

La semilla de *Persea americana* Mill. como fuente de compuestos fenólicos: optimización del proceso de extracción mediante superficie de respuesta

The seed of *Persea americana* Mill. as a source of phenolic compounds: optimization of the extraction process through response surface

David Callirgos Romero^{1*}; Renires dos Santos Teixeira¹; Shadai Mendes Silva²; Leonardo Nora¹; Cesar Valmor Rombaldi¹

1 Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Av. Eliseu Maciel s/n, Capão do Leão, RS, 96160-000, Pelotas, Brasil.

2 Departamento de Agropecuária, Instituto Federal de Roraima (IFRR) Campus Amajari, Rodovia Antonino Menezes da Silva, RR, 69343-000, Amajari, Brasil.

* Autor correspondiente: callirgosromerod@mail.com (D. Callirgos Romero).

ORCID de los autores:

D. Callirgos Romero: <https://orcid.org/0009-0004-7428-4154>

S. Mendes Silva: <https://orcid.org/0000-0002-4910-907X>

C. Valmor Rombaldi: <https://orcid.org/0000-0002-6995-2937>

R. dos Santos Teixeira: <https://orcid.org/0000-0002-6953-7063>

L. Nora: <https://orcid.org/0000-0002-4675-1403>

RESUMEN

Se optimizó la extracción de compuestos fenólicos con actividad antioxidante de semillas de *Persea americana* Mill. var. *Breda* mediante maceración asistida por agitación. Se empleó la Metodología de Superficie de Respuesta (RSM) con un diseño compuesto central rotacional (CCDR) para evaluar los efectos de la concentración de etanol (30% – 80%), ácido acético (1% – 3%) y tiempo (20 – 70 min) sobre el contenido de fenoles (TPC), flavonoides (TFC) y capacidad antioxidante (DPPH y ABTS). Los valores experimentales oscilaron entre 36,38 – 76,21 mg GAE/g (TPC); 0,42 – 2,68 mg QE/g (TFC); 14,32 – 27,35 mg TE/g (DPPH) y 24,67 – 43,20 mg TE/g (ABTS). El etanol fue el factor más influyente. Las condiciones óptimas (70% etanol, 2,5% ácido acético, 60 min) alcanzaron una deseabilidad de 0,803, con valores predichos de: 63,90 mg GAE/g (TPC); 2,52 mg QE/g (TFC); 17,37 mg TE/g (DPPH) y 33,67 mg TE/g (ABTS). Se halló una correlación positiva entre TPC y TFC, y negativa con la actividad antioxidante, atribuida a la diversidad estructural de los compuestos, su reactividad diferencial y la influencia del pH sobre su protonación. El método es eficaz y sostenible, resaltando el potencial de este subproducto como fuente de compuestos fenólicos para la industria alimentaria o farmacéutica.

Palabras clave: Semilla de aguacate; compuestos fenólicos; capacidad antioxidante; ácido acético; extracción verde.

ABSTRACT

The extraction of phenolic compounds with antioxidant activity from *Persea americana* Mill. var. *Breda* seeds was optimized using stirring-assisted maceration. Response Surface Methodology (RSM) with a Rotatable Central Composite Design (RCCD) was employed to evaluate the effects of ethanol concentration (30% – 80%), acetic acid proportion (1–3%), and extraction time (20–70 min) on total phenolic content (TPC), total flavonoid content (TFC), and antioxidant capacity (DPPH and ABTS). Experimental values ranged from 36.38 – 76.21 mg GAE/g (TPC); 0.42 – 2.68 mg QE/g (TFC); 14.32 – 27.35 mg TE/g (DPPH); and 24.67 – 43.20 mg TE/g (ABTS). Ethanol concentration was identified as the most influential factor. Optimal conditions (70% ethanol, 2.5% acetic acid, and 60 min) achieved a global desirability of 0.803, with predicted values of 63.90 mg GAE/g (TPC), 2.52 mg QE/g (TFC), 17.37 mg TE/g (DPPH), and 33.67 mg TE/g (ABTS). A positive correlation was found between TPC and TFC, while a negative correlation with antioxidant activity was observed, attributed to the structural diversity of the compounds, their differential reactivity, and the influence of pH on their protonation state. This method is effective and sustainable, highlighting the potential of this by-product as a source of phenolic compounds for the food or pharmaceutical industries.

Keywords: Avocado seed; phenolic compounds; antioxidant capacity; acetic acid; green extraction.

Recibido: 25-08-2025.

Aceptado: 12-02-2026.



Esta obra está publicada bajo la licencia [CC BY 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

INTRODUCCIÓN

El aguacate (*Persea americana* Mill.) es una fruta originaria de México y América Central, perteneciente a la familia *Lauraceae*. Este género comprende tres subgéneros principales (*Persea*, *Eriodaphne* y *Machilus*), que en conjunto suman más de 150 especies. Dentro del subgénero *Persea*, se destacan tres subespecies de interés agrícola: mexicana (*P. americana* var. *drymifolia*), guatemalteca (*P. nubigena* var. *guatemalensis*) y antillana (*P. americana* var. *americana*). El cruce entre estas subespecies da origen a híbridos como Hass, Breda, Fortuna, Geada, Margarida, Ouro Verde y Quintal, ampliamente cultivados en Brasil (Abacates do Brasil, 2024; Hurtado-Fernández et al., 2018). La adaptación al cultivo varía según la variedad, abarcando desde climas subtropicales secos hasta regiones tropicales de altitud, con baja tolerancia a ambientes desérticos (Athaydes et al., 2019).

México lidera la producción mundial con un 33%, seguido por República Dominicana (10,5%), Perú (7,8%), Indonesia (5,7 %) y Colombia (5,1%) (Viola et al., 2023). La expansión del procesamiento industrial del aguacate genera un volumen significativo de residuos. Durante la extracción de aceites y derivados, se producen subproductos como semillas, cáscaras y pulpa desgrasada, que representan entre el 21% y el 30% del peso del fruto. Se estima que aproximadamente 1,6 millones de toneladas de estos residuos se desechan anualmente (Salazar-López et al., 2020). La descomposición de estos residuos, libera gases de efecto invernadero, y su incineración incompleta genera compuestos tóxicos como dioxinas, furanos y gases ácidos, además de implicar costos adicionales de eliminación (Abu Qdais et al., 2019). En este contexto, cobran relevancia las políticas de residuo cero y los principios de la economía circular, que promueven la valorización de residuos agroindustriales mediante la conversión en compuestos de alto valor agregado (ZWIA, 2018). Este enfoque converge con los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS), especialmente el ODS 2 (hambre cero), ODS 3 (salud y bienestar), ODS 6 (agua limpia y saneamiento), ODS 7 (energía asequible y no contaminante) y ODS 12 (producción y consumo responsable) (ONU, 2022).

Entre los subproductos generados, la semilla de aguacate ha atraído creciente atención debido a su alto contenido de compuestos bioactivos con propiedades funcionales, como; actividades antidiabéticas, antiinflamatorias, neuroprotectoras y potencial efecto contra la enfermedad de Alzheimer (Ojo et al., 2025; Saini et al., 2025). Su perfil fenólico incluye ácidos hidroxicinámicos e hidroxibenzoicos, catequinas, flavonoles, taninos y procianidinas (Miramontes-Corona et al., 2024). Estos compuestos se han aplicado en bebidas, productos horneados, emulsiones y carnes

procesadas (Gómez et al., 2014; Kautsar et al., 2023; Nyakang'I et al., 2023).

La extracción eficiente de estos compuestos es esencial para su aprovechamiento. Tecnologías emergentes como ultrasonido, microondas y campos eléctricos pulsados han demostrado eficacia (Del-Castillo-Llamosas, Eibes, et al., 2023; Razola-Díaz et al., 2023; Tremocoldi et al., 2018), aunque enfrentan barreras económicas y técnicas para su adopción a gran escala. Así, la maceración asistida por agitación con solventes verdes como etanol, agua o mezclas eutécticas profundas sigue siendo una opción ampliamente utilizada (Grisales-Mejía et al., 2024).

Se ha reportado la eficacia de la adición de 3% v/v de ácido acético en soluciones hidroalcohólicas, en la mejora de la extracción de compuestos bioactivos, asociada a su capacidad de modificar la matriz lignocelulósica de la muestra (García-Vallejo et al., 2023). Sin embargo, no se ha evaluado concentraciones variables entre mezclas de etanol y ácido acético, es así que en un ensayo factorial preliminar se evaluó el efecto del ácido acético en concentraciones de 1% a 5%, combinado exclusivamente con etanol (40, 60 y 80%). Los resultados mostraron que el ácido acético, en esas condiciones, no contribuyó significativamente a la extracción de compuestos fenólicos y, en algunos casos, inhibió su liberación. Con base en ello, se formuló la hipótesis de que el tiempo de extracción podría influir en esta dinámica. Así, se adoptó un rango más restringido (1,5 a 2,5%) de ácido acético, evaluado en conjunto con la concentración de etanol y el tiempo como variables independientes. Hasta donde se conoce, este es el primer trabajo donde se estudia el ácido acético como factor dentro de un análisis multivariado para optimizar la extracción de compuestos fenólicos a partir de semillas de *Persea americana* Mill. var. *Breda*. En este sentido, el presente estudio propone un enfoque sistemático para evaluar su efecto, tanto de forma aislada como en interacción con el etanol y el tiempo de extracción, utilizando la Metodología de Superficie de Respuesta (RSM).

Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue optimizar las condiciones de maceración asistida por agitación (MAA) para maximizar la extracción de compuestos fenólicos con actividad antioxidante a partir de semillas de *Persea americana* Mill. var. *Breda*. Se evaluaron los efectos de la concentración de etanol, la proporción de ácido acético y el tiempo de extracción sobre el contenido fenólico total (TPC), el contenido total de flavonoides (TFC) y la capacidad antioxidante de los extractos. Asimismo, se analizaron las correlaciones entre las variables de respuesta para comprender el comportamiento de los extractos frente a los radicales DPPH y ABTS.

METODOLOGÍA

Preparación de muestra

Se utilizaron semillas de aguacate (*Persea americana* Mill.), variedad *Breda*, obtenidas de frutos maduros adquiridos en mercados locales de

la ciudad de Pelotas, Río Grande del Sur, Brasil. Los frutos fueron lavados, pelados y despulpados manualmente. Las semillas extraídas se lavaron con agua corriente, se cortaron en fragmentos y se

sometieron a secado en estufa a 40 °C durante 48 horas. Posteriormente, fueron trituradas en molino y tamizadas para obtener un polvo con granulometría uniforme.

Reactivos

Se utilizaron reactivos de grado analítico: etanol absoluto (alcohol etílico anhidro, C₂H₆O, PM 46,07 g/mol, CAS 64-17-5; Dinâmica Química, Brasil), ácido acético glacial (CH₃COOH, PM 60,05 g/mol, CAS 64-19-7; Êxodo Científica, Brasil) y agua destilada.

Para los ensayos espectrofotométricos, se emplearon: reactivo de Folin-Ciocalteu 2M (Êxodo Científica), carbonato de sodio (Sigma-Aldrich, ReagentPlus®, pureza ≥99,5%), cloruro de aluminio (Sigma-Aldrich, ReagentPlus®, pureza 99%), acetato de potasio (Dinâmica Química Contemporânea Ltda, P.A. ACS, CAS 127-08-2), DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidracilo, Sigma-Aldrich, pureza >90%), ABTS (2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico), sal de diamonio, Sigma-Aldrich, pureza ≈98%), persulfato de potasio (PA, pureza 99%, CAS 7727-21-1; Êxodo Científica), ácido gálico anhidro (ácido 3,4,5-trihidroxibenzoico, C₇H₆O₅, PM 170,12 g/mol, CAS 149-91-7; Êxodo Científica), quercetina (≥95% HPLC, CAS 117-39-5; Sigma-Aldrich, Brasil) y Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico, CAS 53188-07-1; Merck, Alemania).

Diseño experimental y extracción

Se aplicó un diseño compuesto central rotacional (CCDR) dentro del marco de la Metodología de Superficie de Respuesta (RSM) para optimizar la extracción del contenido fenólico total (TPC), el contenido total de flavonoides (TFC) y la capacidad antioxidante (DPPH y ABTS). Las variables independientes y sus rangos de estudio se seleccionaron con base en reportes previos que indicaron una alta eficacia en la recuperación de fitonutrientes en semillas de *Persea americana* Mill. (García-Vallejo et al., 2023; Munthe et al., 2023; Weremfo et al., 2020). Específicamente, se definieron como factores la concentración de etanol (X₁: 40–70%), la proporción de ácido acético (X₂: 1,5–2,5%) y el tiempo de extracción (X₃: 30–60 min). El diseño consistió en un núcleo factorial 2³ aumentado con seis puntos axiales y cuatro réplicas en el punto central, sumando un total de 18 corridas experimentales ejecutadas en orden aleatorio. Los niveles de las variables se codificaron en cinco niveles (-α, -1, +1 y +α). Para satisfacer la condición de rotatabilidad, el valor de α se estableció en 1,682; no obstante, los valores reales de los puntos axiales se ajustaron al entero más cercano por viabilidad operativa, como se detalla en la Tabla 1.

Cada extracción se realizó en frascos de vidrio ámbar utilizando 1,25 g de polvo de semilla de aguacate y 25 mL de disolvente. Las muestras se procesaron en un baño de agua termostataado con agitación magnética (Digestor Enzimático-GDE, Velp Scientifica, Italia) a 60 °C y 300 rpm. Los extractos resultantes se enfriaron a 5 °C, se centrifugaron a 4 000 rpm durante 10 minutos a

4 °C (Centrifuge 5430 R, Eppendorf AG, Hamburgo, Alemania), y los sobrenadantes se almacenaron a -20 °C hasta su análisis.

Los datos experimentales se ajustaron a un modelo polinomial de segundo orden mediante regresión por mínimos cuadrados (Ecuación 1):

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 \quad (1)$$

donde Y representa la variable de respuesta (TPC, TFC, DPPH o ABTS), X₁, X₂ y X₃ son las variables independientes codificadas, y los coeficientes β corresponden a los efectos lineales, de interacción y cuadráticos.

Tabla 1

Matriz experimental del diseño compuesto central (CCD): variables independientes y sus niveles de estudio

Variable independiente	Símbolo	-α	-1	0	+1	+α
Concentración de etanol (%)	X ₁	30	40	55	70	80
Concentración de ácido acético (%)	X ₂	1	1,5	2	2,5	3
Tiempo de extracción (min)	X ₃	20	30	45	60	70

Nota: Los niveles codificados -α y +α corresponden a ±1,682. Los valores reales de los puntos axiales se ajustaron al entero más cercano por viabilidad operativa.

Determinación del contenido fenólico total (TPC)

El TPC se determinó utilizando el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu, según lo descrito por Singleton & Rossi (1965). Se mezclaron 25 µL de extracto diluido (1:40) con 125 µL del reactivo de Folin-Ciocalteu (0,2 M). Después de 5 minutos, se añadieron 100 µL de una solución de carbonato de sodio (7,5% p/v), y la mezcla se incubó durante 2 horas a temperatura ambiente. La absorbancia se midió a 760 nm utilizando un lector de microplacas (SpectraMax 190, Molecular Devices, EE. UU.). Los resultados se calcularon mediante una curva de calibración de ácido gálico (0,01–0,07 mg/mL) y se expresaron como miligramos de equivalentes de ácido gálico por gramo de muestra seca (mg GAE/g). Todos los análisis se realizaron por triplicado.

Determinación del contenido total de flavonoides (TFC)

El TFC se determinó utilizando el método colorimétrico con cloruro de aluminio, siguiendo el procedimiento de (Weremfo et al., 2020). Se preparó una mezcla de 0,5 mL de extracto, 1,5 mL de agua destilada, 0,5 mL de solución de cloruro de aluminio al 10% (p/v) y 0,1 mL de acetato de potasio 1 M, completando hasta un volumen final de 5 mL con agua destilada. Después de 30 minutos de incubación a temperatura ambiente, se midió la absorbancia a 415 nm utilizando un espectrofotómetro UV-Vis (Jenway 6705, Reino Unido). Los resultados se calcularon mediante una curva de calibración de quercetina (20–100 µg/mL) y se expresaron como miligramos de equivalentes de quercetina por gramo de muestra seca (mg QE/g). Todas las mediciones se realizaron por triplicado.

Capacidad antioxidante: DPPH y ABTS

La capacidad antioxidante se evaluó mediante el ensayo de captura del radical DPPH, según (Brand-Williams et al., 1995). Se mezclaron 190 μ L de solución de DPPH (ajustada a una absorbancia de $1,10 \pm 0,02$ a 515 nm) con 10 μ L de extracto diluido (1:40). La mezcla se incubó durante 30 min en la oscuridad a temperatura ambiente y, posteriormente, se midió la absorbancia a 515 nm utilizando un lector de microplacas (SpectraMax 190, Molecular Devices, EE. UU.). La capacidad antioxidante se calculó mediante una curva de calibración con Trolox y se expresó como mg de equivalentes de Trolox por g de muestra seca (mg TE/g).

La capacidad antioxidante también se evaluó mediante el ensayo de decoloración del catión radical ABTS^{•+}, generado por la reacción de ABTS (7 mM) con persulfato de potasio (1,4 mM), incubada en la oscuridad durante 12–16 h a temperatura ambiente (Re et al., 1999). Antes de su uso, la solución se diluyó en etanol hasta obtener una absorbancia de $0,700 \pm 0,05$ a 734 nm. Se mezclaron 20 μ L de extracto (diluido 1:40) con 280 μ L de la solución de ABTS^{•+}. Después de 6 min de reacción, se midió la absorbancia a 734 nm utilizando el lector de microplacas SpectraMax 190 (Molecular Devices, EE. UU.). Los resultados se calcularon mediante una curva de calibración con Trolox y se expresaron como mg de equivalentes de Trolox por g de muestra seca (mg TE/g). Todos los ensayos se realizaron por triplicado.

Análisis estadístico

Todos los experimentos se realizaron por triplicado y los resultados se expresaron como media $\pm$ desviación estándar. Los datos se ajustaron a un modelo polinomial de segundo orden utilizando regresión por mínimos cuadrados, y se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) para evaluar la significancia del modelo con un nivel de confianza del 95% ($\alpha = 0,05$). Se evaluaron el coeficiente de determinación (R^2), la significancia de los términos individuales del modelo y la falta de ajuste.

Se utilizaron gráficos de superficie de respuesta para visualizar las interacciones entre las variables independientes, generados mediante el software Design Expert®, versión 13 (Stat-Ease Inc., Minneapolis, EE. UU.). Cabe destacar que estas representaciones gráficas se basan en los modelos polinomiales completos para permitir una observación integral de todas las tendencias e interacciones en el dominio experimental; no obstante, la optimización numérica y la selección de las ecuaciones finales se realizaron utilizando los modelos reducidos que priorizan simplicidad estructural y la capacidad predictiva. La normalidad de los residuos se verificó utilizando la prueba de Shapiro-Wilk con el software IBM SPSS Statistics, versión 26 (IBM Corp., Armonk, NY, EE. UU.). También se aplicó un análisis de correlación de Pearson para evaluar las asociaciones entre las variables dependientes, considerando significancia estadística para $p < 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Influencia de las variables del proceso sobre el contenido fenólico total (TPC)

El contenido fenólico total de los extractos obtenidos varió entre $36,38 \pm 1,12$ y $76,21 \pm 2,64$

mg GAE/g de semilla seca, observándose el valor más alto utilizando etanol al 80%, ácido acético al 2% y 45 minutos de maceración asistida por agitación (Tabla 2).

Tabla 2

Diseño compuesto central rotacional (DCCR) y respuestas experimentales obtenidas de la extracción por maceración de semilla de *Persea americana* Mill. var. Breda

Variables independientes			Compuestos fenólicos	Capacidad antioxidante		
X ₁ (%)	X ₂ (%)	X ₃ (min)		TFC (mg QE/g)	DPPH (mg TE/g)	ABTS (mg TE/g)
55	1	45	42,55 $\pm$ 2,94	1,64 $\pm$ 0,02	27,35 $\pm$ 4,24	37,86 $\pm$ 1,60
40	2,5	30	44,86 $\pm$ 2,51	1,04 $\pm$ 0,03	24,77 $\pm$ 0,42	31,29 $\pm$ 2,82
55	2	20	40,28 $\pm$ 2,66	1,83 $\pm$ 0,03	21,32 $\pm$ 1,70	34,58 $\pm$ 4,60
40	2,5	60	45,79 $\pm$ 0,33	1,18 $\pm$ 0,07	22,65 $\pm$ 4,25	37,93 $\pm$ 1,41
70	1,5	60	62,58 $\pm$ 2,84	2,33 $\pm$ 0,07	15,35 $\pm$ 0,90	28,72 $\pm$ 2,10
70	2,5	30	48,78 $\pm$ 2,51	2,43 $\pm$ 0,05	14,36 $\pm$ 1,41	24,67 $\pm$ 4,24
55	2	80	66,52 $\pm$ 1,93	1,84 $\pm$ 0,02	20,93 $\pm$ 3,68	36,43 $\pm$ 4,34
55	2	45	59,35 $\pm$ 2,48	1,73 $\pm$ 0,04	22,46 $\pm$ 4,81	42,19 $\pm$ 1,13
55	2	45	44,64 $\pm$ 0,93	1,65 $\pm$ 0,05	23,43 $\pm$ 4,31	39,85 $\pm$ 1,41
55	3	45	36,38 $\pm$ 1,12	1,83 $\pm$ 0,04	22,93 $\pm$ 1,44	34,60 $\pm$ 1,70
55	2	45	39,44 $\pm$ 1,53	1,61 $\pm$ 0,05	20,81 $\pm$ 1,27	40,94 $\pm$ 1,44
40	1,5	60	51,51 $\pm$ 2,86	1,30 $\pm$ 0,05	24,97 $\pm$ 2,84	32,53 $\pm$ 2,83
55	2	45	37,68 $\pm$ 3,05	1,68 $\pm$ 0,01	20,31 $\pm$ 1,55	43,20 $\pm$ 0,85
70	1,5	30	51,30 $\pm$ 2,07	2,25 $\pm$ 0,08	16,15 $\pm$ 1,22	27,16 $\pm$ 2,04
80	2	45	76,21 $\pm$ 2,64	2,68 $\pm$ 0,04	14,32 $\pm$ 0,10	27,54 $\pm$ 1,04
70	2,5	60	64,82 $\pm$ 1,87	2,60 $\pm$ 0,07	18,41 $\pm$ 0,71	35,50 $\pm$ 5,66
30	2	45	44,12 $\pm$ 2,56	0,42 $\pm$ 0,02	18,71 $\pm$ 0,56	37,06 $\pm$ 4,24
40	1,5	30	46,50 $\pm$ 2,51	0,79 $\pm$ 0,01	20,53 $\pm$ 3,11	38,63 $\pm$ 1,81

X₁: Concentración de etanol; X₂: Concentración de ácido acético; X₃: Tiempo de extracción; TPC: Contenido fenólico total; TFC: Contenido total de flavonoides; DPPH: Capacidad antioxidante frente al radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH); ABTS: Capacidad antioxidante frente al radical catiónico 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6 sulfónico) (ABTS); GAE: Miligramos equivalentes de ácido gálico; QE: Miligramos equivalentes de quercetina; TE: Miligramos equivalentes de Trolox.

Estos resultados demuestran la eficacia del sistema de extracción empleado, superando los valores reportados por (Gómez et al., 2014) (46.95 ± 0.09 mg GAE/g con etanol al 60% a 93.6°C durante 25 minutos), Araújo et al. (2020) (68.93 mg GAE/g con extracción por microondas a 70°C durante 15 minutos), y Del-Castillo-Llamas et al. (2023), cuya autohidrólisis asistida por microondas produjo 59.60 mg GAE/g, aunque con un alto consumo energético (24.03 MJ/kg).

Sin embargo, el contenido fenólico total (TPC) obtenido en este estudio fue inferior al reportado por Munthe et al. (2023), quienes alcanzaron 294.96 mg GAE/g utilizando extracción por reflujo con etanol al 70% bajo condiciones más intensas de temperatura, tiempo y renovación continua del disolvente. Estas diferencias pueden atribuirse a variables como la variedad y el grado de madurez de la semilla, ambos factores que influyen directamente en el contenido fenólico (Miramontes-Corona et al., 2024; Shi et al., 2021; Wang et al., 2010).

Según el modelo estadístico (Tabla 3), tanto la concentración de etanol ($p = 0.0086$) como el tiempo de extracción ($p = 0.0203$) tuvieron efectos significativos sobre el contenido fenólico total (TPC) ($p < 0.05$). La Figura 1B muestra que el

aumento del tiempo de extracción mejoró el rendimiento de compuestos fenólicos, lo cual es consistente con la literatura que vincula este comportamiento con una difusión limitada por el tiempo (Viacava et al., 2015). De igual manera, la Figura 1C muestra que el incremento en las concentraciones de etanol favoreció la extracción de compuestos fenólicos, probablemente debido a la mayor afinidad de los polifenoles por disolventes de polaridad intermedia como el etanol (Do et al., 2022; Haminiuk et al., 2014).

En contraste, el ácido acético no mostró un efecto significativo ($p = 0.5204$), como se observa en la Figura 1A, donde su eje permanece casi plano. No obstante, estudios previos han reportado efectos beneficiosos de la adición de ácidos en la recuperación de compuestos fenólicos. Por ejemplo, Islas et al. (2012) reportaron que ácidos como el clorhídrico, fórmico o acético pueden aumentar la eficiencia extractiva; Wang et al. (2008) informaron que soluciones con 5% de ácido acético mejoraron significativamente la recuperación de antioxidantes sin toxicidad relevante.

De manera similar, García-Vallejo et al. (2023) reportaron valores de TPC que oscilaron entre 251 y 559 mg GAE/g utilizando ácido acético al 3% y etanol al 50% a 60°C durante 30 minutos.

Tabla 3

Parámetros estadísticos de los modelos completo y reducido para las variables dependientes

Fuente	TPC p-value	TFC p-value	DPPH p-value	ABTS p-value
Modelo completo				
Modelo	0,0411*	<0,0001*	0,0769	0,0008*
A-Etanol	0,0086*	< 0,0001*	0,0063*	0,0005*
B- Ácido acético	0,5204	0,0382*	0,6756	0,69
C-Tiempo	0,0203*	0,037*	0,6305	0,0676
AB	0,7388	0,2866	0,9341	0,3206
AC	0,3281	0,1679	0,9052	0,0716
BC	0,9744	0,3472	0,8243	0,0048*
A ²	0,0292*	0,2325	0,0219*	0,0002*
B ²	0,376	0,3128	0,2466	0,0035*
C ²	0,1778	0,0431*	0,533	0,0018*
Residual				
Lack of Fit	0,9035	0,0842	0,1138	0,2405
R ²	0,8041	0,9879	0,7629	0,9346
R ² ajustado	0,5837	0,9742	0,4961	0,861
R ² predicho	0,2908	0,9082	-0,7545	0,5732
C.V. %	14,45	5,73	12,93	5,77
Modelo reducido				
Modelo	0,0011*	< 0,0001*	0,0002*	0,0005*
A-Etanol	0,0033*	< 0,0001*	0,0006*	0,0009*
B- Ácido acético				0,7257
C-Tiempo	0,0107*	0,0446*		0,0944
BC		0,0431*		0,0078*
A ²	0,017*		0,0028*	
B ²				0,0051
C ²		0,0409*		0,0027*
Residual				
Lack of Fit	0,8903	0,076	0,131	0,1799
R ²	0,6702	0,9755	0,6755	0,8894
R ² ajustado	0,5995	0,968	0,6322	0,812
R ² predicho	0,4334	0,9386	0,3947	0,5833
C.V. %	14,18	6,39	11,04	6,7

TPC: Contenido fenólico total; TFC: Contenido total de flavonoides; DPPH: Capacidad antioxidante frente al radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH); ABTS: Capacidad antioxidante frente al radical catiónico 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS); GAE: Miligramos equivalentes de ácido gálico; QE: Miligramos equivalentes de quercetina; TE: Miligramos equivalentes de Trolox; R²: Coeficiente de determinación; C.V. %: Coeficiente de variación; (*) Significativo con $p < 0,05$.

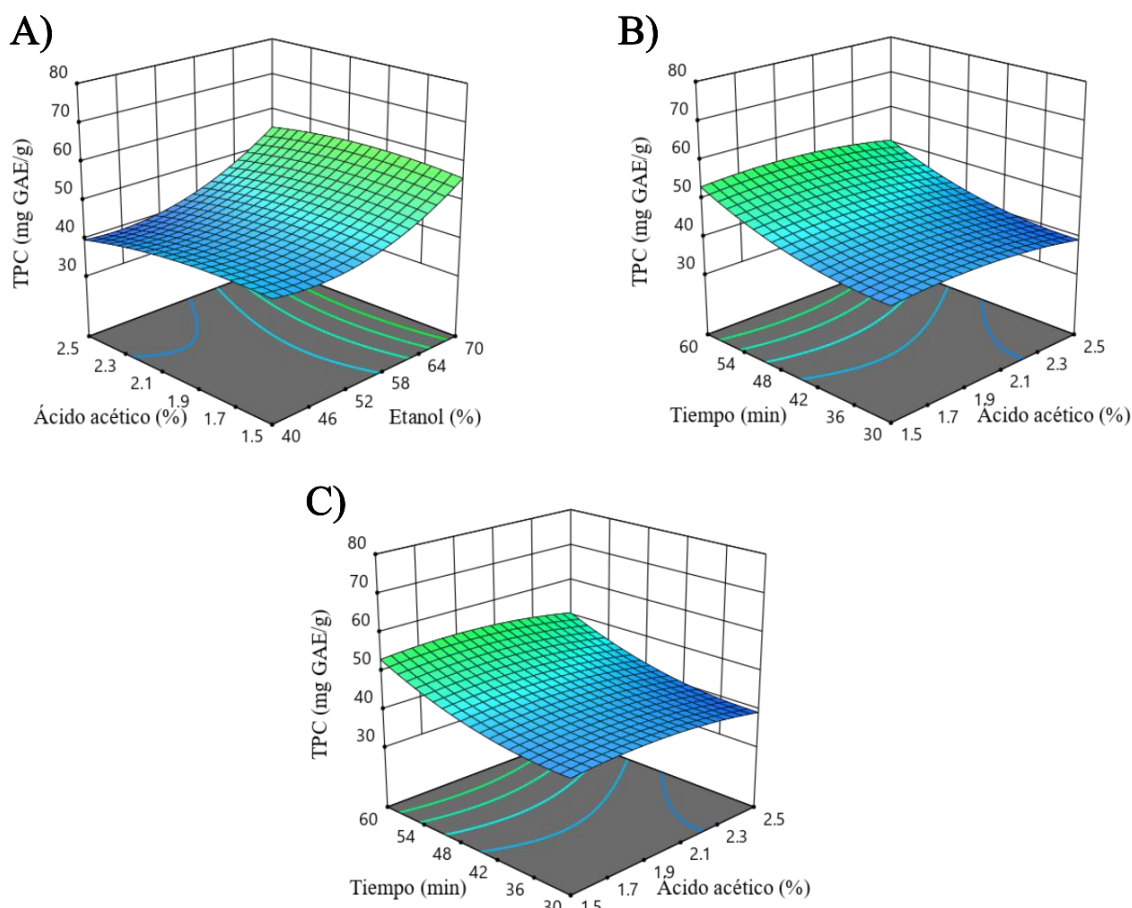


Figura 1. Gráficos de superficie de respuesta para el contenido fenólico total (TPC) en extractos de semilla de aguacate en función de: (A) concentraciones de etanol (%) y ácido acético (%); (B) concentración de etanol (%) y tiempo de extracción (min); (C) concentración de ácido acético (%) y tiempo de extracción (min).

Sin embargo, a diferencia del presente estudio, dichos autores no evaluaron el ácido acético como una variable independiente dentro de un modelo multivariado, lo cual podría explicar la discrepancia. Factores adicionales como la variedad de semilla (Criollo vs. Breda) y la relación sólido-líquido (1:15 vs. 1:20) también pudieron haber influido en los resultados.

Además, Do et al. (2022) obtuvieron 104,30 mg GAE/g utilizando etanol al 70%, una relación 1:3 y calentamiento a 65 °C durante 3 h, lo que confirma que tiempos de extracción más prolongados y mayores volúmenes de disolvente incrementan la recuperación de compuestos fenólicos. Cabe destacar que las Figuras 1A–1C no muestran saturación dentro de los rangos evaluados, lo que sugiere que podrían alcanzarse valores de TPC más altos al extender la concentración de etanol y el tiempo de extracción. Estos hallazgos resaltan la importancia de un diseño experimental robusto y una cuidadosa selección de los parámetros operativos para optimizar el proceso de extracción.

Influencia de las variables del proceso sobre el Contenido total de flavonoides (TFC)

El contenido total de flavonoides en los extractos obtenidos varió entre $0,42 \pm 0,02$ y $2,68 \pm 0,04$ mg QE/g de semilla seca, registrándose el valor más alto bajo condiciones de etanol al 80%, ácido

acético al 2% y 45 min de maceración asistida por agitación (Tabla 2).

Según el análisis de varianza (Tabla 3), las tres variables independientes tuvieron un efecto estadísticamente significativo sobre el TFC ($p < 0,05$), siendo la concentración de etanol la de mayor influencia ($p < 0,0001$; $F = 624,91$). Esta tendencia se ilustra en la Figura 2B, la cual muestra un aumento progresivo del TFC a medida que se incrementa la fracción de etanol, independientemente del tiempo de extracción. Este comportamiento sugiere una alta afinidad de los flavonoides, particularmente los menos polares, por disolventes de polaridad intermedia, como el etanol (Wijngaard & Brunton, 2010).

El ácido acético ($p = 0,0382$) y el tiempo de extracción ($p = 0,037$) también afectaron significativamente el rendimiento de flavonoides, como se muestra en las Figuras 2A y 2C. Aunque sus efectos individuales fueron más moderados, su relevancia técnica es destacable. La Figura 2A muestra que la adición controlada de ácido acético (hasta 2,5%) promovió un ligero aumento en el TFC. Por su parte, la Figura 2C revela que, con el etanol fijado al 55%, el tiempo de extracción influyó positivamente en el rendimiento, aunque no se observó una interacción sinérgica clara con el ácido.

No se encontraron interacciones significativas entre las variables ($p > 0,05$ para AB, AC y BC), lo

que indica que sus efectos sobre el TFC ocurrieron de forma independiente.

Munthe et al. (2023) obtuvieron 1,73 mg QE/g utilizando etanol al 70%. En contraste, Weremfo et al. (2020) reportaron rangos más amplios (0,66 a 21,45 mg QE/g), dependiendo de la matriz, la técnica y las condiciones operativas, donde la concentración de etanol no fue un factor significativo, siendo la potencia y el tiempo de microondas los principales determinantes.

Respecto al efecto del ácido acético, compuestos como quercetina, catequina, epicatequina, rutina y procianidinas, los flavonoides mayoritarios identificados en semillas de aguacate (Miramontes-Corona et al., 2024; Weremfo et al., 2020) presentan una mayor solubilidad en medios ligeramente ácidos, lo que justifica su mejor extracción bajo dichas condiciones. Otros estudios como el de Na et al. (2016) sugieren que la adición de ácidos puede romper membranas celulares, facilitando la liberación de flavonoides. (Guo et al., 2023) observaron un aumento en la extracción de quercetina con la adición de ácido acético hasta el 15%, mientras que Zhong et al. (2019) demostraron que una mezcla de 70% de etanol con 2% de ácido acético fue eficaz para la extracción por ultrasonido de *D. indicum* var. *aromaticum*.

Influencia de las variables del proceso sobre la capacidad antioxidante – Métodos DPPH y ABTS

La capacidad antioxidante de los extractos de semilla de aguacate fue evaluada mediante los ensayos DPPH y ABTS, mostrando variaciones significativas dependiendo de las condiciones de extracción, asociadas principalmente a la concentración de etanol.

La mayor actividad antioxidante determinada mediante el método DPPH fue de 27,35 mg TE/g de semilla seca (Tabla 2), obtenida bajo condiciones de etanol al 55%, ácido acético al 1% y 45 minutos de maceración. Según el modelo estadístico general (Tabla 3), la concentración de etanol fue el único factor significativo y determinante en la capacidad de captura de radicales ($p = 0,0063$). La Figura 3A confirma esta tendencia inversa en comparación con otras variables: se observó una mayor actividad antioxidante con concentraciones más bajas de etanol, lo que sugiere que compuestos más polares podrían ser los principales responsables de la neutralización del radical DPPH. Ni el tiempo de extracción ni el ácido acético mostraron interacciones significativas con el etanol (Figuras 3B y 3C), lo que respalda el efecto independiente del etanol sobre esta respuesta.

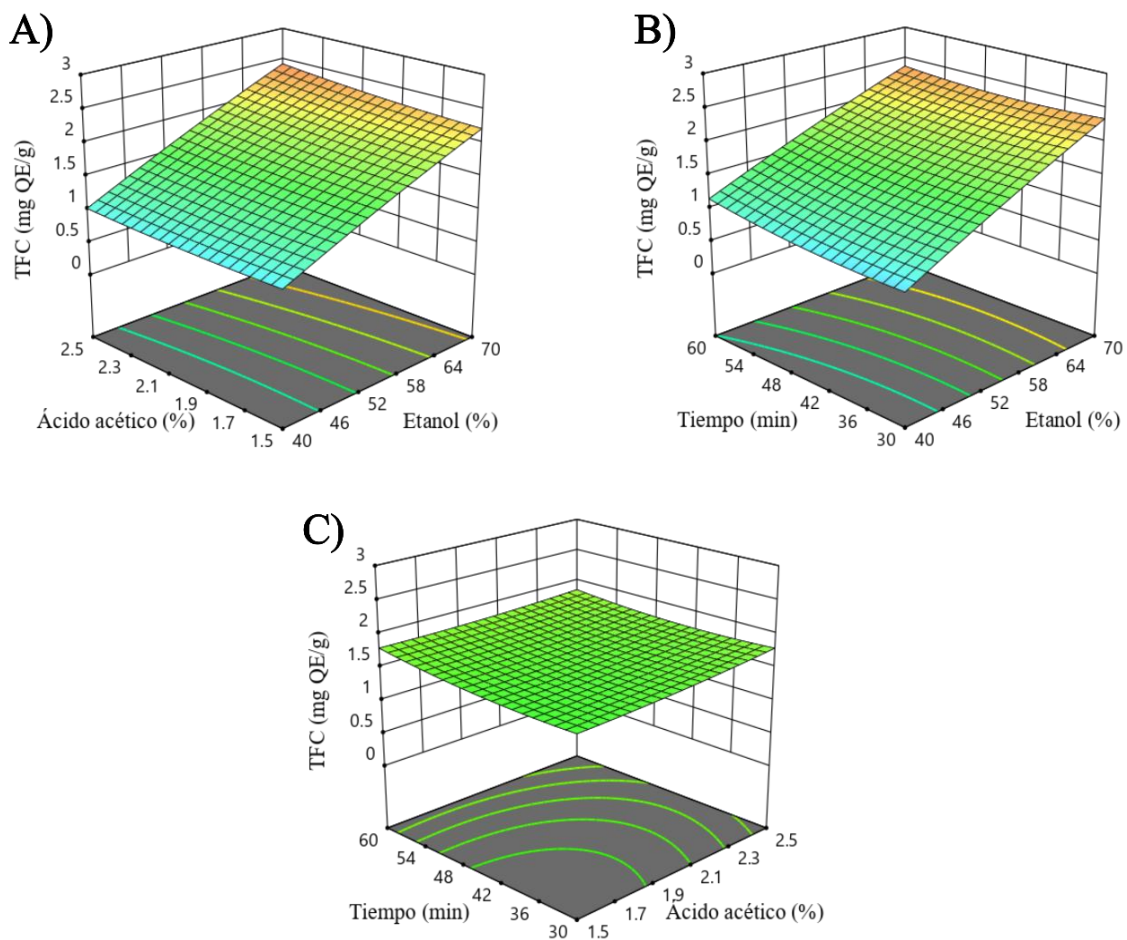


Figura 2. Gráficos de superficie de respuesta para el contenido total de flavonoides (TFC) en extractos de semilla de aguacate en función de: (A) concentraciones de etanol (%) y ácido acético (%); (B) concentración de etanol (%) y tiempo de extracción (min); (C) concentración de ácido acético (%) y tiempo de extracción (min).

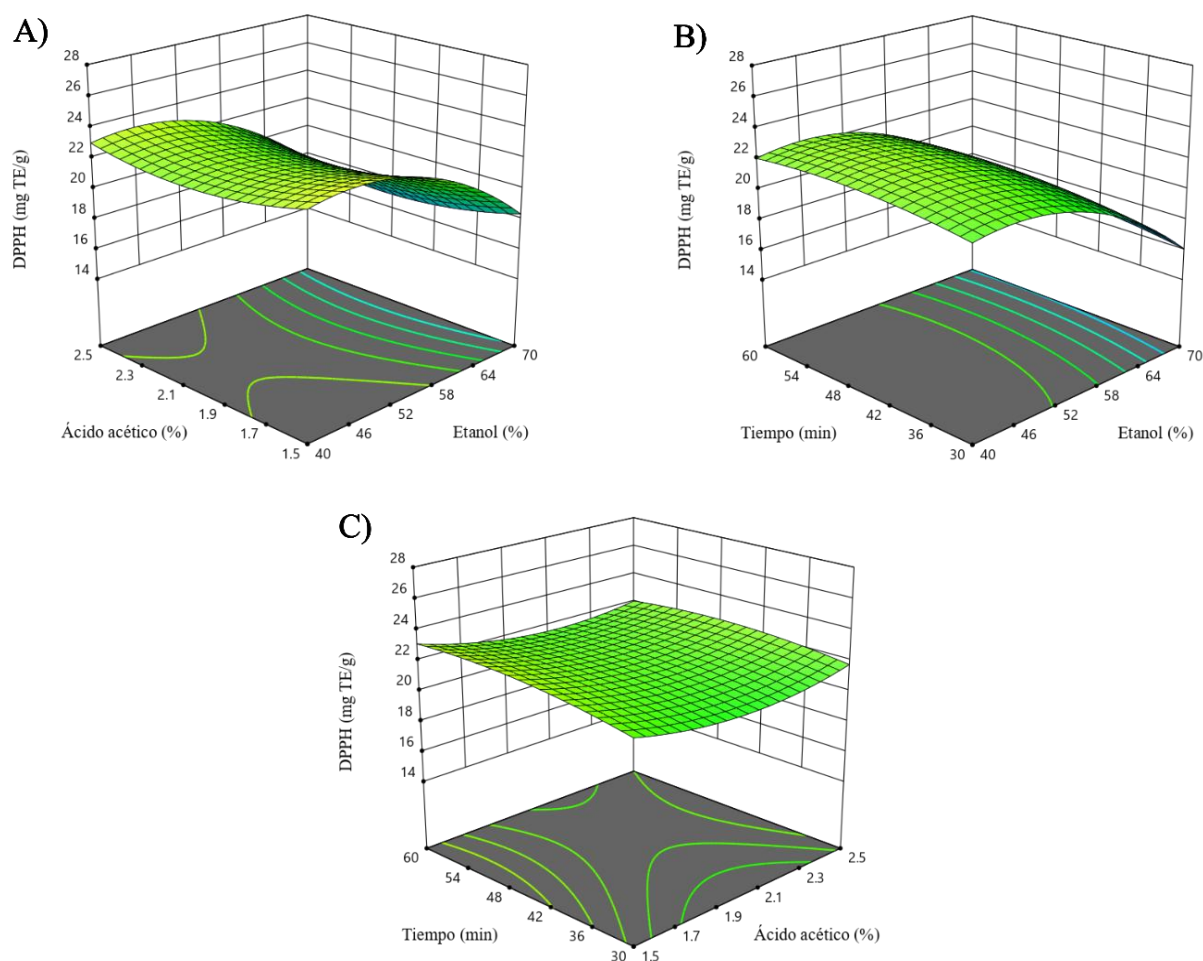


Figura 3. Superficies de respuesta para la capacidad antioxidante determinada por DPPH en función de: (A) concentración de etanol (%) y ácido acético (%); (B) concentración de etanol (%) y tiempo de extracción (min); (C) ácido acético (%) y tiempo de extracción (min).

En contraste, la actividad ABTS mostró un comportamiento multifactorial más complejo. Además del etanol ($p = 0,0005$), se observaron efectos significativos del tiempo de extracción, el ácido acético y sus interacciones (Tabla 3), como se representa visualmente en las Figuras 4A–C mediante superficies de respuesta optimizadas a través de combinaciones sinérgicas de factores. La Figura 4A muestra que bajas concentraciones de etanol (40–55%) combinadas con 1,5–2,0% de ácido acético a un tiempo de extracción constante (45 minutos) condujeron a los valores más altos de ABTS. Este comportamiento sugiere que la acidez mejora la solubilización de compuestos antioxidantes polares, especialmente cuando el sistema solvente tiene una polaridad intermedia adecuada. La Figura 4B, con el ácido acético fijado en 2%, indica que los tiempos de extracción prolongados (30–60 minutos) y niveles moderados de etanol también mejoran la respuesta antioxidante, reforzando la importancia del tiempo de contacto para la difusión de compuestos. La Figura 4C, con el etanol fijado en 55%, revela una clara interacción entre el tiempo y el ácido acético, con máximos que ocurren entre 40 y 55 minutos y 1,5–2,0% de ácido, lo que sugiere un efecto combinado favorable sobre la liberación y

estabilidad de los compuestos bioactivos frente al radical ABTS.

La mayor actividad antioxidante medida por ABTS fue de $43,20 \pm 0,85$ mg TE/g bajo condiciones de 55% de etanol, 2% de ácido acético y 45 minutos, coincidiendo con una alta actividad DPPH. Este paralelismo sugiere una posible región de optimización compartida, a pesar de que los comportamientos estadísticos difieren entre ambos métodos.

Los valores obtenidos en este estudio superan a los reportados por Del-Castillo-Llamas, Rodríguez-Rebello, et al. (2023), quienes utilizaron disolventes eutécticos profundos (NADES) y lograron un máximo de 21,92 mg TE/g mediante ABTS. Incluso en comparación con tecnologías emergentes, la maceración convencional con etanol y ácido acético demostró ser técnicamente competitiva y factible a nivel industrial. Asimismo, García-Vallejo et al. (2023) reportaron actividades antioxidantes que oscilaron entre 372,12 y 736,22 $\mu\text{mol TE}/100$ g usando ultrasonido con 70% de etanol a 40 °C durante 10–20 minutos. A pesar de las diferencias de unidades, los valores obtenidos por maceración convencional en este estudio son comparables, lo que resalta el impacto del control de las variables del proceso.

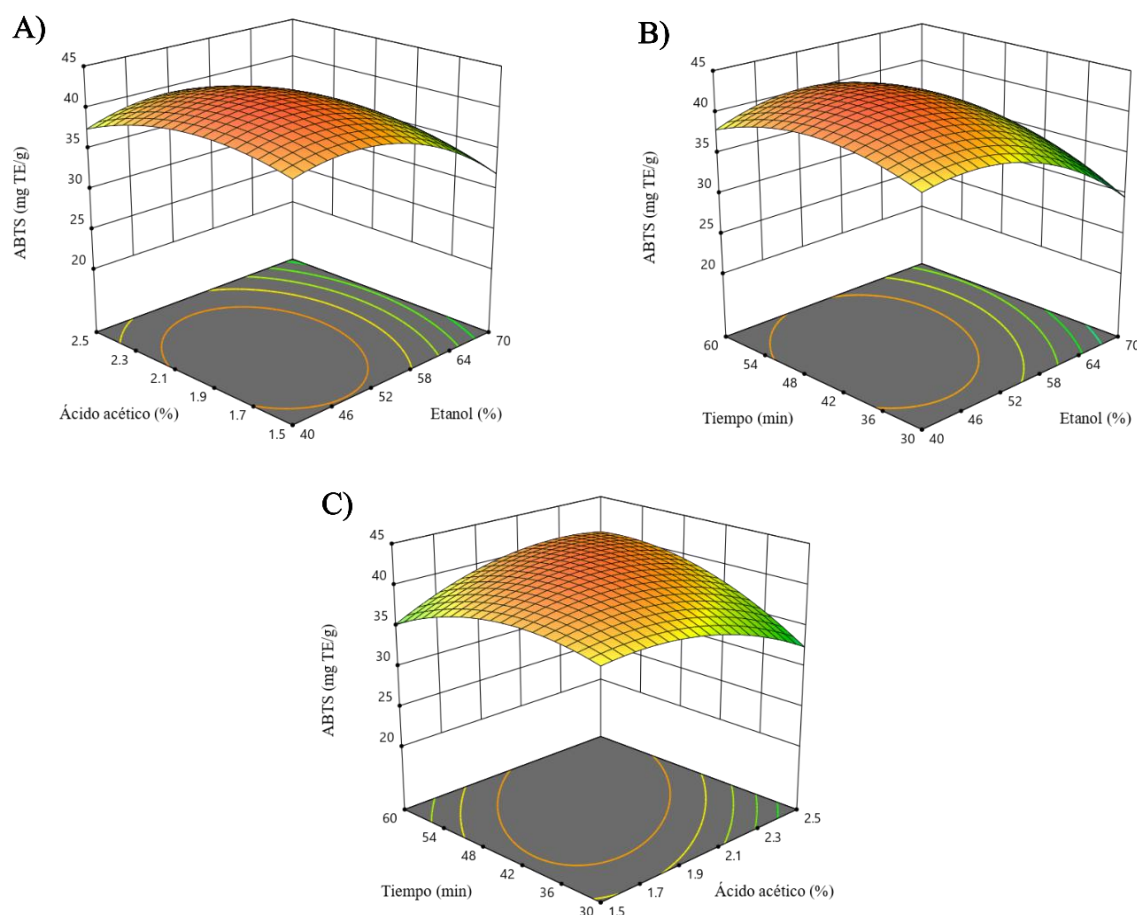


Figura 4. Superficies de respuesta para la capacidad antioxidante determinada por ABTS en función de: (A) concentración de etanol (%) y ácido acético (%); (B) concentración de etanol (%) y tiempo de extracción (min); (C) concentración de ácido acético (%) y tiempo de extracción (min).

Otros estudios respaldan la amplia variabilidad de la actividad antioxidante en extractos de semilla de aguacate, dependiendo del método de extracción, el tipo de solvente y el cultivar utilizado. Araújo et al. (2020) reportaron valores de $266,56 \pm 2,76$ y $221,69 \pm 20,12$ mg TE/g (DPPH), y $607,28 \pm 4,71$ y $516,34 \pm 11,81$ mg TE/g (ABTS) usando extracción asistida por microondas. García-García-Vallejo et al. (2023) reportaron una actividad DPPH máxima de $718 \mu\text{mol TE}/100$ g de semilla seca usando extracción sólido-líquido. En otro estudio, (Grisales-Mejía et al., 2024) aplicaron ultrasonido con NADES compuestos por betaína y glicerol (Bet:Gly), obteniendo hasta $593,6 \pm 39,3 \mu\text{mol TE/g}$ de semilla seca. Estas diferencias reflejan no solo la influencia de las condiciones de extracción, sino también la diversidad estructural de los compuestos antioxidantes presentes en la semilla. Por otro lado, aunque las actividades de eliminación de ABTS y DPPH exhibieron patrones relativamente similares (Tabla 2), las pequeñas diferencias podrían deberse a la presencia de varios compuestos fenólicos en el extracto, que ejercen diferentes cinéticas y mecanismos de reacción ante diferentes actividades antioxidantes (Pandey et al., 2018).

En conjunto, estos hallazgos refuerzan que la actividad antioxidante está determinada tanto por la composición química del extracto como por el

ajuste preciso de los parámetros de extracción. La aplicación de la Metodología de Superficie de Respuesta (RSM) en este estudio permitió identificar condiciones óptimas para ambos ensayos, validando el enfoque multivariado como una herramienta eficaz para la valorización funcional de las semillas de aguacate.

Optimización de las condiciones de extracción

La optimización de los modelos se basó en el análisis de varianza (ANOVA) y el desempeño estadístico general tanto para las versiones completas como reducidas. La selección de modelos priorizó aquellos que mostraran un equilibrio entre significancia estadística, capacidad predictiva y simplicidad estructural, tal como se resume en la Tabla 3.

Para las respuestas TPC, DPPH y ABTS, se seleccionaron modelos reducidos debido a su menor complejidad y adecuada capacidad explicativa. En el caso de TPC, el modelo reducido mostró un R^2 ajustado de 0,5995 y un R^2 predicho de 0,4334, indicando una mejora respecto al modelo completo al eliminar términos no significativos. En contraste, para TFC se retuvo el modelo completo debido a su excelente ajuste (R^2 ajustado = 0,9742; R^2 predicho = 0,9082), respaldado por contribuciones significativas de términos lineales, cuadráticos e interacciones.

En cuanto a la actividad DPPH, el modelo reducido resultó significativamente más robusto que el completo ($p = 0,0002$), con un R^2 ajustado de 0,6322 frente a 0,4961. Para ABTS, ambos modelos mostraron buen desempeño; sin embargo, el modelo reducido presentó un R^2 predicho ligeramente mayor (0,5833), lo que indica una mejor precisión predictiva sin sobreajuste.

Las ecuaciones ajustadas para los modelos finales de cada variable de respuesta se presentan en la Tabla 4. Estas expresiones, formuladas en términos codificados, permiten realizar predicciones confiables dentro del dominio experimental.

La optimización numérica multivariada tuvo como objetivo maximizar simultáneamente el contenido total de fenoles, contenido de flavonoides y capacidad antioxidante medida por DPPH y ABTS. Se aplicó la función de deseabilidad, integrando múltiples objetivos en un único valor entre 0 y 1. Se obtuvo una deseabilidad combinada de 0,803 bajo condiciones óptimas de extracción: 70% de etanol, 2,5% de ácido acético y 60 minutos de extracción. Bajo estas condiciones, los modelos predijeron valores de 63,90 mg GAE/g (TPC), 2,52 mg QE/g (TFC), 17,37 mg TE/g (DPPH) y 33,67 mg TE/g (ABTS). La validación experimental (Tabla 5) confirmó una alta concordancia entre los valores

predichos y observados, con desviaciones mínimas. Por ejemplo, el TPC observado fue de 61,70 mg GAE/g y el TFC fue de 2,39 mg QE/g, lo que respalda tanto la fiabilidad predictiva de los modelos como la eficacia del método propuesto.

En conjunto, los resultados validan la utilidad del enfoque multivariado para la optimización del proceso de extracción y posicionan a la maceración asistida por agitación en baño termostático como un método eficaz, reproducible y potencialmente escalable para la valorización de semillas de aguacate. Esta técnica muestra un gran potencial para el desarrollo de aplicaciones funcionales y sostenibles.

Análisis de Correlación

El análisis de correlación entre los parámetros evaluados reveló asociaciones relevantes que ayudan a comprender la composición química y el comportamiento de los extractos obtenidos (Tabla 6). Se observó una correlación positiva y estadísticamente significativa entre el contenido total de compuestos fenólicos (TPC) y el contenido total de flavonoides (TFC) ($r = 0,543$; $p = 0,020$), lo que sugiere que los flavonoides constituyen una fracción relevante dentro del perfil fenólico total.

Tabla 4

Ecuaciones ajustadas de los modelos completo y reducido para las variables dependientes, con sus respectivos coeficientes de determinación (R^2)

Respuesta	Ecuación	R^2	R^2 ajustado
Modelo completo			
TPC (mg GAE/g)	$45,24 + 6,79 X_1 - 1,32 X_2 + 5,67 X_3 + 0,8854 X_1 X_2 + 2,67 X_1 X_3 + 0,0848 X_2 X_3 + 5,41 X_1^2 - 1,91 X_2^2 + 3,01 X_3^2$	0,8041	0,5837
TFT (mg QE/g)	$1,67 + 0,6634 X_1 + 0,0658 X_2 + 0,0663 X_3 + 0,0396 X_1 X_2 - 0,0526 X_1 X_3 - 0,0346 X_2 X_3 - 0,0356 X_1^2 + 0,0297 X_2^2 + 0,0662 X_3^2$	0,9879	0,9742
DPPH (mg TE/g)	$21,81 - 2,64 X_1 - 0,3121 X_2 + 0,3594 X_3 - 0,0801 X_1 X_2 + 0,1154 X_1 X_3 - 0,2154 X_2 X_3 - 2,12 X_1^2 + 0,933 X_2^2 - 0,4865 X_3^2$	0,7629	0,4961
ABTS (mg TE/g)	$41,65 - 2,96 X_1 - 0,2291 X_2 + 1,17 X_3 + 0,7769 X_1 X_2 + 1,48 X_1 X_3 + 2,75 X_2 X_3 - 3,75 X_1^2 - 2,36 X_2^2 - 2,61 X_3^2$	0,9344	0,8607
Modelo reducido			
TPC (mg GAE/g)	$46,23 + 6,79 X_1 + 6,79 X_3 + 5,22 X_2^2$	0,6702	0,5995
TFT (mg QE/g)	$1,66 + 0,6634 X_1 + 0,0658 X_2 + 0,0663 X_3 + 0,0672 X_3^2$	0,9775	0,9680
DPPH (mg TE/g)	$22,21 - 2,64 X_1 - 2,19 X_1^2$	0,6755	0,6332
ABTS (mg TE/g)	$41,65 - 2,96 X_1 - 0,2291 X_2 + 1,17 X_3 + 2,75 X_2 X_3 - 3,75 X_1^2 - 2,36 X_2^2 - 2,61 X_3^2$	0,8894	0,8120

TPC: Contenido fenólico total; TFC: Contenido total de flavonoides; DPPH: Capacidad antioxidante frente al radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH); ABTS: Capacidad antioxidante frente al radical catiónico 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS); GAE: Miligramos equivalentes de ácido gálico; QE: Miligramos equivalentes de quercetina; TE: Miligramos equivalentes de Trolox; R^2 : Coeficiente de determinación.

Tabla 5

Condiciones óptimas de extracción predichas y valores experimentales versus esperados

Respuesta	Condiciones óptimas de extracción			Valor máximo	
	Etanol (%)	Ácido acético (%)	Tiempo (min)	Valor experimental	Valor esperado
TPC (mg GAE/g)	70	2,5	60	61,70	63,90
TFC (mg QE/g)				2,39	2,52
DPPH (mg TE/g)				16,55	17,37
ABTS (mg TE/g)				31,40	33,67

TPC: Contenido fenólico total; TFC: Contenido total de flavonoides; DPPH: Capacidad antioxidante frente al radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH); ABTS: Capacidad antioxidante frente al radical catiónico 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS); GAE: Miligramos equivalentes de ácido gálico; QE: Miligramos equivalentes de quercetina; TE: Miligramos equivalentes de Trolox.

Tabla 6

Matriz de correlación de Pearson entre las variables dependientes y prueba de normalidad de Shapiro-Wilk para cada variable

Response	TPC	TFC	DPPH	ABTS	Normalidad
TPC	1	0,543 (p = 0,020)	-0,494 (p = 0,037)	-0,385 (p = 0,115)	0,412*
TFC	0,543 (p = 0,020)	1	-0,552 (p = 0,017)	-0,488 (p = 0,040)	0,296*
DPPH	-0,494 (p = 0,037)	-0,552 (p = 0,017)	1	0,576 (p = 0,012)	0,473*
ABTS	-0,385 (p = 0,115)	-0,488 (p = 0,040)	0,576 (p = 0,012)	1	0,381*

TPC: Contenido fenólico total; TFC: Contenido total de flavonoides; DPPH: Capacidad antioxidante frente al radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH); ABTS: Capacidad antioxidante frente al radical catiónico 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS); (*) Significativo con $p < 0,05$.

Por el contrario, se identificaron correlaciones negativas entre TPC y DPPH ($r = -0,494$; $p = 0,037$), así como entre TFC y ambos ensayos antioxidantes: DPPH ($r = -0,552$; $p = 0,017$) y ABTS ($r = -0,488$; $p = 0,040$). Estos hallazgos contrastan con los reportados por Do et al. (2022) y Grisales-Mejía et al. (2024), quienes observaron correlaciones positivas entre los compuestos fenólicos y la actividad antioxidante. Sin embargo, coinciden con lo informado por Ibarra-Buenavista et al. (2020), quienes también encontraron que el extracto con mayor contenido fenólico no presentó necesariamente la mayor capacidad antioxidante, destacando que la abundancia de polifenoles no se traduce automáticamente en una mayor eficiencia atrapadora de radicales.

Existen varias hipótesis que pueden explicar estas correlaciones negativas. En primer lugar, el pH ácido de los extractos (promedio inferior a 3) podría influir en la ionización y reactividad de los compuestos bioactivos, interfiriendo con los mecanismos antioxidantes subyacentes. El ensayo ABTS, que opera típicamente en un medio etanólico ligeramente ácido, se basa principalmente en el mecanismo de transferencia de un solo electrón (SET). Bajo estas condiciones, la protonación de los grupos fenólicos podría limitar su capacidad donadora de electrones, reduciendo así la eficacia antioxidante (Foti, 2007). Por otro lado, el ensayo DPPH opera principalmente mediante transferencia de átomos de hidrógeno (HAT), donde la eficacia antioxidante depende de la

estructura química del compuesto; generalmente, los fenoles protonados (ArOH) son más reactivos que sus contrapartes desprotonadas (ArO⁻) (Foti et al., 2004; Xie & Schaich, 2014). Además, Schaich et al. (2015) demostraron que la sensibilidad del ensayo varía considerablemente según el polifenol específico implicado.

Otra consideración importante es la diversidad estructural de los compuestos bioactivos presentes en las semillas de aguacate, tales como quercetina, catequina, epicatequina, rutina, procianidinas y diversos ácidos fenólicos. No todos contribuyen de igual manera a la actividad antioxidante medida. Do et al. (2022) identificaron más de 30 compuestos fenólicos y flavonoides diferentes en matrices similares, lo que sugiere que solo una fracción específica está activamente involucrada en los mecanismos detectados por los ensayos DPPH y ABTS.

En resumen, una alta concentración de compuestos fenólicos o flavonoides totales no garantiza necesariamente una elevada capacidad antioxidante, especialmente si dichos compuestos presentan baja reactividad o afinidad limitada con los mecanismos de oxidación específicos evaluados. Estos hallazgos resaltan la importancia de aplicar metodologías complementarias para una evaluación antioxidante precisa, así como considerar factores como el pH del extracto y la química de los compuestos, que pueden influir significativamente en los resultados observados.

CONCLUSIONES

Este estudio demostró que las semillas de aguacate son una fuente viable y sostenible de compuestos fenólicos y flavonoides con potencial antioxidante. Su elección como matriz vegetal se justificó por su disponibilidad como subproducto agroindustrial y su alineación con los principios de economía circular y valorización sostenible.

Mediante la aplicación de la Metodología de Superficie de Respuesta (RSM) y un Diseño Compuesto Central Rotacional (CCRD 2³), fue posible optimizar el proceso de extracción y determinar la influencia relativa de los factores operacionales. La concentración de etanol fue la única variable que afectó significativamente todos los parámetros de respuesta (TPC, TFC, DPPH y

ABTS), mientras que el tiempo de extracción mostró un efecto significativo únicamente sobre TPC y TFC. El ácido acético tuvo una influencia selectiva, mejorando únicamente la recuperación de flavonoides.

Las condiciones óptimas de extracción se definieron como 70% de etanol, 2,5% de ácido acético y 60 minutos de extracción, resultando en una deseabilidad global de 0,803. Bajo estas condiciones, los modelos predijeron rendimientos de 63,9 mg GAE/g (TPC), 2,52 mg QE/g (TFC), 17,37 mg TE/g (DPPH) y 33,67 mg TE/g (ABTS), los cuales fueron validados experimentalmente con alta precisión.

El análisis de correlación reveló una asociación positiva entre TPC y TFC, y correlaciones negativas entre estas variables y la actividad antioxidante, lo que sugiere que una mayor abundancia de compuestos fenólicos no se traduce necesariamente en una mayor capacidad atrapadora de radicales. Estos hallazgos pueden explicarse por las diferencias estructurales entre compuestos, la acidez del extracto y los distintos mecanismos de reacción implicados en los ensayos antioxidantes utilizados.

En conjunto, el método de extracción basado en maceración asistida por agitación utilizando

solventes GRAS (etanol y ácido acético) demostró ser una alternativa técnica viable, reproducible y escalable. Su desempeño, comparable al de tecnologías avanzadas, refuerza su aplicabilidad para la producción de ingredientes funcionales a escala industrial.

Se recomienda que futuros estudios evalúen la estabilidad y funcionalidad de los extractos en matrices alimentarias o farmacéuticas, así como la influencia de los sistemas solventes en la reactividad frente a radicales y la fiabilidad de los ensayos antioxidantes comúnmente empleados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abacates do Brasil. (2024). Abacates do Brasil | Unindo os produtores de abacate. <https://abacatesdobrasil.org.br/>
- Abu Qdais, H., Wuensch, C., Dornack, C., & Nassour, A. (2019). The role of solid waste composting in mitigating climate change in Jordan. *Waste Management and Research*, 37(8), 833–842. <https://doi.org/10.1177/0734242X19855424>
- Araújo, R. G., Rodríguez-Jasso, R. M., Ruiz, H. A., Govea-Salas, M., Pintado, M. E., & Aguilar, C. N. (2020). Process optimization of microwave-assisted extraction of bioactive molecules from avocado seeds. *Industrial Crops and Products*, 154, 112623. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112623>
- Athaydes, B. R., Alves, G. M., Assis, A. L. E. M. de, Gomes, J. V. D., Rodrigues, R. P., Campagnaro, B. P., Nogueira, B. V., Silveira, D., Kuster, R. M., Pereira, T. M. C., Kitagawa, R. R., & Gonçalves, R. de C. R. (2019). Avocado seeds (*Persea americana* Mill.) prevents indomethacin-induced gastric ulcer in mice. *Food Research International*, 119, 751–760. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.10.057>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Del-Castillo-Llamas, A., Eibes, G., Ferreira-Santos, P., Pérez-Pérez, A., Del-Río, P. G., & Gullón, B. (2023). Microwave-assisted autohydrolysis of avocado seed for the recovery of antioxidant phenolics and glucose. *Bioresource Technology*, 385, 129432. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2023.129432>
- Del-Castillo-Llamas, A., Rodríguez-Rebello, F., Rodríguez-Martínez, B., Mallo-Fraga, A., Del-Río, P. G., & Gullón, B. (2023). Valorization of Avocado Seed Wastes for Antioxidant Phenolics and Carbohydrates Recovery Using Deep Eutectic Solvents (DES). *Antioxidants*, 12(6), 1156. <https://doi.org/10.3390/ANTIOX12061156/S1>
- Do, D. T. B., Bui, T. H., & Phan, D. T. A. (2022). Persea Americana Mill seed extracts: Understanding insights into the antioxidant and antityrosinase activities and effects on preserving qualities of whiteleg shrimp (*Litopenaus vannamei*) during refrigerated storage. *Food Chemistry*, 373, 131469. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131469>
- Foti, M. C. (2007). Antioxidant properties of phenols. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 59(12), 1673–1685. <https://doi.org/10.1211/JPP.59.12.0010>
- Foti, M. C., Daquino, C., & Geraci, C. (2004). Electron-Transfer Reaction of Cinnamic Acids and Their Methyl Esters with the DPPH. Radical in Alcoholic Solutions. *Journal of Organic Chemistry*, 69(7), 2309–2314. <https://doi.org/10.1021/J0035758Q>
- García-Vallejo, M. C., Solarte-Toro, J. C., Ortiz-Sánchez, M., Chamorro-Anaya, L., Chamorro-Anaya, L., Peroza-Piñeres, P., Pérez-Cordero, A., & Cardona Alzate, C. A. (2023). Exploring the production of antioxidants and biogas from avocado (*Persea americana* var. *Americana*) residues as an alternative for developing rural bioeconomies. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 33, 101089. <https://doi.org/10.1016/j.scp.2023.101089>
- Gómez, F. S., Peirósánchez, S., Iradi, M. G. G., Azman, N. A. M., & Almajano, M. P. (2014). Avocado seeds: Extraction optimization and possible use as antioxidant in food. *Antioxidants*, 3, 439–454. <https://doi.org/10.3390/ANTIOX3020439>
- Grisales-Mejía, J. F., Cedeno-Fierro, V., Ortega, J. P., Torres-Castañeda, H. G., Andrade-Mahecha, M. M., Martínez-Correa, H. A., Álvarez-Rivera, G., Mendiola, J. A., Cifuentes, A., & Ibañez, E. (2024). Advanced NADES-based extraction processes for the recovery of phenolic compounds from Hass avocado residues: A sustainable valorization strategy. *Separation and Purification Technology*, 351, 128104. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2024.128104>
- Guo, C., Gao, X., Zhao, X., Zhang, B., Chen, J., Chang, C., & Chen, Z. (2023). Response surface optimization of extraction of rutin and quercetin from *Cyclobalanopsis* leaves by hydrothermal treatment catalyzed by ethanol-acetic acid. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 13(13), 12291–12301. <https://doi.org/10.1007/S13399-021-02116-2>
- Hamiński, C. W. I., Plata-Oviedo, M. S. V., de Mattos, G., Carpes, S. T., & Branco, I. G. (2014). Extraction and quantification of phenolic acids and flavonols from *Eugenia pyriformis* using different solvents. *Journal of Food Science and Technology*, 51(10), 2862–2866. <https://doi.org/10.1007/S13197-012-0759-Z>
- Hurtado-Fernández, E., Fernández-Gutiérrez, A., & Carrasco-Pancorbo, A. (2018). Avocado fruit—*Persea americana*. *Exotic Fruits Reference Guide*, 37–48. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803138-4.00001-0>
- Islas, J. F., Dávalos-Balderas, A. J., Arroyo-Currás, N., Cano, B. G., Galindo-Jacobo, P., Guajardo-Salinas, G., Gaytan-Ramos, A., Moreno-Cuevas, J. E., Islas, J. F., Dávalos-Balderas, A. J., Arroyo-Currás, N., Cano, B. G., Galindo-Jacobo, P., Guajardo-Salinas, G., Gaytan-Ramos, A., & Moreno-Cuevas, J. E. (2012). Comparative Evaluation of a Modified Acetic Method for Extraction of Antioxidant Compounds from Black Beans (*Phaseolus vulgaris*). *Food and Nutrition Sciences*, 3(3), 348–353. <https://doi.org/10.4236/FNS.2012.33050>
- Kautsar, D. B., Rois, M. F., Faizah, N., Widiyastuti, W., Nurtono, T., & Setyawan, H. (2023). Antioxidant and Antimicrobial Agents from Avocado (*Persea americana*) Seed Extract Encapsulated in Gum Arabic through Spray Drying Method. *Periodica Polytechnica Chemical Engineering*, 67(1), 161–171. <https://doi.org/10.3311/PPCH.20698>
- Miramontes-Corona, C., Torres-Santiago, G., Rodríguez, M. M. J., Corona-González, R. I., & Toriz, G. (2024). Phenolic profile, antioxidant activity and antimicrobial properties of avocado (*Persea americana*) seed extracts. *Chemical Papers*, 78(8), 5061–5069. <https://doi.org/10.1007/S11696-024-03452-Z>
- Munthe, W. N., Riskianto, R., Juvi, D., & Novia, J. (2023). Antioxidant, Total Phenolic, and Total Flavonoid of 70% Ethanol Extract of Avocado Seeds (*Persea americana* Mill.). *Pharmacognosy Journal*, 15(4), 599–605. <https://doi.org/10.5530/pj.2023.15.126>
- Nyakang'I, C. O., Marete, E., Ebere, R., & Arimi, J. M. (2023). Physicochemical Properties of Avocado Seed Extract Model Beverages and Baked Products Incorporated with Avocado Seed Powder. *International Journal of Food Science*, 2023(1), 6860806. <https://doi.org/10.1155/2023/6860806>
- Ojo, O. A., Maduakolam-Aniobi, T. C., Gyebe, G. A., Soyinka, T. O., Ejigbo, O. F., Ojo, A. B., Alruwaili, M., Ali, N. H., Alnaaim, S. A., Alsouk, B. A., & Batiha, G. E. S. (2025). Experimental and computational analyses of the anti-alzheimer and antidiabetic effects of flavonoid-rich extract of avocado seeds (*Persea americana* Mill.). *Nutrire*, 50(1), 1–27. <https://doi.org/10.1186/S41110-025-00335-5>
- ONU. (2022). Objetivos y metas de desarrollo sostenible - Desarrollo Sostenible. <https://www.un.org/sustainabledevelopment/es/objetivos-de-desarrollo-sostenible/>
- Pandey, A., Belwal, T., Sekar, K. C., Bhatt, I. D., & Rawal, R. S. (2018). Optimization of ultrasonic-assisted extraction (UAE) of

- phenolics and antioxidant compounds from rhizomes of Rheum moorcroftianum using response surface methodology (RSM). *Industrial Crops and Products*, 119, 218–225. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.04.019>
- Razola-Díaz, M. del C., Verardo, V., Guerra-Hernández, E. J., García-Villanova Ruiz, B., & Gómez-Caravaca, A. M. (2023). Response Surface Methodology for the Optimization of Flavan-3-ols Extraction from Avocado By-Products via Sonotrode Ultrasound-Assisted Extraction. *Antioxidants*, 12(7), 1409. <https://doi.org/10.3390/ANTIOX12071409/S1>
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9–10), 1231–1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Saini, T., Sharma, S., Dash, K. K., Sandhu, R., Dadwal, V., Shams, R., & Pandey, V. K. (2025). Role of bioactive phytochemicals in plant seeds and leaves for diabetes control and prevention: a comprehensive review. *Phytochemistry Reviews* 2025, 1–26. <https://doi.org/10.1007/S11101-025-10065-1>
- 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, 109774. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109774>
- Schaich, K. M., Tian, X., & Xie, J. (2015). Hurdles and pitfalls in measuring antioxidant efficacy: A critical evaluation of ABTS, DPPH, and ORAC assays. *Journal of Functional Foods*, 14, 111–125. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.01.043>
- Shi, D., Xu, W., Balan, P., Wong, M., Chen, W., & Popovich, D. G. (2021). In Vitro Antioxidant Properties of New Zealand Hass Avocado Byproduct (Peel and Seed) Fractions. *ACS Food Science and Technology*, 1(4), 579–587. <https://doi.org/10.1021/ACSFOODSCITECH.0C00018>
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144–158. <https://doi.org/10.5344/AJEV.1965.16.3.144>
- Tremocoldi, M. A., Rosalen, P. L., Franchin, M., Massarioli, A. P., Denny, C., Daiuto, É. R., Paschoal, J. A. R., Melo, P. S., & De Alencar, S. M. (2018). Exploration of avocado by-products as natural sources of bioactive compounds. *PLOS ONE*, 13(2), e0192577. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0192577>
- Viacava, G. E., Roura, S. I., & Agüero, M. V. (2015). Optimization of critical parameters during antioxidants extraction from butterhead lettuce to simultaneously enhance polyphenols and antioxidant activity. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 146, 47–54. <https://doi.org/10.1016/j.chemolab.2015.05.002>
- Viola, E., Buzzanca, C., Tinebra, I., Settanni, L., Farina, V., Gaglio, R., & Di Stefano, V. (2023). A Functional End-Use of Avocado (cv. Hass) Waste through Traditional Semolina Sourdough Bread Production. *Foods* 2023, Vol. 12, Page 3743, 12(20), 3743. <https://doi.org/10.3390/FOODS12203743>
- Wang, J., Sun, B., Cao, Y., Tian, Y., & Li, X. (2008). Optimisation of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from wheat bran. *Food Chemistry*, 106(2), 804–810. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.06.062>
- Wang, W., Bostic, T. R., & Gu, L. (2010). Antioxidant capacities, procyanidins and pigments in avocados of different strains and cultivars. *Food Chemistry*, 122(4), 1193–1198. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.03.114>
- Weremfo, A., Adulley, F., & Adarkwah-Yiadom, M. (2020). Simultaneous Optimization of Microwave-Assisted Extraction of Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Avocado (Persea americana Mill.) Seeds Using Response Surface Methodology. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/7541927>
- Wijngaard, H. H., & Brunton, N. (2010). The optimisation of solid-liquid extraction of antioxidants from apple pomace by response surface methodology. *Journal of Food Engineering*, 96(1), 134–140. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.07.010>
- Xie, J., & Schaich, K. M. (2014). Re-evaluation of the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl free radical (DPPH) assay for antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(19), 4251–4260. <https://doi.org/10.1021/jf500180u>
- Zhong, L., Liu, Y., Xiong, B., Chen, L., Zhang, Y., & Li, C. (2019). Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction of Total Flavonoids from *Dendranthema indicum* var. *aromaticum* by Response Surface Methodology. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 2019(1), 1648782. <https://doi.org/10.1155/2019/1648782>
- ZWIA. (2018). Zero Waste Definition - Zero Waste International Alliance. <https://zwia.org/zero-waste-definition/>