicianidina-rutinósido  $[M]^+$  en  $m/z$  611.16095. Los iones-producto  $[M-C_6H_{11}O_4]^+$  en  $m/z$

465.10303 y  $[M-C_6H_{11}O_4-C_6H_{10}O_5]^+$  en  $m/z$  303.04993, siendo este último, la aglicona de la hidroxicianidina.

### Figura 29.

Espectro de masas obtenido por UHPLC/ESI-Q-Orbitrap-HRMS de la hidroxicianidina-rutinósido  $[M]^+$  en  $m/z$  611.16095, obtenido en el modo SIM y HCD a 10 eV.



Las antocianinas son pigmentos naturales altamente estudiados por su variada actividad biológica. La hidroxicianidina es una antocianidina que actúa como pigmento rojo, debido a su capacidad de absorber radiación en el rango de 500–550 nm (región verde-azul) en el espectro visible (Alappat & Alappat, 2020). Esta propiedad, característica de los pigmentos, explica la coloración roja observada en las flores bajo estudio, *Alstroemeria* spp. var. Nadya (**Figura 3**). La 6-hidroxicianidina ha sido reportada en flores de *Alstroemeria* spp. con tonalidades que van del rosado al naranja rojizo (Iwashina, 2015).

En la fracción líquida liofilizada obtenida por el prensado manual de flores de *Alstroemeria* spp. var. Nadya, el compuesto mayoritario fue la tulipalina-A y se observa el mismo comportamiento descrito en la **Figura 28**, así como la presencia de algunas antocianinas y flavonoles (**Tabla 11**).

En la **Tabla 12**, aparecen las relaciones de áreas cromatográficas de compuesto y del patrón interno para cada sustancia detectada en los extractos hidroetanólicos y fracción líquida liofilizada de *Alstroemeria* spp. var. Nadya. Hasta la fecha, los estudios sobre la composición química de extractos de *Alstroemeria* spp. se han realizado principalmente a partir de los pétalos de las flores, mientras que, en nuestra investigación, se determinaron las composiciones químicas de extractos obtenidos a partir de biomasa residual de flores, flores frescas completas (tallos, hojas y flores) y la fracción líquida obtenida por prensado, en concordancia con el proceso de tratamiento postcosecha de las flores de *Alstroemeria* spp. var. Nadya descrito en la **Sección 2.2.4**. El extracto de la biomasa no exportable se destaca por una mayor cantidad de flavonoles. En cuanto a los compuestos alérgenos, el tulipósido-A se encontró en mayor cantidad en el extracto de flores frescas que en la fracción líquida (**Tabla 12**,  $1.14 \pm 0.01$  y  $0.755 \pm 0.009$ , respectivamente), pues el prensado del material vegetal genera un daño mecánico en toda la flor, lo cual induce una mayor hidrólisis enzimática para formar la tulipalina-A, siendo este último el compuesto más abundante en la fracción líquida liofilizada (**Tabla 12**,  $5.7 \pm 0.1$ ). Las antocianinas se detectaron en baja cantidad tanto en el extracto de flores frescas como en la fracción líquida, esto podría atribuirse a la reducida proporción de tejido floral en relación con la biomasa total de la flor, la cual se concentra mayoritariamente en tallos y hojas. Estos resultados son de interés si se busca seleccionar un extracto por su componente mayoritario o para estudios de actividad biológica.

**Tabla 12.**

Relaciones de áreas cromatográficas del compuesto y del estándar interno ( $A_i/A_{ISTD}$ ) de iones  $[M]^+$  o moléculas protonadas  $[M+H]^+$  detectadas por UHPLC/ESI-Q-Orbitrap-HRMS en extractos obtenidos de *Alstroemeria spp. var. Nadya* en modo full scan.

Familia	Compuesto	Fórmula	$A_i/A_{ISTD}, \bar{x} \pm s (n = 3)$		
			Extracto biomasa	Extracto flores frescas liofilizadas	Fración líquida liofilizada
Alérgenos	Tulipósido-A	$C_{11}H_{18}O_8$	-	$1.14 \pm 0.01$	$0.755 \pm 0.009$
	$\alpha$ -Metileno- $\gamma$ -butirolactona	$C_5H_6O_2$	$0.192 \pm 0.002$	$5.25 \pm 0.06$	$5.7 \pm 0.1$
	Ácido 4-hidroxí-2-metilenobutanoico	$C_5H_8O_3$	-	$1.418 \pm 0.005$	$0.97 \pm 0.01$
Antocianinas	Hidroxicianidina-rutinósido	$C_{27}H_{31}O_{16}$	-	$0.025 \pm 0.001$	$0.0054 \pm 0.0001$
	Isómero de hidroxicianidina-rutinósido ( $t_R = 5.34$ min)	$C_{27}H_{31}O_{16}$	-	$0.025 \pm 0.001$	-
	Hidroxicianidina-malonilglucósido	$C_{24}H_{23}O_{15}$	-	$0.0091 \pm 0.0001$	$0.0024 \pm 0.0001$
	Cianidina-malonilglucósido	$C_{24}H_{23}O_{14}$	-	$0.00647 \pm 0.00003$	$0.0064 \pm 0.0003$
	Isómero de cianidina-malonilglucósido ( $t_R = 5.68$ min)	$C_{24}H_{23}O_{14}$	-	$0.0172 \pm 0.0001$	$0.00510 \pm 0.00001$
	Hidroxicianidina	$C_{15}H_{11}O_7$	-	$0.044 \pm 0.001$	-
	Isómero de hidroxicianidina ( $t_R = 5.65$ min)	$C_{15}H_{11}O_7$	-	$0.026 \pm 0.001$	-
Flavonoles	Kaempferol-ramnósido-xilósido	$C_{26}H_{28}O_{14}$	$0.231 \pm 0.006$	$0.161 \pm 0.005$	$0.093 \pm 0.004$
	Isómero de kaempferol-ramnósido-xilósido ( $t_R = 5.58$ min)	$C_{26}H_{28}O_{14}$	$0.0473 \pm 0.0003$	$0.054 \pm 0.002$	$0.0257 \pm 0.0003$
	Kaempferol-ramnósido-glucósido	$C_{27}H_{30}O_{15}$	$0.0781 \pm 0.0003$	$0.038 \pm 0.001$	-
	Isómero de kaempferol-ramnósido-glucósido ( $t_R = 5.17$ min)	$C_{27}H_{30}O_{15}$	-	$0.064 \pm 0.002$	-
	Isómero de kaempferol-ramnósido-glucósido ( $t_R = 5.71$ min)	$C_{27}H_{30}O_{15}$	-	$0.0182 \pm 0.0002$	-
	Kaempferol-3-O-galactósido	$C_{21}H_{20}O_{11}$	$0.141 \pm 0.001$	-	-
	Kaempferol-3-O-arabinósido	$C_{20}H_{18}O_{10}$	$0.330 \pm 0.004$	-	-

Nota: cuantificación realizada por el método de estándar interno, el patrón interno utilizado fue galangina a una concentración de 500 ppb.

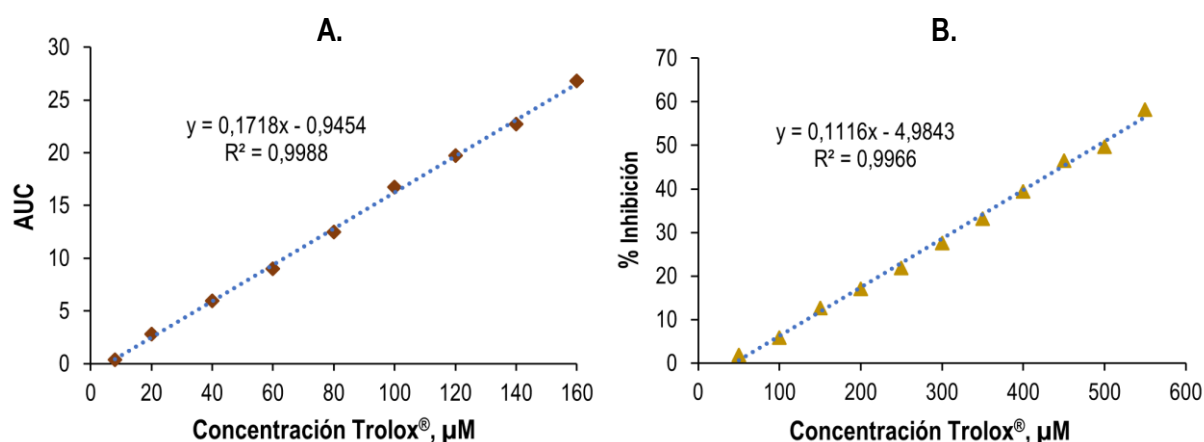
- No detectado en la muestra.

### 5.3. Actividad antioxidante de extractos hidroetanólicos y fracción líquida de *Alstroemeria* spp. var. Nadya

En la **Tabla 13**, se muestran los resultados de la actividad antioxidante de los extractos hidroetanólicos y la fracción líquida liofilizada de *Alstroemeria* spp. var. Nadya. En la **Figura 30**, se observan las curvas de calibración de Trolox<sup>®</sup>, sustancia de referencia usada para calcular la capacidad antioxidante como  $\mu\text{mol Trolox}^{\text{®}}/\text{g}$  muestra, en los ensayos ORAC y ABTS<sup>++</sup>.

**Figura 30.**

Curvas de calibración de Trolox<sup>®</sup>. A. Ensayo ORAC; B. Ensayo ABTS<sup>++</sup>.



**Tabla 13.**

Resultados obtenidos sobre capacidad antioxidante medida por los ensayos ORAC y ABTS<sup>++</sup> de extractos hidroetanólicos y la fracción líquida de *Alstroemeria* spp. var. Nadya

Extracto	Actividad antioxidante, $\mu\text{mol Trolox}^{\text{®}}/\text{g}$ muestra $\pm s$ (n=3)	
	ORAC	ABTS <sup>++</sup>
Biomasa	1700 $\pm$ 77	88 $\pm$ 1
Flor fresca liofilizada	1710 $\pm$ 83	87.9 $\pm$ 0.4
Fracción líquida liofilizada	189 $\pm$ 4	25.3 $\pm$ 0.3
Quercetina <sup>a</sup>	26900 $\pm$ 293	12070 $\pm$ 67

ORAC: Evaluación de la capacidad de absorción de radicales de oxígeno. ABTS<sup>++</sup>: Ensayo de decoloración del catión-radical ABTS<sup>++</sup>. <sup>a</sup>Sustancia de referencia.

Los extractos hidroetanólicos de la biomasa no exportable y de flores frescas de *Alstroemeria* spp. var. Nadya presentaron valores muy cercanos y más altos de  $\mu\text{mol}$  de Trolox<sup>®</sup>/g muestra ( $1701 \pm 77$  y  $1709 \pm 83$ , respectivamente) en el método ORAC. Del mismo modo ocurrió en el método ABTS<sup>++</sup> ( $88 \pm 1$  y  $87.9 \pm 0.4$ , respectivamente), comparado con la fracción líquida liofilizada, que tuvo los valores más bajos de  $\mu\text{mol}$  de Trolox<sup>®</sup>/g muestra por ambos métodos. Hasta la fecha, no se han encontrado publicaciones sobre la actividad antioxidante de *Alstroemeria* spp. Sin embargo, estudios sobre la actividad antioxidante en flores, como el realizado por Mejía *et al.* (2022) con extractos hidroetanólicos obtenidos de pétalos de flores rojas de *Hibiscus rosa-sinensis*, reportan los valores más altos de actividad antioxidante (3130–3840  $\mu\text{mol}$  de Trolox<sup>®</sup>/g de muestra) para cultivares de tonalidades rojas y rosadas. Además, la alta actividad antioxidante de las flores rojas de *Hibiscus* se atribuye a la presencia de cianidina-soforósido y derivados glucosilados de quercetina. Aunque las condiciones de muestreo no son directamente comparables, este hallazgo podría ser de interés para el aprovechamiento de las flores de *Alstroemeria* spp. var. Nadya que se convierten en residuo al no cumplir con las características para su comercialización.

En el ensayo ORAC, la neutralización de los radicales libres se da por transferencia de átomos de hidrógeno (HAT), mientras que en ABTS<sup>++</sup> se dona un electrón. Según Flieger *et al.* (2021), los compuestos fenólicos reducen o inhiben los radicales libres mediante la transferencia de un átomo de hidrógeno desde su grupo hidroxilo. La estructura hidroxilada del anillo B es el factor más importante en la captura de radicales libres, los grupos hidroxilo en este núcleo donan hidrógeno y un electrón a radicales.

#### 5.4. Actividad antifúngica *in vitro* de extractos hidroetanólicos y fracción líquida de *Alstroemeria* spp. var. Nadya

Para evaluar *in vitro* la actividad antifúngica de los extractos hidroetanólicos y de la fracción líquida de *Alstroemeria* spp. var. Nadya, se analizó su efecto sobre el crecimiento micelial de los hongos fitopatógenos *Fusarium oxysporum* y *Botrytis cinerea*. Para ello, se empleó la medición del crecimiento radial, un método indirecto ampliamente utilizado para evaluar el desarrollo de hongos en medios sólidos, particularmente en la determinación de las propiedades fungicidas de compuestos químicos. Este procedimiento se fundamenta en la premisa de que el diámetro de la colonia fúngica es un buen indicador del crecimiento real del hongo (Hendricks *et al.*, 2017).

En la **Figura 31** se observan las curvas de crecimiento micelial de los hongos patógenos *F. oxysporum* y *B. cinerea* en medio PDA y PDA suplementado con los extractos hidroetanólicos de la biomasa no exportable y flores frescas liofilizadas, y la fracción líquida liofilizada de *Alstroemeria* spp. var. Nadya. Como control de crecimiento se empleó el hongo cultivado únicamente en medio PDA, el cual sirvió como referencia del desarrollo normal de las especies en estudio y como criterio para finalizar el experimento, una vez que el micelio cubrió por completo la superficie de la placa de Petri. Los controles positivos correspondieron a los fungicidas de uso comercial empleados para el control de los patógenos *F. oxysporum* y *B. cinerea* en cultivos: Format<sup>®</sup> 70WP y Basamid<sup>®</sup>, respectivamente. Estos se prepararon a las concentraciones recomendadas por la empresa C.I. Flores Funza S.A. y según lo indicado en las fichas técnicas de los productos.

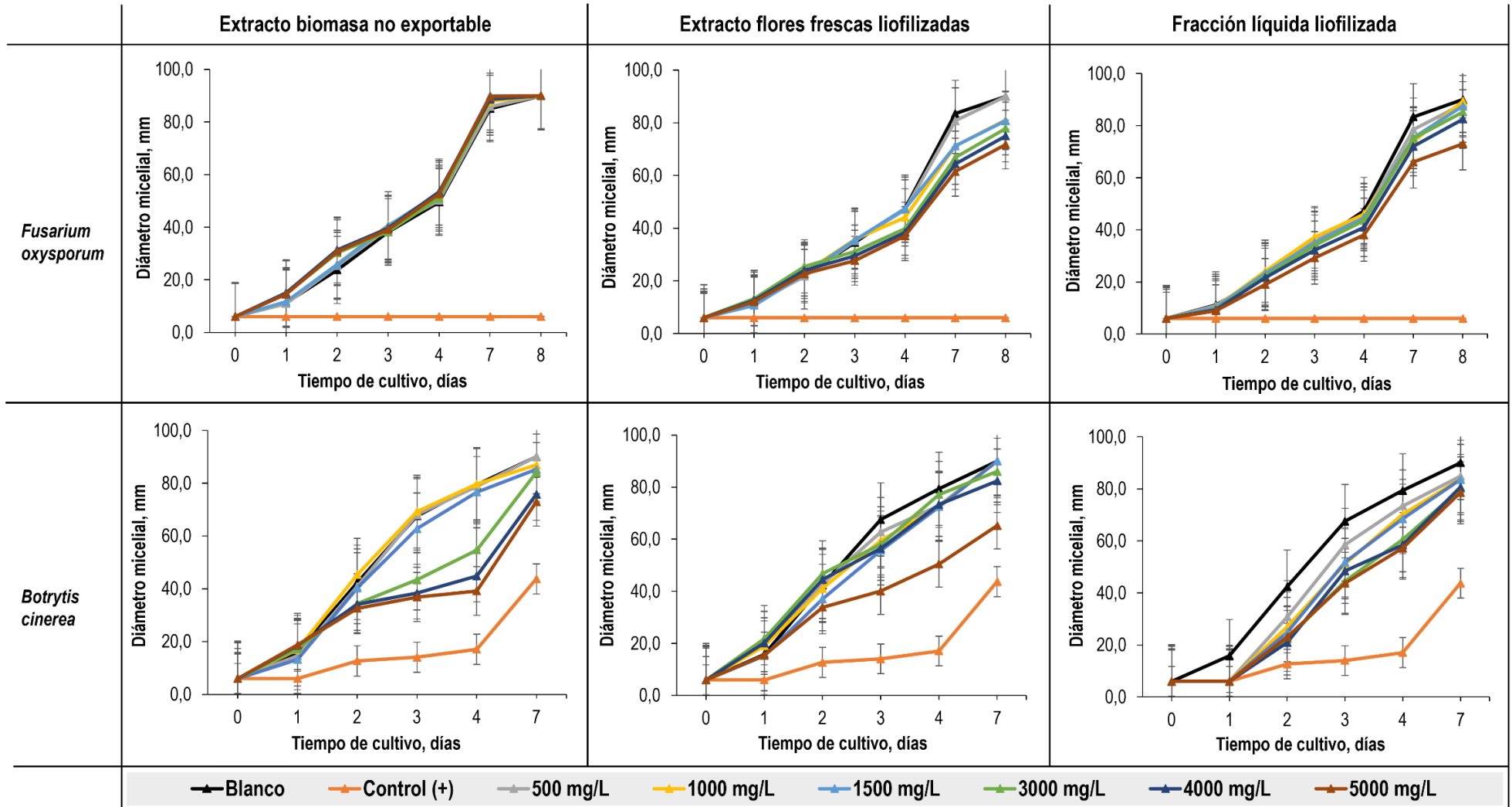
En el caso del extracto obtenido de la biomasa no exportable de *Alstroemeria* spp. var. Nadya, se observó que frente a *F. oxysporum* presenta una actividad antifúngica muy baja (**Figura**

**31).** No se detectó inhibición en el crecimiento del micelio; por el contrario, este pareció incrementarse en presencia del extracto, tanto a bajas como a altas concentraciones. La ausencia de actividad inhibitoria observada en este extracto podría atribuirse a una baja concentración de compuestos bioactivos con efecto antifúngico. Es posible que, en lugar de generar inhibición, los metabolitos presentes actúen como fuentes adicionales de carbono y energía, favoreciendo el crecimiento del hongo (Rauha *et al.*, 2000). Este comportamiento contrasta con el observado para el extracto de flores frescas liofilizadas y para la fracción líquida liofilizada, en los cuales sí se registró una reducción en los diámetros de crecimiento medidos a medida que aumentaba la concentración de extractos y fracción líquida en el medio de cultivo. En *B. cinerea*, las tres muestras evaluadas ejercieron un efecto inhibitorio sobre el crecimiento del hongo, evidenciado por una reducción en su desarrollo en comparación con el control de crecimiento.

La prueba de comparaciones múltiples de Tukey (HSD) permitió identificar diferencias significativas en el porcentaje de inhibición del crecimiento fúngico entre los tratamientos evaluados con extractos hidroetanólicos y con la fracción líquida de *Alstroemeria* spp. var. Nadya, aplicados a diferentes concentraciones. En la **Figura 32** se presentan las gráficas correspondientes; los controles positivos de los fungicidas Basamid<sup>®</sup> y Format<sup>®</sup> 70WP fueron omitidos para mejorar la visualización de la escala, dado que registraron porcentajes de inhibición de  $100 \pm 0$  y  $49.4 \pm 2.4$  %, respectivamente.

**Figura 31.**

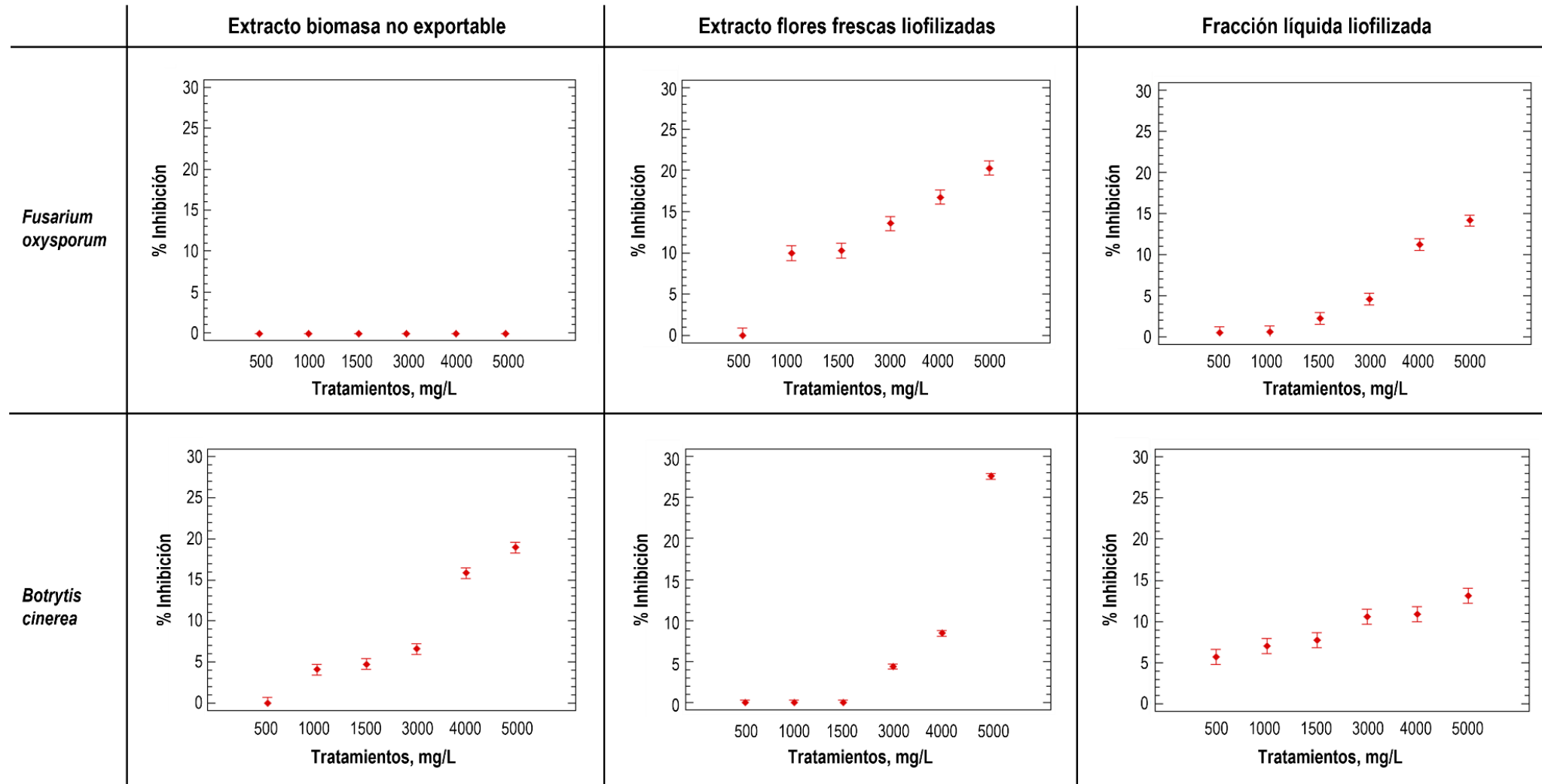
Curvas de crecimiento micelial para cultivos de *Botrytis cinerea* y *Fusarium oxysporum* en medio PDA y PDA suplementado con los extractos hidroetanólicos de la biomasa no exportable y flores frescas liofilizadas, y la fracción líquida de *Alstroemeria* spp. var. *Nadya* para concentraciones finales de 500, 1000, 1500, 3000, 4000 y 5000 mg/L.



Nota: el control (+)\* se preparó usando los fungicidas comerciales Basamid® (*F. oxysporum*) y Format® 70WP (*B. cinerea*) a una concentración de 65 g/m<sup>2</sup> y 1.5 g/L, respectivamente. El blanco corresponde al hongo en medio de cultivo PDA. Cada curva representa la media de dos experimentos independientes, y las barras de error indican la desviación estándar correspondiente.

**Figura 32.**

Comparaciones múltiples de medias mediante la prueba de Tukey (HSD) para el porcentaje de inhibición del crecimiento fúngico entre tratamientos con diferentes concentraciones de extractos hidroetanólicos de la biomasa no exportable y flores frescas liofilizadas, y fracción líquida de *Alstroemeria* spp. var. *Nadya*.



Nota: las barras representan intervalos de confianza al 95 %. Grupos cuyas barras no se solapan difieren significativamente ( $p = 0.05$ ). Los controles positivos Basamid® ( $100 \pm 0$  %) y Format® 70WP ( $49.4 \pm 2.4$  %) fueron omitidos del gráfico con el fin de mejorar la visualización de la escala.

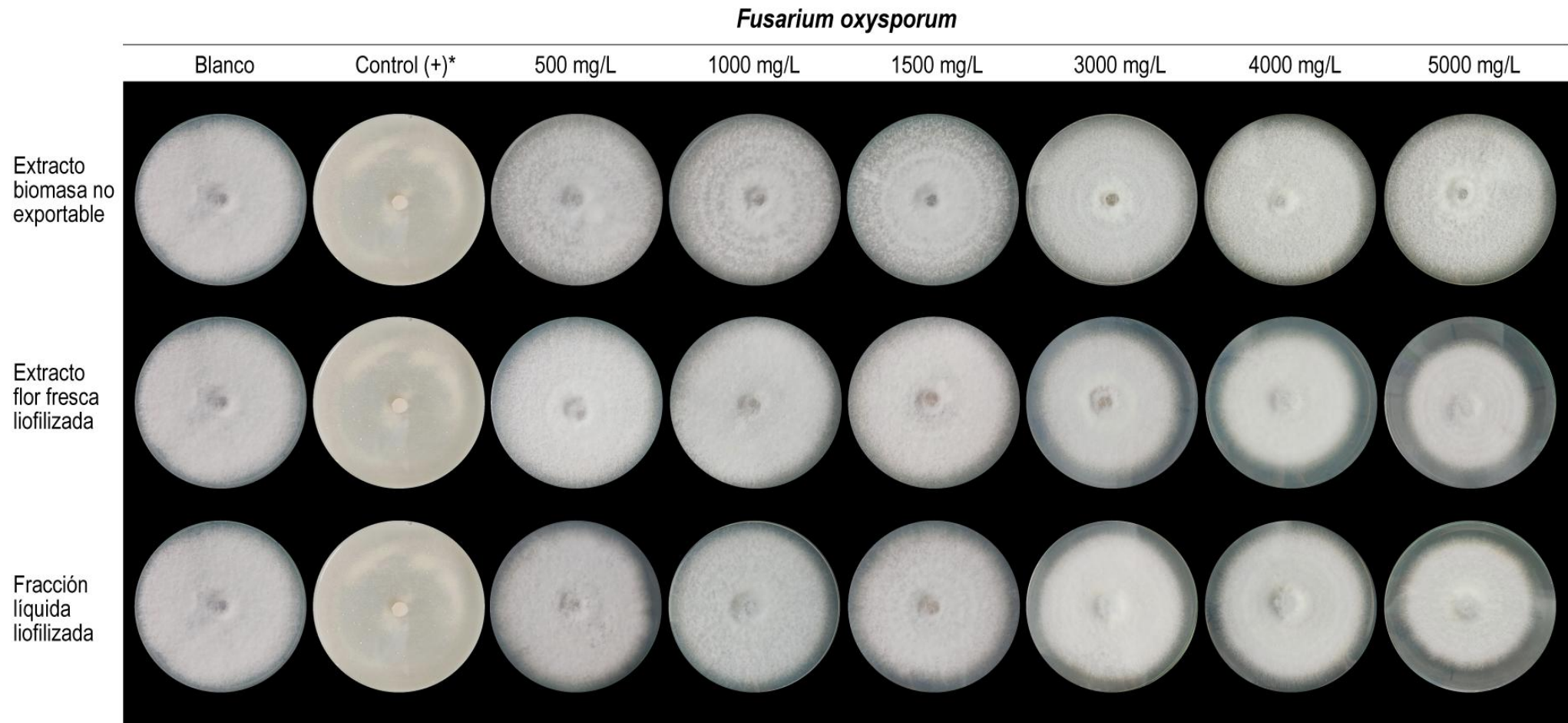
En el caso de *F. oxysporum*, el extracto obtenido de la biomasa no presentó actividad inhibitoria. Por el contrario, el extracto de flores frescas liofilizadas mostró diferencias significativas entre todas las concentraciones evaluadas, excepto entre 1000 y 1500 mg/L. Un patrón similar se observó en la fracción líquida liofilizada, en la cual no se detectaron diferencias significativas entre las concentraciones más bajas (500, 1000 y 1500 mg/L). El hongo *B. cinerea* fue más sensible a los tratamientos realizados con los extractos y la fracción líquida. Para el extracto de la biomasa y flores frescas, se observó el mismo comportamiento anteriormente descrito para *F. oxysporum*, mientras que, para la fracción líquida, los valores de inhibición estuvieron muy cercanos, como se observa en la **Figura 32**. En las **Figuras 33 y 34** se observa el crecimiento macroscópico de los hongos *F. oxysporum* y *B. cinerea* cultivado en PDA y PDA suplementado con los extractos hidroetanólicos de la biomasa no exportable y flores frescas liofilizadas, y la fracción líquida de *Alstroemeria* spp. var. Nadya para concentraciones finales de 500, 1000, 1500, 3000, 4000 y 5000 mg/L.

De las tres muestras analizadas, el extracto hidroetanólico de flores frescas liofilizadas presentó el mayor porcentaje de inhibición frente a *F. oxysporum* ( $20 \pm 1.3$  % a 5000 mg/L) y *B. cinerea* ( $27.6 \pm 0.3$  % a 5000 mg/L), a pesar de que la fracción líquida liofilizada contenía la mayor cantidad de tulipalina-A, compuesto con actividad fungicida reportada en especies del género *Alstroemeria*. Este resultado sugiere que, en el extracto de flores frescas liofilizadas, otros flavonoides presentes, como antocianinas y flavonoles, podrían ejercer un efecto sinérgico que contribuya a la inhibición del crecimiento micelial, de acuerdo con las propiedades biológicas previamente descritas para estos compuestos (Abody & Mickymaray, 2020). La fracción líquida liofilizada de *Alstroemeria* spp. var. Nadya, a pesar de tener la mayor cantidad del alérgeno tulipalina-A, puede tener otros compuestos que ayudan al desarrollo del hongo, los cuales se

obtienen del proceso de prensado del material vegetal, *e.g.* carbohidratos simples, aminoácidos y compuestos fenólicos. La presencia de flavonoides y antocianinas podría contribuir a la actividad biológica observada, mientras que los azúcares y aminoácidos pueden actuar como fuentes de carbono y energía para los hongos, de manera que puede darse una competencia entre la inhibición y el crecimiento fúngico a causa de los compuestos presentes en el extracto.

**Figura 33.**

*Aspectos macroscópicos de Fusarium oxysporum cultivado en medio PDA suplementado con los extractos hidroetanólicos de la biomasa no exportable y flores frescas liofilizadas, y la fracción líquida de Alstroemeria spp. var. Nadya para concentraciones finales de 500, 1000, 1500, 3000, 4000 y 5000 mg/L.*

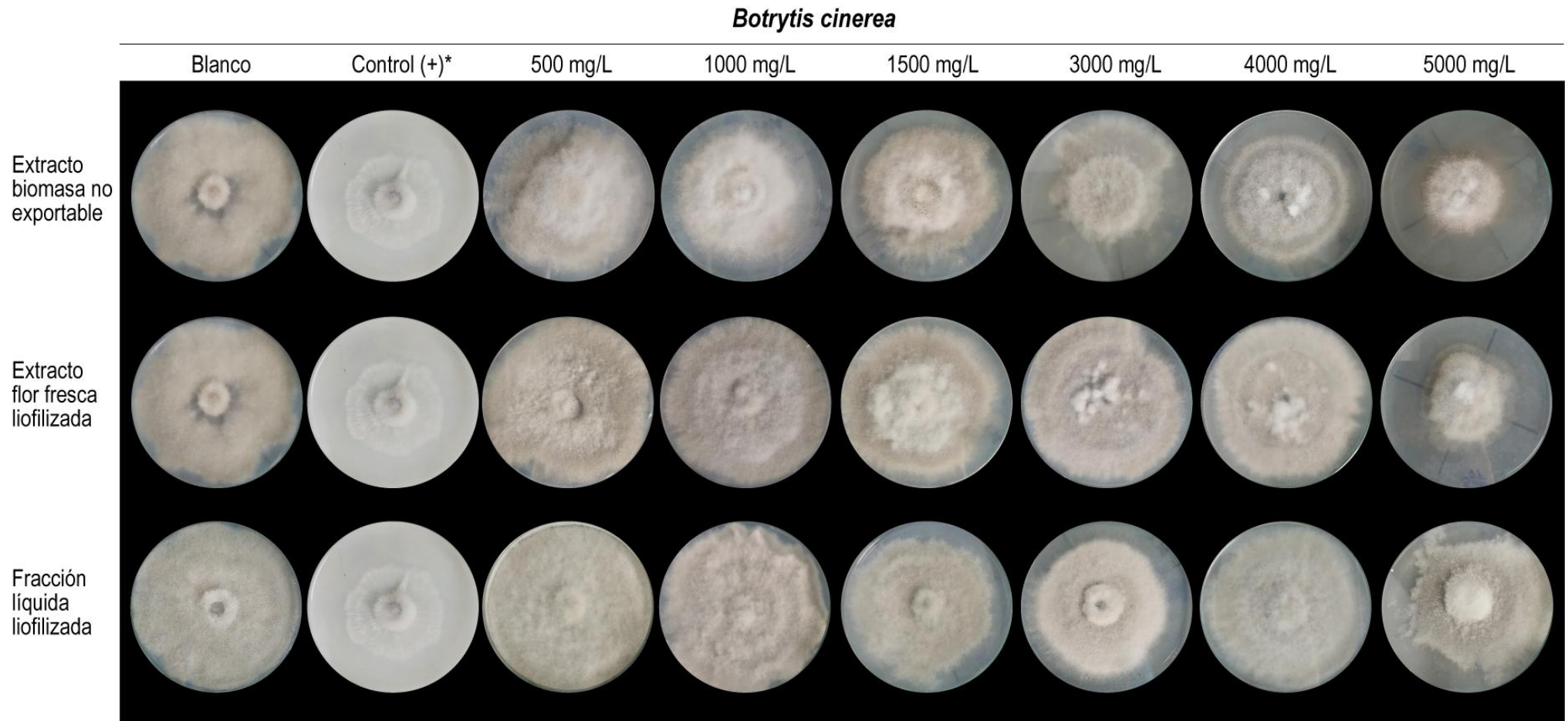


\* Fungicida sintético comercial (Basamid<sup>®</sup>, dazomet 99.9 %)

*Nota:* el control (+)\* se preparó usando el fungicida comercial Basamid<sup>®</sup> (65 g/m<sup>2</sup>) y el blanco corresponde al hongo en medio de cultivo PDA solo.

**Figura 34.**

Aspectos macroscópicos de *Botrytis cinerea* cultivado en medio PDA suplementado con los extractos hidroetanólicos de la biomasa no exportable y flores frescas liofilizadas, y la fracción líquida de *Alstroemeria* spp. var. Nadya para concentraciones finales de 500, 1000, 1500, 3000, 4000 y 5000 mg/L.



\* Fungicida sintético comercial (Format® 70 WP, propineb 700 g/kg)

*Nota:* el control (+)\* se preparó usando el fungicida comercial Format® 70WP (1.5 g/L) y el blanco corresponde al hongo en medio de cultivo PDA solo.

En floricultura, los procesos de hibridación y mutagénesis constituyen herramientas fundamentales para el desarrollo de nuevas variedades. Estos tienen como objetivo la obtención de cultivares con colores llamativos, mayor resistencia a cambios climáticos, prolongación del período de floración en campo, aroma floral distintivo, mayor vida en florero, reducción del contenido de alérgenos y resistencia a insectos y plagas. En el caso del género *Alstroemeria*, se han desarrollado híbridos fragantes a partir de la especie *A. cryophyllaea*, así como híbridos resistentes al invierno utilizando la especie chilena *A. aurea* (Dhiman & Kashyap, 2021). Respecto al contenido de alérgenos en *Alstroemeria*, Kristiansen y Christensen (1998) llevaron a cabo un estudio orientado a su reducción mediante mejoramiento por mutagénesis, empleando radiación con rayos gamma. Los autores identificaron compuestos alergénicos como tulipalina A, tulipósido A y tulipósido D, siendo este último detectado en cantidades muy bajas. Asimismo, se destaca que tanto la mutagénesis como la hibridación son estrategias viables para disminuir el contenido de alérgenos. Las plantas de *Alstroemeria* con bajos niveles de alérgenos en las hojas son de especial interés, dado que los trabajadores suelen entrar en contacto con la savia en el deshoje manual durante la cosecha de las flores. En contraste, las altas concentraciones en flores y tallos resultan más tolerables, ya que estas estructuras sufren menos daños durante el manejo postcosecha. Finalmente, los autores concluyen que serán necesarias varias generaciones de mejoramiento antes de que puedan introducirse cultivares que reduzcan significativamente el riesgo de sensibilización por contacto.

La variedad *Alstroemeria* spp. var. Nadya es un híbrido comercial que, probablemente, ha sido desarrollado mediante varias generaciones de mejoramiento genético, combinando técnicas de hibridación y mutagénesis. Si bien en las flores se detectaron compuestos alergénicos bioactivos y se observó un efecto sobre el crecimiento fúngico al incrementar las concentraciones de extractos

y fracción líquida en el medio, dichas concentraciones no resultaron suficientes para provocar una inhibición significativa en el desarrollo de *F. oxysporum* y *B. cinerea*. Por lo tanto, en las condiciones evaluadas, los extractos hidroetanólicos de la biomasa no exportable y flores frescas liofilizadas, y la fracción líquida obtenida por el prensado de flores de *Alstroemeria* spp. var. Nadya, no pueden considerarse como bioproductos con potencial para la formulación de tratamientos destinados al control de patógenos en cultivos.

## 6. CONCLUSIONES

En este trabajo se obtuvieron extractos hidroetanólicos a partir de biomasa no exportable y de flores frescas liofilizadas de *Alstroemeria* spp. var. Nadya, con rendimientos de extracción de  $9.5 \pm 0.74$  % y  $49.6 \pm 0.34$  % (p/p), respectivamente. La fracción líquida, obtenida por prensado manual del material vegetal fresco, presentó un rendimiento de  $23 \pm 1.4$  % (mL de fracción/g de material vegetal fresco) y, tras su liofilización, se obtuvieron  $5.52 \pm 0.13$  g por cada 100 mL de fracción líquida.

El análisis por GC/MS de los extractos y de la fracción líquida de *Alstroemeria* spp. var. Nadya mostró una baja presencia de compuestos volátiles. Entre ellos, el alérgeno  $\alpha$ -metileno- $\gamma$ -butirolactona (tulipalina-A) fue el componente predominante, detectado en mayor concentración en la fracción líquida liofilizada ( $3.97 \pm 0.02$  %) y en el extracto de flores frescas liofilizadas ( $1.71 \pm 0.02$ ). Adicionalmente, en la fracción líquida liofilizada se encontró la 3,5-dihidroxi-6-metil-2,3-dihidro-4H-piran-4-ona (DDMP,  $0.145 \pm 0.001$  %), producto volátil derivado de la degradación de azúcares mediante la reacción de Maillard. Mediante UHPLC/Q-Orbitrap-HRMS se identificaron flavonoles, antocianinas y alérgenos y sus derivados. Los compuestos principales fueron la tulipalina-A ( $[M+H]^+$ ,  $m/z$  99.04449), kaempferol-3-O-arabinósido ( $[M+H]^+$ ,  $m/z$  419.09723), hidroxicianidina-rutinósido ( $[M]^+$ ,  $m/z$  611.16095) y el kaempferol-ramnósido-xilósido ( $[M+H]^+$ ,  $m/z$  565.15533).

Los extractos de la biomasa no exportable y de flores frescas liofilizadas de *Alstroemeria* spp. var. Nadya presentaron la actividad antioxidante más alta (ORAC:  $1700 \pm 77$ ,  $1710 \pm 83$  y ABTS<sup>+</sup>:  $88 \pm 1$ ,  $88 \pm 0.4$ ,  $\mu\text{mol Trolox}^{\text{®}}$ /g muestra, respectivamente), los flavonoides identificados en estos extractos contribuyen a la actividad antioxidante.

El extracto de flores frescas mostró la actividad antifúngica más alta contra *F. oxysporum* ( $20 \pm 1.3$  % de inhibición) y *B. cinerea* ( $27.6 \pm 0.3$  % de inhibición), sin embargo, su eficacia fue menor que la de los fungicidas sintéticos usados como controles positivos, lo que sugiere que, si bien posee compuestos con potencial antifúngico, sería necesario optimizar su concentración o método de aplicación para incrementar su efectividad. El extracto de la biomasa no exportable no mostró actividad frente a *F. oxysporum* (0 % de inhibición), pero sí contra *B. cinerea* ( $19 \pm 1.3$  %), lo que sugiere que su potencial antifúngico podría ser específico para determinadas especies y, por tanto, merece ser explorado en estudios posteriores.

Entre las tres muestras estudiadas, el extracto de flores frescas liofilizadas destacó por presentar las actividades biológicas más elevadas. Los resultados de esta investigación constituyen una primera aproximación al desarrollo de alternativas que favorezcan el aprovechamiento integral de los residuos postcosecha generados en los cultivos de flores del género *Alstroemeria*, orientadas a la identificación de compuestos bioactivos con potencial para el control de plagas de forma más sostenible.

**Referencias Bibliográficas**

- Abad-García, B., Berrueta, L. A., Garmón-Lobato, S., Gallo, B., & Vicente, F. (2009). A general analytical strategy for the characterization of phenolic compounds in fruit juices by high-performance liquid chromatography with diode array detection coupled to electrospray ionization and triple quadrupole mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1216(28). <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.05.039>
- Abody, Saleh. M., & Mickymaray, S. (2020). Antibiotics Anti-Fungal E ffi cacy and Mechanisms of Flavonoids. *Antibiotics*, 9(45).
- Adams, R. (2007). *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry* (4a ed.). Allured Publishing Corporation.
- Adams, R. M., Daily, A. D., Brancaccio, R. R., Dhillon, P. S., & Gendler, E. C. (1990). Alstroemeria. A new and potent allergen for florists. *Dermatologic Clinics*, 8(1), 73–76. [https://doi.org/10.1016/s0733-8635\(18\)30525-4](https://doi.org/10.1016/s0733-8635(18)30525-4)
- Ahuja, S. (2003). *Chromatography and separation science* (Vol. 4). Academic Press.
- Alappat, B., & Alappat, J. (2020). Anthocyanin pigments: Beyond aesthetics. En *Molecules* (Vol. 25, Número 23). <https://doi.org/10.3390/molecules25235500>
- Alzate G, F. A., Gil Q, J. A., Jiménez U, N. del S., Arango A, G. J., & Weniger, B. (2011). Antioxidant potential of some species of the genus *Bomarea* (Alstroemeriaceae). *Vitae*, 18(2), 201–207. <https://doi.org/10.17533/udea.vitae.10061>
- Arie, T. (2019). Fusarium diseases of cultivated plants, control, diagnosis, and molecular and genetic studies. *Journal of Pesticide Science*, 44(4). <https://doi.org/10.1584/JPESTICS.J19-03>
- Aros, D., Gonzalez, V., Allemann, R. K., Müller, C. T., Rosati, C., & Rogers, H. J. (2012). Volatile emissions of scented *Alstroemeria* genotypes are dominated by terpenes, and a myrcene synthase

- gene is highly expressed in scented *Alstroemeria* flowers. *Journal of Experimental Botany*, 63(7). <https://doi.org/10.1093/jxb/err456>
- Aros, D., Spadafora, N., Venturi, M., Núñez-Lillo, G., Meneses, C., Methven, L., Müller, C. T., & Rogers, H. (2015). Floral scent evaluation of segregating lines of *Alstroemeria caryophyllaea*. *Scientia Horticulturae*, 185. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.01.014>
- Aros, D., Suazo, M., Medel, M., & Ubeda, C. (2022). Chemical and Sensorial Characterization of Scented and Non-Scented *Alstroemeria* Hybrids. *Horticulturae*, 8(1). <https://doi.org/10.3390/horticulturae8010065>
- Asocolflores. (2024). *Informe de logros 2023*. <https://asocolflores.org/es/>
- Babushok, V. , L. P. , & Z. I. (2011). Retention indices for frequently reported compounds of plant essential oils. *Journal of Physical and Chemical Reference Data*, 40, 1–47.
- Bayer, E. (1998). *Alstroemeriaceae*. En *Flowering Plants · Monocotyledons*. [https://doi.org/10.1007/978-3-662-03533-7\\_10](https://doi.org/10.1007/978-3-662-03533-7_10)
- Bergman, B. H. H., Beijersbergen, J. C. M., Overeem, J. C., & Sijpesteijn, A. K. (1967). Isolation and identification of  $\alpha$ -methylene-butyrolactone, A fungitoxic substance from tulips. *Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas*, 86(7). <https://doi.org/10.1002/recl.19670860703>
- Bi, K., Liang, Y., Mengiste, T., & Sharon, A. (2023). Killing softly: a roadmap of *Botrytis cinerea* pathogenicity. En *Trends in Plant Science* (Vol. 28, Número 2, pp. 211–222). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2022.08.024>
- Brongersma-Oosterhoff, U. W. (1967). Structure determination of the allergenic agent, isolated from tulip bulbs. *Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas*, 86(7). <https://doi.org/10.1002/recl.19670860702>

- Cámara de Comercio de Bogotá. (2015). *Manual flores y follajes*.  
<https://bibliotecadigital.ccb.org.co/items/1a5e2749-51e4-4171-99ff-97a17c590586>
- Chacón, J., de Assis, M. C., Meerow, A. W., & Renner, S. S. (2012). From East Gondwana to Central America: Historical biogeography of the Alstroemeriaceae. *Journal of Biogeography*, 39(10).  
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2012.02749.x>
- Chandel, A., Thakur, M., Singh, G., Dogra, R., Bajad, A., Soni, V., & Bhargava, B. (2023). Flower Regulation in Floriculture: An Agronomic Concept and Commercial Use. En *Journal of Plant Growth Regulation* (Vol. 42, Número 4). <https://doi.org/10.1007/s00344-022-10688-0>
- Chonghui, L., Hui, D., Wang, L., Qingyan, S., Zheng, Y., Yanjun, X., Zhang, J., Zhang, J., Yang, R., & Yuxuan, G. (2009). Flavonoid composition and antioxidant activity of tree peony (*Paeonia* section *moutan*) yellow flowers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(18).  
<https://doi.org/10.1021/jf902103b>
- Christensen, L. P. (1999). Direct release of the allergen tulipalin A from Alstroemeria cut flowers: A possible source of airborne contact dermatitis? *Contact Dermatitis*, 41(6), 320–324.  
<https://doi.org/10.1111/j.1600-0536.1999.tb06180.x>
- Christensen, L. P., & Kristiansen, K. (1995). A simple HPLC method for the isolation and quantification of the allergens tuliposide A and tulipalin A in Alstroemena. *Contact Dermatitis*, 32(4), 199–203. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0536.1995.tb00669.x>
- Christensen, L. P., & Kristiansen, K. (1999). Isolation and quantification of tuliposides and tulipalins in tulips (*Tulipa*) by high-performance liquid chromatography. *Contact Dermatitis*, 40(6).  
<https://doi.org/10.1111/j.1600-0536.1999.tb06080.x>
- CI Flores Funza S.A.S. (2024). *Documento interno de la empresa CI Flores Funza S.A.S., Especificaciones de producto final de Alstroemeria. Versión 2. .*

- CI Flores Funza S.A.S. (2024). *Información del departamento de proyectos de investigación y desarrollo*.
- Collado, I., Aleu, J., Hernandez-Galan, R., & Duran-Patron, R. (2005). Botrytis Species: An Intriguing Source of Metabolites with a Wide Range of Biological Activities. Structure, Chemistry and Bioactivity of Metabolites Isolated from Botrytis Species. *Current Organic Chemistry*, 4(12). <https://doi.org/10.2174/1385272003375815>
- Correa, Z., Zúñiga, A., Garfias, C., & Bello-Pérez, L. A. (2013). Isolation and characterization of *Alstroemeria hookeri* ssp. *hookeri* starch in comparison with potato starch. *Starch/Staerke*, 65(11–12), 991–998. <https://doi.org/10.1002/star.201200265>
- Coyago-Cruz, E., Guachamin, A., Vera, E., Moya, M., Heredia-Moya, J., & Beltrán, E. (2023). Physicochemical characteristics and antioxidant capacity of Ecuadorian paramo flowers. En *Bionatura* (Vol. 8, Número 1). Centro de Biotecnología y Biomedicina, Clinical Biotec. Universidad Católica del Oriente (UCO), Univesidad Yachay Tech. <https://doi.org/10.21931/RB/2023.08.01.21>
- Cuadra, P., Furrianca, M., Oyarzún, A., Yáñez, E., Gallardo, A., & Fajardo, V. (2005). Biological activity of some Patagonian plants. *Fitoterapia*, 76(7–8), 718–721. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2005.07.007>
- Da Silva Sa, F. A., De Paula, J. A. M., Dos Santos, P. A., Oliveira, L. D. A. R., Oliveira, G. D. A. R., Liao, L. M., De Paula, J. R., & Silva, M. D. R. R. (2017). Phytochemical analysis and antimicrobial activity of *Myrcia tomentosa* (Aubl.) DC. leaves. *Molecules*, 22(7). <https://doi.org/10.3390/molecules22071100>

- DANE. (2024). *Boletín técnico Exportaciones (EXPO) Septiembre 2024*.  
<https://www.dane.gov.co/index.php/estadisticas-por-tema/comercio-internacional/exportaciones>
- Dhiman, M. R., & Kashyap, B. (2021). Alstroemeria: Conservation, Characterization, and Evaluation. En *Floriculture and Ornamental Plants*. [https://doi.org/10.1007/978-981-15-1554-5\\_7-1](https://doi.org/10.1007/978-981-15-1554-5_7-1)
- INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO (ICA). Noticias: exportadores de flores a Australia deben cumplir nuevos requisitos exigidos por ese país. Medidas fitosanitarias para el manejo de plagas cuarentenarias en envíos de flor cortada y follaje exportados desde Colombia a Australia. Disponible en: <https://www.ica.gov.co/noticias/ica-plagas-cuarentenarias-flores-australia>. Fecha de consulta: 2 de marzo de 2024.
- Doehlemann, G., Ökmen, B., Zhu, W., & Sharon, A. (2017). Plant Pathogenic Fungi. *Microbiology Spectrum*, 5(1). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.funk-0023-2016>
- Donoso, A., Rivas, C., Zamorano, A., Peña, Á., Handford, M., & Aros, D. (2021). Understanding alstroemeria pallida flower colour: Links between phenotype, anthocyanins and gene expression. *Plants*, 10(1). <https://doi.org/10.3390/plants10010055>
- Duarte, J. J. F., Rincón-Sandoval, C. M., Quinche, C. Y., Soto, J. C., & Monroy, Í. E. (2022). Basal rot in carnation (*Dianthus caryophyllus* L.) is caused by *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg. *Agronomia Colombiana*, 40(1). <https://doi.org/10.15446/agron.colomb.v40n1.99009>
- Ekwomadu, T. I., Akinola, S. A., & Mwanza, M. (2021). *Fusarium* mycotoxins, their metabolites (Free, emerging, and masked), food safety concerns, and health impacts. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(22). <https://doi.org/10.3390/ijerph182211741>

- Fernández, G. (2024). *Síntesis de Lactonas*. <https://www.quimicaorganica.org/acidos-carboxilicos/432-sintesis-de-lactonas.html>. Recuperado el 26 de agosto de 2025, de <https://www.quimicaorganica.org/acidos-carboxilicos/432-sintesis-de-lactonas.html>
- Ferrante, A., & Ferrini, F. (2023). Floriculture and landscapes: Perspectives and challenges. *Frontiers in Horticulture*, 2. <https://doi.org/10.3389/fhort.2023.1123298>
- Fillinger, S., & Elad, Y. (2015). Botrytis - The fungus, the pathogen and its management in agricultural systems. En *Botrytis - The Fungus, the Pathogen and its Management in Agricultural Systems*. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-23371-0>
- Finot, V., Baeza, C., Muñoz-Schick, M., Ruiz, E., Espejo, J., Alarcón, D., Carrasco, P., Novoa, P., & Eyzaguirre, M. T. (2018). *Guía de Campo Alstroemerias Chilenas* (Corporación Chilena de la Madera, Ed.).
- Flieger, J., Flieger, W., Baj, J., & Maciejewski, R. (2021). Antioxidants: Classification, natural sources, activity/capacity measurements, and usefulness for the synthesis of nanoparticles. En *Materials* (Vol. 14, Número 15). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ma14154135>
- Garcés de Granada, E., Martha, O. D. A., Bautista, G. R., & Valencia, H. (2001). Fusarium oxysporum El hongo que nos falta conocer. *Acta Biológica Colombiana*, 6(1), 7–26.
- González-Fernández, R., Prats, E., & Jorrín-Novo, J. V. (2010). Proteomics of plant pathogenic fungi. En *Journal of Biomedicine and Biotechnology* (Vol. 2010). <https://doi.org/10.1155/2010/932527>
- Gross, J. H. (2011). Mass spectrometry: A textbook: Second edition. En *Mass Spectrometry: A Textbook: Second Edition*. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-10711-5>
- Gulcin, İ. (2020). Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. En *Archives of Toxicology* (Vol. 94, Número 3, pp. 651–715). Springer. <https://doi.org/10.1007/s00204-020-02689-3>

- Halliwell, B. (1990). How to characterize a biological antioxidant. *Free Radical Research*, 9(1).  
<https://doi.org/10.3109/10715769009148569>
- Hausen, B. M., Prater, E., & Schubert, H. (1983). The sensitizing capacity of *Alstroemeria* cultivars in man and guinea pig: Remarks on the occurrence, quantity and irritant and sensitizing potency of their constituents tuliposide A and tulipalin A ( $\alpha$ -methylene- $\gamma$ -butyrolactone). *Contact Dermatitis*, 9(1), 46–54. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0536.1983.tb04625.x>
- Healy, W. E., & Wilkins, H. F. (2018). *Alstroemeria*. En *Handbook of Flowering: Volume I* (pp. 419–424). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781351072533>
- Hendricks, K. E., Christman, M. C., & Roberts, P. D. (2017). A statistical evaluation of methods of in-vitro growth assessment for *Phyllosticta citricarpa*: Average colony diameter vs. area. *PLoS ONE*, 12(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170755>
- Hu, Q., Noll, R. J., Li, H., Makarov, A., Hardman, M., & Cooks, R. G. (2005). The Orbitrap: A new mass spectrometer. En *Journal of Mass Spectrometry* (Vol. 40, Número 4).  
<https://doi.org/10.1002/jms.856>
- Ismaila, A. A., Ahmad, K., Siddique, Y., Wahab, M. A. A., Kutawa, A. B., Abdullahi, A., Zobir, S. A. M., Abdu, A., & Abdullah, S. N. A. (2023). Fusarium wilt of banana: Current update and sustainable disease control using classical and essential oils approaches. *Horticultural Plant Journal*, 9(1). <https://doi.org/10.1016/j.hpj.2022.02.004>
- Iwashina, T. (2015). Contribution to flower colors of flavonoids including anthocyanins: A review. En *Natural Product Communications* (Vol. 10, Número 3).  
<https://doi.org/10.1177/1934578x1501000335>

- Jara-Seguel, P., Jara-Arancio, P., Andrade, E., Urrutia-Estrada, J., Palma-Rojas, C., & Araya-Jaime, C. (2021). Cytogenetics of wild species of the Alstroemeriaceae family (Liliales). *Plant Systematics and Evolution*, 307(3). <https://doi.org/10.1007/s00606-021-01756-1>
- Jeon, C. S., Kim, G. H., Son, K. I., Hur, J. S., Jeon, K. S., Yoon, J. H., & Koh, Y. J. (2013). Root rot of balloon flower (*Platycodon grandiflorum*) caused by *Fusarium solani* and *Fusarium oxysporum*. En *Plant Pathology Journal* (Vol. 29, Número 4, pp. 440–445). <https://doi.org/10.5423/PPJ.NT.07.2013.0073>
- Khoo, H. E., Azlan, A., Tang, S. T., & Lim, S. M. (2017). Anthocyanidins and anthocyanins: colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. *Food & Nutrition Research*, 61(1), 1361779. <https://doi.org/10.1080/16546628.2017.1361779>
- Kristiansen, K., & Christensen, L. P. (1998). Allergen contents in *Alstroemeria* can be reduced by breeding. *Euphytica*, 101(3). <https://doi.org/10.1023/A:1018322219722>
- Lang, Y., Gao, N., Zang, Z., Meng, X., Lin, Y., Yang, S., Yang, Y., Jin, Z., & Li, B. (2024). Classification and antioxidant assays of polyphenols: a review. En *Journal of Future Foods* (Vol. 4, Número 3). <https://doi.org/10.1016/j.jfutfo.2023.07.002>
- Lee, T. D. (2011). Introduction to Modern Liquid Chromatography, Third Edition. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 22(1), 196–196. <https://doi.org/10.1007/s13361-010-0021-8>
- Li, H., Chen, B., & Yao, S. (2005). Application of ultrasonic technique for extracting chlorogenic acid from *Eucommia ulmoides* Oliv. (*E. ulmoides*). *Ultrasonics Sonochemistry*, 12(4). <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2004.01.033>
- Lim, S. S., Lee, S. Il, Kang, S. C., & Kim, J. B. (2014). *Alstroemeria* plants and its biotechnological applications. *Journal of Plant Biotechnology*, 39(4). <https://doi.org/10.5010/JPB.2012.39.4.219>

- Lovell, C., Paulsen, E., & Lepoittevin, J.-P. (2020). Adverse Skin Reactions to Plants and Plant Products. En *Contact Dermatitis*. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-72451-5\\_88-2](https://doi.org/10.1007/978-3-319-72451-5_88-2)
- Loyola, C. E., Dole, J. M., & Dunning, R. (2019). South and central america cut flower production and postharvest survey. *HortTechnology*, 29(6), 898–905. <https://doi.org/10.21273/HORTTECH04484-19>
- Ma, Y. L., Li, Q. M., Van Den Heuvel, H., & Claeys, M. (1997). Characterization of flavone and flavonol aglycones by collision-induced dissociation tandem mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 11(12). [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0231\(199708\)11:12<1357::AID-RCM983>3.0.CO;2-9](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0231(199708)11:12<1357::AID-RCM983>3.0.CO;2-9)
- Mahmoud, M., BenRejeb, I., Punj, Z. K., Buirs, L., & Jabaji, S. (2023). Understanding bud rot development, caused by *Botrytis cinerea*, on cannabis (*Cannabis sativa* L.) plants grown under greenhouse conditions. En *Botany* (Vol. 101, Número 7, pp. 200–231). Canadian Science Publishing. <https://doi.org/10.1139/cjb-2022-0139>
- Maldoni, B. E., Lockhart, M. T., & Tombesi, O. L. (1993). Hydrocarbons and sterols of *Alstroemeria aurantiaca*. *Phytochemistry*, 34(2). [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(93\)80053-U](https://doi.org/10.1016/0031-9422(93)80053-U)
- Martin, S. F., & Bonefeld, C. M. (2020). Mechanisms of Irritant and Allergic Contact Dermatitis. En *Contact Dermatitis: Sixth Edition*. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-36335-2\\_59](https://doi.org/10.1007/978-3-030-36335-2_59)
- Martínez, J. (2024, febrero 23). *Botrytis: el hongo de la podredumbre gris de los cultivos*. ZeriMar Laboratoire.
- Mejía, J.; Martínez, J.; Stashenko, E. (2022). *Estudio de la composición química y evaluación del potencial antioxidante, citotóxico y sensibilizante de extractos de Hibiscus rosa-sinensis (Malváceas) y de la biomasa residual de Lippia origanoides (Verbenáceas) como posibles*

*ingredientes en productos cosméticos*. Tesis de Doctorado en Química, Universidad Industrial de Santander.

- Mileva, M., Ilieva, Y., Jovtchev, G., Gateva, S., Zaharieva, M. M., Georgieva, A., Dimitrova, L., Dobрева, A., Angelova, T., Vilhelmova-Ilieva, N., Valcheva, V., & Najdenski, H. (2021). Rose flowers—a delicate perfume or a natural healer? En *Biomolecules* (Vol. 11, Número 1, pp. 1–32). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/biom11010127>
- Munteanu, I. G., & Apetrei, C. (2021). Analytical methods used in determining antioxidant activity: A review. En *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 22, Número 7). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ijms22073380>
- Newman, S. E. (2019). Floriculture. En *Encyclopedia of Environmental Health* (pp. 19–33). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409548-9.11830-5>
- Nørbaek, R., Christensen, L. P., Bojesent, G., & Brandt, K. (1996). Anthocyanins in chilean species of *Alstroemeria*. *Phytochemistry*, 42(1). [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(95\)00859-4](https://doi.org/10.1016/0031-9422(95)00859-4)
- Nørbek, R., Christensen, L. P., & Brandt, K. (1998). An HPLC investigation of flower colour and breeding of anthocyanins in species and hybrids of *Alstroemeria*. *Plant Breeding*, 117(1), 63–67. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.1998.tb01449.x>
- Notte, A. M., Plaza, V., Marambio-Alvarado, B., Olivares-Urbina, L., Poblete-Morales, M., Silva-Moreno, E., & Castillo, L. (2021). Molecular identification and characterization of *Botrytis cinerea* associated to the endemic flora of semi-desert climate in Chile. *Current Research in Microbial Sciences*, 2. <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2021.100049>
- Ohorella, Z., Soekamto, M. H., Wahyudi, W., & Hariati, M. (2022). Uji ANTAGONIS *Trichoderma harzianum* TERHADAP *Fusarium oxysporum* PENYEBAB PENYAKIT LAYU PADA

- TANAMAN TOMAT (*Lycopersicum esculentum*) SECARA IN VITRO. *Median : Jurnal Ilmu Ilmu Eksakta*, 14(1), 7–15. <https://doi.org/10.33506/md.v14i1.1677>
- Panche, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: An overview. En *Journal of Nutritional Science* (Vol. 5). <https://doi.org/10.1017/jns.2016.41>
- Passão, C., Almeida-Aguiar, C., & Cunha, A. (2023). Modelling the In Vitro Growth of Phytopathogenic Filamentous Fungi and Oomycetes: The Gompertz Parameters as Robust Indicators of Propolis Antifungal Action. *Journal of Fungi*, 9(12). <https://doi.org/10.3390/jof9121161>
- Perincherry, L., Lalak-Kączugowska, J., & Stepién, L. (2019). Fusarium-produced mycotoxins in plant-pathogen interactions. En *Toxins* (Vol. 11, Número 11). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/toxins11110664>
- Porras, S., Sierra, L., Martínez, J., Stashenko, E. (2023). *Obtención de extractos hidroalcohólicos de las especies Scutellaria incarnata Vent, S. coccinea y S. ventenatii Hook x S. incarnata para su fraccionamiento y determinación de sus propiedades antivirales y antioxidantes*. Tesis de Maestría en Química, Universidad Industrial de Santander.
- Qiao, Y., Bi, J., Chen, Q., Wu, X., Jin, X., Gou, M., Yang, X., & Purcaro, G. (2022). Rapid and sensitive quantitation of DDMP (2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one) in baked red jujubes by HS-SPME-GC-MS/MS. *Food Control*, 135. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.108820>
- Rauha, J. P., Remes, S., Heinonen, M., Hopia, A., Kähkönen, M., Kujala, T., Pihlaja, K., Vuorela, H., & Vuorela, P. (2000). Antimicrobial effects of Finnish plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds. *International Journal of Food Microbiology*, 56(1). [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(00\)00218-X](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(00)00218-X)

- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9–10). [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Rigby, E. M. (2018). Disinfestation of floriculture products with ethyl formate fumigant: Vapormate®. *Acta Horticulturae*, 1205, 351–358. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2018.1205.41>
- Roca-Couso, R., Flores-Félix, J. D., & Rivas, R. (2021). Mechanisms of action of microbial biocontrol agents against botrytis cinerea. En *Journal of Fungi* (Vol. 7, Número 12). MDPI. <https://doi.org/10.3390/jof7121045>
- Rojas, J., Martínez, J., Stashenko, E. (2015). *Estudio de extractos de mora de castilla y de cáscara de plátano hartón para su uso como antioxidantes naturales en emulsiones de aceite en agua*. Tesis de Doctorado en Química, Universidad Industrial de Santander.
- Rustemeyer, T. (2022). Immunological Mechanisms in Allergic Contact Dermatitis. En *Current Treatment Options in Allergy* (Vol. 9, Número 2). <https://doi.org/10.1007/s40521-022-00299-1>
- Safdar, U., Ahmed, W., Ahmed, M., Hussain, S., Fatima, M., & Tahir, N. (2022). A Review: Pesticide Application in Agriculture and its Environmental Consequences. *International Journal of Agriculture and Biosciences*, 11(2), 125–130. <https://doi.org/10.47278/journal.ijab/2022.017>
- Saito, N., Yokoi, M., Ogawa, M., Kamijo, M., & Honda, T. (1988). 6-hydroxyanthocyanidin glycosides in the flowers of *Alstroemeria*. *Phytochemistry*, 27(5). [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(88\)80202-4](https://doi.org/10.1016/0031-9422(88)80202-4)
- Saito, N., Yokoi, M., Yamaji, M., & Honda, T. (1985). Anthocyanidin glycosides from the flowers of *Alstroemeria*. *Phytochemistry*, 24(9). [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)83139-8](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)83139-8)

- Schütz, K., Persike, M., Carle, R., & Schieber, A. (2006). Characterization and quantification of anthocyanins in selected artichoke (*Cynara scolymus* L.) cultivars by HPLC-DAD-ESI-MS n. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 384(7–8). <https://doi.org/10.1007/s00216-006-0316-6>
- Shahidi, F., & Zhong, Y. (2015). Measurement of antioxidant activity. *Journal of Functional Foods*, 18, 757–781. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.01.047>
- Standard reference data program of the National Institute of Standards and Technology. (2017). *The NIST mass spectral search program (2.3)*. .
- Stashenko, E. E., & Martínez, J. R. (2010). GC y GC-MS: configuración del equipo versus aplicaciones. *Scientia Chromatographica*, 2(3), 33–59. <http://www.scientiachromatographica.com/files/v2n3/v2n3a3.pdf>
- Stashenko, E. E., & René Martínez, J. (2009). Algunos aspectos de la detección en cromatografía de gases y cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. Selectividad e identificación. *Scientia Chromatographica*, 1, 29–45. [www.scientiachromatographica.com](http://www.scientiachromatographica.com)
- Stashenko, E. E., & René Martínez, J. (2010). GC-MS: Más de un Analizador de Masas, ¿para qué? *Scientia Chromatographica*, 2, 25–48. [www.scientiachromatographica.com](http://www.scientiachromatographica.com)
- Sugiharto, Y., Natania, E., Febriyanti, S. A., & Krisbianto, O. (2022). Comparison of gas chromatography detectors and its application in food analysis. *Journal of Food and Agricultural Product*, 2(1). <https://doi.org/10.32585/jfap.v2i1.2250>
- Tatsuzawa, F., Murata, N., Shinoda, K., Saito, N., Shigihara, A., & Honda, T. (2001). 6-Hydroxycyanidin 3-malonylglucoside from the flowers of *Alstroemeria* “tiara”. *Heterocycles*, 55(6). <https://doi.org/10.3987/com-01-9225>

- Tatsuzawa, F., Saito, N., Murata, N., Shinoda, K., Shigihara, A., & Honda, T. (2003). 6-Hydroxypelargonidin glycosides in the orange-red flowers of *Alstroemeria*. *Phytochemistry*, 62(8). [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(02\)00683-0](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(02)00683-0)
- Tatsuzawa, F., & Shinoda, K. (2005). Comparison between identification of anthocyanin by HPLC analysis with a photodiode array detector and that using TLC combined with UV-VIS spectral analysis. *Horticultural Research (Japan)*, 4(2), 225–228. <https://doi.org/10.2503/hrj.4.225>
- TRADE MAP. (2023). *List of exporters for the selected product in 2023. Product: 0603 Cut flowers and flower bunds of a kind suitable for bouquets or for ornamental purposes, fresh, dried, dyed, bleached, impregnated or otherwise prepared*. <http://surl.li/jqjuwr>
- Tschesche, R., Kämmerer, F. -J., & Wulff, G. (1969). Über Glykoside mit lacton-bildendem Aglykon, II. Über die Struktur der antibiotisch aktiven Substanzen der Tulpe (*Tulipa gesneriana* L.). *Chemische Berichte*, 102(6). <https://doi.org/10.1002/cber.19691020631>
- Ullah, I., Yuan, W., Khalil, H. B., Khan, M. R., Lak, F., Uzair, M., Abbas, A., Mirzadi Gohari, A., & Wu, H. (2024). Understanding *Botrytis cinerea* infection and gray mold management: a review paper on deciphering the rose's thorn. *Phytopathology Research*, 6(1), 42. <https://doi.org/10.1186/s42483-024-00262-9>
- Unterlander, N., Mats, L., McGary, L. C., Gordon, H. O. W., & Bozzo, G. G. (2022). Kaempferol rhamnoside catabolism in rosette leaves of senescing *Arabidopsis* and postharvest stored radish. *Planta*, 256(2). <https://doi.org/10.1007/s00425-022-03949-5>
- Villa-Martínez, A., Pérez-Leal, R., Morales-Morales, H. A., Basurto-Sotelo, M., Soto-Parra, J. M., & Martínez-Escudero, E. (2014). Situación actual en el control de *Fusarium* spp. y evaluación de la actividad antifúngica de extractos vegetales. *Acta Agronómica*, 64(2), 194–205. <https://doi.org/10.15446/acag.v64n2.43358>

- Wang, F., Liigand, J., Tian, S., Arndt, D., Greiner, R., & Wishart, D. S. (2021). CFM-ID 4.0: More Accurate ESI-MS/MS Spectral Prediction and Compound Identification. *Analytical Chemistry*, 93(34). <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.1c01465>
- Wang, L., & Weller, C. L. (2006). Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. En *Trends in Food Science and Technology* (Vol. 17, Número 6). <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2005.12.004>
- Williamson, B., Tudzynski, B., Tudzynski, P., & Van Kan, J. A. L. (2007). Botrytis cinerea: The cause of grey mould disease. En *Molecular Plant Pathology* (Vol. 8, Número 5). <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2007.00417.x>
- Wolfender, J. L., Waridel, P., Ndjoko, K., Hobby, K. R., Major, H. J., & Hostettmann, K. (2000). Evaluation of Q-TOF-MS/MS and multiple stage IT-MSn for the dereplication of flavonoids and related compounds in crude plant extracts. *Analisis*, 28(10). <https://doi.org/10.1051/analisis:2000280895>
- Zhang, Y., Cai, P., Cheng, G., & Zhang, Y. (2022). A Brief Review of Phenolic Compounds Identified from Plants: Their Extraction, Analysis, and Biological Activity. En *Natural Product Communications* (Vol. 17, Número 1). <https://doi.org/10.1177/1934578X211069721>
- Zhang, Y., Liu, C., Zhang, Z., Wang, J., Wu, G., & Li, S. (2010). Comprehensive separation and identification of chemical constituents from Apocynum venetum leaves by high-performance counter-current chromatography and high performance liquid chromatography coupled with mass spectrometry. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 878(30). <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2010.09.027>