

Ensayo de Investigación

Bioaccesibilidad y cambios en el perfil fenólico de extractos acuosos y lipofílicos de semilla de aguacate (*Persea americana* Mill.) variedad Hass

Bioaccessibility and polyphenolic profile changes of aqueous and lipophilic extract of avocado seed (*Persea americana* Mill.) variety Hass

Vanessa Sánchez-Quezada^{1*}, Guadalupe Flavia Loarca-Piña^{1*}

¹Facultad de Química
Universidad Autónoma de Querétaro

Autor de correspondencia:
vanessa.sanchez@uaq.mx
loarca@uaq.mx

Recibido:11-05-2023 Aceptado: 26-11-2025 (Artículo Arbitrado)

Resumen

Actualmente la generación de subproductos del fruto de aguacate (*Persea americana* Mill.) se ha incrementado por la demanda de pulpa, provocando contaminación en suelos debido al exceso de compuestos orgánicos. Por otra parte, la estrategia de economía circular busca reutilizar subproductos agroindustriales dando un nuevo uso, debido a que son una buena fuente de compuestos bioactivos, que debido a su origen la extracción de estos compuestos es más barata, abriendo campos de oportunidad para el uso de los subproductos de aguacate. El objetivo de este trabajo fue extraer, identificar y cuantificar los compuestos polifenólicos (CF) de extractos acuosos, lipofílicos y sus mezclas provenientes de semilla de aguacate, y conocer los cambios en el perfil y concentración durante una simulación de digestión oral-gástrica *in vitro*. Los resultados más significativos resaltan que la concentración más alta de CF se encontró durante la fase del estómago a los 25 minutos, así mismo las mezclas presentaron mayor contenido de compuestos fenólicos que los extractos individuales. Estos resultados evidencian que los CF presentes en los extractos de semilla de aguacate resisten el tracto oral-gástrico y pueden ser utilizados en la industria alimenticia como antioxidantes naturales otorgando beneficios en el tracto gástrico del consumidor.

Palabras clave: Compuestos polifenólicos, flavonoides, semilla de aguacate, simulación oral-gástrica.

Abstract

Currently, the generation of by-products from avocado fruit (*Persea americana* Mill.) has increased due to the high demand for avocado pulp, leading to soil contamination from excess organic compounds. On the other hand, the circular economy strategy seeks to repurpose agroindustrial by-products or waste, giving them a new use. By-products are a good source of bioactive compounds, and due to their origin, their extraction is less expensive than industry extractions, opening up opportunities for the use of avocado by-products. The objective of this work was to extract, identify, and quantify the polyphenolic compounds (CF) of aqueous, lipophilic extracts and their mixtures from avocado seed, and to know the changes in the profile and concentration during an *in vitro* oral-gastric digestion simulation. The most significant results highlight that the highest concentration of CF was found during the stomach phase at 25 minutes, and the mixtures also presented a higher content of phenolic compounds than the individual extracts. The results show that the CF present in avocado seed extracts and mix resist the oral-gastric tract and can be used in the food industry as natural antioxidants, providing benefits to the consumer's gastric tract.

Keywords: Polyphenolic compounds, flavonoids, avocado seed, oral-gastric simulation.

Introducción

El nombre del fruto de Aguacate proviene de “ahuacatl” palabra de origen Azteca, que significa testículo, este fruto posee muchos usos principalmente en alimentos, cosméticos y medicina tradicional (GDN, 2023). Dentro de la industria, la pulpa de aguacate es la única utilizada como materia prima para la elaboración de productos como guacamole, aguacate deshidrata-

do, aceite, cosméticos, entre otros productos (Stephen & Radhakrishnan, 2022). Estas industrias generan grandes cantidades de subproductos como la cáscara y semilla los cuales representan de 29 al 38 % del peso total del fruto de aguacate. Sin embargo, la semilla destaca como el principal subproducto ya que representa del 16 al 22 % del peso total (Stephen & Radhakrishnan,

2022). Estos subproductos la industria decide su uso donde solo una mínima concentración se destina a uso de composta, y la mayoría se desecha, esto último genera una gran concentración de compuestos orgánicos en el suelo que llega a ser gran contaminante ya que altera la vida útil de las tierras.

En la actualidad, existe diferentes reportes e información etnofarmacológica sobre el uso de semillas principalmente en países de América central y del sur, donde se usan para el tratamiento de condiciones de salud destacando las enfermedades gastrointestinales. Investigaciones y patentes destacan su aprovechamiento para la preparación de bebidas antioxidantes, colorante natural, como insecticidas, fungicidas y antimicrobianos en medios de cultivo, así como para mejorar el estado de salud-enfermedad en patologías como: hipercolesterolemia, hipertensión, estados inflamatorios y diabetes (Ayala-Zavala et al., 2023; Charles et al., 2022; Araújo et al., 2018).

Todas las contribuciones benéficas asociadas a la semilla de aguacate se relacionan a su composición química y a la presencia de compuestos bioactivos, los cuales se definen como aquellos compuestos que más allá de nutrir ayudan a la conservación de un estado de salud, destacando su alta concentración de compuestos polifenólicos (CF), ácidos grasos poliinsaturados y otros compuestos lipófilos (derivados de compuestos orgánicos ésteres), los que pueden otorgar el efecto preventivo y mejorar la salud del consumidos al incorporar la semilla de aguacate (Dabas et al., 2013). Dentro de nuestro grupo de trabajo ya se comprobó que la semilla de aguacate no presenta citotoxicidad en el modelo de *Artemia salina*, un crustáceo que se alimenta absorbiendo partículas en su medio, por lo que puede representar un subproducto seguro para el aprovechamiento de la semilla (Sánchez-Quezada et al., 2023).

Por otra parte, el estilo de vida, malos hábitos alimentación, y el estrés oxidativo generado en el organismo son los principales factores de riesgo para el desarrollo de enfermedades inflamatorias principalmente en el tracto gastrointestinal (Vivarelli et al., 2023). Dentro de las enfermedades gastrointestinales no transmisibles se destacan por mayor incidencia las úlceras, inflamación en el estómago e intestino, cáncer de estómago y de colon, entre otros (Labanski et al., 2020). En específico el estómago se caracteriza

por tener un microambiente diferente al tracto digestivo, esto debido a la secreción del ácido clorhídrico (pH, es una medida que nos indica que tan ácida o básica está el medio), los movimientos peristálticos, enzimas digestivas, el moco gástrico, reflujo biliar y la baja microbiota presente en esta zona (Cheung et al., 2018). Por lo que es multi factorial un estadio de inflamación en esta parte del tracto digestivo, adicional a ello las respuestas inflamatorias promueven el desarrollo del cáncer (Echizen et al., 2019).

Investigaciones recientes han demostrado que compuestos lipofílicos como los ácidos grasos pueden tener un efecto contra factores de riesgo como lo es la bacteria de *Helicobacter pylori* que se asocia con inflamación y cáncer de estómago (Sánchez-Quezada et al., 2024). Otros estudios han comprobado que los compuestos polifenólicos como la quercetina y el ácido gálico logran tener efectos antiinflamatorios en el estómago, estas investigaciones se han centrado en los CF como compuestos bioactivos anticancerígenos. Estos grupos de moléculas ejercen propiedades preventivas al actuar sobre los múltiples puntos de control de las células pre-cancerosas y pueden inducir la apoptosis, la autofagia y la detención del ciclo celular con alta especificidad (Bouyahya et al., 2022). Debido a ello, la obtención de CF presentes en muestras de origen natural proveniente de subproductos hace que se reduzcan los costos y garanticen la calidad de los compuestos bioactivos (Gil-Martín et al., 2022). Por lo que el objetivo del trabajo fue evaluar la bioaccesibilidad de los compuestos polifenólicos mediante los cambios en el perfil y concentración durante la digestión oral-gástrica *in vitro*. Este trabajo busca impulsar el uso de subproductos de aguacate como lo es la semilla dando alternativas para comprobar de manera científica el uso etnofarmacológico en enfermedades gastrointestinales.

Desarrollo

Material biológico. Los frutos de aguacate (*Persea americana* Mill.) variedad Hass fueron adquiridos en centros comerciales locales, de origen del estado de Michoacán. Los cuales se seleccionaron por no presentar daño físico o microbiológico visibles. Los frutos fueron lavados con agua y desinfectados con cloro de acuerdo a las especificaciones del proveedor para la desinfección de frutas y verduras. Las semillas se separaron de la pulpa y de la cáscara y fueron al-

macenadas aisladas de la luz a 5 °C hasta el día de su procesamiento.

Extractos. Las semillas fueron cortadas y procesadas por deshidratación para posteriormente molerlas hasta obtener el mismo tamaño de partícula, posteriormente el pasó a obtener los diferentes extractos, para el extracto acuoso se obtuvo por maceración, mientras que el extracto lipofílico por ultrasonido usando hexano como solvente, que posteriormente fue removido con el rotavapor.

Mezclas de los extractos. Se obtuvieron cinco mezclas clasificadas como E10 que presentaba 10 % de extracto lipofílico y 90 % del extracto acuoso, E15 con 15 % del extracto lipofílico y 82 % del extracto acuoso, E25 con 25 % del extracto lipofílico y 85 % del extracto acuoso, E30 con 30 % del extracto lipofílico y 70 % del extracto acuoso, y E35 con 35 % del extracto lipofílico y 65 % del extracto acuoso, una vez realizadas las mezclas se colocaron en tubos ámbar y fueron agitadas en un ultraturrax. Todas las muestras se hicieron aislados de la luz y almacenados a 4 °C hasta el día del análisis.

Digestión gastrointestinal oral-gástrica *in vitro* de los extractos y mezclas. Todas las mezclas (E10, E15, E25, E30 y E35) y los extractos por separado (fenólico y lipofílico) se sometieron a la simulación del proceso de digestión simulando las etapas de boca y estómago, donde se varía el pH, temperatura, velocidad de mezclado y sales, de acuerdo a la metodología descrita por Brodkorb et al. (2019).

Simulación de las condiciones de la boca. Brevemente, en tubos cónicos ámbar se adicionaron 6 mL de los extractos o de las diferentes mezclas, posteriormente se adicionó 4.8 mL de la saliva artificial (SSF 1.25x), 0.03 mL CaCl (H₂O)₂ (3 Molar), 0.250 mL de agua destilada y 0.9 mL de α-amilasa (75 U/mg en solución de saliva artificial SSF) y se incubaron a 37 °C por dos minutos y con agitación constante vigorosa, para simular la etapa de masticado. Se tomaron 2 mL/U y el resto pasó a la fase del estómago.

Simulación de las condiciones del estómago. De los tubos con las muestras provenientes después de la etapa de la boca se agregó 8 mL de la secreción gástrica *in vitro* que contenía 0.005 mL CaCl₂(H₂O)₂, 1 mL de pepsina (16 mg en 984 mL en SGF [4000 U/

mg]; Sigma >250U/mg), 60 μL lipasa gástrica (120 U/mL [Sigma 1000U/mg]) y 0.535 mL de agua destilada. Posteriormente se fue ajustando el pH a 5-4 y transcurridos 10 minutos se tomaron muestras (2 mL) para obtener la fase gástrica a los 10 minutos. A la muestra restante se ajustó nuevamente el pH a 4-3 y transcurridos 25 minutos se tomaron 2 mL de cada muestra las cuales representan la fase gástrica a los 25 minutos. Por último, el restante se volvió a ajustar hasta alcanzar un pH de 2 y se dejó bajo las condiciones del estómago hasta completar 120 minutos, finalizando el tiempo se tomaron alícuotas 2 mL las cuales se clarificaron como la fase gástrica a los 120 minutos. Todas las alícuotas previamente etiquetadas se almacenaron a -70 °C.

Compuestos fenólicos (HPLC-DAD). El perfil de compuestos fenólicos de las muestras antes y después de la digestión oral-gástrica *in vitro* se realizó de acuerdo a lo descrito por Sánchez-Quezada et al., (2023) con modificaciones. Se analizó por Cromatografía de Líquidos acoplado a un detector de diodos (HPLC-DAD), la separación de los compuestos polifenólicos se realizó con ayuda de una columna ZORBAX Eclipse XDB-C18 (4.6 X 150mm, 5-micron) con un flujo constante de 0.75 mL/minutos, usando un volumen de inyección de 10 μL y una presión máxima de 400 bar. La fase móvil fue agua grado HPLC acidificada y acetonitrilo grado HPLC, usando un gradiente lineal de separación, se utilizó el detector de diodos (DAD). Se realizaron curvas de calibración usando estándares puros. Los resultados son expresados en μg del estándar por mL de muestra.

Análisis estadístico. Los resultados se expresan como la media ± la desviación estándar de tres experimentos independientes analizados por un análisis de varianza (ANOVA) seguido de la prueba de Tukey (p < 0.5). Utilizando el programa JMP versión 8.0.

Discusión y análisis de resultados

Los compuestos polifenólicos son compuestos bioactivos considerados metabolitos secundarios de las plantas que se sintetizan como método de defensa contra insectos, escases o exceso de agua y aspectos ambientales. En los seres humanos, el consumo de estos compuestos es importante, ya que, se relaciona con la disminución de enfermedades inflamatorias. Por lo que conocer el perfil de los compuestos polifenólicos

presentes en la semilla de aguacate es evidencia que pueda fundamentar como pueden prevenir diferentes enfermedades principalmente relacionado a su uso etnofarmacológico.

Los resultados más significativos de esta investigación se resaltan que las cinco mezclas de los extractos lipofílicos y acuosos y los extractos puros (sin mezclarse) se sometieron a digestión oral-gástrica (oral, gástrica 10 min, gástrica 25 min y gástrica 120 min), donde se identificaron y cuantificaron los cambios en el perfil de los compuestos fenólicos. Los resultados del cambio en el perfil de los principales compuestos polifenólicos (CF) se describen en la Tabla 1 y el perfil principal de la semilla se muestra en la Figura 1. Dentro de los resultados estadísticamente significativos se observan cambios en el perfil de los compuestos polifenólicos mayoritarios, esto se atribuye a la variación del pH (7 a 2), la concentración de sales presentes en las soluciones oral-gástrica, el movimiento mecánico y otros factores incluidos durante la digestión *in vitro*.

En el perfil de los compuestos fenólicos sin proceso de digestión, se observa para el extracto acuoso una menor cuantificación en comparación con la mezcla de extractos; destacando el ácido hidroxifenilacético, catequina, rutina y ácido elágico con 81.49 $\mu\text{g/mL}$, 19.80 $\mu\text{g/mL}$, 11.26 $\mu\text{g/mL}$ y 4.32 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente. Por su parte en la fracción lipofílica se lograron identificar compuestos fenólicos de menor afinidad al agua (polaridad), lo que se atribuye al proceso de extracción del extracto lipofílico. Se conoce que las semillas de los frutos se pueden utilizar para la extracción de aceites que contienen una serie de biocompuestos y antioxidantes naturales tales como compuestos fenólicos, tocoferoles, fitoesteroles y carotenoides (Karrar et al., 2018).

Para la mezcla de los extractos se presentan dos tendencias:

1) Los flavonoides disminuyen (presentado diferencias estadísticamente significativas) al incrementar la concentración de la fracción lipofílica (principalmente con cambio de E15 a E25), y la concentración de flavonoides disminuye de la mezcla E10 a E30 principalmente en los compuestos como: la epigallocatequina-3-galato (10.63 %), rutina (8.98 %) y catequina (9.00 %), este comportamiento se debe a que en la mezcla E30 la concentración del extracto acuoso es menor comparada con la mezcla E15.

2) Los ácidos fenólicos presentes en las mezclas se incrementan significativamente al incrementar el extracto lipofílico, destacando ácido cafeico, ácido elágico y ácido hidroxifenilacético.

Otra observación es que se identificó fue la presencia de epigallocatequina la cual se atribuye a la liberación de compuestos acomplejados, se conoce que la semilla de aguacate rica en procianidinas siendo dímeros y trímeros de epigallocatequina (Figuerola et al., 2018) por lo que se estarían hidrolizando las procianidinas por acción del pH de las mezclas (5.5 ± 0.5) y los controles (5.9 ± 0.9) y en consecuencia identificando las epigallocatequinas.

En la etapa de la boca el principal compuesto presente en la mezcla y en el extracto acuoso fue la catequina, seguido de la rutina. Para el extracto lipofílico el compuesto mayoritario fue el ácido hidroxifenilacético, y el cual va incremento en las mezclas de E10 < E35, por su parte el ácido elágico se describe como el cuarto más abundante en todos los extractos. Se observa que el extracto acuoso con las mezclas no presenta diferencias significativas en el total de los compuestos cuantificados ($p \leq 0.05$). Sin embargo, E35 presenta el menor contenido de compuestos fe-

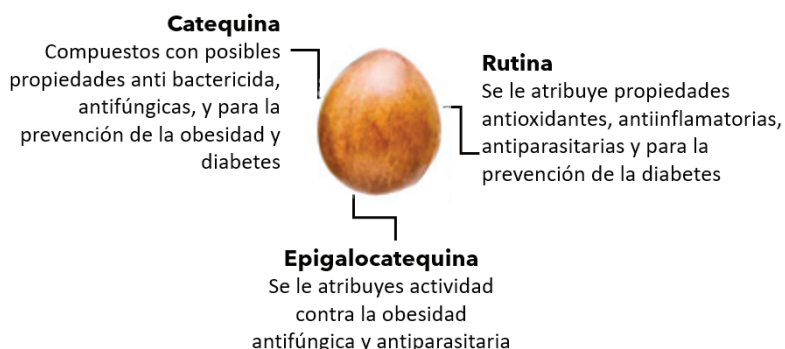


Figura 1. Principales compuestos polifenólicos y su atribución general a la salud presente en la semilla de aguacate.
Fuente: Elaboración propia.

Tabla 1. Perfil de compuesto fenólicos presentes sin y durante la digestión *in vitro* en los extractos de semilla de aguacate (*Persea Americana* Mill).

Compuestos Fenólicos	Control (extracto)		Extractos de semilla de aguacate				
	Lipídico	Acuoso	E10	E15	E25	E30	E35
Sin digestión							
Epigallocatequina	3.71 ± 0.6 ^c	11.27 ± 1.6 ^c	12.23 ± 0.5 ^a	12.03 ± 0.4 ^a	11.07 ± 1.4 ^b	10.79 ± 1.0 ^b	8.16 ± 0.7 ^b
Rutina	11.87 ± 1.1 ^c	55.10 ± 1.1 ^c	54.86 ± 2.6 ^a	54.38 ± 4.3 ^a	51.45 ± 1.5 ^b	49.36 ± 2.4 ^b	49.09 ± 2.9 ^b
Catequina	0.816 ± 0.5 ^d	72.56 ± 1.6	71.15 ± 2.6 ^a	69.87 ± 1.9 ^b	65.91 ± 2.4 ^c	63.75 ± 1.7 ^c	59.97 ± 1.8 ^c
Ác. elágico	18.49 ± 0.9 ^d	5.84 ± 0.2 ^a	5.80 ± 0.8 ^{cd}	6.36 ± 0.7 ^c	8.55 ± 1.6 ^b	8.85 ± 1.0 ^b	9.55 ± 0.3 ^a
Ác. Hidroxifenilacético	34.32 ± 5.5 ^a	18.94 ± 1.1 ^d	46.32 ± 5.2 ^c	47.89 ± 2.2 ^c	50.45 ± 1.4 ^{cb}	52.82 ± 1.9 ^b	53.89 ± 2.6 ^b
Ác. Cafeico	ND	1.95 ± 1.01 ^c	2.79 ± 0.65 ^c	2.33 ± 0.26 ^c	2.03 ± 0.18 ^b	2.62 ± 0.16 ^a	2.16 ± 0.33 ^a
Ác. Clorogénico	4.78 ± 1.03	2.75 ± 1.38	3.84 ± 1.49	4.32 ± 0.41	5.45 ± 0.9	5.59 ± 0.34	5.64 ± 0.89
TOTAL	73.2 ± 14.7^d	178.4 ± 11.1^b	198.9 ± 15.1^a	197.2 ± 14.1^a	194.8 ± 6.0^a	193.7 ± 8.5^a	188.4 ± 19.0^a
Fase de boca, pH 7.0							
Rutina	8.87 ± 1.1 ^d	39.10 ± 4.2 ^a	38.03 ± 1.8 ^a	35.77 ± 5.4 ^a	27.62 ± 3.8 ^b	22.48 ± 3.6 ^c	20.37 ± 2.7 ^c
Catequina	8.16 ± 0.6 ^c	62.56 ± 3.9 ^a	60.15 ± 2.6 ^a	59.87 ± 4.9 ^a	55.91 ± 2.2 ^b	53.75 ± 1.4 ^b	48.97 ± 3.3 ^b
Ác. Hidroxifenilacético	5.52 ± 0.7 ^a	1.43 ± 0.2 ^d	4.33 ± 1.1 ^c	4.93 ± 0.4 ^c	5.39 ± 0.6 ^b	5.52 ± 0.5 ^b	6.77 ± 0.7 ^a
Ác. Cafeico	35.49 ± 3.3 ^c	20.79 ± 1.1 ^d	36.88 ± 3.3 ^c	37.50 ± 3.1 ^{cb}	42.02 ± 4.7 ^a	43.17 ± 2.4 ^a	44.04 ± 2.8 ^a
Ác. Clorogénico	4.78 ± 0.3 ^a	2.75 ± 0.2 ^b	3.84 ± 0.3 ^b	4.32 ± 0.4 ^a	5.45 ± 0.3 ^a	5.59 ± 0.4 ^a	5.64 ± 0.5 ^a
Minoritarios	11.05 ± 1.3 ^c	15.97 ± 1.4 ^b	16.67 ± 6.7 ^a	17.22 ± 1.4 ^a	17.86 ± 3.9 ^a	17.69 ± 1.7 ^a	14.47 ± 1.9 ^b
TOTAL	70.9 ± 5.8^b	151.6 ± 1.9^a	159.9 ± 5.2^a	159.6 ± 2.7^a	154.3 ± 3.7^a	148.2 ± 5.4^a	140.2 ± 8.9^a
Fase de gástrica 10 minutos, pH 5.0-4.0							
Rutina	2.67 ± 0.6 ^e	40.17 ± 2.1 ^a	35.54 ± 2.4 ^b	34.71 ± 3.7 ^b	17.06 ± 1.3 ^d	15.81 ± 1.2 ^d	15.03 ± 1.9 ^d
Catequina	0.879 ± 0.2 ^d	70.95 ± 6.6 ^a	69.76 ± 5.9 ^a	53.87 ± 5.9 ^b	27.53 ± 4.4 ^c	23.75 ± 2.3 ^c	19.54 ± 1.3 ^c
Ác. Hidroxifenilacético	1.97 ± 0.9 ^d	19.77 ± 1.7 ^a	15.17 ± 0.3 ^b	11.7 ± 0.7 ^c	9.17 ± 2.5 ^c	9.15 ± 1.3 ^c	8.70 ± 0.9 ^c
Ác. Cafeico	25.95 ± 5.5 ^b	9.78 ± 0.9 ^d	15.76 ± 1.8 ^c	17.87 ± 3.2 ^c	25.52 ± 3.9 ^b	30.75 ± 1.5 ^a	32.54 ± 1.9 ^a
Ác. Clorogénico	18.11 ± 2.7 ^a	3.89 ± 0.5 ^d	11.95 ± 0.4 ^c	11.57 ± 4.3 ^b	15.11 ± 3.0 ^b	17.75 ± 2.5 ^a	18.20 ± 2.7 ^a
Minoritarios	ND	16.95 ± 1.0 ^a	8.09 ± 0.6 ^b	7.13 ± 0.8 ^c	6.73 ± 2.2 ^{cd}	6.62 ± 3.2 ^{cd}	6.16 ± 2.0 ^d
TOTAL	48.57 ± 2.9^c	161.51 ± 10^a	156.27 ± 5.5^a	136.9 ± 8.7^b	100.4 ± 7.2^c	103.8 ± 8.9^c	100.2 ± 6.3^c
Fase de gástrica 25 minutos, pH 4.0-3.0							
Rutina	7.90 ± 1.1 ^c	48.56 ± 1.2 ^a	37.18 ± 2.5 ^b	35.98 ± 5.6 ^b	32.49 ± 3.9 ^c	29.79 ± 3.6 ^c	27.6 ± 2.9 ^d
Catequina	6.20 ± 0.5 ^f	65.98 ± 7.6 ^a	60.10 ± 4.3 ^b	58.20 ± 2.4 ^b	45.31 ± 3.7 ^d	38.93 ± 1.9 ^e	35.53 ± 1.8 ^e
Ác. Hidroxifenilacético	5.19 ± 0.9 ^a	1.91 ± 0.2 ^d	3.62 ± 0.5 ^c	4.90 ± 0.4 ^b	5.61 ± 1.5 ^a	6.03 ± 0.8 ^a	6.97 ± 0.3 ^a
Ác. Cafeico	25.85 ± 5.5 ^c	10.3 ± 3.1 ^d	22.98 ± 3.8 ^c	24.80 ± 1.6 ^c	28.06 ± 1.7 ^b	30.11 ± 4.3 ^b	34.49 ± 2.6 ^a
Ác. p-cumárico	31.45 ± 62.8 ^b	19.87 ± 2.8 ^d	26.92 ± 3.6 ^c	30.46 ± 2.2 ^b	32.50 ± 4.3 ^b	34.89 ± 1.5 ^a	36.04 ± 1.9 ^a
Minoritarios	ND	15.98 ± 4.01 ^a	7.77 ± 2.1 ^b	2.33 ± 0.3 ^c	2.03 ± 0.8 ^c	2.62 ± 0.4 ^c	2.16 ± 0.33 ^c
TOTAL	71.02 ± 3.7^d	162.6 ± 9.1^a	158.5 ± 7.1^b	156.7 ± 5.9^{bc}	146.0 ± 4.7^c	142.37 ± 5.5^c	142.8 ± 6.9^c
Fase de gástrica 120 minutos, pH 2.0							
Rutina	4.60 ± 0.5 ^e	45.10 ± 5.7 ^a	35.65 ± 1.6 ^b	31.76 ± 4.7 ^{bc}	27.77 ± 3.5 ^c	26.20 ± 2.8 ^c	25.55 ± 3.0 ^d
Catequina	5.57 ± 1.2 ^d	64.27 ± 3.6 ^a	50.11 ± 3.4 ^b	45.65 ± 5.9 ^b	34.03 ± 2.4 ^c	33.81 ± 3.7 ^c	30.47 ± 4.8 ^c
Ác. Hidroxifenilacético	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ác. Cafeico	28.88 ± 5.5 ^a	17.67 ± 3.3 ^c	23.81 ± 5.2 ^b	23.29 ± 2.2 ^b	24.71 ± 3.4 ^b	26.01 ± 4.1 ^a	28.35 ± 2.2 ^a
Ác. Clorogénico	19.25 ± 2.7 ^a	5.98 ± 0.6 ^c	16.40 ± 2.7 ^b	16.58 ± 2.3 ^b	18.41 ± 3.0 ^a	19.53 ± 1.9 ^a	20.10 ± 2.1 ^a
Minoritarios	ND	11.98 ± 1.1 ^a	4.85 ± 1.2 ^b	4.90 ± 1.6 ^b	4.21 ± 1.3 ^b	4.11 ± 1.8 ^b	4.08 ± 1.3 ^b
TOTAL	58.3 ± 2.5^c	133.02 ± 6.8^a	130.82 ± 5.7^a	122.18 ± 6.7^{ab}	109.13 ± 5.8^b	109.66 ± 5.4^b	108.55 ± 4.6^b

El contenido de compuestos fenólicos se expresa como μg del compuesto identificado por mL de muestra. Diferente letra representa diferencia estadística entre columna por fase de la digestión comparando las medias por la prueba de Tukey ($p < 0.05$). E10: 10:90 (v/p); E15: 15:85 (v/p); E25: 25:75 (v/p); E30: 30:70 (v/p); E35: 35:65 (v/p); ND: por debajo del límite de detección.

Fuente: Elaboración propia.

nólicos totales durante esta etapa, coincidiendo con los resultados obtenidos de la muestra sin digestión. Como era de esperarse la fracción lipídica presentó la concentración más baja en comparación de la mezcla y el extracto acuoso. Esta etapa no muestra diferencias significativas con respecto al perfil de fenoles de los ingredientes antes de ser sometidos a la digestión *in vitro*, con excepción de la rutina que presentó mayor concentración en la etapa de oral, esto se atribuye a que su capacidad para disociarse en el medio ácido del estómago (Premathilaka et al., 2022).

A los 10 minutos de la etapa gástrica con pH de entre 5 a 4 se observa una disminución significativa en la concentración y perfil de compuestos fenólicos en las mezclas con mayor concentración del extracto lipofílico (E25, E30 y E35) no presentando diferencia estadística con el extracto lipofílico. Por otra parte, las mezclas E10 y E15 conservaron la concentración de compuestos fenólicos presentando similitud estadística con el extracto acuoso en cuanto al perfil se observa que la catequina es el compuesto mayoritario de esta etapa, mientras que la rutina disminuye durante el cambio de la fase oral a la gástrica 10 minutos esto se asocia a que en este tiempo la rutina puede disolverse por lo que concentración máxima de identificación será en la fase oral (pH 7.0). Además, se incrementó en la concentración del ácido hidroxifenilacético por lo que su máximo de identificación será durante la etapa gástrica 10. En esta etapa disminuyeron los compuestos polifenólicos en las mezclas E25, E30 y E35 lo que se sugiere que los flavonoides inhiben la oxidación de lípidos por donación de electrones presentes en los anillos estructurales a comparación de los ácidos fenólicos que donan menores electrones (Zheng et al., 2022), por lo que los compuestos presentes evitan la generación de compuestos de oxidación de lípidos que se generan durante los cambios de pH y con el contacto de oxígeno del medio (se requieren mayores análisis). Adicional a ello se conoce que la actividad máxima de la lipasa bajo las condiciones de la etapa gástrica 10, por lo que en el extracto lipídico se están liberando compuestos lipofílicos como los que están presentes en triglicéridos donde la lipasa tiene la función de romper la estructura de los lípidos (cataliza la hidrólisis en el carbono uno (SN1) y en el carbono con posición

tres (SN3)) (Negi, 2019), por lo que esta etapa es más susceptible a la oxidación de los lípidos (se requieren más experimentos).

Para el perfil de los compuestos fenólicos en la etapa gástrica a los 25 minutos de digestión pH 3.0, se destaca que en esta etapa todas las mezclas son estadísticamente diferentes con los controles (acuoso y lipofílico), presentando cambios en el perfil de los compuestos en E10 y E15 (catequina > rutina > ác. *p*-cumárico > ác. Hidroxifenilacético > minoritarios) con respecto a E25, E30 y E35 (ác. *p*-cumárico > catequina > ác. Hidroxifenilacético > rutina > minoritarios). Es relevante mencionar que el ácido clorogénico no fue identificado en esta etapa, a su vez se identificó el ácido *p*-cumárico, esto se debe a la hidrólisis ácida, por el cambio de pH causando estos cambios conformacionales (Rai & Tzima, 2021).

Además, las variaciones en el contenido de los compuestos fenólicos pueden estar modificados por la estabilidad e inestabilidad durante las etapas gastrointestinales teniendo una mayor afinidad las enzimas digestivas a los compuestos fenólicos (Kashyap et al., 2022). Otro factor importante son las condiciones de pH que afectan a los polifenoles (protonación/desprotonación), teniendo cambios en su estado oxidativo y estabilidad, modificando el perfil fenólico durante las diferentes etapas de la digestión (Sęczyk et al., 2021).

Los cambios en los compuestos fenólicos en la etapa gástrica de 120 minutos a pH 2, se destaca la disminución de la catequina con forme se incrementa el extracto lipofílico en las mezclas. El ác. hidroxifenilacético se incrementan mientras que la concentración de flavonoides como catequina y rutina disminuyen en comparación con la etapa oral y gástrica 10 minutos, lo que sugiere que durante la etapa gástrica los flavonoides presentes en las emulsiones ejercen actividad antioxidante, sin embargo, esto requiere mayor experimentación. Esta etapa no mostró diferencias significativas con la etapa gástrica 25 minutos lo que indica un equilibrio en el medio, siendo compuestos libres y posiblemente bioaccesibles. La concentración total disminuyó un máximo de 24.8% durante toda la etapa oral-gástrica, por la acción, enzimática, hidrólisis ácida, oxidación de lípidos y acción mecánica. En general la etapa gástrica a los 10 minutos presentó la mayor disminución signifi-

cativa en la concentración de los compuestos fenólicos, atribuyéndolo a la generación de compuestos de la oxidación, estabilizándose hasta la etapa gástrica a los 25 minutos. Por lo que la etapa de gástrica 25 minutos es la fase donde se estabiliza y conserva la concentración de compuestos fenólicos, pudiendo tener la capacidad antioxidante por la liberación de los compuestos fenólicos y con ello la prevención de enfermedades gástricas.

Estos resultados son los primeros en relacionar el perfil fenólico de mezclas de extractos de semilla de aguacate en las diferentes fases oral-gástrica bajo el máximo parecido de las condiciones digestivas *in vitro*. Adicionalmente, de los resultados obtenidos es importante resaltar que los cambios tanto de flavonoides como de ácidos fenólicos por enzimas, pH, temperatura, electrolitos, agitación y tiempo, hacen más bioaccesibles y una posible acción bioactiva; esto es de relevancia para ayudar a prevenir enfermedades estomacales que causan úlceras, inflamación, y cáncer de estómago (Ardalani et al., 2020; Toofani et al., 2020) debido a la actividad antioxidante que estas mezclas podrían estar efectuando, se presenta evidencia científica de cuales compuestos podrían estar teniendo un efecto cuando se usa la semilla de manera etnofarmacológica.

Conclusiones

Estos resultados evidencian que los compuestos fenólicos siendo mayoritarios los flavonoides presentes en los extractos de semilla de aguacate resisten la digestión oral-gástrica durante la simulación *in vitro*. Así mismo se resalta que las mezclas de los extractos acuoso y lipofílico poseen mayor concentración de compuestos fenólicos que los extractos individuales, siendo la etapa gástrica a los 25 minutos la que los compuestos se conservan a pesar de las condiciones ácidas, mecánicas y enzimáticas de la etapa digestiva. Mientras que la etapa gástrica a los 120 minutos se evidenció que los compuestos fenólicos pueden llegar al intestino delgado donde podrían absorberse y ejercer un efecto benéfico a la salud. Por lo que, los extractos individuales como las mezclas pueden ser utilizados en la industria alimenticia como antioxidantes naturales otorgando posibles efectos benéficos al consumidor como la prevención de la inflamación gástrica.

Agradecimientos

Los autores agradecemos a la Universidad Autónoma de Querétaro y a la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI) por el apoyo otorgado a esta investigación.

Referencias

- Araújo, R. G., Rodríguez-Jasso, R. M., Ruiz, H. A., Pintado, M. M. E., & Aguilar, C. N. (2018). Avocado by-products: Nutritional and functional properties. *Trends in Food Science & Technology*, 80, 51-60 <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.07.027>
- Ardalani, H., Hadipanah, A., & Sahebkar, A. (2020). Medicinal plants in the treatment of peptic ulcer disease: A review. *Mini reviews in medicinal chemistry*, 20(8), 662-702; <https://doi.org/10.2174/1389557520666191227151939>
- Ayala-Zavala, J., Castillo-Romero, T. D. J., Salgado-Cervantes, M., Marín-Castro, U., Vargas-Ortiz, M., Pallet, D., & Servent, A. (2023). Flash Vacuum Expansion: Effect on Physicochemical, Biochemical and Sensory Parameters in Fruit Processing. *Food Reviews International*, 1-34. <https://doi.org/10.1080/87559129.2023.2197997>
- Bouyahya, A., Omari, N. E., Bakrim, S., Hachlafi, N. E., Balahbib, A., Wilairatana, P., & Mubarak, M. S. (2022). Advances in Dietary Phenolic Compounds to Improve Chemosensitivity of Anticancer Drugs. *Cancers*, 14(19), 4573 <https://doi.org/10.3390/cancers14194573>
- Brodtkorb, A., Egger, L., Alming, M., Alvito, P., Assunção, R., Ballance, S., & Recio, I. (2019). INFOGEST static *in vitro* simulation of gastrointestinal food digestion. *Nature protocols*, 14(4), 991-1014, <https://doi.org/10.1038/s41596-018-0119-1>.
- Charles, A. C., Dadmohammadi, Y., & Abbaspourrad, A. (2022). Food and cosmetic applications of the avocado seed: a review. *Food & Function*. <https://doi.org/10.1039/D1FO02438H>
- Cheung, Ka-Shing, & Wai K Leung. (2018). "Risk of gastric cancer development after eradication of *Helicobacter pylori*." *World journal of gastrointestinal oncology* 10(5): 115-23, <https://doi.org/10.4251/wjgo.v10.i5.115>
- Dabas, D., M Shegog, R., R Ziegler, G., & D Lambert, J. (2013). Avocado (*Persea americana*) seed as a source of bioactive phytochemicals. *Current pharmaceutical design*, 19(34), 6133-6140 <https://doi.org/10.2174/1381612811319340007>
- Echizen, K., Horiuchi, K., Aoki, Y., Yamada, Y., Minamoto, T., Oshima, H., & Oshima, M. (2019). NF-κB-induced NOX1 activation promotes gastric tumorigenesis through the expansion of SOX2-positive epithelial cells. *Oncogene*, 38(22), 4250-4263 <https://doi.org/10.1038/s41388-019-0702-0>
- Figuerola, 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. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.11.082>
- GDN, 2023. Gran Diccionario Náhuatl [en línea]. Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, México D.F: 2023 (ref del 11-05-2023). Disponible en la Web <<https://gdn.iib.unam.mx>>.

- Gil-Martín, E., Forbes-Hernández, T., Romero, A., Cinciosi, D., Giamperi, F., & Battino, M. (2022). Influence of the extraction method on the recovery of bioactive phenolic compounds from food industry by-products. *Food Chemistry*, 378, 131918 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131918>
- Karrar E, Sheth S, Navicha WB, Wei W, Hassanin H, Abdalla M, Wang X (2018). A potential new source: Nutritional and antioxidant properties of edible oils from cucurbit seeds and their impact on human health. *J Food Biochem* 43:e12733; <https://doi.org/10.1111/jfbc.12733>
- Kashyap, P., Riar, C. S., & Jindal, N. (2022). Effect of extraction methods and simulated in vitro gastrointestinal digestion on phenolic compound profile, bio-accessibility, and antioxidant activity of Meghalayan cherry (*Prunus nepalensis*) pomace extracts. *LWT*, 153, 112570; <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112570>.
- Labanski, A., Langhorst, J., Engler, H., & Elsenbruch, S. (2020). Stress and the brain-gut axis in functional and chronic-inflammatory gastrointestinal diseases: A transdisciplinary challenge. *Psycho-neuroendocrinology*, 111, 104501 <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2019.104501>
- Negi, S. (2019). Lipases: A Promising Tool for Food Industry. In: Parameswaran, B., Varjani, S., Raveendran, S. (eds) Green Bioprocesses. Energy, Environment, and Sustainability. Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-13-3263-0_10
- Premathilaka, R., Rashidinejad, A., Golding, M., & Singh, J. (2022). Oral delivery of hydrophobic flavonoids and their incorporation into functional foods: Opportunities and challenges. *Food Hydrocolloids*, 107567. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.107567>
- Rai, D. K., & Tzima, K. (2021). A Review on Chromatography–Mass Spectrometry Applications on Anthocyanin and Ellagitannin Metabolites of Blackberries and Raspberries. *Foods*, 10(9), 2150; <https://doi.org/10.3390/foods10092150>.
- Sánchez-Quezada, Gaytán-Martínez, Recio, & Loarca-Piña (2023). Avocado seed by-product uses in emulsion-type ingredients with nutraceutical value: stability, cytotoxicity, nutraceutical properties, and assessment of *in vitro* oral-gastric digestion, *Food Chemistry*, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.136118>
- Sánchez-Quezada, V., Velázquez-Guadarrama, N., Mendoza-Elizalde, S., Hernández-Iturriaga, M., Landaverde, P. V., & Loarca-Piña, G. (2024). Bioaccessibility of bioactive compounds present in *Persea americana* Mill. seed ingredient during oral-gastric digestion with antibacterial capacity against *Helicobacter pylori*. *Journal of Ethnopharmacology*, 331, 118259, <https://doi.org/10.1016/j.jep.2024.118259>
- Sęczyk, Ł., Sugier, D., Świeca, M., & Gawlik-Dziki, U. (2021). The effect of *in vitro* digestion, food matrix, and hydrothermal treatment on the potential bioaccessibility of selected phenolic compounds. *Food Chemistry*, 344, 128581; <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128581>
- Stephen, J., & Radhakrishnan, M. (2022). Avocado (*Persea americana* Mill.) fruit: Nutritional value, handling and processing techniques, and health benefits. *Journal of Food Processing and Preservation*, e17207 <https://doi.org/10.1111/jfpp.17207>
- Toofani, Milani, A., Rashidi, S., Mahmoudi, R., & Karimi Douna, B. (2019). Cytotoxic Activity of Epigallocatechin and Trans-Cinnamaldehyde in Gastric Cancer Cell Line. *Asian Pacific Journal of Cancer Biology*, 4(4), 71–74; <https://doi.org/10.31557/APJCB.2019.4.4.71-74>.
- Vivarelli, S., Costa, C., Teodoro, M., Giambò, F., Tsatsakis, A. M., & Fenga, C. (2023). Polyphenols: A route from bioavailability to bioactivity addressing potential health benefits to tackle human chronic diseases. *Archives of Toxicology*, 97(1), 3-38 <https://doi.org/10.1007/s00204-022-03391-2>
- Zheng, Y. Z., Deng, G., & Zhang, Y. C. (2022). Multiple free radical scavenging reactions of flavonoids. *Dyes and Pigments*, 198, 109877, <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2021.109877>