



## Actividad antifúngica *in vitro* de extractos de ramas/hojas de arándano y semilla de palta contra *Botrytis* sp.

*In vitro* antifungal activity of blueberry branches/leaves and avocado seed extracts against *Botrytis* sp.

Eder Flores-Bedregal<sup>1</sup>; Jeniffer Puelles-Román<sup>1</sup>; Alessandra Mendoza-Moncada<sup>1,\*</sup>;  
Katherine Chacon-Rodriguez<sup>1</sup>; Luz Terrones-Ramirez<sup>1</sup>; William Mendez-Vilchez<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Unidad de Investigación y Desarrollo. Camposol S.A. Lima, Perú.

ORCID de los autores:

E. Flores-Bedregal: <https://orcid.org/0000-0002-5098-4373>

J. Puelles-Román: <https://orcid.org/0000-0002-7258-0767>

A. Mendoza-Moncada: <https://orcid.org/0000-0002-8830-4943>

K. Chacón-Rodríguez: <https://orcid.org/0000-0003-4038-7994>

L. Terrones-Ramirez: <https://orcid.org/0009-0003-0726-712X>

W. Mendez-Vilchez: <https://orcid.org/0000-0001-5509-038X>

### RESUMEN

Actualmente, se ha hecho más intensiva la búsqueda de productos ecoamigables, orientando la agroindustria hacia prácticas más sostenibles. La obtención de compuestos bioactivos con actividad antifúngica representa una fuente viable de fungicidas para uso en postcosecha dado que hasta el momento persiste una alta demanda de fungicidas químicos en la industria. Se evaluó el efecto de dos extractos acuosos de origen acetónico obtenidos de ramas y hojas de arándano (mezcla) y semilla de palta; este material vegetal forma parte de residuos agroindustriales procedentes del proceso productivo de la empresa Camposol S.A. Para determinar la concentración de polifenoles, se utilizó el método de Folin Ciocalteu y para la capacidad antioxidante, el método del radical DPPH. Se realizó la identificación tentativa de compuestos presentes en cada extracto mediante UHPLC-DAD-ESI/MS. Los extractos acetónicos fueron secados y re-suspendidos en agua. Se utilizaron tres concentraciones (5, 25 y 50 mg/mL) sobre la inhibición de germinación esporas y crecimiento micelial de *Botrytis* sp. Se obtuvo 55% de inhibición de esporas a las 24 h de incubación y 19% de inhibición en el crecimiento micelial a los 7 días de incubación. Esta investigación contribuye con la valorización de subproductos otorgándoles valor agregado, alentando a desarrollar e implementar nuevos productos a base de material vegetal con potencial bioactivo importante para el sector emergente de la Agroindustria.

**Palabras clave:** Bioactivos; polifenoles; *Botrytis*; postcosecha; subproductos.

### ABSTRACT

Currently, the search for eco-friendly products has become more intensive, guiding the agro-industry towards more sustainable practices. Obtaining bioactive compounds with antifungal activity represents a viable source of fungicides for postharvest use, since up to now there is still a high demand for chemical fungicides in the industry. The effect of two aqueous extracts of acetone origin obtained from blueberry branches and leaves (mixture) and avocado seed was evaluated. This plant material is part of agro-industrial waste from the production process of the company Camposol S.A. To determine the concentration of polyphenols, the Folin Ciocalteu method was used and for the antioxidant capacity, the DPPH radical method. The tentative identification of compounds present in each extract was performed using UHPLC-DAD-ESI/MS. The acetone extracts were dried and re-suspended in water. Three concentrations (5, 25 and 50 mg/mL) were used on the inhibition of spore germination and mycelial growth of *Botrytis* sp. 55% inhibition of spores was obtained after 24 h of incubation and 19% inhibition in growth mycelial at 7 days of incubation. This research contributes to the valorization of by-products, giving them added value, encouraging the development and implementation of new products based on plant material with important bioactive potential for the emerging sector of Agro-industry.

**Keywords:** Bioactives; polyphenols; *Botrytis*; post-harvest; subproducts.

## 1. Introducción

A lo largo de los años, el uso de fungicidas químicos y/o sintéticos ha encabezado el sector agrícola, lo que ha tenido como consecuencia la generación de resistencia de microorganismos patógenos a dichos químicos, es decir han perdido o disminuido su efectividad y eficiencia, afectando los procesos productivos en los cultivos de importancia comercial (Alvarez-Pérez et al., 2020). Cabe resaltar a *Botrytis cinerea*, hongo fitopatógeno en precosecha y postcosecha que ocasiona "la pudrición por moho gris" en más de 1400 especies de vegetales (Liu et al., 2022). Razón que nos lleva a la búsqueda de alternativas de control fúngico que no generen resistencia, de esta manera, la utilización de compuestos activos naturales de origen vegetal puede convertirse en medios potencialmente eficaces en el control de hongos fitopatógenos (Leontopoulos et al., 2022), reduciendo el impacto medioambiental en el sector agrícola.

Los extractos vegetales constituyen una fuente de metabolitos secundarios, éstos son compuestos no esenciales producidos por las plantas como respuesta ante algún estímulo externo que le genere estrés participando en la defensa ante algunos patógenos (Gholamnezhad, 2019; Alvarez-Pérez et al., 2020), fungen como antioxidantes y antimicrobianos, a la vez definen características organolépticas y nutricionales (Torgbo et al., 2022). La utilidad de estos metabolitos es una alternativa para reducir la infección pre y post cosecha de algunos tipos de hongos, además es resaltado por ser considerado seguro, eficaz y respetuoso con el ambiente (Liu et al., 2021b).

Durante la última década han causado gran interés algunos extractos vegetales que extienden la vida útil de alimentos y tienen actividad antimicrobiana (Zhang et al., 2020a). Razón por la cual, se han utilizado con éxito nuevas técnicas de extracción, con tiempos reducidos, mínimo uso de solventes orgánicos, eficiente recuperación de compuestos y, un impacto ambiental minimizado en comparación con ciertos métodos de extracción convencionales (Vázquez-González et al., 2020).

Camposol, dentro de todo el proceso productivo de fruta fresco y pulpa congelada genera residuos relacionados a la comercialización de palta y arándano, los cuales pueden considerarse como fuente vegetal exploratoria para la obtención de compuestos bioactivos de interés, debido a que es

material vegetal que se ha expuesto a diversos estímulos ambientales durante años.

La palta o aguacate (*Persea americana* Mill.) es una fruta procedente de México y Centroamérica la cual es ampliamente comercializada debido a sus propiedades nutricionales (Araújo et al., 2018). Actualmente, la producción de palta es de alrededor de 6 millones de toneladas anuales, siendo Perú el tercer país productor con un aporte del 7,8% (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación [FAOSTAT], 2020).

En Camposol, el proceso productivo de palta congelada genera una cantidad anual de 3,500 toneladas de residuos correspondientes a cáscara y semilla, los cuales son descartados. Sin embargo, estos residuos son ricos en proteína, carbohidratos, lípidos, fibra y numerosos compuestos bioactivos como flavonoides, ácidos orgánicos, terpenoides, entre otros (Salazar-López et al., 2020). En un estudio del contenido de polifenoles en extractos de semilla de palta se determinó entre 328 a 1303 mg Eq ácido gálico/g muestra seca, correspondiente a frutos del cultivar Nariño (Rosero et al., 2019).

Otra fuente de material vegetal para los extractos es el arándano (*Vaccinium* spp.), un cultivo procedente de Canadá y América del Norte, que se ha distribuido hacia Europa, Asia y América del Sur, teniendo un amplio desarrollo entre los años 2006 y 2020, con relación al área cultivada y producción (Duan et al., 2022). Sus frutos han sido reconocidos como "superfruta" gracias a su agradable sabor y a su variado contenido de compuestos bioactivos (Sater et al., 2021), ácidos orgánicos, minerales, vitaminas, azúcar, fibras y pectinas (Herrera-Balandrano et al., 2021; Madhavan et al., 2022). Camposol genera residuos producto de la poda de renovación y la cosecha del cultivo, siendo aproximadamente 6,356 toneladas de residuos como hojas, ramas y frutos de descarte al año, estos residuos también contienen polifenoles, antioxidantes, etc., debido a que formaron parte indispensable de la planta (Liu et al., 2021a).

Revalorizar estos residuos mediante el procesamiento químico, físico y biológico puede generar bioproductos, biogas, biocarbón, fertilizantes, bioaceites, entre otros (Kapoor et al., 2020; Zhang et al., 2020c). Routray & Orsat (2014), determinaron la cantidad de polifenoles en hojas de arándano de diferentes variedades cultivadas en Canadá, reportando valores entre  $86,4 \pm 0,7$  hasta  $155,83 \pm 2,1$  mg GAE/g m. seca, esto fue atribuido a las condiciones climáticas con

fluctuaciones de temperatura y disponibilidad de agua por derretimiento del hielo provocando respuesta a estrés en las plantas, de la misma manera, Ștefănescu et al. (2020), evaluó 6 variedades de *Vaccinium corymbosum*, siendo las mejores Nelson y Toro con valores de 135,55 y 132,92 mg GAE/ g muestra, además cuantificaron por HPLC-DAD-ESI-MS, 19 compuestos fenólicos del tipo ácidos hidroxicinámicos, flavonoles, flavanoles y antocianinas. También se han evaluado los tipos de solventes para extracción, Deng et al. (2014) reporta valores entre 67,15 y 349,17 mg GAE/g MS para extractos de hojas de arándano con diferentes solventes (etanol, metanol, acetona y agua). Todo ello confirma el alto contenido de polifenoles en materiales que comúnmente son descartados. Particularmente, los polifenoles son un grupo de numerosas de moléculas orgánicas que han mostrado actividad antiviral, antiinflamatoria, antibacteriana, antioxidante (Lin et al., 2019) y antifúngica, como es el caso de los flavonoides (grupo comúnmente presente en las plantas) (Al Aboody & Mickymaray, 2020). Un ejemplo es el ácido clorogénico que ha mostrado actividad antifúngica frente a *Gloeosporium perennans* en manzanas y la catequina, que induce cambios morfológicos al promover la apoptosis, la despolarización mitocondrial y la acumulación intracelular de especies reactivas de oxígeno (ROS) en *Candida tropicalis* (Yong-Sheng, 2019). También se han evaluado extractos etanólicos de ramas y hojas de *Helichrysum patulum* reportando un 65% de inhibición en el crecimiento vegetativo de *B. cinerea* (Matrose et al., 2023), de la misma manera, extractos etanólicos de cáscaras de *Citrus reticulata* ricos en narirutina, hesperidina y rutina demostraron inhibición del crecimiento micelial de *Aspergillus flavus* en un 39,6% (Liu et al., 2021b). Por lo mencionado, se puede decir que la actividad antifúngica de estas moléculas puede variar según sea su aplicación en un organismo determinado.

Por lo antes expuesto, esta investigación tiene como objetivo evaluar la actividad antifúngica de extractos vegetales de ramas/hojas de arándano y semilla de palta contra *Botrytis* sp.

## 2. Material y métodos

### 2.1. Material vegetal

Ramas/hojas de arándano: Colectadas en los campos de cultivo de CAMPOSOL (Chao-La Libertad Perú), inmediatamente seguido de la poda de los arbustos. Se retiró las impurezas con

agua a presión, luego el material fue secado al sol durante 15 días hasta alcanzar una humedad menor a 7%.

Semilla de palta: Colectadas en la línea del proceso de palta congelada en planta de empaque de CAMPOSOL (Chao-La Libertad Perú). Luego de retirar la pulpa residual adherida a la semilla se procedió con un secado en estufa (MEMMERT, modelo UF75, Alemania) a 40 °C por 16 horas.

Ambos productos desecados fueron pulverizados en un molino de martillos (Naturalia, Perú) y empacados en bolsas IQF hasta su procesamiento.

### 2.2. Extracción de compuestos fitoquímicos

Extracción: se mezcló el pulverizado vegetal y el solvente (acetona 70%) en el tanque de extracción (GRAU, modelo RM400/400/KP, España) con agitación a 130 rpm a una temperatura controlada y contante durante una hora.

La extracción de la poda de arándano se realizó con relación 1/10 p/v a 50 °C y de la semilla de palta, con relación 1/20 p/v a 45 °C.

El extracto crudo se llevó mediante bombeo al filtro prensa (MICROFILTRACIÓN, modelo AAFP-470-6M, Perú) para la separación del sólido y el líquido. La fracción líquida obtenida se llevó al tanque de concentración (GRAU, modelo RM400/400/KP, España) con el fin de evaporar el solvente en condiciones de vacío (hasta -700 mbar) y temperaturas en un rango de 38 °C a 45 °C, permitiendo obtener como producto final, dos extractos concentrados al 50% v/v, tanto de poda de arándano como de semilla de palta.

El solvente remanente de ambos extractos fue retirado bajo presión de vacío en un rotaevaporador (IKA, modelo RV10D, Alemania) a escala de laboratorio. Finalmente, el extracto obtenido fue resuspendido en agua y filtrado con papel Whatman N °1 con ayuda de una bomba de vacío (MILLIPORE, modelo WP6122050, Estados Unidos), por último, el filtrado se concentró nuevamente hasta extracto seco. A partir de los extractos obtenidos, se prepararon soluciones acuosas, para ramas/hojas de arándano, a una concentración de 308 mg/mL y para semilla de palta, a una concentración de 180 mg/mL.

### 2.3. Contenido de polifenoles totales (POL)

La determinación de polifenoles totales de ambos extractos fue evaluada por el método de Folin-Ciocalteu siguiendo los pasos establecidos por Prior et al. (2005) con algunas modificaciones. Se mezcló 100 µL de diluciones de los extractos,

blanco y curva de calibración de ácido gálico con  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (20% p/v), 250  $\mu\text{L}$  de reactivo Folin Ciocalteu y 3650  $\mu\text{L}$  de agua. La lectura fue realizada luego de 90 min de incubación. Las absorbancias fueron medidas en un espectrofotómetro (Thermo Fisher Scientific, modelo Evolution 260 Bio, China) a 750 nm.

#### 2.4. Capacidad antioxidante total (CAT-DPPH)

El método utilizado para analizar la capacidad antioxidante es el que emplea radical DPPH, desarrollado por Brand-Williams et al. (1995). Se preparó una solución del reactivo radical DPPH con absorbancia  $0,75 \pm 0,05$  a 515 nm. Se mezcló 2450  $\mu\text{L}$  de la solución DPPH con 50  $\mu\text{L}$  de diluciones de extractos, blanco y curva de calibración de trolox. Las soluciones se agitaron e incubaron en oscuridad por 60 min. La absorbancia de la mezcla fue medida en un espectrofotómetro (Thermo Fisher Scientific, modelo Evolution 260 Bio, China) a 515 nm.

#### 2.5. Identificación de compuestos fitoquímicos mediante análisis LC-MS/MS

Las muestras fueron acondicionadas antes de pasar por el sistema LC/MS. El análisis LC-MS/MS se realizó en un sistema UHPLC (Waters, modelo Acquity H-Class, Estados Unidos). La separación cromatográfica se logró en una columna Acquity 1,8  $\mu\text{m}$  HSS T3 (150  $\times$  2,1 mm, Waters) equipado con una guardacolumna de 2,1  $\times$  5 mm, 1,8  $\mu\text{m}$  de tamaño de partícula. Se emplearon ácido fórmico y Acetonitrilo como fases móviles A y B, respectivamente. Las condiciones de gradiente fueron las siguientes: 0-15 min 5-20% B; 15-20 min 20-50% B; 20-25 min 50-95% B, 25-30 min 95% B, 30-35 min 95-5% B y finalmente de 35-40 min 95%B. El flujo de la fase móvil fue de 400  $\mu\text{L}/\text{min}$ . La temperatura de la columna se mantuvo a 30 °C. El equipo de UHPLC estuvo acoplado a un espectrómetro de masas (Waters, modelo Xevo TQ-XS, Estados Unidos). El equipo fue operado con una fuente de iones electrospray (ESI) en el modo de ionización positiva y negativa. Se utilizó nitrógeno como gas de nebulización y Argón como gas de colisión. El análisis se realizó usando el modo Surveyscan (Tigger threshold de  $1e^6$ ) de las dos masas más intensas. La energía de colisión se fijó en 30 eV. Los espectros ESI-MS y MS/MS fueron adquiridos en un rango de m/z de 100 a 2000.

#### 2.6. Aislamiento de *Botrytis* sp

*Botrytis* sp. fue obtenido desde frutos de arándano infectados, el cual mostró síntomas caracterís-

ticos causados por este hongo postcosecha. El micelio del hongo fue colectado y ubicado en placas Petri con medio agar papa dextrosa (PDA). El cultivo del hongo fue incubado en 25 °C. Las preparaciones microscópicas fueron preparadas con azul de lactofenol, y el hongo fue identificado por características morfológicas según Barnett & Hunter (1998), con la ayuda de un microscopio (OLYMPUS, modelo CX43RF, Japón).

#### 2.7. Inhibición de la germinación de esporas de extractos

La inhibición de la germinación de esporas fue de acuerdo con González-Estrada et al. (2017) con algunas modificaciones. La cepa de *Botrytis* sp. fue precultivada sobre PDA por 7 días a 25 °C, solución salina estéril conteniendo Tween® 80 (0,01%) fue adicionado a cada placa para coleccionar esporas. La suspensión fue hecha frotando la superficie de agar con asa de inoculación estéril. La concentración de esporas fue ajustada a  $1,4 \times 10^5$  esporas/mL mediante conteo en cámara de Neubauer (Marienfeld, Alemania). Así, 30  $\mu\text{L}$  de esporas de hongos y 3  $\mu\text{L}$  de cada extracto a diferentes concentraciones 5, 25 y 50 mg/mL en 27  $\mu\text{L}$  de caldo papa dextrosa fueron mezclados e incubados a temperatura ambiente. Adicionalmente se consideró un control positivo de Tower® 1,0%. La germinación de esporas fue determinada microscópicamente luego de 24 h. La inhibición (%) fue calculada de acuerdo con la ecuación:

$$\% \text{ Inhibición} = ((N^\circ \text{ cs} - N^\circ \text{ ts}) / N^\circ \text{ cs}) * 100 \quad (1)$$

Donde "N° cs" es el número de esporas en el control y "N° ts" es el número de esporas en el tratamiento.

#### 2.8. Inhibición del crecimiento micelial de extractos

El efecto inhibitorio de extractos de arándano y palta sobre el crecimiento de *Botrytis* sp. fue realizado por método de dilución de agar (Zabka & Gabrielova-Slezakova, 2011). Previamente se precultiva la cepa de *Botrytis* sp. sobre PDA por 7 días a 25 °C. La evaluación fue ejecutada por puntura del hongo sobre medio PDA con 5% de extracto en diferentes concentraciones: 5, 25 y 50 mg/mL. Adicionalmente se consideró un control positivo de Tower® 0,5%. Finalmente, el medio inoculado fue incubado a 25 °C. El diámetro de crecimiento fue registrado por 7 a 9 días. Las placas Petri sin extracto y con agua fueron usadas como control. El porcentaje de inhibición de crecimiento micelar fue calculado de acuerdo con Balouiri et al. (2016):

$$\% \text{ Inhibición} = ((dc - dt)/dc) \cdot 100 \quad (2)$$

Donde "dc" (cm) es la media de diámetro de la colonia para el control y "dt" (cm) es la media del diámetro de la colonia para los tratamientos.

### 2.9. Análisis estadístico

Los datos fueron analizados en el programa estadístico INFOSTAT®. Se realizó la prueba de normalidad Shapiro Wilks para  $n < 30$ . Las comparaciones de a pares fueron por ANAVA con un valor de confianza de 0,05. El test de Fisher fue usado para la comparación de medias cuando ANAVA muestra diferencias significativas.

## 3. Resultados y discusión

### 3.1. Contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante

Matrose et al. (2021) evaluaron extractos acetónicos y etanólicos de hojas y tallos de *Helichrysum. odoratissimum* proveniente de dos zonas geográficas distintas frente a *B. cinerea*, los compuestos principales encontrados en sus extractos fueron sesquiterpenoides y sesquiterpenos. En este estudio, la caracterización bioactiva de los extractos acetónicos a base de ramas/ hojas de arándano y semilla de palta (Tabla 1) obtuvo que el extracto de hojas y ramas de arándano presentó mayor contenido de polifenoles totales ( $120,27 \pm 2,11$  mg GAE/mL) y de capacidad antioxidante con valores de ( $776,47 \pm 18,72$   $\mu$ mol equivalente Trolox/mL) que el extracto de semilla de palta. Al alto contenido de polifenoles y capacidad antioxidante se le atribuye eficacia fungicida considerable, esto se puede

atribuir a la interacción de los compuestos fenólicos con las enzimas periplásmicas y proteínas de membrana que generan alteraciones a nivel funcional y estructural (Munhuweyi et al., 2017).

**Tabla 1**

Contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante de extractos poda de arándano y semilla de palta

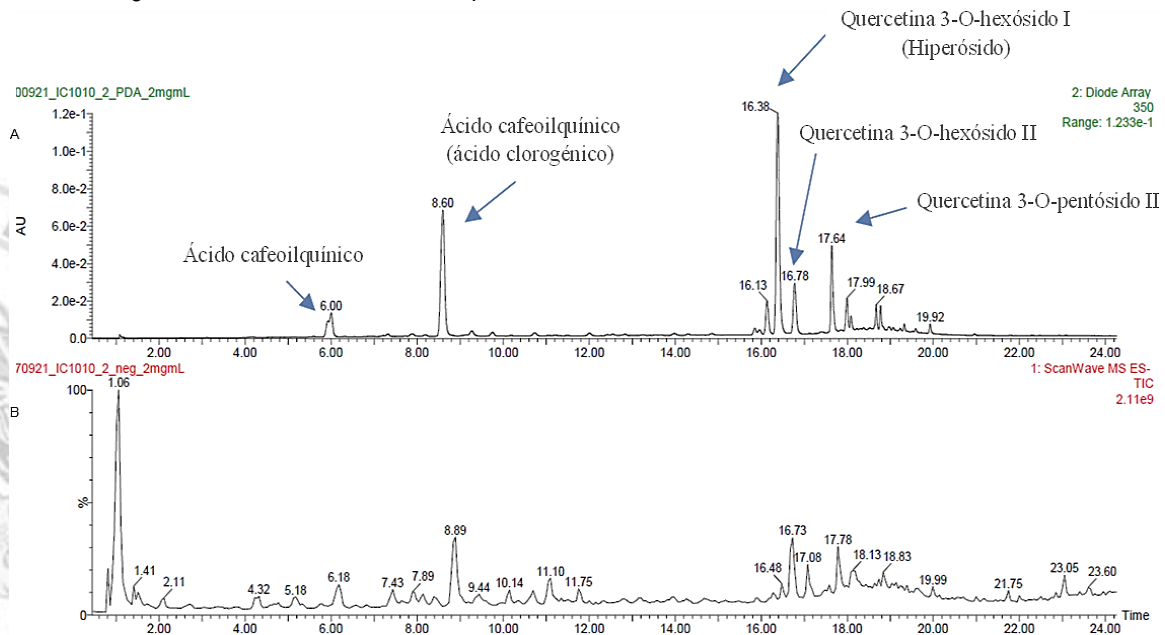
Extracto	POL	CAT	Oleoresina
RHA	$120,27 \pm 2,11^*$	$776,47 \pm 18,72^*$	308,0
SP	$24,27 \pm 0,33^*$	$199,31 \pm 3,17^*$	180,0

\*: valores de error estándar. RHA: Ramas/hojas de arándano. SP: Semilla de palta. POL: mg GAE/ mL extracto. CAT:  $\mu$ mol Eq Trolox/ mL extracto. Oleoresina: mg/ml extracto.

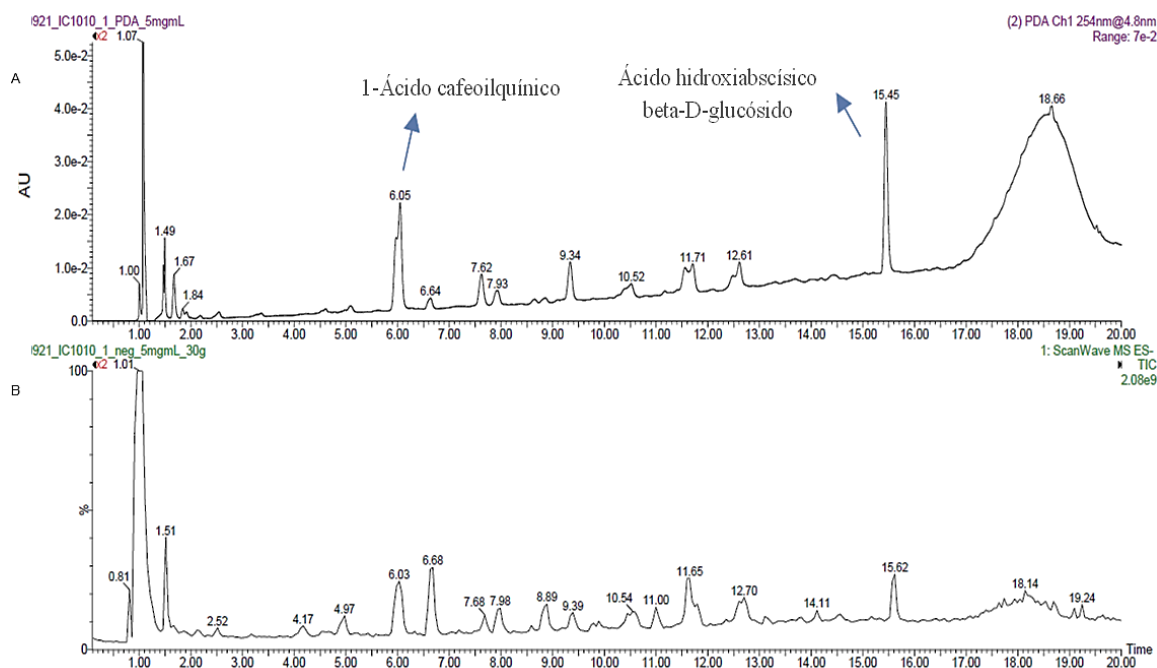
### 3.2. Identificación de compuestos fenólicos por UHPLC-DAD-ESI/MS

Se realizó la identificación tentativa de compuestos fenólicos presentes en los extractos de poda de arándano (Figura 1) y semilla de palta (Figura 2), siguiendo la metodología descrita en el apartado 2.5.

En las figuras 1A y 2A se observa los cromatogramas a 350 y 254 nm obtenidos a partir del análisis UHPLC-DAD, en donde se evidencia la presencia de picos definidos correspondientes a los compuestos en cada muestra, para confirmar la presencia de estos compuestos en las figuras 1B y 2B, se observan los cromatogramas de iones totales (TIC) de los extractos evaluados en modo negativo debido a que las señales cromatográficas tienen mayor intensidad en este modo, estos cromatogramas fueron resultado del análisis complementario con ESI-MS.



**Figura 1.** Análisis UHPLC-DAD-ESI/MS del extracto (2 mg/mL) obtenido a partir de la muestra de poda de Arándano (CAMPOSOL). Cromatograma a 350 nm (A), TIC en modo negativo (B).



**Figura 2.** Análisis UHPLC-DAD-ESI/MS del extracto (5 mg/mL) obtenido a partir de la muestra de semilla de paltá (CAMPOSOL). Cromatograma a 254 nm (A), TIC en modo negativo (B).

Los datos obtenidos fueron comparados con bases de datos, además de librerías personales de la Escuela de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo (UNT), finalmente, los picos fueron asignados según los criterios determinados. Se identificaron de manera tentativa 19 compuestos fenólicos para el extracto de poda de arándano (Tabla 2) y 26 compuestos fenólicos para el extracto de semilla de paltá (Tabla 3). En las tablas 2 y 3 se muestran los tiempos de retención (TR), UV  $\lambda$  máx. (nm), MS[M-H]<sup>-</sup>, MS[M+H]<sup>+</sup>, MS/MS(R.A%) Modo Negativo.

### 3.2.1. Extracto de poda de arándano

Los resultados obtenidos indican que la poda de arándano podría estar constituida principalmente por ácidos fenólicos (ácidos cumaroilquinicos, cafeoilquinicos y sus derivados) y flavonoles (Quercetina y sus glucósidos) (Chai et al., 2020). Algunos de los compuestos presuntamente encontrados en poda de arándano (Tabla 2), como Arbutina, Ácido cafeoilquinico I, Ácido cafeoilquinico II (ácido clorogénico), Quercetina 3-O-pentósido I, Quercetina 3-O-pentósido II y Quercetina-3-O-ramnósido también fueron encontrados en extractos acetónicos-acuosos de hojas de *Vaccinium myrtillus* L. y *Vaccinium vitis-idaea* L. (Liu et al., 2014). De la misma manera, Quercetina 3-O-rutinósido (rutina), Ácido 3,5-dicafeoilquinico y Quercetina presentes también

en extractos metanólicos de hojas de *Vaccinium ashei* (Chai et al., 2020).

Dentro de los compuestos, la quercetina es un compuesto hidrofóbico con alta actividad biológica, por lo que es considerado como potencial nutraceutico y antimicrobiano (Kopka et al., 2023) mostrando actividad frente a bacterias como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Shigella flexneri*, *Pseudomonas vulgaris*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Lactobacillus acidophilus*, entre otros (Jaisinghani, 2017; Yi et al., 2011). Sin embargo, se menciona que tiene baja biodisponibilidad por lo que es necesario aplicar dosis elevadas para obtener un efecto representativo. Es importante destacar que este compuesto en estado libre no ha demostrado capacidad fungistática o fungicida (Baldino et al., 2021).

Otro de los compuestos encontrados, es el ácido clorogénico, el cual ha demostrado propiedades relacionadas a la mejora de la salud humana, tales como actividad antioxidante, anticancerígena, entre otras. Además, actúa como agente antimicrobiano y antifúngico, inhibiendo la germinación de esporas y crecimiento micelial, se ha reportado su actividad en *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium solani*, *Verticillium dahliae*, *Botrytis cinerea* y *Cercospora sojina*, actuando sobre la permeabilización de la membrana de las esporas lo que podría generar la pérdida de viabilidad de estas (Zhang et al., 2020a).

Tabla 2

Identificación tentativa de los principales compuestos presentes en el extracto de poda de arándano (CAMPOSOL) analizada mediante UHPLC-DAD-ESI/MS

N°	T <sub>R</sub> (min), LC-DAD	UV λ max (nm)	MS [M-H] <sup>-</sup>	MS [M+H] <sup>+</sup>	MS/MS (R.A. %) Modo Negativo	Identificación tentativa	Referencia
1	2,11	202, 221, 282	271,1	ND	108(100)	Arbutina	(Savikin et al., 2014)
2	6	216, 325	353,1	355,1	135(100), 161(4), 179(39), 191(97)	Ácido cafeoilquinico I	(Liu et al., 2014)
3	7,89	ND	337,1	339,0	119(100), 163(43), 191(8)	Ácido O-p-cumaroilquinico	(Martucci et al., 2014)
4	8,19	ND	341	ND	135(100), 179(44)	Hexosa de ácido cafeico	(Kang et al., 2016)
5	8,6	216, 325	353,1	355,1	191(100)	Ácido cafeoilquinico II (Ácido clorogénico)	(Liu et al., 2014)
6	15,85	ND	609	611,1	300(100), 301(41), 609(43)	Quercetina-3-O-hexosa- desoxihexosa	(Wang et al., 2015)
7	15,96	ND	433	ND	109(6), 133(5), 135(8), 161(100), 179(10)	Quercetina 3-O-pentósido I	(Liu et al., 2014)
8	16,13	216, 353	609,1	611,1	179(4), 300(100), 301(87), 609(43)	Quercetina 3-O-rutinósido (rutina)	(Liu et al., 2014)
9	16,38	207, 254, 354	463	465,1	151.2(4), 255(5), 271(9), 300(100)	Quercetina 3-O-hexósido I (hiperósido)	(Wang et al., 2015) (Bljajić et al., 2017)
10	16,77	212, 353	463	465,1	151.2(4), 255(5), 271(9), 300(100)	Quercetina 3-O-hexósido II (quercetina-3-O glucósido)	(Wang et al., 2015)
11	17,64	211, 353	433	435,1	255(9), 271(17), 300(100)	Quercetina 3-O-pentósido II	(Liu et al., 2014)
12	17,99	216, 282, 326	515	517,2	135(13), 179(68), 191(100), 353(10)	Ácido 3,5-dicafeoilquinico	(Martucci et al., 2014)
13	18,08	216, 278, 345	447	449,1	151(10), 179(9), 255(13), 271(14), 284(13), 300(100), 301(30)	Quercetina-3-O-ramnósido	(Liu et al., 2014)
14	18,08	ND	451,1	453,1	177(29), 189(43), 217(100), 219(37), 231(32), 341(74)	Isómero de cinconaina	(Wang et al., 2015)
15	18,67	216, 278	625	627,2	300(23), 301(82), 463(100), 625(5)	Dihexósido de quercetina	(Barros et al., 2012)
16	18,77	216, 283, 315	499	501,2	119(9), 163(100), 173(6), 191(7)	Ácido cumaroil- cafeoilquinico	(Wang et al., 2015)
17	19,32	217, 278	609	611,1	300(89), 301(70), 463(100), 609(4)	Quercetina-hexosa- desoxihexosa	(Wang et al., 2015)
18	19,59	220, 278	447	449,1	295(100), 296(16), 323(21), 447(31)	Desconocido	-
19	19,92	221, 278	301	303,1	107(81), 109(12), 121(68), 149(10), 151(100), 163(8), 179(11)	Quercetina	(Chai et al., 2020)

ND: No detectado.

### 3.2.2. Extracto de semilla de palta

Por otro lado, se conoce que la semilla de palta se compone principalmente de procianidinas, flavonoides y un reducido grupo de derivados de ácidos fenólicos (López-Cobo et al., 2016). Como se menciona anteriormente, se reportaron tentativamente 26 compuestos fenólicos en el perfil del extracto de semilla de palta (Tabla 3), dentro de los cuales se incluyen ácido 1-cafeoilquinico, glucósido de tirosol, (+)-catequina, derivado del ácido cumaroilquinico, ácido hidroxibscísico beta-D-glucósido, entre otros.

La (+)-catequina y (-)-epicatequina son compuestos de alto valor en la industria alimentaria, farmacéutica y cosmética (Alonso-Esteban et al., 2019). Se ha evidenciado actividad antimicrobiana-fungicida frente a *Botrytis cinerea* y diferentes cepas de *Candida*, atribuido a que tienen un poder quelante frente a metales, por lo que se cree que al crear un agotamiento crítico de minerales esenciales inhibe el crecimiento de microorganismos (Zhang et al., 2020b). Además, los flavonoides inhiben directamente la síntesis de ADN, ARN y proteínas (Al Aboody & Mickymaray, 2020).

Tabla 3

Identificación tentativa de los principales compuestos presentes en el extracto de semilla de palta (CAMPOSOL) analizada mediante UHPLC-DAD-ESI/MS

N°	T <sub>R</sub> (min), LC-DAD	UV λ max (nm)	MS [M-H] <sup>-</sup>	MS [M+H] <sup>+</sup>	MS/MS (R.A %) Modo Negativo	Identificación tentativa	Referencia
1	0,96	-	211	213	101(100), 113(13)	Perseitol	(Lopez-Cobo et al., 2016)
2	1,06	-	191	ND	111(100)	Ácido quínico	(Lopez-Cobo et al., 2016)
3	1,51	-	191	ND	111(100)	Ácido cítrico	(Lopez-Cobo et al., 2016)
4	1,99	-	117	ND	ND	Ácido succínico	(Figuerola et al., 2018)
5	4,17	-	315	ND	108(100), 109(12), 152(39)	Ácido protocatecuico-4-glucósido	(Lopez-Cobo et al., 2016)
6	4,97	-	315	339†	101(53), 113(25), 119(12), 123(14), 135(100), 153(7)	Glucósido de hidroxitirosol	(Lopez-Cobo et al., 2016)
7	6,03	216, 325	353	355	135(97), 161(4), 179(37), 191(100)	Ácido 1-cafeoilquínico	(Lopez-Cobo et al., 2016)
8	6,68	216, 277	299	323†	101(53), 113(29), 119(100), 137(10)	Glucósido de tirosol	(Lopez-Cobo et al., 2016)
9	7,2	-	451	ND	109(26), 125(24), 151(16), 165(22), 170(21), 203(41), 205(40), 245(56), 289(100)	(Epi)catequina glucopiranosido	(Figuerola et al., 2018)
10	7,68	216, 273	443	467†	101(100), 111(4), 113(55), 119(40), 189(10), 237(8), 443(33)	Penstemida	(Lopez-Cobo et al., 2016)
11	7,68	216, 273	577	579	125(100), 161(25), 245(28), 289(84), 407(64)	Dímero de procianidina tipo B	(Figuerola et al., 2018)
12	7,94	216, 311	337	361†	111(4), 119(100), 163(46), 191(7)	Ácido 3-O-p-cumaroilquínico	(Lopez-Cobo et al., 2016)
13	8,89	211, 278	289	291	109(87), 121(27), 123(100), 125(40), 137(25), 151(23)	(-)-Epicatequina	(Figuerola et al., 2018)
14	9,39	216, 325	353	355	111(12), 135(100), 137(6), 155(4), 161(5), 173(43), 179(36), 191(52)	Ácido 4-cafeoilquínico	(Lopez-Cobo et al., 2016)
17	10,49	-	577	579	125(67), 137(12), 161(19), 245(25), 289(100), 407(74)	Dímero de procianidina tipo B	(Figuerola et al., 2018)
18	10,57	-	575	577	125(100), 151(57), 161(23), 245(31), 285(26), 289(58), 411(18)	Dímero de procianidina tipo A	(Figuerola et al., 2018)
19	11,6	-	289	291	109(100), 121(26), 123(97), 125(40), 137(23), 151(21)	(+)-Catequina	(Figuerola et al., 2018)
20	11,65	207, 278	337	ND	111(4), 119(100), 163(46), 191(7)	Derivado del ácido cumaroilquínico	(Figuerola et al., 2018)
21	11,84	-	863	865	285(21), 287(13), 289(91), 299(29), 411(100), 451(39), 559(21), 573(24), 693(26), 711(31)	Trímero de procianidina tipo A	(Figuerola et al., 2018)
22	12,7	212, 278	863	865	285(21), 289(100), 299(18), 411(84), 451(40), 559(15), 573(12), 693(16), 711(36)	Trímero de procianidina tipo A	(Figuerola et al., 2018)
23	13,66	-	577	579	125(83), 151(14), 161(23), 245(45), 289(100), 407(60)	Dímero de procianidina tipo B	(Figuerola et al., 2018)
24	15,6	216, 273	441	465†	101(100), 109(18), 113(52), 119(51), 133(31), 139(46), 151(10), 205(17), 217(13), 330(29)	Ácido hidroxiaabscísico beta-D-glucósido	(Lopez-Cobo et al., 2016)
25	16,83	-	577	579	125(93), 161(20), 245(25), 289(100), 407(59)	Dímero de procianidina tipo B	(Figuerola et al., 2018)
26	16,93	-	463	465	300(100), 301(29)	Quercetina-3-β-glucósido	(Figuerola et al., 2018)

†: Aductos de sodio, ND: no detectado.

### 3.3. Actividad antifúngica

Según Eloff et al. (2017), una variable importante para obtener mayor actividad antifúngica es la polaridad de los extractos, con polaridad intermedia tenemos mayor capacidad antifúngica que con extractos muy polares o completamente apolares, ya que de eso depende la cantidad y/o tipo de compuestos extraídos como taninos, fenoles, flavonoides, etc. (Torgbo et al., 2022; Lourenço et al., 2019).

Por ello, tomando en cuenta que la polaridad del solvente empleado, los parámetros de operación y la materia prima, en el presente trabajo, la acetona como solvente de extracción para semilla de palta y poda de arándano asegura la presencia de compuestos bioactivos (Tabla 1) dentro de los cuales los flavonoides poseen capacidad antifúngica, lo que se evidencia en la Figura 3 mostrando valores de 61,2% y 59,1% de inhibición de germinación con las concentraciones más altas



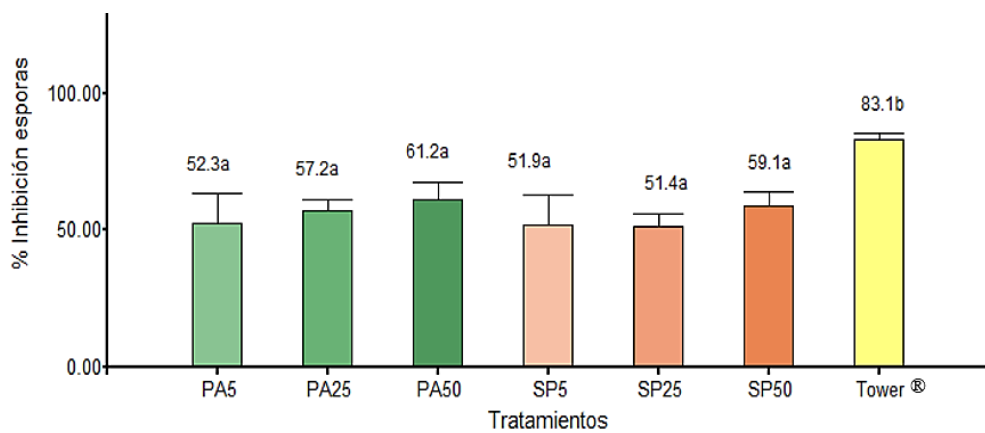
de extracto, para poda de arándano y semilla de palta, respectivamente. Sin embargo, la eficacia del extracto puede variar según sea la capacidad del microorganismo para enfrentar el mecanismo de acción de dichos compuestos.

En este estudio, la inhibición en la germinación de esporas de *Botrytis* sp. fue evaluada a diferentes dosis, donde se reporta valores mayores al 50% de inhibición. Cabe mencionar que el extracto comercial (Tower®) supera un 83% de inhibición (Figura 3).

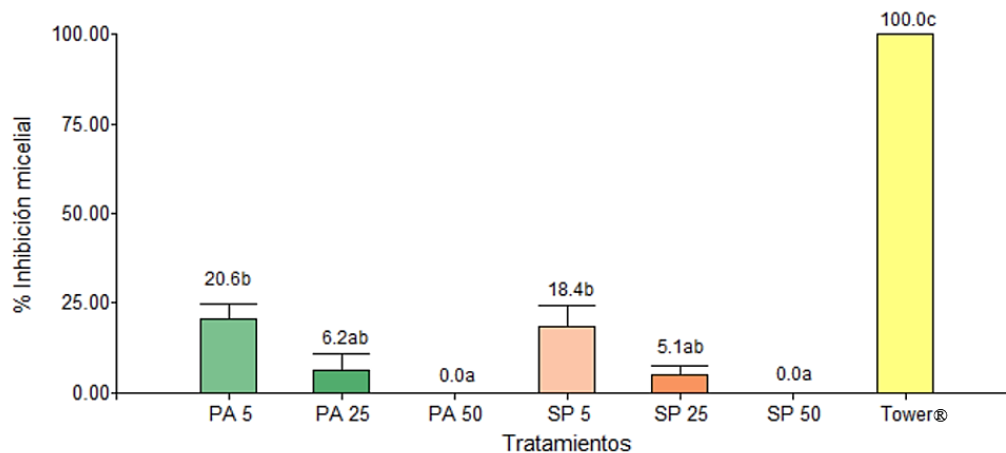
Se puede deducir que mayores concentraciones de extracto limitan o retardan el desarrollo las estructuras reproductivas de *Botrytis* sp, lo que podría atribuirse a que la acción de los

compuestos presentes en el extracto se haga más eficientes a mayores concentraciones (Baldino et al., 2021).

Por otro lado, el efecto de los extractos en el crecimiento micelial del hongo (Figura 4) evidenció que los tratamientos con menor concentración de oleoresina (PA5 y SP5, 5 mg/mL) presentaron un efecto inhibitorio en *Botrytis* sp. del 18,4% y 20,6% para semilla de palta y poda de arándano, respectivamente. Sin embargo, no se obtuvo resultados favorables en los tratamientos evaluados a una concentración de 50 mg/ml de oleoresina, donde se observó que no hubo inhibición a los 14 días.



**Figura 3.** Porcentaje de inhibición de germinación esporas de *Botrytis* sp. a las 24 horas de incubación de cada extracto acuoso. PA: Ramas/hojas de arándano; SP: semilla de palta; Tower® (Fungicida orgánico).



**Figura 4.** Porcentaje de inhibición de crecimiento micelial de *Botrytis* sp. a los 14 días de incubación de cada extracto acuoso. PA: Ramas/hojas de arándano; SP: semilla de palta; Tower® (Fungicida comercial).

La baja eficacia del extracto frente al crecimiento micelial de *Botrytis* sp. (Figura 4) puede deberse a que este hongo ha metabolizado los compuestos bioactivos en el medio de cultivo. Westlake et al. (1959) aseguran que cuando hongos como *Aspergillus* sp. se desarrollan en medios que contienen rutina o quercetina,

producen una enzima extracelular que degrada estos glucósidos ocasionando la pérdida de actividad inhibitoria o incluso una estimulación del crecimiento de las hifas. De igual manera, Baldino et al. (2021) menciona que la quercetina presente podría encontrarse inactiva como antifúngico dado que es un compuesto hidrofóbico y en este

estudio se trabajaron extractos acuosos. En las figuras 1 y 2 se evidencia la presencia tentativa de la quercetina en ambos extractos evaluados.

Los polifenoles y flavonoides como catequina, ácido clorogénico, ácido cafeico, ácido ferúlico y quercetina, que se encontraron en nuestros extractos se consideran como contribuidores de una mayor resistencia de la fruta, sin embargo, en este caso, el aumento de los compuestos fenólicos con tratamientos exógenos es demasiado limitado para ejercer su actividad antifúngica directa (Liu et al., 2022).

Picman et al. (1995) compararon la acción fungicida de flavanonas, flavonas y flavonoles (kaempferol, quercetina, rutina, miricetina, morina, fisetina), evidenciando que los dos primeros grupos presentan actividad muy variada, por otro lado, los flavonoles, diferenciados por un grupo hidroxilo adicional en C3 con las flavonas, se mostraron como inhibidores más débiles que las flavonas, esto sugiere que la hidroxilación de C3 reduce la actividad antifúngica, sin embargo, reconoce una leve actividad frente al crecimiento de las hifas al kaempferol, morina y miricetina. Siendo, morina el inhibidor más fuerte, inhibiendo completamente el crecimiento de ambos aislados de *Verticillium albo-atrum*. Al parecer, la presencia de grupos metoxi en el anillo A mejora la actividad antifúngica, pero su presencia en la posición 4' del anillo B como en la hesperetina no tiene efecto sobre el crecimiento fúngico.

Según lo expuesto y los resultados obtenidos, se puede considerar como una posible respuesta a la actividad antifúngica de los extractos, la presencia del kaempferol en el medio de cultivo suplementado con los tratamientos, compuesto comúnmente encontrado en extractos de arándano, sin embargo, no es un flavonol con alto grado de inhibición y por mecanismos como la hidroxilación es posible que se hayan inactivado compuestos con actividad antifúngica dentro de los extractos.

#### 4. Conclusiones

Los extractos evaluados presentaron actividad antifúngica sobre la inhibición de esporas de *Botrytis* sp., sin embargo, cuando son aplicados frente a estructuras más desarrolladas del patógeno, estos no presentaron una actividad antifúngica considerable (18-20%). Por lo que se deduce que los compuestos extraídos emplean diferentes mecanismos de acción para limitar el crecimiento del hongo, sin embargo, no todos los patógenos presentan la misma composición celular, respuesta a estrés, formas de supervi-

vencia, mecanismos de infección, entre otros. Por lo que la aplicación del extracto puede o no afectar su ciclo de vida. Se recomienda incluir métodos de fraccionamiento para los extractos y evaluar la aplicación de cada fracción frente a otros organismos de interés, además de la caracterización de compuestos fenólicos de los extractos obtenidos para correlacionar la presencia de diferentes polifenoles con el mecanismo de acción contra *Botrytis* sp.

#### Agradecimientos

Este trabajo ha sido co-financiado por la Empresa Camposol S.A y el Programa Nacional de Investigación Científica y Estudios Avanzados (PROCIENCIA) a través del proyecto "Hacia el concepto "clean label" mediante la obtención sostenible de extractos a partir de subproductos de frutas con actividad antioxidante y/o antimicrobiana para su aplicación en cosmética y alimentación" con contrato N° 001-2018-FONDECYT.

#### Referencias bibliográficas

- Al Aboody, M. S., & Mickymaray, S. (2020). Anti-Fungal efficacy and mechanisms of flavonoids. *Antibiotics (Basel)*, 9(2), 1-42.
- Alonso-Esteban, J. I., Pinela, J., Barros, L., Ćirić, A., Soković, M., Calheta, R. C., . . . & Ferreira, I. (2019). Phenolic composition and antioxidant, antimicrobial and cytotoxic properties of hop (*Humulus lupulus* L.) Seeds. *Industrial Crops and Products*, 134, 154-159.
- Alvarez-Pérez, O. B., Ventura-Sobrevilla, J. M., Ascacio-Valdés, J. A., Rojas, R., Verma, D. K., & Aguilar, C. N. (2020). Valorization of *Flourensia cernua* DC as source of antioxidants and antifungal bioactives. *Industrial Crops and Products*, 152, Artículo 112422.
- Araújo, R. G., Rodríguez-Jasso, R. M., Ruiz, H. A., Pintado, M. M., & Aguilar, C. N. (2018). Avocado by-products: Nutritional and functional properties. *Trends in Food Science & Technology*, 80, 51-60.
- Baldino, L., González-Garcinuño, Á., Tabernero, A., Cardea, S., Martín del Valle, E. M., & Reverchon, E. (2021). Production of fungistatic porous structures of cellulose acetate loaded with quercetin, using supercritical CO<sub>2</sub>. *The Journal of Supercritical Fluids*, 169, 105129.
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibensouda, S. K. (2016). Methods for *in vitro* evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71-79.
- Barnett, H.L. & Hunter, B.B. (1998). *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. (4th Ed., p. 76-77) St. Paul: APS Press.
- Barros, L., Dueñas, M., Carvalho, A. M., Ferreira, I. C., & Santos-Buelga, C. (2012). Characterization of phenolic compounds in flowers of wild medicinal plants from Northeastern Portugal. *Food and Chemical Toxicology*, 50(5), 1576-1582.
- Bljajić, K., Petlevski, R., Vujić, L., Čačić, A., Šošarić, N., Jablan, J., . . . & Zovko Končić, M. (2017). Chemical Composition, Antioxidant and α-Glucosidase-Inhibiting Activities of the Aqueous and Hydroethanolic Extracts of *Vaccinium myrtillus* Leaves. *Molecules*, 22(5), 703.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft Und -Technologie – Food Sci. Technol.*, 28, 25-30.
- Chai, Z., Tian, L., Yu, H., Zhang, L., Zeng, Q., Wu, H., . . . & Huang, W. (2020). Comparison on chemical compositions and antioxidant capacities of the green, oolong, and red tea from blueberry leaves. *Food Science & Nutrition*, 8(3), 1688-1699.
- Deng, Y., Yang, G., Yue, J., Qian, B., Liu, Z., & Wang, D. (2014). Influences of ripening stages and extracting solvents on the polyphenolic compounds, antimicrobial and antioxidant activities of blueberry leaf extracts. *Food Control*, 38, 184-191.

- Duan, Y., Tarafdar, A., Chaurasia, D., Singh, A., Bhargava, P. C., Yang, J., . . . & Awasthi, M. K. (2022). Blueberry fruit valorization and valuable constituents: A review. *International Journal of Food Microbiology*, 381, Artículo 109890.
- Eloff, J. N., Aneghe, I. E., & McGaw, L. J. (2017). El fraccionamiento solvente-solvente puede aumentar la actividad antifúngica de un extracto de hoja de acetona de *Melanthus comosus* (*Melanthaceae*) para producir un producto antifúngico comercial potencialmente útil. *Cultivos y productos industriales*, 110, 103-112.
- FAO/STAT - Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. (2020). *Datos sobre alimentación y agricultura*.
- Figuroa, J. G., Borrás-Linares, I., Lozano-Sánchez, J., & Segura-Carretero, A. (2018). Comprehensive characterization of phenolic and other polar compounds in the seed and seed coat of avocado by HPLC-DAD-ESI-QTOF-MS. *Food Research International*, 105, 752-763.
- Gholamnezhad, J. (2019). Effect of plant extracts on activity of some defense enzymes of apple fruit in interaction with *Botrytis cinerea*. *Journal of Integrative Agriculture*, 18(1), 115-123.
- Gonzalez-Estrada, R. R., Ascension-Valley, F., Ragazzo-Sanchez, J. A., & Calderon Santoyo, M. (2017). Use of a marine yeast as a biocontrol agent of the novel pathogen *Penicillium citrinum* on persian lime. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 29(2), 114-122.
- Herrera-Balandrano, D. D., Chai, Z., Hutabarat, R. P., Beta, T., Feng, J., Ma, K., . . . & Huang, W. (2021). Hypoglycemic and hypolipidemic effects of blueberry anthocyanins by AMPK activation: *In vitro* and *in vivo* studies. *Redox Biology*, 46, Artículo 102100.
- Jaisinghani, R. N. (2017). Antibacterial properties of quercetin. *Microbiology Research*, 1(8).
- Kang, J., Price, W. E., Ashton, J., Tapsell, L. C., & Johnson, S. (2016). Identification and characterization of phenolic compounds in hydromethanolic extracts of sorghum wholegrains by LC-ESI-MSn. *Food Chemistry*, 211, 215-226.
- Kapoor, R., Ghosh, P., Kumar, M., Sengupta, S., Gupta, A., Kumar, S. S., . . . & Pant, D. (2020). Valorization of agricultural waste for biogas based circular economy in India: a research outlook. *Bioseur. Technol*, 304, Artículo 123036.
- Kopka, B., Kost, B., Wrześniewska, J., Rajkowska, K., Kadłubowski, S., Kunicka-Styczyńska, A., . . . & Brzeziński, M. (2023). Supramolecular poly(vinyl alcohol)-based hydrogels containing quercetin for bacterial and fungal elimination. *European Polymer Journal*, 187, 111881.
- Leontopoulos, S., Skenderidis, P., Petrotos, K., Mitsagga, C., & Giavasis, I. (2022). Preliminary Studies on Suppression of important Plant Pathogens by using Pomegranate and Avocado residual peel and seed extracts. *Horticulturae*, 8, 283.
- Lin, Han, Li, Wang, Lai, & Zhou. (2019). Quinoa Secondary Metabolites and Their Biological Activities or Functions. *Molecules*, 24(13), 2512.
- Liu, H., Qin, S., Sirohi, R., Ahluwalia, V., Zhou, Y., Sindhu, R., . . . & Awasthi, M. K. (2021a). Sustainable blueberry waste recycling towards biorefinery strategy and circular bioeconomy: A review. *Bioresource Technology*, 332, Artículo 125181.
- Liu, P., Lindstedt, A., Markkinen, N., Sinkkonen, J., Suomela, J., & Yang, B. (2014). Characterization of Metabolite Profiles of Leaves of Bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) and Lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(49), 12015-12026.
- Liu, P., Shen, J., Wang, Y., Fang, Q., Yuan, S., Qu, G., & Cao, J. (2022). Effect of p-coumarate esters resistant against postharvest *Botrytis cinerea* infection in apple fruit. *Scientia Horticulturae*, 297, Artículo 110926.
- Liu, Y., Benohoud, M., Galani Yamdeu, J. H., Gong, Y. Y., & Orfila, C. (2021b). Green extraction of polyphenols from citrus peel by-products and their antifungal activity against *Aspergillus flavus*. *Food Chemistry*, 12, Artículo 100144.
- López-Cobo, A., Gómez-Caravaca, A. M., Pasini, F., Caboni, M. F., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutiérrez, A. (2016). HPLC-DAD-ESI-QTOF-MS and HPLC-FLD-MS as valuable tools for the determination of phenolic and other. *LWT*, 73, 505-513.
- Lourenço, S. C., Moldao-Martins, M., & Alves, V. D. (2019). Antioxidants of natural plant origins: from sources to food industry applications. *Molecules*, 24 (22), 4132.
- Madhavan, A., Arun, K. B., Alex, D., Anoopkumar, A. N., Emmanuel, S., Chaturvedi, P., . . . & Sindhu, R. (2022). Microbial production of nutraceuticals: metabolic engineering interventions in phenolic compounds, poly unsaturated fatty acids and carotenoids synthesis. *J. Food Sci. Technol*, 60, 2092-2104.
- Martucci, M. E., De Vos, R. C., Carollo, C. A., & Gobbo-Neto, L. (2014). Metabolomics as a Potential Chemotaxonomical Tool: Application in the Genus *Vernonia* Schreb. *PLOS ONE*, 9(4), e93149.
- Matrose, N. A., Obikeze, K., Belay, Z. A., & Caleb, O. J. (2021). Impact of spatial variation and extraction solvents on bioactive compounds, secondary metabolites and antifungal efficacy of South African Impepho [*Helichrysum odoratissimum* (L.) Sweet]. *Food Bioscience*, 42, Artículo 101139.
- Matrose, N. A., Belay, Z. A., Obikeze, K., Mokwena, L., & Caleb, O. J. (2023). Bioprospecting of *Helichrysum* Species: Chemical Profile, Phytochemical Properties, and Antifungal Efficacy against *Botrytis cinerea*. *Plants*, 12, 58.
- Munhuweyi, K., Caleb, O. J., Lennox, C. L., van Reenen, A. J., & Opara, U. L. (2017). Actividad antifúngica *in vitro* e *in vivo* de los aceites esenciales de quitosano contra patógenos del fruto de la granada. *Biología y tecnología poscosecha*, 129, 9-22.
- Picman, A., Schneider, E., & Picman, J. (1995). Effect of Flavonoids on Mycelial Growth of *Verticillium albo-atrum*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 23(7/8), 683-693.
- Prior, R., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J. Agric. Food Chem*, 53(10), 4290-4302.
- Rosero, J. C., Cruz, S., Osorio, C., & Hurtado, N. (2019). Analysis of Phenolic Composition of Byproducts (Seeds and Peels) of Avocado (*Persea americana* Mill.) Cultivated in Colombia. *Molecules*, 24, 3209.
- Routray, W., & Orsat, V. (2014). Variation of phenolic profile and antioxidant activity of North American highbush blueberry leaves with variation of time of harvest and cultivar. *Industrial Crops and Products*, 62, 147-155.
- Salazar-López, N. J., Domínguez-Avila, J. A., Yahia, E. M., Belmonte-Herrera, B. H., Wall-Medrano, A., Montalvo-González, E., & González-Aguilar, G. A. (2020). Avocado fruit and by-products as potential sources of bioactive compounds. *Food Research International*, 138, Part A, Artículo 109774.
- Sater, H., Ferrão, L. F., Olmstead, J., Munoz, P. R., Bai, J., Hopf, A., & Plotto, A. (2021). Exploring environmental and storage factors affecting sensory, physical and chemical attributes of six southern highbush blueberry cultivars. *Scientia Horticulturae*, 289, Artículo 110468.
- Šavikin, K., Živković, J., Zdunić, G., Godevac, D., Đorđević, B., Dojčinović, B., & Đorđević, N. (2014). Phenolic and mineral profiles of four Balkan indigenous apple cultivars monitored at two different maturity stages. *Journal of Food Composition and Analysis*, 35(2), 101-111.
- Ștefănescu, B.-E., Călinoiu, L.F., Ranga, F., Fetea, F., Mocan, A., Vodnar, D.C., & Crișan, G. (2020). The Chemical and Biological Profiles of Leaves from Commercial Blueberry Varieties. *Plants*, 9, 1193.
- Torgbo, S., Sukatta, U., Kamonpatana, P., & Sukyai, P. (2022). Ohmic heating extraction and characterization of rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) peel extract with enhanced antioxidant and antifungal activity as a bioactive and functional ingredient in white bread preparation. *Food Chemistry*, 382, Artículo 132332.
- Vázquez-González, Y., Ragazzo-Sánchez, J. A., & Santoyo, M. C. (2020). Caracterización y actividad antifúngica del extracto de hoja de jaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) obtenido mediante tecnologías convencionales y emergentes. *Química de los Alimentos*, 330, Artículo 127211.
- Wang, L.-J., Wu, J., Wang, H.-X., Li, S.-S., Zheng, X.-C., Du, H., . . . & Wang, L.-S. (2015). Composition of phenolic compounds and antioxidant activity in the leaves of blueberry cultivars. *Journal of Functional Foods*, 16, 295-304.
- Westlake, D. W., Talbot, G. S., Blakley, E., & Simpson, F. J. (1959). Microbial decomposition of rutin. *Can. J. Microbiol*, 5, 529-621.

- Yi, S., Yi, L., Li, L., Jin, F., Beiyang, L., Xuedong, Z., & Hongkun, W. (2011). Antibacterial activity of quercetin on oral infectious pathogens. *African Journal Microbiol. Res.*, 5(30), 5358–5361.
- Yong-Sheng, J. (2019). Avances recientes en flavonoides antifúngicos naturales y sus derivados. *Cartas de química bioorgánica y medicinal*, 29(19).
- Zabka, M. P., & Gabrielova-Slezakova, L. (2011). Promising antifungal effect of some Euro-Asiatic plants against dangerous pathogenic and toxinogenic fungi. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91, 492–497.
- Zhang, D., Bi, W., Kai, K., Ye, Y., & Liu, J. (2020a). Effect of chlorogenic acid on controlling kiwifruit postharvest decay caused by *Diaporthe* sp. *LWT – Food Science and Technology*, 132. Artículo 109805.
- Zhang, M., Wang, D., Gao, X., Yue, Z., & Zhou, H. (2020b). Exogenous caffeic acid and epicatechin enhance resistance against *Botrytis cinerea* through activation of the phenylpropanoid pathway in apples. *Sci. Hortic.*, 268, Artículo 109348.
- Zhang, X., Zhang, P., Yuan, X., Li, Y., & Han, L. (2020c). Effect of pyrolysis temperature and correlation analysis on the yield and physicochemical properties of crop residue biochar. *Bioresour. Technol*, 296, Artículo 122318.

