



Actividad de enzimas antioxidantes de la pulpa madura e inmadura de *Vasconcellea candicans* (A. Gray) A. DC 1864 (Caricaceae)*

Antioxidant enzyme activity of ripe and unripe pulp of *Vasconcellea candicans* (A. Gray) A. DC 1864 (Caricaceae)

Ana Gutiérrez-Román¹, Carlos Santa Cruz-Carpio¹, Mónica Velarde-Vilchez¹, Oscar Nolasco-Cárdenas¹

* Recepción: 7 de febrero, 2025. Aceptación: 29 de julio, 2025. Este trabajo formó parte de los Proyectos con Incentivo (Concurso a nivel de Facultades 2023) de la Universidad Nacional Federico Villarreal, Lima, Perú.

¹ Universidad Nacional Federico Villarreal, Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas, Laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular. Lima, Perú. agutierrez@unfv.edu.pe (autor para correspondencia <https://orcid.org/0000-0002-7020-7387>); csantacruz@unfv.edu.pe (<https://orcid.org/0000-0003-3490-1037>); mvelardev@unfv.edu.pe (<https://orcid.org/0000-0002-8774-8729>); onolasco@unfv.edu.pe (<https://orcid.org/0000-0002-5672-5516>).

Resumen

Introducción. La determinación de sustancias antioxidantes de los frutos nativos es importante para su incorporación en la dieta y mejor aprovechamiento y conservación. **Objetivo.** Evaluar la actividad de las enzimas antioxidantes catalasa (CAT), peroxidasa (POX), superóxido dismutasa (SOD) y glutatión sulfhidril transferasa (GST), de extractos acuosos de pulpa madura e inmadura del fruto de *Vasconcellea candicans* (A. Gray) A. DC (“mito”, “papaya andina”) y relacionarlas con su concentración de polifenoles totales (PT). **Materiales y métodos.** Se extrajo la pulpa de cuatro frutos, maduros e inmaduros de “mito” provenientes de Santo Domingo de Los Olleros, Huarochirí, Lima, Perú, la cual fue procesada durante marzo a diciembre del año 2023. La obtención de la muestra se realizó por extracción acuosa de 20 g de pulpa en relación 20:80 en agua a 8 °C por 15 días (técnica de maceración en frío), usándose el sobrenadante luego de centrifugación. La determinación de PT se hizo por espectrofotometría usando ácido gálico como estándar. La determinación de la actividad específica de las enzimas se realizó mediante espectrofotometría usando los estándares respectivos. Se aplicaron estadísticas no paramétricas utilizando el software estadístico R. **Resultados.** Los frutos de *V. candicans* presentan diferencias marcadas entre estados de madurez, particularmente en contenido proteico y en la actividad de enzimas antioxidantes como CAT, SOD y GST. Las correlaciones bioquímicas son más pronunciadas en frutos maduros, indicando una reorganización funcional de los componentes antioxidantes durante la maduración. **Conclusiones.** Los resultados sugieren que la actividad de CAT, junto con los niveles de polifenoles, podría emplearse como un indicador bioquímico del grado de maduración del fruto, que podría servir para determinar y optimizar el tiempo de vida útil poscosecha del fruto.

Palabras clave: catalasa, peroxidasa, superóxido dismutasa, glutatión sulfhidril transferasa, fruto del mito, papaya andina.



Abstract

Introduction. The determination of antioxidant components of native fruits is important for their incorporation into the diet and for their better use and conservation. **Objective.** To evaluate the activity of the antioxidant enzymes catalase (CAT), peroxidase (POX), superoxide dismutase (SOD) and glutathione sulfhydryl transferase (GST), of aqueous extracts of ripe and unripe pulp of the fruit of *Vasconcellea candicans* (A. Gray) A. DC (“mito”, “andean papaya”) and relate them to their concentration of total polyphenols (PT). **Materials and methods.** The pulp of four fruits, ripe and unripe, of “mito” from Santo Domingo de Los Olleros, Huarochirí, Lima, Peru, was extracted and processed during March to December 2023. The samples were obtained by aqueous extraction of 20 g of pulp in a 20:80 ratio in water at 8 °C for 15 days (cold maceration technique), using the supernatant after centrifugation. The determination of PT was performed by spectrophotometry using gallic acid as standard. The determination of the specific activity of the enzymes was performed by spectrophotometry using the respective standards. Non-parametric statistics were applied using the statistical software R. **Results.** The fruits of *V. candicans* show marked differences between stages of ripeness, particularly in protein content and in the activity of antioxidant enzymes such as CAT, SOD and GST. Biochemical correlations are more pronounced in ripe fruits, indicating a functional reorganization of antioxidant components during ripening. **Conclusions.** The results suggest that CAT activity, together with polyphenol levels, could be used as a biochemical indicator of the degree of fruit ripeness, which could be used to determine and optimize the post-harvest shelf life of the fruit.

Keywords: Catalase, peroxidase, superoxide dismutase, glutathione sulfhydryl transferase, mito fruit, andean papaya.

Introducción

Dentro del género *Vasconcellea* A. St. Hil., 1837 de la familia Caricaceae, se encuentra la especie silvestre *Vasconcellea candicans* (A. Gray) A. DC 1864 perteneciente a la Clase Eudicots, Orden Brassicales (The Catalogue of Life Partnership, 2017) que crece en el ecosistema de lomas de regiones tropicales y subtropicales y es conocida como “mito” o “papaya andina” en los andes del Perú, cuyos frutos son comestibles y aportan nutrientes como vitaminas (Ej. A, C, B1, B2, B6), minerales (Ej. calcio, magnesio, potasio), enzimas digestivas (papaina, lipasa, otras proteasas), etc. El interés de su estudio se ha visto renovado por su composición de metabolitos secundarios como compuestos fenólicos, alcaloides, flavonoides, triterpenos y saponinas (Acosta Villalba et al., 2015), que actúan como antioxidantes en las células.

Actualmente está demostrado que algunos otros géneros de la familia Caricaceae poseen biometabolitos secundarios con efectos benéficos para la salud humana y que se utilizan contra algunos tipos de cáncer (Nguyen et al., 2013), diabetes (Juárez-Rojop et al., 2012) y obesidad (Athesh et al., 2012). El extracto de *Vasconcellea weberbaueri* (Harms) V.M. Badillo evaluado por Culquimboz Serván y Escudero Rodas (2018), mostró potencial antioxidante, anticolesterol y antielastasa moderado, cuando lo relacionaron con el contenido de polifenoles totales, mientras Gutiérrez et al. (2017), indican que el látex de *V. candicans* “mito”, presenta papaina con trece veces más actividad que la papaya.

Los antioxidantes agrupan diversas moléculas que pueden clasificarse como no proteicos o secundarios (vitamina C, E, polifenoles o fenoles totales, etc.), que actúan después que el radical se ha formado; y antioxidantes proteicos que previenen la formación de radicales libres, cuando protegen a los organismos del daño y muerte celular; lo que ha motivado la incorporación en la dieta de alimentos que en forma natural proporcionen antioxidantes (Delgado Olivares et al., 2010).

Dentro de los antioxidantes proteicos de los alimentos encontramos las enzimas como: a) Catalasa (CAT) que tiene la capacidad de transformar al peróxido de hidrógeno en agua y en oxígeno molecular; b) Glutación Peroxidasa (GPx) que reduce el peróxido en agua y los peróxidos orgánicos en alcohol (Carvajal Carvajal, 2019), c) Superóxido Dismutasa (SOD) que cataliza la dismutación del superóxido en oxígeno y peróxido de hidrógeno (Riera, 2015) y d) Glutación sulfhidril transferasa (GST) que detoxifica las células, mediante los conjugados que se forman entre compuestos electrofílicos y el glutatión (GSH) formando conjugados que son expulsados extracelularmente (como por ejemplo, la bilis) (Denzoin et al., 2013).

Las aplicaciones del “mito” como fruto natural nativo del ecosistema de lomas de la costa y sierra del Perú, la función de sus componentes antioxidantes no enzimáticos y enzimáticos, y los estudios previos que se han realizado por el grupo, llevaron a plantear la siguiente pregunta: ¿Cuál es la actividad enzimática de las enzimas antioxidantes de *Vasconcellea candicans* (A. Gray) A. DC (“Mito”) en las etapas madura e inmadura de sus frutos

El objetivo de esta investigación fue evaluar la actividad de las enzimas antioxidantes catalasa, peroxidasa, superóxido dismutasa y glutatión sulfhidril transferasa, de extractos acuosos de pulpa madura e inmadura del fruto de *Vasconcellea candicans* (A. Gray) A. DC (Mito) y relacionarlas con su concentración de polifenoles totales.

Materiales y métodos

El estudio se realizó en el Laboratorio de Investigación de Bioquímica y Biología Molecular de la Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas de la Universidad Nacional Federico Villarreal, Lima, Perú, durante los meses de marzo a diciembre del año 2023. De una población de frutos de *V. candicans* “mito” de las lomas de Santo Domingo de los Olleros, provincia de Huarochirí, Departamento de Lima (12°13'13" LS, 76°30'58" LW), donde crece esta planta en forma natural a 2860 m s. n. m., se seleccionaron al azar 20 frutos maduros y 20 frutos inmaduros, lo cual constituyó nuestra población de estudio. De estos frutos, al azar, se extrajo la muestra, que correspondió a cuatro frutos maduros y cuatro inmaduros. El estado de madurez de los frutos se determinó de acuerdo con el criterio de Schreinert dos Santos et al. (2015) y Watada et al. (1984), por lo que se consideró como fruto inmaduro, aquel que se encontraba al inicio de su madurez fisiológica y como fruto maduro, al fruto listo para cosecha, es decir la etapa de maduración de consumo.

Instrumento y reactivos

A las muestras biológicas recolectadas se le anotaron sus características físicas (dimensiones del fruto, peso y número de semillas) utilizando una balanza analítica (ADAM/RS232® precisión de $\pm 0,0001$ g) y una cinta métrica. Los extractos acuosos fueron obtenidos utilizando licuadora, balanza analítica, agitador orbital (ORBITAL GENIE®) y refrigeradora *no Frost* (BOSCH®/541L). La evaluación de actividad enzimática se hizo utilizando un multiparámetro (HANNA, HI 2221®) para la preparación de los buffers y el espectrofotómetro UV/visible (Shimadzu® 1700) donde se evaluó la densidad óptica. Para la concentración de polifenoles se utilizó el lector de microplacas (Accuris SmartReader 96®, modelos MR9600).

Dentro de los reactivos se utilizó agua destilada grado molecular (Sigma-Aldrich), DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidracil), de Thermo Fisher Scientific®, NaOH (Merck), HCl (Merck), albúmina de suero bovino (BSA, Sigma-Aldrich), fosfato de sodio monobásico (Merck), fosfato de sodio dibásico (Merck), Na_2CO_3 (Sigma-Aldrich), reactivo de Folin Ciocalteu (Merck), Trolox 97 % (Thermo Scientific Chemicals), ácido gálico (Sigma-Aldrich), reactivo de Bradford (Sigma-Aldrich), guayacol (Sigma-Aldrich), H_2O_2 (Sigma Aldrich), EDTA (Sigma Aldrich), Etanol Absoluto (Merck), NaCl (Merck), 1-cloro-2,4-dinitrobenceno (CDNB, Sigma-Aldrich), nitro azul de tetrazolio (NBT, Sigma-Aldrich), riboflavina (Sigma-Aldrich), L-metionina (Merck), glutatión reducido (Sigma-

Aldrich), Tritón X-100 (Merck), Tris-HCl (Sigma-Aldrich), catalasa (Merck), glutatión sulfhidril transferasa (Merck), superóxido dismutasa (Merck), peroxidasa (Merck). Los materiales utilizados incluyeron microplacas estériles de 96 pocillos (SPL[®]), cubetas de cuarzo de 1 mL, tubos, fioles y matraces Pyrex y micropipetas. Los resultados de las lecturas de absorbancias fueron registrados en una tabla en MS Excel para su procesamiento y posterior análisis en el paquete estadístico R.

Procedimiento

Los frutos correspondientes a la muestra fueron desinfectados con hipoclorito de sodio 1,5 % durante 5 min, luego se procedió al enjuague con abundante agua del grifo y el último enjuague se hizo con agua destilada estéril. Se determinó el peso, el tamaño y el grado de madurez fisiológica de los frutos, codificándose del 1 al 4 con un subíndice “a” para indicar que son frutos maduros y “b” para los frutos inmaduros. Se consideró fruto inmaduro al fruto en la etapa de inicio de la maduración fisiológica y maduro al fruto en la etapa de maduración de consumo (Schreinert dos Santos, et al., 2015; Watada et al., 1984). Luego de la clasificación, se eliminaron los extremos de cada fruto y se cortaron en forma longitudinal quitando la cáscara, semillas y mucílago; posteriormente, se homogeneizó la pulpa en una licuadora con agua destilada estéril (20 % p/v) para la cuantificación de polifenoles. Para los análisis de activación de cada enzima se usaron las siguientes concentraciones amortiguadoras de fosfato de sodio: 0,067 M (pH 7,0) para CAT, 0,1 M (pH 7,4) para POX, 50 mM (pH 7,8) para SOD y a 0,1M (pH 6,25) para GST, en proporción 10 % p/v. Se hizo una extracción sólido-líquida (Valencia-Pérez et al., 2020).

Para la extracción de la unidad muestral, que fue utilizada en los experimentos, se siguió el método de Soib et al. (2020) de manera que se replique las condiciones naturales de consumo del fruto (razón por la cual se utilizó agua y no otro tipo de solvente), colocando 20 g de pulpa triturada en un matraz que contenía 80 mL de agua q.p. (relación 20:80, sólido/líquido), sobre un agitador orbital a 180 rpm durante 180 minutos a temperatura ambiente. Luego, el matraz fue colocado en frío a 8 °C por 15 días. Después de ese tiempo, se centrifugó a 5000 g/10 min, se separó el sobrenadante y éste se volvió a centrifugar a 10000 g/15 min, el sobrenadante fue separado en dos partes guardándose a -20 °C, para evaluar por triplicado de cada unidad muestral, proteínas solubles y polifenoles totales, este último con el método colorimétrico según Singleton y Rossi (1965) y Singleton et al. (1999) adaptado.

Para la determinación de proteínas solubles, se utilizó el método de Bradford (1976) partiendo de una curva estándar con albúmina bovina de suero (BSA) a una concentración de 1 mg/mL, la cual se diluyó en fiola de 10 mL completando con agua para inyección, para tener una concentración de 0,1 mg/mL, con la cual se construyó la curva de 0; 0,01; 0,02; 0,04; 0,06; 0,08 y 0,1 mg/mL con la ecuación de la recta $y=3,2001x$, de $R = 0,992$. El cóctel de trabajo fue 10 μ L de muestra o de cada estándar al cual se le agregaron 200 μ L del reactivo de Bradford y se leyeron las absorbancias en el lector de microplaca a 595 nm.

Para la determinación de polifenoles totales (PFT), se preparó un stock de 0,2 g/L de ácido gálico (AG), a partir del cual se utilizaron concentraciones de 1; 2; 3,2; 4; 4,8; 5,6; 6,4 y 8 μ g/mL y se les trató igual que las muestras. Las absorbancias se leyeron a 750 nm en lector de microplacas. La curva estándar que se obtuvo presentó la pendiente $y=0,2041x$, con un $R=0,9994$.

Para la determinación del contenido de polifenoles totales (TPC), se utilizó el método colorimétrico según Singleton y Rossi (1965) y Singleton et al. (1999), el cual se adaptó para el lector de microplacas. Los resultados se expresaron como fenoles totales (μ g AG/mg TF o μ g ácido gálico por miligramo de tejido fresco). Todas las mediciones se realizaron por triplicado.

De acuerdo a este método se utilizó el reactivo de Folin-Ciocalteu (FC) (2N, Sigma-Aldrich), cuyo procedimiento consistió en tomar una alícuota de 20 μ L de la solución de extracto madre en un tubo de vidrio, se le agregó 100 μ L de FC (1N diluido 1:5), reposó 5 min, luego se agregó 80 μ L de Na_2CO_3 (7,5 %) (PM= 105,99 a 9,5 %, Sigma-Aldrich[®]), se agitó y se prosiguió con la reacción en oscuridad por 100 min, después se leyó la absorbancia a 750 nm en el lector de microplacas.

Para la evaluación de la actividad específica de catalasa, se adaptó la técnica utilizada por Posso Suárez et al. (2020). La pulpa de mito fue homogenizada (1:10 p/v) con tampón fosfato de sodio 0,067 M (pH 7,0), luego centrifugada a 10000 g/20 min y posteriormente el sobrenadante se separó para la evaluación. La mezcla de reacción contenía 0,5 mL de buffer Fosfato de Potasio 67 mM (pH 7,0), + 60 mM de H₂O₂ (sustrato) + 100 µL de la muestra. Se incubó a 38 °C/4 minutos, luego se agregó 0,5 mL de Molibdato de Amonio 32,4 mM y se procedió a leer a 405 nm.

Para la curva de calibración se utilizó catalasa (Merck®) 1,3 unidades/mg, frente al H₂O₂ en concentraciones de 0; 0,25; 0,5; 1,0; 1,5 y 2,0 µmoles siguiendo el mismo protocolo de la muestra. Se construyó la curva estándar según la metodología, que indica la concentración mM de radicales libres (H₂O₂) que fueron neutralizados por la enzima Catalasa (CAT) que estuvo a una concentración de 1,3 U/mg proteína, curva con la ecuación de la recta $y=0,0125x$, con un $R^2=0,9979$. Con ella se calculó la concentración de peróxido que pudo capturar la catalasa de la pulpa de *V. candicans*, expresada en U/mg Proteína/mg tejido fresco

La actividad enzimática de las muestras se determinó según la ecuación 1, donde: [H₂O₂] correspondió a la concentración de peróxido de hidrógeno (mmol) y V (mL) al volumen de muestra utilizada. La concentración de la catalasa estándar utilizada fue 1,3 U/mg de proteína.

$$\text{Actividad Enzimática } \left(\frac{U}{mg} \right) = \left(\frac{[H_2O_2]}{V} * \text{catalasa estándar} \right) \quad [1]$$

Para la evaluación de la actividad específica de peroxidasa se acondicionó una cámara a 4 °C, se tomó 1 g de muestra fresca y se agregó 10 mL de tampón de fosfato de sodio 0,1 M (pH 7,4), por triplicado. El extracto fue centrifugado a 5000 g/15 min, el sobrenadante se utilizó como preparación enzimática. El medio de ensayo fue 0,2 mL de tampón de fosfato de sodio 100 mM (pH 6,4), 0,2 mL de guayacol (0,29 mL/100 mL), 0,4 mL de agua destilada y 0,2 mL de preparación enzimática en un volumen total de 1,0 mL.

La reacción se inició agregando 10 µL de H₂O₂ al 3 % y se registró espectrofotométricamente a 436 nm con un intervalo de 15 segundos hasta que aumentó la absorbancia. La actividad enzimática fue primero expresada como ΔOD min⁻¹.g⁻¹ PF (peso fresco) calculándose la diferencia de absorbancia en un intervalo de tiempo de 1 min, de acuerdo a Pütter (1974), Rai et al. (2016) y Shirsat & Kadam (2015).

Se realizó la curva de calibración utilizándose H₂O₂ en concentraciones de 0; 0,25; 0,5; 0,75; 1 y 1,5 µmoles de H₂O₂ con la enzima peroxidasa standard de 0,25 unidades/mg (Merck). La curva estándar fue construida conforme la metodología establecida la cual indica la concentración en mM de radicales libres (H₂O₂) neutralizados por la enzima Peroxidasa (POX) que estuvo a una concentración de 0,250 U/mg proteína, cuya ecuación generada fue $y=0,064x$, con un $R^2=0,9961$ y con ella se calculó la concentración de peróxido que pudo capturar la peroxidasa de la pulpa de *V. candicans*, expresada en U/mg proteína/mg tejido fresco.

La actividad enzimática de las muestras se determinó según la ecuación 2, donde: [H₂O₂] correspondió a la concentración de peróxido de hidrógeno (µmol) y V (mL) al volumen de muestra utilizada. La concentración de la peroxidasa estándar fue de 0,25 U/mg de proteína.

$$\text{Actividad Enzimática } \left(\frac{U}{mg} \right) = \left(\frac{[H_2O_2]}{V} * \text{peroxidasa estándar} \right) \quad [2]$$

Para la evaluación de la actividad específica de superóxido dismutasa (SOD) se procedió a la extracción de la enzima usando 5 g de pulpa + 5 mL de buffer Fosfato de sodio 50 mM (pH 7,8) por triplicado. La mezcla fue centrifugada a 13520 g durante 30 minutos a 4 °C. Se modificó el cóctel de trabajo a partir del método de Beyer y Fridovich (1987) y Martínez-Damián et al. (2013), quienes determinaron la actividad total del superóxido dismutasa evaluando la fotorreducción de la inhibición del nitroblue de tetrazolio (NTB).

La mezcla de reacción contenía 27,0 mL de buffer fosfato de potasio 50 mM (pH 7,8) + 0,1 mM de EDTA + 1,5 mL de L-metionina (30 mg/mL) + 0,75 mL de Tritón X-100 al 1 % + 1,0 mL de NBT (1,41 mg/mL). En oscuridad se preparó el coctel de trabajo que tenía 3,0 mL de la mezcla anterior + 10 μ L de riboflavina (4 mg/mL) y 133 μ L de la muestra.

Se midió inmediatamente la absorbancia a 560 nm (tiempo cero), luego la muestra se irradió con tubos fluorescentes de 15 W durante 7 minutos, tiempo en el cual se volvió a medir la absorbancia (tiempo final). Para el blanco se procede de la misma forma que para la muestra, se reemplazó esta por agua destilada. Se realizaron tres repeticiones de cada muestra.

Se preparó una curva de calibración con la enzima superóxido dismutasa (Merck®) utilizándose 0; 0,6; 0,9; 1,5 y 3 unidades/mg. Se construyó la curva estándar que nos indica el porcentaje de inhibición de la enzima superóxido dismutasa (SOD) a partir de una concentración de 6 unidades/mL. La ecuación resultante fue $y = 12,43x$ con un $R^2 = 0,9946$. Para esta enzima se definió la Unidad/mg proteína/mg TF, como la velocidad de reducción de hasta 50 % de inhibición de un sistema acoplado de L-metionina y NTB en presencia de riboflavina a pH 7,8 a temperatura ambiente (20 – 25 °C) en 3,0 mL de volumen de reacción.

Para la evaluación de la actividad específica de glutatión sulfhidril transferasa (GST) se homogenizaron las muestras (por triplicado) utilizando una relación de 1:1 (p/v) con un buffer fosfato de K a 0,1 M pH 6,25, centrifugándose a 14000 g/20 min a 4°C. La actividad de la GST se determinó teniendo como sustratos al glutatión (GSH) y al 1-cloro-2,4-dinitrobenzenceno (CDNB). Para los cálculos se utilizó el coeficiente de extinción (ϵ_{340}) = 9,6 mM⁻¹. cm⁻¹ (Habig & Jakoby, 1981).

En la cubeta de 1,5 mL se colocó 1,2 mL de buffer fosfato de sodio 0,1M (pH 6,25) que contenía GSH 30 mM y CDNB 0,75 mM, se incubó a 30 °C/1 minuto, luego se añadió 100 μ L de muestra y se leyó en el espectrofotómetro a 340 nm al tiempo 0 min y a los 5 min (adaptado de Wyrwicka & Urbaniak, 2016). Para esta enzima se define la Unidad como los mM de Glutatión y CDNB que se transforman por minuto/mg de proteínas/mg tejido húmedo a pH 6,25 en 1,3 mL de volumen de reacción.

Análisis estadístico

Se utilizó el software estadístico R. Para analizar la distribución de los datos de cada variable se utilizó la prueba Shapiro-Wilks. Se utilizó el análisis de varianza de Kruskal Wallis para datos no normalizados.

Resultados

Características físicas de los frutos

En general *V. candicans* tiene frutos elipsoides, rugosos, con cinco canales, de cáscara color verde. Las características de la pulpa presentaron diferencias entre los frutos maduros e inmaduros, de blanca-amarillenta muy clara en los frutos inmaduros, a más cremosa en los frutos maduros. Todos los frutos maduros presentaron un agradable e intenso aroma, el cual se pierde durante la senescencia del fruto. La caracterización de los frutos de mito se describe en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Características físicas de los frutos de *Vasconcellea candicans* (mito), tomados en marzo del 2023, de Santo Domingo de Los Olleros, Lima, Perú, que se utilizaron como muestra de investigación.

Table 1. Physical characteristics of fruits of *Vasconcellea candicans* (mito), taken in march 2023 from Santo Domingo de Los Olleros, Lima, Peru, which were used as a research sample.

Frutos de Mito	Código	Peso (kg)	Longitud (m)	Diámetro (m)	Peso de la pulpa (kg)	Peso de la cáscara (kg)	# de semillas
Maduro	1a	0,226	0,015	0,015	0,0851	0,03468	180
	2a	0,196	0,015	0,013	0,0622	0,02402	169
	3a	0,229	0,016	0,017	0,0906	0,04663	160
	4a	0,409	0,018	0,022	0,1704	0,14663	146
Inmaduro	1b	0,235	0,016	0,018	0,0914	0,07520	173
	2b	0,230	0,015	0,018	0,08446	0,0649	168
	3b	0,350	0,018	0,022	0,14019	0,14729	132
	4b	0,253	0,017	0,019	0,09417	0,8477	168

Estas características de los frutos de “mito” no mostraron diferencias en cuanto a su peso, longitud, diámetro, peso de pulpa y número de semillas; sin embargo, mostraron diferencias en el peso de la cáscara. / These characteristics of the “mito” fruits did not show differences in terms of weight, length, diameter, pulp weight and number of seeds; however, they showed differences in the weight of the shell.

Proteínas

Los frutos inmaduros de mito presentaron mayor cantidad de proteínas (0,020 $\mu\text{g/mL}$ en promedio) que los frutos maduros (0,012 $\mu\text{g/mL}$ en promedio), con una diferencia estadística igual a $p < 0,05$. Los datos obtenidos siguieron una distribución normal según la prueba Shapiro-Wilks ($p < 0,05$).

Polifenoles (fenoles totales)

Los datos de polifenoles totales de la pulpa de *V. candicans* siguieron una distribución normal (Shapiro-Wilks, $p < 0,05$), sin diferencias significativas entre los frutos maduros e inmaduros, a un valor de $p < 0,05$. Las pulpas de mito maduras contenían en promedio 0,179 y las inmaduras 0,187 de fenoles totales, equivalentes a μg de ácido gálico/mg de tejido fresco.

Evaluación de las enzimas antioxidantes de la pulpa de *Vasconcellea candicans*

Catalasa (CAT)

Los valores promedio de actividad antioxidante de la enzima catalasa en la pulpa de los frutos maduros e inmaduros de mito, expresados como mM de H_2O_2 neutralizados por la enzima/min/mg proteína/mg TF (tejido fresco) fue igual a 6,7882 mM/mg proteína/mg TF en los frutos maduros y en los inmaduros igual a 3,6937 mM/mg proteína/mg TF, obteniéndose una diferencia significativa alta ($p < 0,01$).

Peroxidasa (POX)

Los datos normalizados indican que la enzima peroxidasa de las pulpas de los frutos de mito inmaduros pueden capturar una concentración de H_2O_2 igual a 0,507 mM/min/mg proteína/mg TF y de las pulpas maduras, capturar 0,706 mM/min/mg proteína/mg TF, no observándose diferencias estadísticas significativas ($p < 0,05$) entre ellas.

Superóxido Dismutasa (SOD)

Los resultados del promedio de la actividad de la enzima superóxido dismutasa fueron $17,93 \pm 0,36$ mU/mg proteína/mg TF para la pulpa madura y de $8,53 \pm 0,22$ mU/mg proteína/mg TF para la pulpa inmadura. Estos valores mostraron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las pulpas maduras con respecto a las inmaduras.

Glutación Sulfhidril Transferasa (GST)

Los valores de actividad de la enzima GST de la pulpa de *V. candicans* fueron en promedio 0,032 U/mg proteína/mg TF para pulpas maduras de mito y de 0,057 U/mg proteína/mg TF para pulpas inmaduras de mito y según el análisis de varianza de Kruskal Wallis para datos no normalizados, existieron diferencias significativas entre estos grupos ya que la significancia fue menor a 0,05.

Los datos obtenidos de las pulpas maduras de mito según Pearson, para la enzima catalasa (CAT) mostraron una relación lineal negativa fuerte, con un nivel de significancia ($\alpha = 0,05$) para POX ($r = -0,702$) y con un nivel de significancia ($\alpha = 0,01$) para polifenoles totales ($r = -0,735$) y proteínas ($r = -0,983$). Por otro lado, la enzima superóxido dismutasa (SOD), no presentó correlación con ninguno de los parámetros estudiados.

Se obtuvo una relación lineal positiva fuerte entre la enzima peroxidasa (POX) con las proteínas, con un nivel de significancia ($\alpha = 0,01$) y un $r = 0,711$. Mientras que los polifenoles mostraron una relación lineal fuerte con las proteínas a un nivel de significancia ($\alpha = 0,01$) y un $r = 0,745$. La enzima glutación sulfhidril transferasa (GST) mostró una relación lineal negativa débil (según Spearman Rho), con un nivel de significancia ($\alpha = 0,05$) para Polifenoles Totales con un $r = -0,595$.

Al correlacionar los datos de las enzimas con los polifenoles y proteínas de la pulpa de los frutos inmaduros, se observó que no existe una correlación entre ellos, ni con los datos normalizados (Pearson) como sin normalizar (Spearman Rho).

Discusión

Los frutos de *V. candicans* de Santo Domingo de Los Olleros presentaron diferencias en el número de semilla y longitud (No. promedio de semillas = 160, longitud = 15-18 cm), frente a los frutos de San Pedro de Casta (No. promedio de semillas = 140, longitud = 10-15 cm), reportado por Belli Obando (2018). Estas diferencias podrían explicarse debido a que el mito se distribuye en diversas zonas geográficas del Perú como Zona Costera (Lomas de Lúculo), Bosques nublados secos (Bosque de Zárate), Serranía Esteparia (San Pedro de Casta) o en Sierra Alta-región central (Santo Domingo de Los Olleros) (Cuya Matos, 1992), que ha generado adaptaciones específicas en respuesta al estrés ambiental (Omaiye Ojonubah & Hafiz Mohd, 2020; Pastori & Foyer, 2002; Rejeb et al., 2014; Rowe et al., 2015). Las interrelaciones de diversos factores abióticos con factores bióticos habrían permitido activar vías inespecíficas en estas plantas que produjeron distintos fenotipos, como diferencias en su desarrollo, crecimiento y mecanismos de defensa (Bostock, 2005).

Algunos estudios de proteínas del fruto de *Vasconcellea pubescens* (papayita chilena), como los de Zura et al. (2013), dieron valores de $5,35 \pm 0,78$ g/100 g de TF; Uribe et al. (2015) reportaron 0,9 g/100 g de TF y Vega-Gálvez et al. (2019), valores de 1,86 g/100 g de TF. En pulpa de los frutos de *V. candicans* se obtuvieron valores de 2,04 g/100 g de TF (inmaduras) y 1,17 g/100 g de TF (maduras). Este menor valor en los frutos inmaduros podría deberse a que estos requieren mayor cantidad de proteínas para alcanzar su estado de maduración (Park et al., 2006), el mismo que involucra cambios bioquímicos/fisiológicos como síntesis de etileno, degradación de clorofila, degradación de la pared celular, acumulación de ácidos orgánicos y volátiles.

La variación en la cantidad de proteínas durante el proceso de maduración no solo permitiría los cambios en textura, aroma, sabor, etc. del fruto (Song & Bangerth, 1996), sino también se explicaría por la variación en la composición de estas proteínas según su estado de madurez fisiológica (Shi et al., 2014) y probablemente, según la especie y medio ambiente en el que se desarrolla.

Al evaluar polifenoles en *V. candicans*, se obtuvo 17,9 mg eq AG/100 g pulpa madura y 18,7 mg eq AG/100 g pulpa inmadura; sin embargo, en *V. heilbornii*, Auquiñivin Silva y Paucar Menacho (2020) y Uribe et al. (2015) obtuvieron 46 ± 2 mg eq AG/100 g y 28,6 mg eq AG/100 g respectivamente; Correa Tejada (2020) en *Vasconcellea weberbaueri* (maushan) obtuvo $15,06 \pm 1,48$ mg eq AG/100 g; y Culquimboz Serván y Escudero Rodas (2018) reportaron el valor de 735,5 mg eq AG/100 g. Al comparar estos resultados con los obtenidos en el presente estudio indicarían que tanto fenoles totales como antioxidantes en los frutos, podrían activarse en respuesta a factores abióticos y bióticos (Orabi et al., 2014) o disminuir cuando hay menor actividad antioxidante (Silva et al., 2013). Si bien se han realizado estudios del sistema antioxidante y estrés oxidativo en la maduración de frutos, estos se han llevado a cabo en especies de valor comercial como mangos (Singh y Dwivedi, 2008), duraznos (Camejo et al., 2010) y papaya (Oliveira Resende et al., 2012), todavía son muy pocos los estudios en frutas tropicales y nativas.

Al relacionar polifenoles con proteínas, se observó que mientras en los frutos de *V. candicans* de maduración comestible, las proteínas y polifenoles disminuyeron (proteínas 1,17 g/100 g de TF; polifenoles 0,179 μ g AG/g TF), en los frutos inmaduros estos metabolitos estuvieron aumentados (proteínas 2,04 g/100 g de TF; polifenoles 0,187 μ g AG/g TF). Esto se explicaría por cambios en la actividad de enzimas de vías metabólicas que inducirían a degradar proteínas y luego utilizar los aminoácidos resultantes en la síntesis de compuestos volátiles (D'Ambrosio et al., 2013) que tienen impacto en el aroma de frutos y flores (Winterhalter & Schreier, 1994) y que aumentan durante la maduración de los frutos (como por ejemplo en el durazno) (Aubert et al., 2003), lo que podría explicar en parte la disminución en la síntesis de proteínas durante la maduración y el aumento de aroma y sabor de la pulpa madura del mito.

La actividad enzimática de CAT en fruto de *C. papaya*, según Pandey et al. (2012) fue más alta en frutos maduros ($4,56 \pm 0,47$ U/g pulpa) que en los inmaduros ($1,22 \pm 0,08$ U/g pulpa); esta misma relación se encontró entre los frutos maduros e inmaduros de *V. candicans* con una diferencia significativa alta ($p < 0,01$). A pesar que la afinidad de CAT por el H_2O_2 es baja en comparación de las peroxidasas, en los frutos de papaya y mito se encontró que su actividad fue mayor en frutos maduros, probablemente porque la producción de H_2O_2 fue alta (Switala & Loewen, 2002), lo cual indicaría que durante el desarrollo de las características sensoriales, la actividad de CAT sería alta para mantener el equilibrio del sistema redox celular (Baquero Duarte et al., 2005; Kumar et al., 2016; Song et al., 2020), de manera que se previene del estrés oxidativo a las células (Hanif et al., 2020), sin uso de otros reductores.

La actividad enzimática de POX en papaya, según Pandey et al. (2012; 2013) hay diferencias significativas entre el fruto maduro ($0,40 \pm 0,07$ nmol/g pulpa) e inmaduro ($0,86 \pm 0,06$ nmol/g pulpa), mientras que en mito se encontraron diferencias no significativas, lo cual indicaría que POX tiene un papel importante en el control de las especies reactivas de oxígeno (ROS) durante su maduración (Oliveira Resende et al., 2012). Otra diferencia con papaya puede deberse a que mito crece a una altitud mayor a 2500 m y papaya crece entre 0 y 1200 m s. n. m., por lo que se plantea la hipótesis de que los frutos de mito están sometidos a un mayor estrés natural (concentración

de gases, temperatura, presión, etc.) que generaría una mayor actividad de enzimas como CAT y POX necesaria para su función de defensa y para otras funciones fisiológicas (Martínez-González et al., 2017; Pandey et al., 2017).

La actividad de la enzima superóxido dismutasa (SOD) durante el proceso de maduración de *V. candicans* mostró diferencias significativas entre los frutos maduros (0,0172 U/mg proteína/mg TF) e inmaduros (0,0080 U/mg proteína/mg TF), lo cual se podría explicar si en frutos maduros de mito habría mayor cantidad de ROS ($O_2^{\cdot-}$, OH y H_2O_2), producto del estrés ambiental y del metabolismo oxidativo que deben soportar para mantener el equilibrio redox (Foyer et al., 2020; Jarisarapurin et al., 2019; Lv et al., 2020; Wu et al., 2025), de lo contrario los ROS podrían acumularse produciendo toxicidad y daño celular irreversible en los tejidos (Masia, 1998). Este mismo comportamiento se encontró en tomates (Mondal et al., 2004) y melocotones (Camejo et al., 2010). Sin embargo, otros estudios demuestran que la actividad de las enzimas antioxidantes durante la maduración varía según la fruta, es el caso de la actividad de la SOD que disminuye en naranjas (Huang et al., 2007), mangos (Singh & Dwivwadi, 2008) y guayaba (Mondal et al., 2009).

La actividad de la enzima glutatión sulfhidril transferasa (GST) en mito fue mayor en frutos inmaduros (0,057 U/mg.Prt./mg TF) que en maduros (0,032 U/mg.Prt./mg TF) ($p > 0,05$), lo que indicaría que trabaja como peroxidasa (Board et al., 2000; Dixon & Edwards, 2009; Edwards et al., 2000; Wagner et al., 2002) al reducir las ROS, como resultado de funciones catalíticas y no catalíticas (Nianiou-Obeidat et al., 2017), ya que puede unirse tanto al glutatión como a tiorredoxina (Ozyigit et al., 2016; Passaia & Margis-Pinheiro, 2015) evitando la muerte celular (Dixon et al., 1998; Dixon et al., 2010; Schröder et al., 2007; Wagner et al., 2002). Se sugiere que su actividad aumenta al comenzar la senescencia, tal como reporta Shi et al. (2014) para la isoenzima tau (SIGST), presente en hojas senescentes de *Hordeum vulgare* L. que es activada por baja temperatura, lo que indicaría que está involucrada en el metabolismo secundario y durante la senescencia (Frear & Swanson, 1970; Kunieda et al., 2005; Lamoureux et al., 1970).

En el presente trabajo se encontró que la actividad de CAT y SOD fueron mayores en los frutos maduros (fisiológicamente comestibles), lo cual indicaría un incremento de los mecanismos de defensa frente a radicales libres (Das & Roychoudhury, 2014; Gill et al., 2015). Mientras que los polifenoles totales se mantuvieron sin diferencias significativas entre la madurez fisiológica y la madurez de consumo. La actividad de la POX fue mayor en frutos maduros, sin diferencias estadísticas frente a los frutos inmaduros, lo cual sugiere que debe estar oxidando principalmente compuestos fenólicos y produciendo radicales fenoxilos, donde el H_2O_2 participaría como aceptor de electrones y se convertiría en dos moléculas de H_2O (Martínez-Rubio et al., 2018). En contraste, la GST presentó mayor actividad en frutos inmaduros, lo que indicaría su participación en la protección contra el estrés oxidativo durante las primeras fases de la maduración del fruto (Nianiou-Obeidat et al., 2017), trabajando como una POX.

Una de las hipótesis que se planteó para los frutos inmaduros de mito es que hay mayor peroxidación de ácidos grasos insaturados por estrés oxidativo (Dixon et al., 2002; Dixon & Edwards, 2002), que podría deberse a la altitud donde crece el mito, por lo que la GST debe detoxificar los productos tóxicos derivados de ello, además de transportar metabolitos como la vitamina C y otros. Diversos estudios se han orientado a evaluar la síntesis de GST en frutos de papaya y otros, como el estudio de Nakamura et al. (2000) quienes utilizaron papaya inmadura y aguacate para activar la producción de GST y de esa forma proteger la salud de las personas. Para estudiar el proceso de maduración podría utilizarse miARN que analizados con qRT-PCR puedan validar el contraste de patrones de expresión entre mARNs y sus genes dianas, u otras técnicas de la proteómica, para observar la expresión y comportamiento de isoenzimas de CAT, SOD, POX, GST presentes en frutos durante la maduración (Bi et al., 2015; Reyes Soria, 2021).

Finalmente se puede decir, que la maduración del fruto es un proceso que activa un conjunto de rutas bioquímicas para hacerlo atractivo y deseable a los consumidores, por lo que su estudio ha sido de gran interés en investigación, ya que los cambios bioquímicos y fisicoquímicos que ocurren durante esta etapa ocasionan grandes pérdidas económicas. Su extracción acuosa recuerda las condiciones para la obtención de infusiones (Gallé et al.,

2009) donde Larson (1988) demostró que compuestos fenólicos individuales o una mezcla de ellos, solo tienen un pequeño efecto antioxidante, pero combinado con otros metabolitos, ese efecto es mayor. Los resultados obtenidos indican que el fruto de “mito” (*Vasconcellea candicans*) guarda en su pulpa un complejo sistema de defensa antioxidante que varía con su maduración y que resalta su potencial funcional como fuente de antioxidantes que, junto con su valor nutricional, es clave para la salud humana, por lo que se requiere seguir profundizando su estudio a fin de diseñar estrategias de conservación para esta y otras especies nativas amenazadas.

Conclusiones

La evaluación de la actividad de las enzimas antioxidantes en extractos acuosos, de pulpa madura e inmadura del fruto de *V. candicans*, permitieron determinar que en los frutos maduros, la enzima CAT se correlacionó en forma negativa ($r = -0.702$) con los polifenoles; las enzimas SOD y POX no tuvieron correlación. La enzima GST presentó una débil correlación ($r = -0.595$), por lo que la diferencia del estado de madurez de estos frutos podría seguirse con la evaluación de la enzima CAT y la concentración de polifenoles a través del estado de maduración, desde que alcanzan la madurez fisiológica hasta la senescencia, para determinar el tiempo de vida útil del fruto.

Agradecimientos

Los autores expresan su agradecimiento a la Blga. Diana Y. Palomino Reyes, de la Universidad Nacional Federico Villarreal por su apoyo incondicional en el trabajo del laboratorio manteniendo el material limpio y la preparación de reactivos con calidad.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

Referencias

- Acosta Villalba, M. M., Ramírez Cabrera, L. N., & Espino Espino, R. A. (2015). *Efecto hipoglucemiante de extracto etanólico del fruto de Vasconcellea candicans (Kerco) en ratones con hiperglucemia inducida por aloxano*. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica]. Repositorio institucional de la Universidad Nacional San Luis Gonzaga. <http://repositorio.unica.edu.pe/handle/20.500.13028/2246>
- Athesh, K., Karthiga, D., & Brindha, P. (2012). Anti-obesity effect of aqueous fruit extract of *Carica papaya* L. in rats fed on high fat cafeteria diet. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4(5), 327–330. <https://innovareacademics.in/journal/ijpps/Vol4Suppl5/5050.pdf>
- Aubert, C., Günata, Z., Ambid, C., & Baumes, R. (2003). Changes in physicochemical characteristics and volatile constituents of yellow- and white-fleshed nectarines during maturation and artificial ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(10), 3083–3091. <https://doi.org/10.1021/jf026153i>
- Auquiñivin Silva, E. A., & Paucar Menacho, L. M. (2020). Estudio comparativo de las características fisicoquímicas y vida útil de las papayas nativas, “papayita de monte” (*Carica pubescens* Lenné & K. Koch) y “babaco” (*Carica pentagona*

- Heilborn) (Caricaceae) deshidratadas mediante liofilización. *Arnaldoa*, 27(1), 115–128. <https://doi.org/10.22497/ARNALDOA.271.27105>
- Baquero Duarte, L. E., Castro Rivera, J. A., & Narváez Cuenca, C. E. (2005). Catalasa, peroxidasa y polifenoloxidasas en pitaya amarilla (*Acanthocereus pitajaya*): Maduración y senescencia. *Acta Biológica Colombiana*, 10(2), 49–59. <https://revistas.unal.edu.co/index.php/actabiol/article/view/27131>
- Belli Obando, V. (2018). *Estudio etnobotánico y morfológico de “Mito” Vasconcellea candicans con énfasis en plántulas* [Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional Agraria La Molina]. Repositorio institucional Universidad Nacional Agraria La Molina <https://hdl.handle.net/20.500.12996/3754>
- Beyer, W. F., & Fridovich, I. (1987). Assaying for superoxide dismutase activity: Some large consequences of minor changes in conditions. *Analytical Biochemistry*, 161(2), 559–566. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(87\)90489-1](https://doi.org/10.1016/0003-2697(87)90489-1)
- Bi, F., Meng, X., Ma, C., & Yi, G. (2015). Identification of miRNAs involved in fruit ripening in Cavendish bananas by deep sequencing. *BMC Genomics*, 16, Article 776. <https://doi.org/10.1186/s12864-015-1995-1>
- Board, P. G., Coggan, M., Chelvanayagam, G., Eastal, S., Jermin, L. S., Schulte, G. K., Danley, D. E., Hoth, L. R., Griffor, M. C., Kamath, A. V., Rosner, M. H., Chrnyk, B. A., Perregaux, D. E., Gabel, C. A., Geoghegan, K. F., & Pandit, J. (2000). Identification, characterization, and crystal structure of the Omega class glutathione transferases. *The Journal of Biological Chemistry*, 275(32), 24798–24806. <https://doi.org/10.1074/jbc.M001706200>
- Bostock, R. M. (2005). Signal crosstalk and induced resistance: straddling the line between cost and benefit. *Annual Review of Phytopathology*, 43, 545–580. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.41.052002.095505>
- Bradford, M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1–2), 248–254. <https://doi.org/10.1006/abio.1976.9999>
- Camejo, D., Martí, M. C., Román, P., Ortiz, A., & Jiménez, A. (2010). Antioxidant system and protein pattern in peach fruits at two maturation stages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(20), 11140–11147. <https://doi.org/10.1021/jf102807t>
- Carvajal Carvajal, C. (2019). Especies reactivas del oxígeno: formación, función y estrés oxidativo. *Medicina Legal de Costa Rica*, 36(1), 91–100.
- Correa Tejada, Y. (2020). *Capacidad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos del extracto hidroalcohólico de la pulpa de Vasconcellea x heilbornii (babaco)* [Tesis de Licenciatura, Universidad César Vallejo]. Repositorio institucional digital Universidad César Vallejo. <https://hdl.handle.net/20.500.12692/72178>
- Culquimboz Serván, L. J., & Escudero Rodas, J. (2018). *Evaluación in vitro de la actividad antioxidante, antielastasa y anticolagenasa en el extracto etanólico del fruto de Vasconcellea weberbaueri (Harms) V. M. Badillo y determinación de la actividad fotoprotectora in vitro en una crema base* [Tesis para optar el título profesional, Universidad Nacional Mayor de San Marcos]. Repositorio institucional de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. <https://hdl.handle.net/20.500.12672/9997>
- Cuya Matos, Oscar (1992). *Carica candicans* (Mito): Una papaya de zonas áridas que urge revalorar. *Boletín de Lima*, (82), 75–80. <https://boletindelima.pe/products/199282>
- Das, K., & Roychoudhury, A. (2014). Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. *Frontiers in Environmental Science*, 2, Article 53. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2014.00053>

- D'Ambrosio, C., Arena, S., Rocco, M., Verrillo, F., Novi, G., Viscosi, V., Marra, M., & Scaloni, A. (2013). Proteomic analysis of apricot fruit during ripening. *Journal of Proteomics*, 78, 39–57. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2012.11.008>
- Delgado Olivares, L., Betanzos Cabrera, G., & Sumaya Martínez, M. T. (2010). Importancia de los antioxidantes dietarios en la disminución del estrés oxidativo. *Investigación y Ciencia*, 18(50), 10–15.
- Denzoin, L. A., Soraci, A. L., & Tapia, M. O. (2013). Homeostasis del glutatión. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 47(3), 529–539.
- Dixon, D. P., Cummins, L., Cole, D. J., & Edwards, R. (1998). Glutathione-mediated detoxification systems in plants. *Current Opinion in Plant Biology*, 1(3), 258–266. [https://doi.org/10.1016/s1369-5266\(98\)80114-3](https://doi.org/10.1016/s1369-5266(98)80114-3)
- Dixon, D. P., & Edwards, R. (2009). Selective binding of glutathione conjugates of fatty acid derivatives by plant glutathione transferases. *The Journal of Biological Chemistry*, 284(32), 21249–21256. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.020107>
- Dixon, D. P., & Edwards, R. (2010). Glutathione Transferases. *The Arabidopsis Book* 2010(8), Article e0131. <https://doi.org/10.1199/tab.0131>
- Dixon, D. P., Davis, B. G., & Edwards, R. (2002). Functional divergence in the glutathione transferase superfamily in plants: Identification of two classes with putative functions in redox homeostasis in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Biological Chemistry*, 277(34), 30859–30869. <https://doi.org/10.1074/jbc.M202919200>
- Dixon, D. P., Skipsey, M., & Edwards, R. (2010). Roles for glutathione transferases in plant secondary metabolism. *Phytochemistry*, 71(4), 338–350. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2009.12.012>
- Edwards, R., Dixon, D. P., & Walbot, V. (2000). Plant glutathione S-transferases: enzymes with multiple functions in sickness and in health. *Trends in Plant Science*, 5(5), 193–198. [https://doi.org/10.1016/s1360-1385\(00\)01601-0](https://doi.org/10.1016/s1360-1385(00)01601-0)
- Foyer, C. H., Baker, A., Wright, M., Sparkes, I. A., Mhamdi, A., Schippers, J. H. M., & Van Breusegem, F. (2020). On the move: redox-dependent protein relocation in plants. *Journal of Experimental Botany*, 71(2), 620–631. <https://doi.org/10.1093/jxb/erz330>
- Frear, D. S., & Swanson, H. R. (1970). Biosynthesis of S-(4-ethylamino-6 isopropyl-amino-2-s-triazino) glutathione: partial purification and properties of a glutathione S-transferase from corn. *Phytochemistry* 9(10), 2123–2132. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)85377-7](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)85377-7)
- Gallé, Á., Csiszár, J., Secenji, M., Guóth, A., Cseuz, L., Tari, I., Györgyey, J., & Erdei, L. (2009). Glutathione transferase activity and expression patterns during grain filling in flag leaves of wheat genotypes differing in drought tolerance: Response to water deficit. *Journal of Plant Physiology*, 166(17), 1878–1891. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2009.05.016>
- Gill, S. S., Anjum, N. A., Gill, R., Yadav, S., Hasanuzzaman, M., Fujita, M., Mishra, P., Sabat, S. C., & Tuteja, N. (2015). Superoxide dismutase--mentor of abiotic stress tolerance in crop plants. *Environmental science and pollution research international*, 22(14), 10375–10394. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4532-5>
- Gutiérrez, A., Nolasco, O., & Santa Cruz, C. (2017). Purification and preliminary characterization of latex proteases of *Vasconcellea candicans* (A. Gray) A. DC (Mito). *Scientia Agropecuaria*, 8(1), 7–17. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2017.01.01>
- Habig, W. H., & Jakoby, W. B. (1981). Assays for Differentiation of Glutathione S-Transferases. *Methods in Enzymology*, 77, 398–405. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(81\)77053-8](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(81)77053-8)

- Hanif, A., Ahmad, S., Shahzad, S., Liaquat, M., & Anwar, R. (2020). Postharvest application of salicylic acid reduced decay and enhanced storage life of papaya fruit during cold storage. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14(6), 3078–3088. <https://doi.org/10.1007/s11694-020-00555-5>
- Jarisarapurin, W., Sanrattana, W., Chularojmontri, L., Kunchana, K., & Wattanapitayakul, S. K. (2019). Antioxidant properties of unripe *Carica papaya* fruit extract and its protective effects against endothelial oxidative stress. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2019, Article 4912631 <https://doi.org/10.1155/2019/4912631>
- Juárez-Rojop, I. E., Díaz-Zagoya, J. C., Ble-Castillo, J. L., Miranda-Orsorio, P. H., Castell-Rodríguez, A. E., Tovilla-Zárate, C. A., Rodríguez-Hernández, A., Aguilar-Mariscal, H., Ramón-Frías, T., & Bermúdez-Ocaña, D. Y. (2012). Hypoglycemic effect of *Carica papaya* leaves in streptozotocin-induced diabetic rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 12(1), Article 236. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-12-236>
- Kumar, V., Irfan, M., Ghosh, S., Chakraborty, N., Chakraborty, S., & Datta, A. (2016). Fruit ripening mutants reveal cell metabolism and redox state during ripening. *Protoplasma*, 253, 581–594. <https://doi.org/10.1007/s00709-015-0836-z>
- Kunieda, T., Fujiwara, T., Amano, T., & Shioi, Y. (2005). Molecular cloning and characterization of a senescence-induced tau-class Glutathione S-transferase from barley leaves. *Plant & Cell Physiology*, 46(9), 1540–1548. <https://doi.org/10.1093/pcp/pci167>
- Lamoureux, G. L., Shimabukuro, R. H., Swanson, H. R., & Frear, D. S. (1970). Metabolism of 2-chloro-4-ethylamino-6-isopropylamino-s-triazine (atrazine) in excised sorghum leaf sections. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 18(1), 81–86. <https://doi.org/10.1021/jf60167a029>
- Larson, R. (1988). The Antioxidants of higher plants. *Phytochemistry*, 27(4), 969–978. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(88\)80254-1](https://doi.org/10.1016/0031-9422(88)80254-1)
- Lv, J., Zhang, J., Han, X., Bai, L., Xu, D., Ding, S., Ge, Y., Li, C., & Li, J. (2020). Genome wide identification of superoxide dismutase (SOD) genes and their expression profiles under 1-methylcyclopropene (1-MCP) treatment during ripening of apple fruit. *Scientia Horticulturae*, 271, Article 109471. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109471>
- Martínez-Damián, M. T., Cruz-Álvarez, O., Colinas-León, M. T. B., Rodríguez-Pérez, J. E., & Ramírez-Ramírez, S. (2013). Actividad enzimática y capacidad antioxidante en menta (*Mentha piperita* L.) almacenada bajo refrigeración. *Agronomía Mesoamericana*, 24(1), 57–69. <https://doi.org/10.15517/am.v24i1.9641>
- Martínez-González, M. E., Balois-Morales, R., Alia-Tejagal, I., Cortes-Cruz, M. A., Palomino-Hermosillo, Y. A., & López-Guzman, G. G. (2017). Poscosecha de frutos: maduración y cambios bioquímicos. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 8(spe19), 4075–4087. <https://doi.org/10.29312/remexca.v0i19.674>
- Martínez-Rubio, R., Acebes, J. L., Encina, A., & Kärkönen, A. (2018). Class III peroxidases in cellulose deficient cultured maize cells during cell wall remodeling. *Physiologia Plantarum*, 164(1), 45–55. <https://doi.org/10.1111/ppl.12710>
- Masia, A. (1998). Superoxide dismutase and catalase activities in apple fruit during ripening and post-harvest and with special reference to ethylene. *Physiologia Plantarum*, 104(4), 668–672. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.1998.1040421.x>
- Mondal, K., Sharma, N. S., Malhotra, S. P., Dhawan, K., & Singh, R. (2004). Antioxidant systems in ripening tomato fruits. *Biologia Plantarum*, 48, 49–53. <https://doi.org/10.1023/B:BIOP.0000024274.43874.5b>
- Nakamura, Y., Morimitsu, Y., Uzu, T., Ohigashi, H., Murakami, A., Naito, Y., Nakagawa, Y., Osawa, T., & Uchida, K. (2000). A glutathione S-transferase inducer from papaya: rapid screening, identification and structure-activity relationship of isothiocyanates. *Cancer Letters*, 157(2), 193–200. [https://doi.org/10.1016/S0304-3835\(00\)00487-0](https://doi.org/10.1016/S0304-3835(00)00487-0)

- Nguyen, T. T., Shaw, P. N., Parat, M. O., & Hewavitharana, A. K. (2013). Anticancer activity of *Carica papaya*: a review. *Molecular nutrition & food research*, 57(1), 153–164. <https://doi.org/10.1002/MNFR.201200388>
- Nianiou-Obeidat, I., Madesis, P., Kissoudis, C., Voulgari, G., Chronopoulou, E., Tsaftaris, A., & Labrou, N. E. (2017). Plant glutathione transferase-mediated stress tolerance: functions and biotechnological applications. *Plant Cell Reports*, 36(6), 791–805. <https://doi.org/10.1007/s00299-017-2139-7>
- Oliveira Resende, E. C., Martins, P. F., Antunes de Azevedo, R. A. de, Jacomino, A. P., & Bron, I. U. (2012). Oxidative processes during ‘Golden’ papaya fruit ripening. *Brazilian Journal Plant Physiology*, 24(2), 85-94. <https://doi.org/10.1590/S1677-04202012000200002>
- Omaiye Ojonubah, J., & Hafiz Mohd, M. (2020). Impacts of asymmetric biotic interactions and environmental factors on the presence-absence of multispecies. *Pertanika Journal of Science & Technology* 28(1), 245-261. <http://www.pertanika.upm.edu.my/pjst/browse/regular-issue?article=JST-1704-2019>
- Orabi S.A., Talaat I. M., Balbaa L. K. (2014). Physiological and biochemical responses of thyme plants to some antioxidants. *Nusantara Bioscience*, 6, 118–125 <https://doi.org/10.13057/nusbiosci/n060203>
- Ozyigit, I. I., Filiz, E., Vatansever, R., Kurtoglu, K. Y., Koc, I., Öztürk, M. X., & Anjum, N. A. (2016). Identification and comparative analysis of H₂O₂-scavenging enzymes (ascorbate peroxidase and glutathione peroxidase) in selected plants employing bioinformatics approaches. *Frontiers in Plant Science*, 7, Article 301. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00301>
- Pandey, V. P., Awasthi, M., Singh, S., Tiwari, S., Dwivedi, U. N. (2017). A comprehensive review on function and application of plant peroxidases. *Biochemistry & Analytical Biochemistry*, 6(1), Article 308. <https://doi.org/10.4172/2161-1009.1000308>
- Pandey, V. P., Singh, S., Jaiswal, N., Awasthi, M., Pandey, B., & Dwivedi, U. N. (2013). Papaya fruit ripening: ROS metabolism, gene cloning, characterization and molecular docking of peroxidase. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 98, 98–105. <https://doi.org/10.1016/J.MOLCATB.2013.10.005>
- Pandey, V. P., Singh, S., Singh, R., & Dwivedi, U. N. (2012). Purification and characterization of peroxidase from papaya (*Carica papaya*) fruit. *Applied biochemistry and biotechnology*, 167(2), 367–376. <https://doi.org/10.1007/S12010-012-9672-1>
- Park, S., Sugimoto, N., Larson, M. D., Beaudry, R., & van Nocker, S. (2006). Identification of genes with potential roles in apple fruit development and biochemistry through large-scale statistical analysis of expressed sequence tags. *Plant Physiology*, 141(3), 811–824. <https://doi.org/10.1104/pp.106.080994>
- Passaia, G., & Margis-Pinheiro, M. (2015). Glutathione peroxidases as redox sensor proteins in plant cells. *Plant Science*, 234, 22–26. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2015.01.017>
- Pastori, G.M., & Foyer, C.H. (2002). Common components, networks, and pathways of cross-tolerance to stress. The central role of “redox” and abscisic acid-mediated control. *Plant Physiology*, 129(2), 460-468. <https://doi.org/10.1104/pp.011021>
- Posso Suárez, D. F., Mattos, A. do P., Rissato, B. B., & Freitas Schwan-Estrada, K. R. (2020). Activación de mecanismos de defensa en maíz pira mediante el uso del abono orgánico Microgeo®. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 11(5), 965–977. <https://doi.org/10.29312/remexca.v11i5.2009>
- Pütter, J. (1974). Peroxidases. In H. U. Bergmeyer (Ed.), *Methods of enzymatic analysis* (pp. 685–690). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-091302-2.50033-5>

- Rai, N., Yadav, M., & Singh Yadav, H. (2016). Enzymatic characterization of lignin peroxidase from *Luffa aegyptiaca* fruit juice. *American Journal of Plant Sciences*, 7(3), 649–656. <https://doi.org/10.4236/ajps.2016.73057>
- Rejeb, I. B., Pastor, V., & Mauch-Mani, B. (2014). Plant responses to simultaneous biotic and abiotic stress: Molecular mechanisms. *Plants*, 3(4), 458–475. <https://doi.org/10.3390/plants3040458>
- Reyes Soria, F. A. (2021). *Análisis proteómico cuantitativo de frutos de papaya (Carica papaya L. sometidos a estrés por daño mecánico)*. [Tesis de maestría, Centro de Investigación Científica de Yucatán]. Repositorio Institucional del Centro de Investigación Científica de Yucatán. <https://cicy.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1003/1857>
- Riera, M. (2015). Superoxide Dismutase: a therapeutic candidate for oxidative stress. *Anales de la Real Academia de Farmacia*, 81(1), 25–36. https://analesranf.com/wp-content/uploads/2015/81_01/8101_04.pdf
- Rowe, K. C., Rowe, K. M., Tingley, M. W., Koo, M. S., Patton, J. L., Conroy, C., Perrine, J. D., Beissinger, S. R., & Moritz, C. (2015). Spatially heterogeneous impact of climate change on small mammals of montane California. *Proceedings. Biological sciences*, 282(1799), Article 20141857. <https://doi.org/10.1098/rspb.2014.1857>
- Schreinert dos Santos, R., Pacheco Arge, L. W., Irribarem Costa, S., Dienes Machado, N., de Mello-Farias, P., Valmor Rombaldi, C., & Costa de Oliveira, A. (2015). Genetic regulation and the impact of omics in fruit ripening. *Plant Omics*, 8(2), 78–88. https://www.pomics.com/oliveria_8_2_2015_78_88.pdf
- Schröder, P., Scheer, C. E., Diekmann, F., & Stampfl, A. (2007). How plants cope with foreign compounds. Translocation of xenobiotic glutathione conjugates in roots of barley (*Hordeum vulgare*). *Environmental science and pollution research international*, 14(2), 114–122. <https://doi.org/10.1065/espr2006.10.352>
- Shi, H. Y., Li, Z. H., Zhang, Y. X., Chen, L., Xiang, D. Y., & Zhang, Y. F. (2014). Two pear glutathione S-transferases genes are regulated during fruit development and involved in response to salicylic acid, auxin, and glucose signaling. *PLOS One*, 9(2), Article e89926. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0089926>
- Shi, Y., Jiang, L., Zhang, L., Kang, R., & Yu, Z. (2014). Dynamic changes in proteins during apple (*Malus x domestica*) fruit ripening and storage. *Horticulture Research*, 1, Article 6. <https://doi.org/10.1038/hortres.2014.6>
- Shirsat, S., & Kadam, A. (2015). Analysis of tissue specific digestive and antioxidant enzymes from *Cucurbita pepo* and *Langenaria siceraria* (Molina) Standl. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*, 6(2), 58–67. <https://www.fortunejournals.com/ijabpt/pdf/48009-D.%20Shirsat.pdf>
- Silva, E. P., Cardoso, A. L., Fante, C., Rosell, C. M., & Boas, E. V. (2013). Effect of postharvest temperature on the shelf life of gabirola fruit (*Campomanesia pubescens*). *Food Science and Technology*, 33(4), 632–637. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612013000400006>
- Singh, R., Dwivedi, U. N. (2008). Effect of Ethrel and 1-methylcyclopropene (1-MCP) on antioxidants in mango (*Mangifera indica* var. Dashehari) during fruit ripening. *Food Chemistry*, 111(4), 951–956. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.05.011>
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152–178. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
- 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>

- Soib, H. H., Ismail, H. F., Husin, F., Bakar, M. H. A., Yaakob, H., & Sarmidi, M. R. (2020). Bioassay-Guided different extraction techniques of *Carica papaya* (Linn) leaves on In vitro wound-healing activities. *Molecules*, 25(3), Article 517. <https://doi.org/10.3390/molecules25030517>
- Song, J., Bangerth, F. (1996). The effect of harvest date on aroma compound production from ‘Golden Delicious’ apple fruit and relationship to respiration and ethylene production. *Postharvest Biology and Technology*, 8(4), 259–269. [https://doi.org/10.1016/0925-5214\(96\)00020-8](https://doi.org/10.1016/0925-5214(96)00020-8)
- Song, J., CampbellPalmer, L., Vinqvist-Tymchuk, M., Fillmore, S., Forney, C., Luo, H., & Zhang, Z. (2020). Proteomic Changes in Antioxidant System in Strawberry During Ripening. *Frontiers in Plant Science*, 11, Article 594156. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.594156>
- Switala, J., & Loewen, P. C. (2002). Diversity of properties among catalases. *Archives of biochemistry and biophysics*, 401(2), 145–154. [https://doi.org/10.1016/S0003-9861\(02\)00049-8](https://doi.org/10.1016/S0003-9861(02)00049-8)
- The Catalogue of Life Partnership. (2017, July 4). *APG IV: Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants*. Checklist dataset. <https://doi.org/10.15468/FZUAAM>
- Uribe, E., Delgadillo, A., Giovagnoli-Vicuña, C., Quispe-Fuentes, I., & Zura-Bravo, L. (2015). Extraction techniques for bioactive compounds and antioxidant capacity determination of Chilean papaya (*Vasconcellea pubescens*) fruit. *Journal of Chemistry*, 2015, Article 347532. <https://doi.org/10.1155/2015/347532>
- Valencia-Pérez, N. S., Cerón-Montes, G. I., Garrido-Hernández, A., Carrillo-Sancen, G., Yañez-Fernández, J., & Castro-Muñoz, R. (2020). Simulación del tiempo de extracción en función de la temperatura de proceso y de la microestructura del material vegetal. *Pädi Boletín Científico de Ciencias Básicas e Ingenierías Del ICBI*, 8(Especial), 46–53. <https://doi.org/10.29057/icbi.v8iespecial.6370>
- Vega-Gálvez, A., Poblete, J., Quispe-Fuentes, I., Uribe, E., Bilbao-Sainz, C., & Pastén, A. (2019). Chemical and bioactive characterization of papaya (*Vasconcellea pubescens*) under different drying technologies: evaluation of antioxidant and antidiabetic potential. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13, 1980–1990. <https://doi.org/10.1007/s11694-019-00117-4>
- Wagner, U., Edwards, R., Dixon, D. P., & Mauch, F. (2002). Probing the diversity of the Arabidopsis glutathione S-transferase gene family. *Plant Molecular Biology*, 49(5), 515–532. <https://doi.org/10.1023/a:1015557300450>
- Watada, A. E.; Herner, R. C.; Kader, A. A.; Romani, R. J., & Staby, G. L. (1984). Terminology for the Description of Developmental Stages of Horticultural Crops. *HortScience*, 19(1), 20-21. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.19.1.20>
- Winterhalter, P., & Schreier, P. (1994). C₁₃-Norisoprenoid glycosides in plant tissues: An overview on their occurrence, composition and role as flavour precursors. *Flavour and Fragrance Journal*, 9(6), 281-287. <https://doi.org/10.1002/ffj.2730090602>
- Wu, Y., Zou, X., Li, S., Tang, C., Tang, H., & Zhang, Y. (2025). Postharvest application of abscisic acid and methyl jasmonate on fruit quality of ‘Red Zaosu’ pear. *Agronomy*, 15(6), Article 1263. <https://doi.org/10.3390/agronomy15061263>
- Wyrwicka, A., & Urbaniak, M. (2016). The different physiological and antioxidative responses of zucchini and cucumber to sewage sludge application. *PLOS One*, 11(6), Article e0157782. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0157782>
- Zura, L., Uribe, E., Lemus-Mondaca, R., Saavedra-Torrico, J., Vega-Gálvez, A., & Di Scala, K. (2013). Rehydration capacity of chilean papaya (*Vasconcellea pubescens*): Effect of Process Temperature on Kinetic Parameters and Functional Properties. *Food and Bioprocess Technology*, 6(3), 844–850. <https://doi.org/10.1007/s11947-011-0677-5>