



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 (autora 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, así como para su mejor aprovechamiento y conservación. **Objetivo.** 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. y relacionarla con su concentración de polifenoles totales. **Materiales y métodos.** Se extrajo la pulpa de cuatro frutos maduros y cuatro inmaduros de mito, provenientes de Santo Domingo de Los Olleros, Huarochirí, Lima, Perú, la cual fue procesada de marzo a diciembre de 2023. La obtención de la muestra se realizó mediante extracción acuosa de 20 g de pulpa en relación 20:80 en agua a 8 °C durante 15 días (técnica de maceración en frío), y se usó el sobrenadante tras la centrifugación. La determinación de polifenoles totales se llevó a cabo por espectrofotometría usando ácido gálico como estándar, y la actividad específica de las enzimas se determinó mediante espectrofotometría con los estándares respectivos. Se aplicaron estadísticas no paramétricas utilizando el software estadístico R. **Resultados.** Los frutos de *V. candicans* presentaron diferencias marcadas entre estados de madurez, particularmente en el contenido proteico y en la actividad de enzimas antioxidantes como catalasa, superóxido dismutasa y glutatión sulfhidril transferasa. Las correlaciones bioquímicas son más pronunciadas en frutos maduros, lo que indica una reorganización funcional de los componentes antioxidantes durante la maduración. **Conclusiones.** Los resultados sugieren que la actividad de catalasa, junto con los niveles de polifenoles, podría emplearse como un indicador bioquímico del grado de maduración del fruto, y servir para optimizar el tiempo de vida útil poscosecha.

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



Abstract

Introduction. The determination of antioxidant substances in native fruits is important for their incorporation into the diet, as well as for their better use and conservation. **Objective.** To evaluate the activity of the antioxidant enzymes catalase, peroxidase, superoxide dismutase and glutathione sulfhydryl transferase in aqueous extracts of ripe and unripe pulp of the fruit of *Vasconcellea candicans* (A. Gray) A. DC. and relate it to their concentration of total polyphenols. **Materials and methods.** The pulp of four ripe fruits and four unripe fruits of mito from Santo Domingo de Los Olleros, Huarochirí, Lima, Peru, was extracted and processed during March to December 2023. 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), and the supernatant was used after centrifugation. Total polyphenols determination was performed by spectrophotometry using gallic acid as a standard, and the specific activity of the enzymes was determined 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 ripening stages, particularly in protein content and in the activity of antioxidant enzymes such as catalase, superoxide dismutase and glutathione sulfhydryl transferase. Biochemical correlations are more pronounced in ripe fruits, indicating a functional reorganization of antioxidant components during ripening. **Conclusions.** The results suggest that catalase activity, together with polyphenol levels, could be a biochemical indicator of fruit ripeness, and could be used to optimize postharvest shelf life.

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 (Catalogue of Life, 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. Sus frutos son comestibles y aportan nutrientes como vitaminas (A, C, B1, B2, B6), minerales (calcio, magnesio, potasio) y enzimas digestivas (papaína, lipasa, otras proteasas), entre otros. El interés por su estudio se ha visto renovado debido a 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.

Se ha demostrado que otros géneros de la familia Caricaceae poseen metabolitos secundarios con efectos benéficos para la salud humana y 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 un potencial antioxidante, anticolagenasa y antielastasa moderado, al relacionarlo con el contenido de polifenoles totales, mientras que Gutiérrez et al. (2017) indicaron que el látex de *V. candicans* presenta papaína con trece veces más actividad que la papaya.

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

Dentro de los antioxidantes proteicos de los alimentos se encuentran enzimas como la catalasa, que tiene la capacidad de transformar el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno molecular; la glutatión peroxidasa,

que reduce el peróxido en agua y los peróxidos orgánicos en alcohol (Carvajal Carvajal, 2019); la superóxido dismutasa, que cataliza la dismutación del superóxido en oxígeno y peróxido de hidrógeno (Riera Romo, 2015); y la glutatión sulfhidril transferasa, que detoxifica las células mediante la formación de conjugados entre compuestos electrofílicos y el glutatión, los cuales son expulsados extracelularmente, por ejemplo, a través de la bilis (Denzoin et al., 2013).

Las aplicaciones del mito como fruto natural nativo del ecosistema de lomas de la costa y la sierra del Perú, la función de sus componentes antioxidantes no enzimáticos y enzimáticos, así como los estudios previos, llevaron a plantear como objetivo de investigación 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. y relacionarla 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, de marzo a diciembre de 2023. Para constituir la población de estudio, se seleccionaron al azar veinte frutos maduros y veinte frutos inmaduros a partir de una población de frutos de *V. candicans* (mito) provenientes de las lomas de Santo Domingo de los Olleros, provincia de Huarochirí, departamento de Lima (12°13'13"S, 76°30'58"O), donde la especie crece de forma natural a 2860 m s. n. m. De esta población, se extrajo al azar una muestra de cuatro frutos maduros y cuatro inmaduros. El estado de madurez se determinó de acuerdo con los criterios propuestos por Schreinert dos Santos et al. (2015) y Watada et al. (1984).

Instrumento y reactivos

Se registraron las características físicas de las muestras biológicas recolectadas (dimensiones del fruto, peso y número de semillas) mediante una balanza analítica con precisión de $\pm 0,0001$ g y una cinta métrica. Los extractos acuosos se obtuvieron utilizando una licuadora, una balanza analítica, un agitador orbital y una refrigeradora no frost con capacidad de 541 L. La evaluación de la actividad enzimática se efectuó con un multiparámetro para la preparación de los *buffers* y un espectrofotómetro UV/visible, en el cual se evaluó la densidad óptica. Para determinar la concentración de polifenoles se empleó un lector de microplacas.

Dentro de los reactivos se utilizaron agua destilada grado molecular (Sigma-Aldrich), DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidracil; Thermo Fisher Scientific®), NaOH (Merck), HCl (Merck), albúmina de suero bovino (BSA; Sigma-Aldrich), fosfato de sodio monobásico (Merck), fosfato de sodio dibásico (Merck), Na₂CO₃ (Sigma-Aldrich), reactivo de Folin-Ciocalteu (Merck), Trolox 97 % (Thermo Scientific Chemicals), ácido gálico (Sigma-Aldrich), reactivo de Bradford (Sigma-Aldrich), guayaacol (Sigma-Aldrich), H₂O₂ (Sigma-Aldrich), EDTA (Sigma-Aldrich), etanol absoluto (Merck), NaCl (Merck), 1-cloro-2,4-dinitrobenzoceno (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) y peroxidasa (Merck). Los materiales incluyeron microplacas estériles de 96 pocillos (SPL®), cubetas de cuarzo de 1 mL, tubos, fiolas, matraces Pyrex y micropipetas. Los resultados de las lecturas de absorbancia se registraron en una tabla en 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 al 1,5 % durante 5 min. Luego, se enjuagaron con abundante agua del grifo y se realizó un último enjuague con agua destilada estéril. Se determinó el peso, el tamaño y el grado de madurez fisiológica, los cuales se codificaron del 1 al 4 con un subíndice “a” para indicar frutos maduros y “b” para frutos inmaduros. Se consideró inmaduro al fruto en la etapa inicial 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).

Después de la clasificación, se eliminaron los extremos de cada fruto y se cortaron de forma longitudinal para retirar la cáscara, las semillas y el mucílago. Posteriormente, la pulpa se homogeneizó en una licuadora con agua destilada estéril (20 % p/v) para la cuantificación de polifenoles. Para los análisis de activación enzimática se usaron las siguientes concentraciones amortiguadoras de fosfato de sodio: 0,067 M (pH 7,0) para catalasa, 0,1 M (pH 7,4) para peroxidasa, 50 mM (pH 7,8) para superóxido dismutasa y 0,1 M (pH 6,25) para glutatión sulfhidril transferasa, en proporción 10 % p/v. La extracción se realizó mediante un procedimiento sólido-líquido (Valencia-Pérez et al., 2020).

Para la extracción de la unidad muestral utilizada en los experimentos, se siguió el método de Soib et al. (2020), de manera que se replicaran las condiciones naturales de consumo del fruto, razón por la cual se empleó agua y no otro tipo de solvente. Para ello, se colocaron 20 g de pulpa triturada en un matraz que contenía 80 mL de agua q. p. (relación 20:80, sólido/líquido), el cual se mantuvo en un agitador orbital a 180 rpm durante 180 min a temperatura ambiente. Luego, el matraz se mantuvo en refrigeración a 8 °C por 15 días. Después de ese tiempo, se centrifugó a 5000 g/10 min, se separó el sobrenadante y este se volvió a centrifugar a 10000 g/15 min. El sobrenadante fue separado en dos partes y se almacenó a -20 °C para la evaluación, por triplicado y por cada unidad muestral, de proteínas solubles y polifenoles totales; estos últimos mediante el método colorimétrico descrito por Singleton y Rossi (1965) y Singleton et al. (1999), con adaptaciones.

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 una fiola de 10 mL completando con agua para inyección hasta obtener una concentración de 0,1 mg/mL. Con esta solución 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 µL de muestra o de cada estándar, al cual se le agregaron 200 µL del reactivo de Bradford. Las absorbancias se leyeron 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 µg/mL, las cuales se trataron de la misma forma que las muestras. Las absorbancias se leyeron a 750 nm en el lector de microplacas. La curva estándar obtenida presentó la pendiente $y = 0,2041x$, con un $R = 0,9994$.

El contenido de polifenoles totales (TPC) se determinó empleando 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 (µg AG/mg TF o µg ácido gálico por miligramo de tejido fresco). Todas las mediciones se realizaron por triplicado. De acuerdo con este método, se utilizó el reactivo de Folin-Ciocalteu (FC) (2N, Sigma-Aldrich), cuyo procedimiento consistió en tomar una alícuota de 20 µL de la solución de extracto madre en un tubo de vidrio, a la que se añadieron 100 µL de FC (1N diluido 1:5). La mezcla se dejó reposar durante 5 min y posteriormente se añadieron 80 µL de Na_2CO_3 (7,5 %) (PM = 105,99 a 9,5 %, Sigma-Aldrich®). Luego, se agitó y se prosiguió con la reacción en oscuridad por 100 min, tras lo cual se midió 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 homogeneizada (1:10 p/v) con tampón fosfato de sodio 0,067 M (pH 7,0), luego se

centrifugó a 10 000 g durante 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) y 100 µL de la muestra. Se incubó a 38 °C durante 4 min, luego se agregó 0,5 mL de molibdato de amonio 32,4 mM y se procedió a la lectura a 405 nm.

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

La actividad enzimática de las muestras se determinó según la ecuación 1, donde $[H_2O_2]$ correspondió a la concentración de peróxido de hidrógeno (µmol) y V (mL) al volumen de muestra utilizada. La concentración de la catalasa estándar empleada fue de 1,3 U/mg de proteína.

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

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 agregaron 10 mL de tampón de fosfato de sodio 0,1 M (pH 7,4) por triplicado. El extracto se centrifugó a 5000 g durante 15 min y el sobrenadante se utilizó como preparación enzimática. El medio de ensayo estuvo constituido por 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 s hasta que aumentó la absorbancia. La actividad enzimática se expresó inicialmente como $\Delta OD \text{ min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \text{ PF}$ (peso fresco), calculándose la diferencia de absorbancia en un intervalo de tiempo de 1 min, de acuerdo con Pütter (1974), Rai et al. (2016) y Shirsat y Kadam (2015).

Para la curva de calibración se utilizaron concentraciones de H₂O₂ de 0; 0,25; 0,5; 0,75; 1 y 1,5 µmol con la enzima peroxidasa estándar de 0,25 unidades/mg (Merck). La curva estándar se construyó conforme a la metodología establecida, la cual indica la concentración en mM de radicales libres (H₂O₂) neutralizados por la enzima peroxidasa que estuvo a una concentración de 0,250 U/mg de proteína. La ecuación obtenida fue $y = 0,064x$, con un $R^2 = 0,9961$; con ella se calculó la concentración de peróxido capturada por la peroxidasa de la pulpa de *V. candicans*, expresada en U/mg de proteína/mg de tejido fresco.

La actividad enzimática de las muestras se determinó según la ecuación 2, donde $[H_2O_2]$ 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.

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

Para la evaluación de la actividad específica de superóxido dismutasa se procedió a la extracción de la enzima usando 5 g de pulpa y 5 mL de *buffer* fosfato de sodio 50 mM (pH 7,8) por triplicado. La mezcla se centrifugó a 13 520 g durante 30 min a 4 °C. El cóctel de trabajo se modificó 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.

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 % y 1,0 mL de nitroblue de tetrazolio (1,41 mg/mL). En oscuridad, se preparó el cóctel de trabajo, el cual estuvo constituido por 3,0 mL de la mezcla anterior, 10

μL de riboflavina (4 mg/mL) y 133 μL de la muestra. Inmediatamente, la absorbancia se midió a 560 nm (tiempo cero). Luego, la muestra se irradió con tubos fluorescentes de 15 W durante 7 min, tras lo cual se volvió a medir la absorbancia (tiempo final). Para el blanco se procedió de la misma forma que para la muestra, reemplazando esta por agua destilada. Se realizaron tres repeticiones por muestra.

Se preparó una curva de calibración con la enzima superóxido dismutasa (Merck®), utilizando concentraciones de 0; 0,6; 0,9; 1,5 y 3 unidades/mg. La curva estándar indicó el porcentaje de inhibición de la enzima superóxido dismutasa a partir de una concentración de 6 unidades/mL. La ecuación obtenida fue $y = 12,43x$ con un $R^2 = 0,9946$. Para esta enzima se definió la unidad como U/mg de proteína/mg de tejido fresco, correspondiente a 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 y temperatura ambiente (20-25 °C), en un volumen de reacción de 3,0 mL.

Para evaluar la actividad específica de glutatión sulfhidril transferasa, las muestras se homogenizaron por triplicado utilizando una relación de 1:1 (p/v) con un *buffer* fosfato de K a 0,1 M (pH 6,25) y se centrifugaron a 14 000 g durante 20 min a 4°C. La actividad de la glutatión sulfhidril transferasa se determinó teniendo como sustratos al glutatión (GSH) y al 1-cloro-2,4-dinitrobenzoceno (CDNB). Para los cálculos se empleó el coeficiente de extinción (ϵ_{340}) = 9,6 mM⁻¹·cm⁻¹ (Habig & Jakoby, 1981).

En una cubeta de 1,5 mL se colocaron 1,2 mL de *buffer* fosfato de sodio 0,1 M (pH 6,25), que contenía GSH 30 mM y CDBN 0,75 mM. La mezcla se incubó a 30 °C durante 1 min; posteriormente, se añadieron 100 μL de muestra y se realizó la lectura en el espectrofotómetro a 340 nm en el tiempo 0 min y a los 5 min (adaptado de Wyrwicka y Urbaniak, 2016). Para esta enzima, la unidad se definió como los mM de glutatión y CDBN transformados por minuto/mg de proteínas/mg de tejido húmedo, a pH 6,25, en un volumen de reacción de 1,3 mL.

Análisis estadístico

Se aplicaron estadísticas no paramétricas empleando el *software* estadístico R. Para analizar la distribución de los datos de cada variable se utilizó la prueba Shapiro-Wilk. Se usó el análisis de varianza de Kruskal-Wallis para datos no normalizados.

Resultados

Características físicas de los frutos

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

Proteínas

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

Cuadro 1. Características físicas de los frutos de *Vasconcellea candicans* (mito) utilizados como muestra de investigación. Santo Domingo de Los Olleros, Lima, Perú. 2023.

Table 1. Physical characteristics of *Vasconcellea candicans* (mito) fruits used as research samples. Santo Domingo de Los Olleros, Lima, Peru. 2023.

Frutos de mito	Código	Peso (kg)	Longitud (m)	Diámetro (m)	Peso de la pulpa (kg)	Peso de la cáscara (kg)	Número 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	0,08477	168

Las características de los frutos de mito no mostraron diferencias en cuanto a peso, longitud, diámetro, peso de la pulpa y número de semillas. Sin embargo, sí se observaron diferencias en el peso de la cáscara. / The characteristics of the mito fruits did not show differences in weight, length, diameter, pulp weight, or number of seeds. However, differences were observed in peel weight.

Polifenoles (fenoles totales)

Los datos de polifenoles totales de la pulpa de *V. candicans* siguieron una distribución normal (Shapiro-Wilk), sin diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los frutos maduros e inmaduros. 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 *V. candicans*

Los valores promedio de la 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 de proteína/mg de tejido fresco (TF), fueron de 6,7882 mM/mg de proteína/mg de TF en los frutos maduros y de 3,6937 mM/mg de proteína/mg de TF en los inmaduros, observándose una diferencia significativa ($p < 0,01$).

Los datos normalizados indicaron que la enzima peroxidasa de las pulpas de los frutos de mito inmaduros capturó una concentración de H_2O_2 de 0,507 mM/min/mg de proteína/mg de TF y que las pulpas maduras capturaron 0,706 mM/min/mg de proteína/mg de TF, sin observarse diferencias estadísticas significativas ($p < 0,05$) entre ellas.

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

Los valores de actividad de la enzima glutatión sulfhidril transferasa de la pulpa de *V. candicans* fueron en promedio 0,032 U/mg de proteína/mg de TF para pulpas maduras de mito y 0,057 U/mg de proteína/mg de TF para pulpas inmaduras de mito. El análisis de varianza de Kruskal-Wallis para datos no normalizados presentaron diferencias significativas entre ambos grupos ($p < 0,05$).

En las pulpas maduras de mito, el análisis de correlación de Pearson mostró que la enzima catalasa presentó una relación lineal negativa fuerte para peroxidasa ($\alpha = 0,05$; $r = -0,702$) para polifenoles totales ($\alpha = 0,01$; $r = -0,735$) y para proteínas ($\alpha = 0,01$; $r = -0,983$). La enzima superóxido dismutasa no mostró correlación con ninguno de los parámetros estudiados.

Se observó una relación lineal positiva fuerte entre la enzima peroxidasa y las proteínas ($\alpha = 0,01$; $r = 0,711$), mientras que los polifenoles mostraron una relación lineal fuerte con las proteínas ($\alpha = 0,01$; $r = 0,745$). La enzima glutatión sulfhidril transferasa presentó una relación lineal negativa con los polifenoles totales, según el coeficiente de Spearman Rho ($\alpha = 0,05$; $r = -0,595$).

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

Discusión

Los frutos de *V. candicans* de Santo Domingo de Los Olleros presentaron diferencias en el número de semilla y longitud (n.º promedio de semillas = 160; longitud = 15-18 cm) en comparación con los frutos de San Pedro de Casta, Lima, Perú (n.º promedio de semillas = 140; longitud = 10-15 cm), reportados por Belli Obando (2018). Estas diferencias podrían explicarse debido a que el mito se distribuye en diversas zonas geográficas del Perú, como la zona costera (Lomas de Lúcumo), los bosques nublados secos (Bosque de Zárate), la serranía esteparia (San Pedro de Casta) y la sierra alta de la región central (Santo Domingo de Los Olleros) (Cuya Matos, 1992), lo cual habría 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, reflejados en diferencias en el desarrollo, el crecimiento y los mecanismos de defensa (Bostock, 2005).

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

La variación en la cantidad de proteínas durante el proceso de maduración no solo permitiría cambios en la textura, el aroma y el sabor del fruto (Song y Bangerth, 1996), sino que además explicaría los cambios en la composición de estas proteínas según el estado de madurez fisiológico (Shi, Jiang et al., 2014), de acuerdo con la especie y el medio en el que se desarrolla.

En *V. candicans* se registraron valores de $17,9$ mg eq de AG/100 g de pulpa madura y $18,7$ mg eq de AG/100 g de pulpa inmadura. Para *V. × heilbornii*, Auquiñivin Silva y Paucar Menacho (2020) y Uribe et al. (2015) reportaron 46 ± 2 mg eq de AG/100 g y $28,6$ mg eq de AG/100 g, respectivamente. Correa Tejada (2020) encontró $15,06 \pm 1,48$ mg eq de AG/100 g en *Vasconcellea weberbaueri*, mientras que Culquimboz Serván y Escudero Rodas (2018) informaron $735,5$ mg eq de AG/100 g. No obstante, estos estudios no especificaron el estado de madurez fisiológico de los frutos evaluados, lo que dificulta una comparación directa con los resultados del presente estudio.

La variabilidad observada sugiere que los fenoles totales y la capacidad antioxidante podrían activarse en respuesta a factores abióticos y bióticos, como fue descrito por Orabi et al. (2014). La disminución de estos compuestos podría presentarse en etapas con menor actividad antioxidante, según Da Silva et al. (2013). Las investigaciones sobre el sistema antioxidante y el estrés oxidativo durante la maduración de frutos se han concentrado principalmente en especies de alto valor comercial como mango (Singh y Dwivedi, 2008), duraznos (Camejo et al., 2010) y papaya (Oliveira Resende et al., 2012). Los estudios en frutas tropicales y especies nativas siguen siendo escasos, en especial aquellos que consideran de forma explícita el estado de madurez fisiológica.

Al relacionar polifenoles con proteínas, se observó que, en los frutos de *V. candicans* en estado de maduración comestible, tanto las proteínas como los polifenoles disminuyeron (proteínas 1,17 g/100 g de TF; polifenoles 0,179 µg AG/g de TF), mientras que en los frutos inmaduros estos metabolitos presentaron valores mayores (proteínas 2,04 g/100 g de TF; polifenoles 0,187 µg AG/g de TF). Lo anterior se explicaría por cambios en la actividad de enzimas de vías metabólicas que inducirían la degradación de proteínas y el posterior uso de los aminoácidos resultantes en la síntesis de compuestos volátiles (D'Ambrosio et al., 2013), los cuales influyen en el aroma de frutos y flores (Winterhalter & Schreier, 1994), y aumentan durante la maduración de los frutos, como se ha observado en durazno (Aubert et al., 2003). Esto permitiría explicar, al menos en parte, la disminución en la síntesis de proteínas y el incremento de aroma y sabor de la pulpa durante la maduración.

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

La actividad enzimática de peroxidasa en papaya, según Pandey et al. (2012, 2013), presentó diferencias significativas entre el fruto maduro ($0,40 \pm 0,07$ nmol/g pulpa) y el inmaduro ($0,86 \pm 0,06$ nmol/g pulpa), mientras que en mito se encontraron diferencias no significativas, lo cual indicaría que la peroxidasa 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 el mito crece a una altitud superior a 2500 m y la 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 catalasa y peroxidasa, necesarias 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 durante el proceso de maduración de *V. candicans* mostró diferencias significativas entre los frutos maduros ($0,0172$ U/mg proteína/mg de TF) y los inmaduros ($0,0080$ U/mg proteína/mg de TF), lo cual se podría explicar por una mayor cantidad de ROS (O_2^- , OH y H_2O_2) en los frutos maduros de mito, 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, como en el caso de la actividad de la superóxido dismutasa, que disminuye en naranjas, mangos (Singh & Dwivedi, 2008) y guayabas (Mondal et al., 2004).

La actividad de la enzima glutatión sulfhidril transferasa (GST) del mito fue mayor en frutos inmaduros ($0,057$ U/mg de proteína/mg de TF) que en frutos maduros ($0,032$ U/mg de proteína/mg de TF), aunque sin diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$). Este comportamiento sugiere que la enzima podría desempeñar una función similar a la de las peroxidasas (Board et al., 2000; Dixon et al., 2002; Edwards et al., 2000; Wagner et al., 2002), al contribuir a la reducción de especies reactivas de oxígeno (ROS) mediante mecanismos catalíticos y no catalíticos (Nianiou-Obeidat et al., 2017). Esta función se sustenta en su capacidad de interacción tanto con glutatión como con tiorredoxina (Ozyigit et al., 2016; Passaia y Margis-Pinheiro, 2015), lo que permitiría prevenir procesos de daño celular y muerte celular programada (Dixon et al., 1998; Dixon et al., 2010; Schröder et al., 2007; Wagner et al., 2002).

Diversos estudios han señalado que la actividad de las GST puede incrementarse durante el inicio de la senescencia. En este sentido, Shi, Li et al. (2014) reportaron un aumento de la isoenzima tau (SIGST) en hojas senescentes de *Hordeum vulgare* L., inducida por bajas temperaturas. Estos hallazgos sugieren la participación de esta enzima en procesos asociados al metabolismo secundario y a la regulación de la senescencia vegetal (Frear & Swanson, 1970; Kunieda et al., 2005; Lamoureux et al., 1970).

En el presente trabajo se encontró que la actividad de catalasa y superóxido dismutasa fue mayor en los frutos maduros (fisiológicamente comestibles), lo que indicaría un incremento de los mecanismos de defensa frente a radicales libres (Das & Roychoudhury, 2014; Gill et al., 2015). Los polifenoles totales, en cambio, se mantuvieron sin diferencias significativas entre la madurez fisiológica y la madurez de consumo. La actividad de la peroxidasa fue mayor en frutos maduros, sin diferencias estadísticas respecto 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 glutatión sulfhidril transferasa 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 peroxidasa.

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, 2010), que podría deberse a la altitud donde crece el mito, por lo que la glutatión sulfhidril transferasa 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 la glutatión sulfhidril transferasa en frutos de papaya y otros, como el estudio de Nakamura et al. (2000), quienes usaron papaya inmadura y aguacate para activar la producción de glutatión sulfhidril transferasa y de esa forma contribuir a la protección de la salud humana. Para profundizar en el estudio del proceso de maduración, podrían utilizarse microARN, analizados con qRT-PCR, con el fin de validar el contraste de patrones de expresión entre ARNm y sus genes dianas, así como otras técnicas de la proteómica para observar la expresión y el comportamiento de isoenzimas de catalasa, superóxido dismutasa, peroxidasa y glutatión sulfhidril transferasa presentes en los frutos durante la maduración (Bi et al., 2015; Reyes Soria, 2021).

La maduración del fruto implica la activación coordinada de diversas rutas bioquímicas que modifican sus características sensoriales y funcionales, razón por la cual este proceso ha sido ampliamente estudiado. La extracción acuosa de los compuestos bioactivos presentes en la pulpa reproduce condiciones similares a las empleadas en la preparación de infusiones (Gallé et al., 2009), en las que se ha demostrado que la actividad antioxidante se incrementa cuando distintos compuestos fenólicos actúan de manera conjunta con otros metabolitos (Larson, 1988). Los resultados obtenidos indican que *V. candicans* posee en su pulpa un sistema antioxidante complejo, cuya actividad varía según el estado de madurez. Este comportamiento resalta su potencial funcional y justifica la necesidad de profundizar en su estudio para orientar estrategias de conservación de especies nativas.

Conclusiones

La evaluación de la actividad de las enzimas antioxidantes en extractos acuosos de pulpa madura e inmadura del fruto de *Vasconcellea candicans* permitió determinar que, en los frutos maduros, la catalasa presentó una correlación negativa con los polifenoles ($r = -0,702$); la glutatión sulfhidril transferasa mostró una correlación débil ($r = -0,595$), y la superóxido dismutasa y la peroxidasa no presentaron correlación. La diferencia del estado de madurez de estos frutos podría evaluarse mediante el seguimiento de la actividad de la catalasa y la concentración de polifenoles desde la madurez fisiológica hasta la senescencia, con el fin de estimar el tiempo de vida útil del fruto.

Agradecimientos

Los autores expresan su agradecimiento a la bióloga Diana Y. Palomino Reyes de la Universidad Nacional Federico Villarreal, por su apoyo en las labores de laboratorio, mediante el mantenimiento del material y la preparación de reactivos con calidad.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

Referencias

- Acosta Villalba, M. M., Espino Espino, R. A., & Ramírez Cabrera, L. N. (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 polifenoloxidasa 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., Easteal, S., Jermiin, L. S., Schulte, G. K., Danley, D. E., Hoth, L. R., Griffor, M. C., Kamath, A. V., Rosner, M. H., Chrunyk, 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.
- Catalogue of Life. (2017, July 16). *APG IV: Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants*. Checklist dataset. <https://doi.org/10.15468/FZUAAM>
- 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 Digital institucional de la 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 anticulagenasa 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 al título profesional de Químico Farmacéutico, 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, O. (1992). *Carica candicans* (mito): Una papaya de zonas áridas que urge revalorar. *Boletín de Lima*, (82), 75–80. <https://boletindelima.pe/products/199282>
- Da Silva, E. P., Lopes Cardoso, A. F., Fante, C., Rosell, C. M., & De Barros Vilas Boas, E. V. (2013). Effect of postharvest temperature on the shelf life of gabiropa fruit (*Campomanesia pubescens*). *Food Science and Technology*, 33(4), 632–637. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612013000400006>
- 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., 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., & Edwards, R. (2010). Glutathione transferases. *The Arabidopsis Book*, 2010(8), Article e0131. <https://doi.org/10.1199/tab.0131>
- 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-isopropylamino-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. I. F., Nolasco, O., & Santa Cruz, C. (2017). Purificación y caracterización preliminar de proteasas del látex de *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(1), Article 4912631. <https://doi.org/10.1155/2019/4912631>
- Juárez-Rojop, I. E., Díaz-Zagoya, J. C., Ble-Castillo, J. L., Miranda-Osorio, 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. A. (1988). The antioxidants of higher plants. *Phytochemistry*, *27*(4), 969–978. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0031-9422\(88\)80254-1](https://doi.org/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. P. (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-Tejacal, I., Cortes-Cruz, M. A., Palomino-Hermosillo, Y. A., & López-Guzman, G. G. (2017). Postcosecha de frutos: maduración y cambios bioquímicos. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, *(19)*, 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. 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., Jacomino, A. P., & Urbano Bron, I. (2012). Oxidative processes during ‘Golden’ papaya fruit ripening. *Brazilian Journal of 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(2), 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., Do Prado Mattos, A., 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 characterisation 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://ciicy.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1003/1857>
- Riera Romo, M. (2015). Superoxide Dismutase: a therapeutic candidate for oxidative stress. *Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia*, 81(1), 25–36. https://analesranf.com/wp-content/uploads/2015/81_01/8101_04.pdf

- Rowe, K. C., Rowe, K. M. C., Tingley, M. W., Koo, M. S., Patton, J. L., Conroy, C. J., 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., Iribarem Costa, S., Dienes Machado, N., De Mello-Farias, P. C., 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, 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>
- 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>
- Shirsat, S. D., & Kadam, A. S. (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>
- 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)

- 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>