

Estudio fitoquímico preliminar y actividad antioxidante de un extracto acuoso de hoja de aguacate (Persea americana Mill.)

Preliminary phytochemical study and antioxidant activity of an aqueous extract of avocado leaf (Persea americana Mill.)

Dairon Iglesias Guevara¹* Juan Abreu Payrol²

Danae Pérez Santana³ Rocio Cartaya Quintero⁴

Resumen

Las hojas de aguacate son una fuente importante de metabolitos secundarios, pero la cantidad y diversidad de estos compuestos es muy variable y depende de múltiples factores. Por esta razón, el presente trabajo tuvo como objetivo realizar el estudio fitoquímico preliminar del material vegetal y determinar la capacidad antioxidante del extracto acuoso elaborado con el mismo. Se elaboró un extracto fluido mediante el método de repercolación con mezcla hidroalcohólica al 50 % v/v (mayor extracción de compuestos) y se fraccionó. Las fracciones P (precipitado), D (diclorometano), Ae (acetato de etilo), M (metanol), Re (residuo) fueron sometidas a cromatografía en capa delgada con gel de sílice sobre soporte de aluminio. La fase móvil empleada fue butanol, acético y agua a razón de 65:20:10. Se comprobó la presencia de diversos grupos de compuestos; entre los que destacan los polifenoles. La capacidad antioxidante medida para el extracto acuoso mostró que este fue capaz de inhibir el 86,1 % del radical de DPPH en la mayor concentración de extracto evaluada (25 µg/mL). Se reporta un IC₅₀ de 2,93 µg/mL y un contenido total de polifenoles de 3950 mg/L.

Palabras clave: Hoja de aguacate, perfil fitoquímico, extracto, capacidad antioxidante.

Abstract

Avocado leaves are an important source of secondary metabolites, but the quantity and diversity of these compounds is highly variable and depends on multiple factors. For this reason, the present work aimed to carry out the preliminary phytochemical study of the plant material and determine the antioxidant capacity of the aqueous extract made with it. A fluid extract was prepared by means of the repercolation method with a 50% v/v hydroalcoholic mixture (greater extraction of compounds) and it was fractionated. The fractions P (precipitate), D (dichloromethane), Ae (ethyl acetate), M (methanol), Re (residue) were subjected to thin layer chromatography with silica gel on an aluminum support. The mobile phase used was butanol, acetic and water at a ratio of 65:20:10. The presence of various groups of compounds was verified; among which the polyphenols stand out. The antioxidant capacity measured for the aqueous extract showed that it was capable of inhibiting 86.1% of the DPPH radical in the highest concentration of extract evaluated (25 µg/mL). An IC₅₀ of 2.93 µg/mL and a total polyphenol content of 3950 mg/L are reported.

Keywords: Avocado leaf, phytochemical profile, extract, antioxidant capacity.

*Dirección para correspondencia: daironig1993@gmail.com

Artículo recibido el 15-06-2021 Artículo aceptado el 13-08-2021 Artículo publicado el 15-09-2021

Fundada 2016 Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Técnica de Manabí, Ecuador.

¹Universidad de La Habana, Instituto de Farmacia y Alimentos, Licenciado en Ciencias Alimentarias, Departamento de Alimentos, La Lisa, La Habana, Cuba, daironig@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-0044-6083>

²Escuela Latinoamericana de Medicina y ECTI Sierra Maestra Proyecto Plantas Medicinales, Doctor en Ciencias Farmacéuticas, Departamento de Ciencias Morfológicas, Playa, La Habana, Cuba, jabreu@bionaturasm.cu, <http://orcid.org/0000-0003-2149-740X>

³Universidad de La Habana, Instituto de Farmacia y Alimentos, Doctora en Ciencias de los Alimentos, Departamento de Alimentos, La Lisa, La Habana, Cuba, danaeps@ifal.uh.cu, <http://orcid.org/0000-0002-8928-8914>

⁴Universidad de La Habana, Instituto de Farmacia y Alimentos, Licenciada en Ciencias Alimentarias, Departamento de Alimentos, La Lisa, La Habana, Cuba, rociocq@yandex.com, <http://orcid.org/0000-0001-7280-9237>

Introducción

El aguacate es un árbol de origen mesoamericano cuyo hábitat abarca desde aquellos situados a nivel del mar hasta altitudes que sobrepasan los 3000 metros, comprendiendo una amplia gama de climas y tipos de suelo. Las condiciones ideales para esta especie son temperaturas diurnas en torno a los 25 – 30 °C y nocturnas entre 15 -20 °C¹, siendo muy cultivada en regiones subtropicales por sus grandes frutos comestibles². Esta especie probablemente se originó en México, Guatemala y Honduras, donde se ha encontrado silvestre, la cual fue introducida por los españoles en el jardín botánico de Orotava de las Islas Canarias y de allí a España³.

Las hojas de aguacate son una fuente importante de metabolitos secundarios tales como alcaloides, saponinas, esteroides, antocianidinas y los polifenoles (flavonoides, taninos, ácidos fenólicos). Estos están implicados en los mecanismos de defensa de las plantas ante distintos factores de estrés biótico y abiótico. La cantidad y diversidad de estos compuestos es muy variable y depende del tipo de tejido, edad de la planta, hábitat, tipo de suelo, entre otros factores⁴. En las hojas de aguacate se encuentran cantidades significativas de polifenoles que son los principales compuestos responsables del efecto terapéutico atribuido a esta especie vegetal^{5,6}. Las propiedades antioxidantes que presentan los polifenoles son de gran interés en la industria de alimentos por ser útiles como preservantes y mucho más si provienen de una fuente natural y económica. Muchos autores han investigado acerca de las propiedades antioxidantes que poseen extractos realizados a partir de las hojas de aguacate⁷⁻¹⁰.

Los principales polifenoles identificados en hojas de aguacate son los ácidos cafeico, clorogénico, cumárico, ferúlico, gálico, hidroxibenzoico, protocatéquico, pirocatéquico, resorcílico, sinápico, siringico y vanílico¹¹⁻¹⁴; flavonoides como apigenina, isoramnetina, kaempferol 3-O-arabinopiranosido, kaempferol 3-O-β-glucopiranosido, kaempferol 3-O-rhamnopiranosido, luteolina, luteolina 7-O-glucósido, rutina, quercetina, quercetina 3-O-arabinopiranosido, quercetina 3-O-β-glucopiranosido, y epicatequina¹³⁻¹⁵. También se ha identificado dopamina, serotonina, perseita, persiteol, abacatina (principio amargo), catequina, epicatequina, cianidina, procianidinas, alcaloides de isoquinolina y el alcaloide del indol-5-hidroxi-triptamina. De igual forma aceites esenciales, teniendo al estragol como componente fundamental, alfa y beta-pineno, cineol, transanetol, alcanfor y limoneno¹⁶.

Teniendo en cuenta las razones antes expuestas se traza como objetivo realizar el estudio fitoquímico preliminar del material vegetal y determinar la capacidad antioxidante del extracto acuoso tipo infusión elaborado con el mismo.

Metodología

Las hojas de aguacate (*Persea americana* Mill) fueron recolectadas manualmente en el Instituto de Farmacia y Alimentos de la Universidad de La Habana, seleccionando las que presentaron las mismas características de estado vegetativo, tamaño, color y ausencia de manchas, grietas, alteraciones morfológicas visibles o provocadas por hongos y parásitos. El secado se realizó en una estufa con circulación forzada de aire a una temperatura de 40 °C durante 5 días. Para facilitar la pérdida de agua, las hojas fueron cortadas aproximadamente en tiras de 1cm². Una vez seco el material vegetal, con la ayuda de un molino de cuchillas se trituro y se pasó por un tamiz de 0,5 mm.

Al material vegetal se le determinó el contenido de humedad por método azeotrópico, las cenizas totales, cenizas solubles en agua y cenizas insolubles en ácido, así como las sustancias solubles en agua, 50 y 90 % (v/v) en mezcla hidroalcohólica. Estas determinaciones se realizaron según el Manual de Prácticas de Laboratorio Farmacognosia y Productos Naturales¹⁷.

El material vegetal fue sometido a pruebas químicas para la identificación de su composición. Se utilizó el sistema de cruces como criterio de medida para especificar la cualificación de estos metabolitos secundarios¹⁷.

Con el objetivo de corroborar la presencia de compuestos polifenólicos en el material vegetal, se elaboró un extracto fluido mediante el método de repercolación con mezcla hidroalcohólica al 50 % (v/v) (teniendo en cuenta los resultados arrojados por la determinación de sustancias solubles). Para ello se usaron tres percoladores, cada uno con 280 g de material vegetal y un tiempo de extracción del menstuo entre un percolador y otro de 48 horas. Este proceso se realizó hasta el agotamiento de cada uno de los percoladores obteniéndose aproximadamente un litro de extracto, que luego fue sometido a fraccionamiento.

Las fracciones P (precipitado, aparición de sólidos después de someter el extracto a temperatura de 10 °C por 3 días), D (diclorometano), Ae (acetato de etilo), M (metanol), Re (residuo) fueron sometidas a cromatografía en capa delgada por el método convencional ascendente con el empleo de gel de sílice G(F-254) sobre soporte de aluminio (8 x 7cm) y aplicado sobre este con el empleo de capilares. La fase móvil empleada fue butanol, acético y agua (BAW) a razón de 65:20:10. La cámara cromatográfica fue saturada durante 25 minutos con la fase móvil, previo a la corrida cromatográfica. Luego, las placas fueron secadas a temperatura ambiente hasta lograr la total remoción de la fase móvil empleada. El revelado de la placa se realizó en el espectro UV-VIS con una lámpara UV de baja intensidad (YL, Mod. WD-9403E, Beijing Liuyi Instrument Factory, China) a las longitudes de onda de 254 y 365 nm, sin y con vapores de amoníaco. También fueron empleados como reveladores el ácido sulfúrico (5 % v/v) y calor (105 °C), ácido sulfúrico (5 % v/v), calor (105 °C) y vainillina y solución salina de cloruro férrico (10 %). Para este estudio se hicieron corridas cromatográficas por cada uno revelados utilizado, más una que se utilizó como control positivo.

Se elaboró un extracto acuoso a partir del material vegetal por el método de infusión, con una relación masa del material vegetal/ disolvente de 0,05 g/mL. Se colocó en una plancha el agua hasta ebullición, luego se bajó y adicionó el material vegetal, se enfrió a temperatura ambiente por 30 minutos. Al cabo de este tiempo se filtró al vacío, desechando el residuo sólido. Un segundo extracto se elaboró a partir de la misma relación masa/ disolvente, pero con una mezcla hidroalcohólica al 50 % y agitación en zaranda por 12 horas.

La capacidad antioxidante se determinó mediante el método del DPPH. Este consiste en la medición a 517 nm de la reducción del radical libre estable 2,2-difenil-1picril hidrazilo (DPPH). La absorbancia característica de este radical que posee un color violeta intenso, disminuye en presencia de un antioxidante (que sea capaz de capturar un electrón libre) u otro radical. Es posible, por tanto, cuantificar la capacidad capturadora de radicales libres que poseen ciertos compuestos mediante la determinación del grado de decoloración que provocan a una solución etanólica de DPPH¹⁸. En este caso la absorbancia se leyó a 517 nm en un espectrofotómetro SUMA de 96 pocillos a cinco concentraciones diferentes de la muestra. Se emplearon concentraciones de 2,5; 6,2; 12,5; 18,5 y 25 µg/mL de extracto. El estudio se realizó por triplicado.

Se calculó el porcentaje de inhibición de la coloración del DPPH, utilizando la siguiente ecuación:
$$\%DPPH=100-(D.O_m-D.O_b)\times 100/(D.O_DPPH)$$

Donde:

D.O_m: densidad óptica de la muestra (nm).

D.O_b: densidad óptica del blanco (nm).

D.O_{DPPH}: densidad óptica de la solución de DPPH (nm).

% DPPH: porcentaje de decoloración del DPPH.

Se calculó la concentración de la muestra que decolora el 50 % del radical.

La cuantificación de los polifenoles totales, basada en una reacción colorimétrica de oxidación-reducción, se realizó de acuerdo a la metodología propuesta por Slinkard y Singleton¹⁹. El ensayo consistió en añadir a 50 µL del extracto acuoso de hojas de aguacate; 2,5 mL de la dilución del reactivo Folin-Ciocalteu (1+ 9 H₂O). Se determinó la absorbancia a 765 nm en un espectrofotómetro (Rayleigh UV-1601, Beijingng). Para la curva de calibración se utilizó como patrón el ácido gálico a concentraciones entre 100 y 500 mg/L. Los resultados fueron expresados como ácido gálico equivalente en mg/L de extracto.

La representación gráfica de los datos se construyó empleando *Microsoft Excel* 2013. Como estadígrafo de tendencia central se empleó la media aritmética y como medida de dispersión su desviación estándar. Se realizó el análisis de regresión lineal para las variables % de decoloración del DPPH y concentración del extracto, mediante el software SPSS v22.0 (IBM SPSS Inc., USA). El nivel de significación empleado fue de $p \leq 0,05$.

Resultados y discusión

En el estudio de los parámetros físico-químicos de calidad realizados, el contenido de humedad residual estuvo dentro del intervalo requerido¹⁷ (entre 8 y 14 %), por lo que se demostró la eficiencia del proceso de secado en estufa a 40 °C. Este es un indicador de calidad muy importante, ya que valores muy bajos de humedad pudieran implicar un secado demasiado drástico y por tanto causar modificaciones en algunos de los metabolitos presentes en el material vegetal. Por el contrario, altos contenidos de humedad comprometen la estabilidad del material vegetal, el cual estaría sujeto a ataques de hongos u otros microorganismos capaces de alterar su composición. En la Tabla 1 se muestran los resultados obtenidos para los diferentes parámetros físico-químicos evaluados en el material vegetal.

Tabla 1. Parámetros físico-químicos evaluados en el material vegetal

Parámetros (%)	Media (Desviación estándar)
Humedad	8,01 (1,13)
Cenizas totales	6,24 (1,30)
Cenizas solubles en agua	1,98 (1,01)
Cenizas insolubles en HCl	0,30 (0,11)
Sustancias solubles en agua	25,24 (2,08)
Sustancias solubles en etanol (50 % v/v)	29,09 (0,57)
Sustancias solubles en etanol (90 % v/v)	17,83 (1,28)

Los resultados revelan que se obtiene mayor rendimiento de sustancias extraíbles con la mezcla hidroalcohólica al 50 %, en segundo lugar, con agua y el menor porcentaje se obtuvo para el etanol al 90 %. El comportamiento anterior indica que el proceso extractivo se ve favorecido por un disolvente polar como el agua (potenciando la extracción de compuestos con características polares), aunque no en su estado puro pues el etanol en mezcla, favoreció en parte el proceso extractivo.

Las farmacopeas plantean un índice de cenizas totales hasta el 5 %^{20,21}. En el presente estudio el valor de 6,24 % se encuentra ligeramente superior al límite exigido, lo cual pudiera ser atribuido al lugar de recolección, las características del suelo, la disponibilidad de nutrientes absorbidos por parte de la planta (que puede definir su metabolismo) y el momento de recolección. Otros parámetros que ayudan a evaluar pureza de una droga son las cenizas solubles en agua y las insolubles en ácido clorhídrico al 10 %. Al analizar los resultados, se pudo evidenciar que en ambas determinaciones los valores estuvieron por debajo del máximo permisible (aproximadamente 2 % para plantas medicinales^{20,21}). Por consiguiente, es posible suponer que el valor ligeramente alto de las cenizas totales no está asociado a la presencia de metales pesados potencialmente tóxicos en cantidades inadmisibles; sin embargo, se debe recomendar su estudio por técnicas cualitativas para conocer su composición y poder analizar con más detalles su probable origen.

La Tabla 2 muestra los compuestos identificados en las hojas de aguacate mediante tres extracciones con disolventes de polaridad creciente (éter de petróleo, etanol 90 % (v/v) y agua destilada). Se puede apreciar una alta variabilidad de compuestos; aunque el extracto etéreo resultó ser el más bajo en cuanto a la diversidad de metabolitos, siendo positivo solamente para compuestos grasos (formación de un anillo rojo en las paredes del tubo de ensayo), triterpenoides y esteroides. La presencia de este tipo de compuestos era de esperarse pues otros estudios revelan la existencia de

aceites esenciales en la hoja de aguacate¹⁶. Los resultados obtenidos con respecto a la presencia de compuestos triterpenoides o esteroides (aparición de una coloración verde oscura) coinciden con los resultados de Jiménez⁸ y Bonifaz y Muñiz²², sin embargo, discrepan con los de Santamaría²³ quien no lo reportó en su investigación. De manera general, en el material vegetal se detectó la presencia de compuestos polifenólicos (flavonoides, taninos), alcaloides, azúcares reductores, saponinas, triterpenos, esteroides, quinonas, saponinas, compuestos grasos y principios amargos. Muchos de estos compuestos hacen de las hojas de aguacate una fuente de interés para el desarrollo de ingredientes bioactivos tanto para las industrias farmacéutica como alimentaria.

Tabla 2. Tamizaje fitoquímico

Parámetros (%)	Etéreo	Etanólico	Acuoso
Compuestos grasos	(+)		
Alcaloides	(-)	(+++)	(+++)
Lactonas y cumarinas	(-)	(++)	
Triterpenoides y esteroides	(+)	(-)	
Resina		(-)	
Azúcares reductores		(+)	(+)
Saponinas		(-)	(+)
Fenoles y taninos		(++)	(+++)
Aminoácidos		(-)	
Quinonas		(+++)	
Flavonoides		(+++)	(+++)
Antocianidinas		(+)	
Mucílagos			(+)
Principios amargos			(+)

+: Ligera presencia, ++: Presencia, +++: Abundante presencia, -: Ausencia
Espacio en blanco significa ensayo no realizado.

Los resultados de la presente investigación no indicaron la presencia de saponinas en el extracto alcohólico a diferencia de los de Santamaría²³ y Bonifaz y Muñiz²², quienes identificaron una ligera presencia; dicho comportamiento puede ser atribuido a factores como el momento en que se realiza la recolección, las condiciones ambientales en las que se encuentran las plantas; así como, la variedad utilizada en el estudio, entre otros. La presencia de alcaloides (aparición de un precipitado) y cumarinas (aparición de un color rojizo) en el extracto alcohólico también fue reportada por estos investigadores. Otro de los metabolitos encontrados en el material vegetal son los alcaloides, presentes tanto para el extracto alcohólico como acuoso (la ausencia de estos compuestos en el extracto etéreo evidencia que estos tienen en su estructura grupos que aumentan su polaridad); estos resultados coinciden con los de Martínez et al.²⁴ quienes reportaron además la presencia de abacatina, un principio amargo característico de la hoja de aguacate. En esta investigación también se informó la presencia de principios amargos o astringentes.

En la prueba con tricloruro férrico al 10 % para la determinación de fenoles se observó una coloración verde oscura característica de este tipo de compuestos y más específico de taninos pirocatecolícos. En los últimos años se ha puesto de manifiesto su importancia como antioxidantes naturales y papel beneficioso, mediante su administración en la dieta, para la prevención de enfermedades cardiovasculares y algunos tipos de cáncer²⁵. Los polifenoles son el grupo de compuesto más identificado y caracterizado en la hoja de aguacate^{11,12} tanto en extractos alcohólicos, como acuosos^{8,22,23,26}.

El ensayo para determinar flavonoides arrojó resultados positivos tanto en el extracto etanólico como en el acuoso, identificados por la coloración carmelita en el caso del alcohólico y amarillo intenso para el acuoso, estos resultados también han sido reportados por numerosos estudios¹³⁻¹⁵.

Según la literatura, estos compuestos son los principales responsables de la capacidad antioxidante y de otras actividades farmacológicas atribuidas a extractos de la hoja de este fruto, en especial la de flavonoides derivados de la apigenina, quercetina y catequina^{5,6,11-14,27-31}.

Por medio del perfil cromatográfico es posible visualizar los compuestos constitutivos, en este caso fundamentalmente compuestos polifenólicos de las diferentes fracciones estudiadas (precipitado (P), diclorometano (D), acetato de etilo (Ae), metanol (M) y residuo (Re)) y así evidenciar las diferencias que puedan existir entre sus componentes. De forma general, las fracciones no presentaron una buena separación de los compuestos, aunque se pudieron apreciar manchas que corroboran la presencia de compuestos fenólicos. En las corridas realizadas no se mostró información importante en el espectro visible, aunque sí ligeras manchas en la fracción de acetato de etilo y diclorometano, sugiriendo la presencia de compuestos polifenólicos.

En el revelado con luz ultravioleta a 254 y 365 nm se mostraron manchas fluorescentes indicativas de la presencia de compuestos con características fluorescentes dadas por los grupos cromóforos en su estructura (característico de flavonoides), sugiriendo de igual manera que las fracciones D y Ae son las más ricas en dichos compuestos. El revelado con vapores de amoníaco, basado en los cambios de color por alcalinidad, no mostró grandes cambios con el control, aunque sí ratificó la presencia de compuestos con grupos fenólicos en su estructura, ya que al reaccionar con el amoníaco las manchas ya observadas intensificaron su coloración amarilla. En cuanto a los revelados con luz ultravioleta de igual manera se observaron las mismas características.

Los revelados con ácido sulfúrico fueron los más interesantes, pues en ambos casos se observó gran variedad de compuestos. Para el caso del ácido sulfúrico y calor en la fracción precipitado se observó la presencia de compuestos producto a la carbonización de estos (mancha de color negro). La presencia de estos no parece estar relacionada con la de los compuestos polifenólicos. De igual manera, se mantuvieron los resultados para las fracciones antes identificadas (D y Ae). En el revelado con ácido sulfúrico, vainillina y calor se muestran resultados muy importantes, pues no solo reafirman todo lo expuesto anteriormente con respecto a la presencia de los compuestos polifenólicos, sino que al observar esa variedad de colores en la fracción de acetato de etilo se tiene información acerca de la polaridad y de la complejidad de esta fracción. En el estudio realizado por Mashi et al.¹⁰ se obtuvo un extracto a partir de la hoja de aguacate con acetato de etilo e identificaron y cuantificaron polifenoles, flavonoides, taninos, saponinas y alcaloides. La mancha verde correspondiente al revelado con solución salina de cloruro férrico evidencia una alta presencia, en la fracción D, de compuestos polifenólicos derivados del catecol. La fase móvil utilizada no mostró desplazamientos importantes en las fracciones M y Re. Esto pudo deberse fundamentalmente a que los compuestos presentes en estas tienen una alta polaridad, para lo cual la fase móvil empleada fue insuficiente.

Los resultados obtenidos en la presente investigación demuestran la alta presencia de compuestos polifenólicos en el material vegetal. Se ha demostrado que los polifenoles poseen una estructura química ideal para quelar metales y captar radicales libres, lo que le aporta actividad antioxidante que puede ser mayor que la producida por las vitaminas E y C *in vitro*³².

En la Figura 1 se muestran los resultados para el ensayo DPPH. La infusión elaborada a partir de la relación masa/disolvente 0,05 presentó un alto poder antioxidante. El porcentaje de decoloración del radical DPPH resultó ser de un 86,1 % para la máxima concentración ensayada, mientras que tan solo para una concentración de 6,2 µg/mL de extracto, se decoloró más del 50 % del radical (62,56 %).

Investigaciones realizadas por Adeboyejo et al.⁷ concluyeron que extractos realizados con diferentes solventes a partir de la hoja de aguacate presentaron un alto poder antioxidante, aunque su 59,5 % de decoloración del radical DPPH para el extracto acuoso fue inferior a los resultados obtenidos en esta investigación. De manera general, los resultados que más se acercan son los obtenidos empleando como disolvente acetona, con un 89,15 % de decoloración. Otras investigaciones realizadas reportan porcentajes de decoloración del radical del DPPH superiores al 90 %^{9,33}.

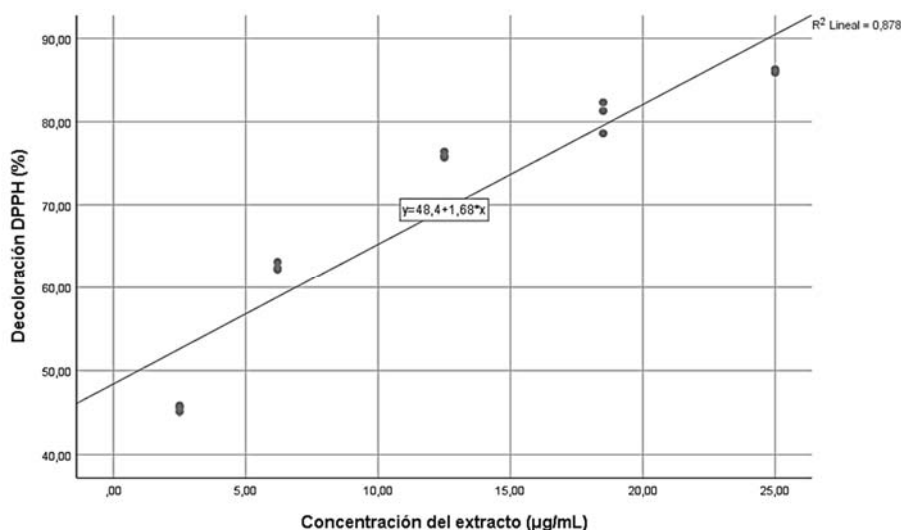


Figura 1. Porcentaje de inhibición de la coloración del DPPH vs concentración (µg/mL) del extracto.

La Tabla 3 muestra un IC_{50} y el contenido de polifenoles totales para el extracto tipo infusión.

Tabla 3. Resultados de la capacidad antioxidante y polifenoles totales

Parámetro	Valor
DPPH ¹	0,95 µg/mL
Polifenoles totales ²	3950 (203,1) mg/L

¹: IC_{50} (concentración que decolora el 50 % del radical).

²: Expresado como ácido gálico equivalente; n= 3.
Media (Desviación estándar).

Este resultado es superior respecto al 0,279 µg/mL reportado por Mashi et al.¹⁰. Las diferencias pueden asociarse fundamentalmente al disolvente utilizado (acetato de etilo) para la obtención del extracto evaluado, aunque también son atribuibles otras posibles causas, como el momento de recolección, el clima y el estado fisiológico de la hoja. Otro estudio realizado por Jiménez⁸ arrojó valores también inferiores tanto para el extracto acuoso (0,106 µg/mL) como para el hidroalcohólico (0,055 µg/mL). En este caso las dos diferencias fundamentales son la relación masa/disolvente que fue de 0,20 en los dos casos y el método de elaboración que, en ambos casos, fue maceración.

Conclusiones

Mediante el estudio fitoquímico se determinaron los parámetros de calidad del material vegetal elaborado. La mayor extracción de compuestos se favoreció por disolventes de alta polaridad, siendo mayor para la mezcla hidroalcohólica al 50 % (v/v) y el agua. En el extracto se detectó la presencia de diversos grupos de compuestos, entre los que destacan los polifenoles (flavonoides, taninos), alcaloides, azúcares reductores, saponinas, triterpenos, esteroides, quinonas y principios amargos. En cuanto a los polifenoles, se detectó que es la fracción de acetato de etilo la más rica en dichos compuestos, resultado que concuerda con lo reportado en la literatura. La capacidad antioxidante medida para el extracto acuoso mostró que este fue capaz de inhibir el 86,1 % del radical de DPPH en la mayor concentración de extracto evaluada (25 µg/mL). Se reportó un IC_{50} de 0,95 µg/mL y un contenido total de polifenoles de 3950 mg AGE/L.

Conflictos de interés

Los autores declaran no tener conflictos de interés.

Referencias bibliográficas

- Olaeta J, Schwartz M, Undurraga P, Contreras S. Utilización de la semilla de palta (*Persea americana* Mill.) cv. Hass como producto agroindustrial. Proceedings VI World Avocado Congress; 2014; Viña del Mar, Chile [Internet]. Disponible en: <http://www.avocadosource.com/WAC6/es/Extenso/4b-198.pdf>
- Campos E, Espíndola MC, Mijares P. Diversidad del género *Persea* y su uso. México: Fundación Salvador Sánchez Colín CICTAMEX S.C.; 2008. Disponible en: <https://www.worldcat.org/title/diversidad-del-genero-persea-y-sus-usos/oclc/900483675>
- Barrientos F. Evaluación técnico económico de la producción de palta (*Persea americana* Mill) var. Hass bajo un manejo orgánico en la V región de Chile. Disponible en: http://www.avocadosource.com/papers/Chile_Papers_A-Z/A-B-C/BarrientosFabian2003.pdf. Universidad Iberoamericana de Ciencias Tecnológicas, 2003 [consultada 2021.06.12].
- Hernández L, Gonzales A, Gutiérrez N, Muñoz L, Quintero A. Estudio de la actividad antibacteriana de películas elaboradas con quitosano a diferentes pesos moleculares incorporando aceites esenciales y extractos de especias como agentes antimicrobianos. Rev Mex Ing Quím [Internet]. 2011;10(3):455-63. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmiq/v10n3/v10n3a11.pdf>
- Lefort E, Blay J. Apigenin and its impact on gastrointestinal cancers. Mol Nutr Food Res [Internet]. 2013;57(1):126-44. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1002/mnfr.201200424>
- Pereira C, Barros L, Alves M, Santos C, Ferreira I. Artichoke and milk thistle pills and syrups as sources of phenolic compounds with antimicrobial activity. Food Funct [Internet]. 2016;7:3083-90. Disponible en: https://pdfs.semanticscholar.org/edf4/03a82693de5babba1d2907ad7ca466a74d51.pdf?_ga=2.144498229.1470548384.1619893595-999036299.1618597022
- Adeboyejo, O, Aderibigbe R, Ademoyegun T. Antioxidant properties of *Persea americana* M. seed as affected by different extraction solvent. J Adv Food Sci Technol [Internet]. 2016;3(2):101-6. Disponible en: <https://ikprress.org/index.php/JAFSAT/article/view/3501>
- Jiménez S. Actividad diurética del extracto etanólico de las cáscaras de la *Persea americana* Mill “palta fuerte” en ratones [Internet]. Disponible en: http://repositorio.uwiener.edu.pe/bitstream/handle/123456789/541/T061_45021391_T.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Universidad Privada Norbert Wiener, 2017 [consultado 2020.08.21].
- García M. Efecto de los polifenoles de las hojas de aguacate mexicano (*Persea americana* var. *drymifolia*) en la expresión génica de *Staphylococcus aureus*, resistente a metilicina [Internet]. Universidad Autónoma de Nuevo León; 2017. Disponible en: <http://eprints.uanl.mx/14127/1/1080226627.pdf>
- Mashi A, Sa'id R, Idris I, Aminu A, Inuwa M. *Persea americana* leaf ethyl acetate extract phytochemical, in-vitro antioxidant and in-vivo potentials to mitigate oxidative stress in alloxan-induced hyperglycaemic rats. Asian Plant Res J [Internet]. 2019;2(2):1-11. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/331332576_Persea_americana_Leaf_Ethyl_Acetate_Extract_Phytochemical_In-vitro_Antioxidant_and_In-vivo_Potentials_to_Mitigate_Oxidative_Stress_in_Alloxan-induced_Hyperglycaemic_Rats/link/5e87a6af4585150839bd308b/download
- Brune W, van Lelyveld L. Biochemical comparison of leaves of five avocado (*Persea americana* Mill.) cultivars and its possible association with susceptibility to phytophthora cinnamomi rootrot. Phytopathology [Internet]. 1982;104(1):243-54. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.1982.tb00531.x>

12. Torres A, Mau-Lastovicks, T, Rezaaiyan, R. Total phenolic and high performance liquid chromatography of phenolic acids of avocado. J Agric Food Chem [Internet]. 1987;35(1):921-5. Disponible en: <https://doi.org/10.1021/jf00078a018>
13. de Almeida, A, Miranda M, Simoni I, Wigg M, Lagrota M, Costa S. Flavonol monoglycosides isolated from the antiviral fractions of *Persea americana* (Lauraceae) leaf infusion. Phytother Res [Internet]. 1998;12(8):562-7. Disponible en: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1573\(199812\)12:8<562::AID-PTR356>3.0.CO;2-6](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1573(199812)12:8<562::AID-PTR356>3.0.CO;2-6)
14. Ding H, Chin Y, Kinghorn A, D'Ambrosi S. Chemopreventive characteristics of avocado fruit. Semin Cancer Biol [Internet]. 2007;17(5):386-94. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2007.04.003>
15. Owolabi M, Jaja S, Coker H. Vasorelaxant action of aqueous extract of the leaves of *Persea americana* on isolated thoracic rat aorta. Fitoterapia [Internet]. 2005;76(6):567-73. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2005.04.020>
16. Gupta M. 270 plantas medicinales iberoamericanas. Santiago de Chile, Chile: Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED). 1995 p. 617. Disponible en: <https://www.worldcat.org/title/270-plantas-medicinales-iberoamericanas/oclc/34713632>
17. Miranda M, Cuéllar A. Manual de prácticas de laboratorio. Farmacognosia y productos naturales. La Habana, Cuba: Félix Varela; 2000. 25-49, 74-79 p.
18. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT [Internet]. 28(1):25-30. Disponible en: http://radio.cuci.udg.mx/bch/EN/Manuals/Techniques/DPPH-original_LebensWissTechnol_1995-v28-p25.pdf
19. Slinkard K, Singleton V. Total phenol analysis: Automation and comparison with manual methods. Am J Enol Vitic [Internet]. 1977;28:49-55. Disponible en: <https://www.ajevonline.org/content/28/1/49>
20. Lou Z. General control methods for vegetable drugs. Comparative study of methods included in thirteen pharmacopoeias and proposals on their international unification. WHO/PHARM/80.502. WHO; 1980 p. 8-39.
21. WHO. Quality control methods for medicinal plant materials. WHO/PHARM/92.559. Ginebra: World Health Organization; 1998 [Internet]. Disponible en: https://www.who.int/docs/default-source/medicines/norms-and-standards/guidelines/quality-control/quality-control-methods-for-medicinal-plant-materials.pdf?sfvrsn=b451e7c6_0 [consultada 2021.05.20].
22. Bonifaz N, Muñiz L. Actividad diurética del extracto hidroalcohólico de las hojas secas de *Persea americana* Mill “palta” fuerte. Disponible en: <http://repositorio.uwiener.edu.pe/bitstream/handle/123456789/1863/TITULO%20-%20Mu%C3%B1iz%20Mayta%2C%20Liseth.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Universidad Norbert Winer, 2018 [consultada 2021.05.20].
23. Santamaría E. Comprobación del efecto cicatrizante de los extractos hidroalcohólicos de malva (*Malva sylvestris*) y aguacate (*P. americana*) en ratones (*Mus musculus*). Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/3231/1/56T00411.pdf>. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, 2013 [consultada 2021.05.20].
24. Martínez S, González J, Culebras J, Tuñón M. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Nutr Hosp [Internet]. 2002;17(6):271-8. Disponible en: <http://www.nutricionhospitalaria.com/pdf/3338.pdf>
25. Benavente O, Castillo J, Marin F, Ortuño A, del Río J. Uses and properties of citrus flavonoids. J Agric Food Chem [Internet]. 1997;45(12):4505-15. Disponible en: <https://doi.org/10.1021/jf970373s>
26. Oboh G, Adelusi T, Akinyemi A. Inhibitory effect of phenolic extract from leaf of avocado pear (*Persea americana*) on Fe²⁺ induced lipid peroxidation in rats pancreas *in vitro*. Futa J Res Sci [Internet]. 2013;9(2):276-86. Disponible en: https://www.futa.edu.ng/journal/papers/paper_2_1563270749.pdf

27. Shukla S, Gupta S. Apigenin: a promising molecule for cancer prevention. Pharm Res [Internet]. 2010;27(6):962-78. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s11095-010-0089-7>
28. Patel D, Shukla S, Gupta S. Apigenin and cancer chemoprevention: progress, potential and promise (review). Int J Oncol [Internet]. 2007;30(1):233-45. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17143534/>
29. Rodríguez-Carpena J, Morcuende D, Estévez M. Avocado by-products as inhibitors of color deterioration and lipid and protein oxidation in raw porcine patties subjected to chilled storage. Meat Sci [Internet]. 2011;89(2):166-73. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.04.013>
30. Rodríguez J, Morcuende D, Andrade M, Kylli P, Estévez M. Avocado (*Persea americana* Mill.) phenolics. In vitro antioxidant and antimicrobial activities, and inhibition of lipid and protein oxidation in porcine patties. J Agric Food Chem [Internet]. 2011;59(10):5625-35. Disponible en: <https://doi.org/10.1021/jf1048832>
31. Teresawa N, Sakakibara M, Murata M. Antioxidative activity of avocado epicarp hot water extract. Food Sci Technol Res [Internet]. 2006;12(1):55-8. Disponible en: https://www.jstage.jst.go.jp/article/fstr/12/1/12_1_55/_pdf
32. Yamashiro S, Noguch K, Matsuzaki T, Miyagi K, Nakasone J, Sakanashi M, Kukita I, Aniya Y, Sakanashi M. Cardio protecting effect of extract from *Psidium guajava* L and *Limonium wrightii*, Okinawan medicinal plant against ischemia- reperfusion injury in perfused rat hearts. Pharmacology [Internet]. 2003;67(3):128-35. Disponible en: <https://doi.org/10.1159/000067799>
33. Montoya B, Lemeshko V, López J, Pareja A, Urrego R, Torres R. Actividad antioxidante de algunos extractos vegetales. VITAE [Internet]. 2003;10(2):72-9. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/1698/169817981008.pdf>