

Capacidad antioxidante de la pulpa de *Vasconcellea candicans* “mito”, con potencial uso para la industria

Docente Responsable:

Mg Ana Isabel Flor Gutiérrez Román

Filiación

Grupo de Investigación Bioquímica y Biología Sintética (GIBBS - UNFV)

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMATICA

https://ctivitaec.concytec.gob.pe/appDirectorioCTI/VerDatosInvestigador.do?id_investigador=12430

<https://orcid.org/0000-0002-7020-7387>

Rol en el proyecto: Responsable de la Investigación, Metodología, Recursos, Software, Supervisión, Ejecución, Validación, Visualización, Redacción – borrador original, Redacción – revisión y edición de informes y artículo.

Docentes Miembros:

Mg Carlos Marco Santa Cruz Carpio

Filiación

Grupo de Investigación Bioquímica y Biología Sintética (GIBBS - UNFV)

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMATICA

https://dina.concytec.gob.pe/appDirectorioCTI/VerDatosInvestigador.do?id_investigador=14332

<https://orcid.org/0000-0003-3490-1037>

Rol en el proyecto: Responsable de la Metodología: Colecta de datos y muestreo, Supervisión, Redacción – revisión y edición de informes y artículo.

Colaboradores:

PhD. Engineer Nélide Leiva Erikson

Filiación:

Grupo de Investigación Bioquímica y Biología Sintética (GIBBS - UNFV)

Facultad de Ingeniería- Biotecnología, Universidad de LUND - SUECIA

<https://orcid.org/0000-0001-7712-4683>

Rol en el proyecto: Asesoría para la redacción del artículo y su publicación.

Comunidad de conocimiento:

Grupo de Investigación Bioquímica y Biología Sintética (GIBBS - UNFV)

R.D. 004-2021-VIRTUAL-D(e)-FCNM-UNFV. / R.D. 005-2021-VIRTUAL-D(e)-FCNM-

UNFV / RESOLUCIÓN VRIN N° 133-2021-UNFV

Unidad de Investigación:

Facultad de Ciencias Naturales y Matemática

Línea de Investigación UNFV:

Genética, Bioquímica y Biotecnología

RESUMEN

Los aditivos sintéticos utilizados en alimentos deben ser reemplazados por aditivos naturales, por seguridad alimentaria. En nuestro país existe una planta en peligro de extinción el “mito” (*Vasconcellea candidas*), cuyos frutos comestibles podrían ser beneficiosos como fuente de antioxidantes naturales. Nuestro objetivo fue evaluar la capacidad antioxidante y el IC50 de la pulpa del futo en dos estados de madures y en dos extractos, acuoso y etanólico70%. Determinamos la concentración de proteínas solubles, azúcares reductores, glucosa, polifenoles totales, capacidad antioxidante como % de Captura radicales libres (Método de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) y el IC50. Nuestros resultados, indican que el extracto acuoso maduro contiene mayor proteínas solubles (5.73 mg Prot/g extracto M.S) y azúcares reductores (149,04 mg AR/g extracto M.S); mientras los inmaduros tienen mayor glucosa (127.83 mg G/g extracto M.S.) y polifenoles totales (1201.86 µg AG/g extracto M.S.). La capacidad antioxidante fue mayor en extractos etanólicos (89.7 y 80.6 % de Captación de radicales libres Eq. TROLOX x DPPH x 30 min, en maduro e inmaduro respectivamente), siendo estos mayores que los encontrados en papaya (83.7 y 73.8% de Captación de radicales libres Eq. TROLOX x DPPH x 30 min). El IC50 fue mayor en el extracto etanólico maduro (9.3 y 8.6 Eq. mg Trolox/mL/g extracto M.S. en mito y papaya respectivamente). Hay una correlación positiva entre metabolitos primarios y concentración de fenoles totales, pero no existe correlación entre fenoles totales, capacidad antioxidante y el IC50. Concluimos que la pulpa de mito es una fuente promisoría para poder ser utilizada como fuente de antioxidantes naturales.

Palabras clave: proteínas solubles, glucosa, polifenoles, fruto maduro e inmaduro.

ABSTRACT

Synthetic additives used in food should be replaced by natural additives, for food safety. In our country there is an endangered plant, the "mito" (*Vasconcellea candidas*), whose edible fruits could be beneficial as a source of natural antioxidants. Our objective was to evaluate the antioxidant capacity and the IC₅₀ of the fruit pulp in two stages of ripeness and in two extracts, aqueous and ethanolic 70%. We determined the concentration of soluble proteins, reducing sugars, glucose, total polyphenols, antioxidant capacity as % free radical capture (DPPH method (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil) and IC₅₀. Our results indicate that the mature aqueous extract contains higher soluble proteins (5.73 mg Prot/g DM extract) and reducing sugars (149.04 mg AR/g DM extract), while the immature ones have higher glucose (127.83 mg G/g DM extract) and total polyphenols (1201.86 µg AG/g extract M.S.) The antioxidant capacity was higher in ethanolic extracts (89.7 and 80.6 % of Capture of free radicals Eq. TROLOX x DPPH x 30 min, in mature and immature respectively), being higher than those found in papaya (83.7 and 73.8% uptake of free radicals Eq. TROLOX x DPPH x 30 min). The IC₅₀ was higher in the mature ethanolic extract (9.3 and 8.6 Eq. mg Trolox/mL/g extract DM in mito and papaya respectively). There is positive correlation between primary metabolites and total phenol concentration, but there is no correlation between total phenols, antioxidant capacity and IC₅₀. We conclude that the mito pulp is a promising source to be used as a source of natural antioxidants.

Key words: soluble proteins, glucose, polyphenols, ripe and unripe fruit.

1. INTRODUCCIÓN

El registro y la valoración de nuestras especies nativas está aumentando y dentro de ellas se encuentran las plantas del genero *Vasconcellea* distribuidas en nuestro región, así lo demuestran los estudios de [Fuentes \(2019\)](#) quien realizó un estudio al sur de Colombia identificando seis integrantes de este género; el informe del Ministerios del Medio Ambiente de Perú ([MINAM, 2018](#)), que reporta la presencia e identificación de 9 especies del género *Vasconcellea* y los estudios genéticos de [Peña et al.\(2017\)](#) que indican que al sur de Ecuador existen alrededor de 12 especies de *Vasconcellea* de las 16 que están reportadas en todo Ecuador.

Este género es utilizado en las poblaciones donde crece, como alimento y medicina, no siendo comercializada a gran escala, dado que su valoración en ambos campos, todavía está en proceso de estudio. Por ello, el objetivo del presente estudio fue obtener extractos de la pulpa de los frutos del “mito”, para determinar en ellos la actividad antioxidante que podrían ser utilizados en forma natural como complemento de dietas y evitar la formación de radicales libres, lo cual trae como consecuencia, un gran deterioro del alimento y de nuestro organismo, dándole un valor agregado para su comercialización y preservando la biodiversidad y el desarrollo de este recurso autóctono.

1.1 Planteamiento del Problema

La utilización de los aditivos sintéticos se amplió y se generalizó el siglo pasado, sin embargo con el correr del tiempo recién se ha podido observar los efectos negativos que algunos de ellos causan en la salud y el medio ambiente, por lo cual se busca diferentes tipos de soluciones. Dentro de estos aditivos sintéticos hay una diversidad de antioxidantes utilizados en toda la industria en general con la finalidad de preservar a los productos, dentro de los cuales están los alimentos, que tienen un tiempo de vida corto, por lo que busca que estos se reemplacen por antioxidantes naturales, principalmente en las bebidas y frutas

(Scalbert & Williamson, 2000), produciendo beneficios para la salud, como protegernos contra el cáncer, enfermedades cardiovasculares (Boudet, 2007) estrés oxidativo, el cual está asociado a las enfermedades mencionadas y a la neurodegeneración (Shahidi & Ambigaipalan, 2015).

En nuestro país contamos con varias frutas nativas como el “mito” que muestran un potencial interesante a ser revalorado en su aplicación como fuente de antioxidante natural.

PROBLEMA GENERAL

¿Los biometabolitos con capacidad antioxidante, presentes en el “mito” podría ser utilizados como aditivos naturales en la industria alimentaría?

PROBLEMAS ESPECÍFICOS

¿Los biometabolitos de los extractos de la pulpa de “mito” *inmaduro* tienen capacidad antioxidante con potencial uso como aditivo natural en la industria de alimentos?

¿Los biometabolitos de la pulpa de “mito” *maduro*, tienen capacidad antioxidante con potencial uso como aditivo natural en la industria de alimentos?

¿Cuál es la capacidad antioxidante de la pulpa del fruto de “mito” *inmaduro* y *maduro* frente a la pulpa de *Carica papaya* inmadura y madura?

1.2 Antecedentes

Dentro de la familia Caricaceae, se encuentran las papayas domesticadas (Ej. *Carica papaya*) y silvestres (Ej. Genero *Vasconcellea*) pertenecientes a la Familia Caricaceae, donde se está reportando la presencia de biometabolitos secundarios, que beneficiarían a la salud humana contra algunos tipos de cáncer (Nguyen et al., 2013), diabetes (Juárez-Rojop et al., 2012) y obesidad (Athesh, Karthiga, & Brindha, 2012).

Si bien en la actualidad el uso de antioxidantes sintéticos, cumplen un rol importante al evitar la oxidación de los alimentos y con ello su pérdida de color, aroma y sabor (Augustyniak, et al., 2010), esta práctica se ha puesto en tela de juicio por parte de los

consumidores, debido a sus posibles repercusiones en la salud humana (Marcano & Masahisa 2018), ya que su uso no solo pueden causar efectos de intoxicación aguda, cuando se supera su nivel de ingesta diaria, sino que también sus efectos pueden aparecer con el tiempo, al ser acumulativos, causando enfermedades digestivas, hepáticas, circulatorias, cáncer y alteración al sistema inmune (Reardon 2015, Paula-Neto et al., 2017).

Por otro lado, es bien conocido el beneficio de los antioxidantes naturales a la salud del consumidor, pues disminuye el estrés oxidativo en las células animales, evitando la degradación de las mitocondrias, la muerte celular y disminuyendo el índice de envejecimiento, trayendo como consecuencia la disminución del sistema inmune, y la presencia de enfermedades como cataratas, Alzheimer, Parkinson, enfermedades hepáticas o problemas cardiovasculares, siendo necesario para estos individuos el consumo de antioxidantes exógenos (Coronado et al., 2015); por ello es importante la búsqueda de antioxidantes naturales para la industria y también para mantener la calidad de vida de los consumidores.

Los antioxidantes son moléculas que inactivan los radicales libres, protegiendo a los organismos del daño y muerte celular, lo que ha generado el uso de alimentos que en forma natural proporcionen antioxidantes dentro de la dieta humana (Delgado et al., 2010; Farías et al., 2017) . Así, Jarisarapurin et al, (2019), demostraron que frente a H_2O_2 , OH , O_2^- y $HOCl$, el uso de extracto de fruto inmaduro de *carica papaya*, mejoró la actividad de las enzimas antioxidantes endógenas (catalasa: CAT, superóxido dismutasa: SOD, glutatión peroxidasa: GPX), en la línea celular endotelial humana E.A.hy926.

En la familia Caricaceae muchos autores han estudiado al género *Carica* como un referente de uso para diversos compuestos y lo han empleado como antimicrobiano y antioxidante. Husin, et al., (2019), estudiaron las hojas de *Carica papaya* evaluando la actividad antioxidante de extractos crudos y fracciones acuosas y etanólicas y concluyen que

el extracto acuoso presentó la mayor capacidad antioxidante; mientras que, [Aruljothi, et al. \(2014\)](#) encontraron que los extractos de hojas de *Carica papaya* presentan metabolitos secundarios que son utilizados en enfermedades infecciosas producidas por *Salmonella typhi*, el virus de la fiebre amarilla y dengue.

El género de *Vasconcellea* es integrante de la familia Caricaceae y en las Lomas de Perú, está presente una especie silvestre *Vasconcellea candicans* A. Gray, A. DC 1864, denominada (mito). Este género se está estudiando y se ha encontrado que, el látex extraído del fruto inmaduro de las *Vasconcelleas* puede tener entre 5 a 8 veces más actividad de papaína que la reportada para el látex de *Carica papaya* ([Baeza et al., 1990](#)). Específicamente los genotipos de *V. heilbornii babaco*, y *V. cundinamarcensis* tiene entre 4 y 13 veces más actividad proteolítica ([Scheldeman et al., 2002](#)), mientras que *Vasconcella candicans* puede alcanzar hasta 13.3 veces más actividad proteolítica ([Gutiérrez et al., 2017](#)).

Por otro lado, [Armas \(2014\)](#), reporta alcaloides en los extractos acuosos ácido de *V. candicans* y [Acosta, et. al., \(2015\)](#) demuestran la presencia de metabolitos secundarios, como compuestos fenólicos, alcaloides, flavonoides, triterpenos y saponinas en el fruto de *V. candicans*, recomendando así, continuar con los estudios que miden la capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC).

1.3 Justificación e Importancia

Hoy más que nunca, se hace evidente la importancia de cumplir con las prioridades que se plantea la Naciones Unidas con el objetivo 3 de los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS): garantizar una vida sana y promover el bienestar de todos a todas las edades, abordando la actual emergencia sanitaria y promoviendo poblaciones más sanas mediante estrategias que involucran una mayor concientización en los actores políticos para un acceso universal a los servicios, pero también en la población en general sobre la importancia de la prevención y el cuidado de la nutrición, especialmente en los primeros años de vida, porque

de esto se derivará una vejez sana y larga. Una dieta saludable, que incluya la ingesta de productos nutritivos y locales, no solo redundará en la disminución de enfermedades no transmisibles sino también minimizará el impacto del cambio climático sobre la seguridad alimentaria.

Los productos nativos como el “mito”, han sido descritos como fuente de antioxidantes naturales y la utilidad de este recurso puede promover su cuidado y puesta en valor, así como contribuir al reemplazo de insumos sintéticos que no favorecen la alimentación saludable. Es por ello que el objetivo del proyecto fue evaluar la capacidad antioxidante de los extractos de la pulpa del fruto inmaduro y maduro de la especie nativa *Vasconcellea candicans* “mito” como potencial aditivo natural para luego evaluar su uso en la industria alimentaria.

Los resultados de este estudio posibilitarán el uso de nuevas alternativas naturales frente a los aditivos sintéticos usados en la industria alimentaria, lo cual puede influir en el aspecto económico de los industriales y de las comunidades aledañas a su hábitat que podrían dedicarse al cultivo de este fruto, ofreciendo la oportunidad de recuperar esta especie que está en situación de Peligro Crítico (CR) según [Decreto Supremo. N° 043-2006-AG \(2006\)](#) y contribuyendo a valorar este árbol nativo.

1.4 Marco Teórico

Durante los procesos fisiopatológicos se sabe que las células humanas se exponen a los oxidantes y radicales libres, los cuales se incrementan en procesos de inflamación, alteración del metabolismo y/o exposición a la radiación ([Kasote, et al., 2015](#)), los cuales pueden alterar a los ácidos nucleicos, lípidos y proteínas, alterando el potencial redox de la célula ([Phaniendra, et al., 2015](#); [Sies & Jones, 2020](#)), por lo que actualmente la valoración y propiedades de los antioxidantes de los productos dentro de la alimentación son de interés. No sólo se desea saber qué tipo y cantidad de antioxidantes están presentes en tal o cual

alimento, sino principalmente se necesita medir cuál es la capacidad antioxidante de ese alimento y como ira cambiando esta capacidad frente a diversos factores propios del metabolismo del individuo que lo consume.

Antioxidante, según Sies (2020) son moléculas que permiten el equilibrio redox dentro de los sistemas celulares, evitando el daño oxidativo y lo componen moléculas de baja masa molecular y varios tipos de enzimas antioxidantes que junto con las anteriores forman una red antioxidante. Por lo tanto, la evaluación de la capacidad antioxidante por las pruebas de TRAP, FRAP, ORAC, ABTS, sólo evalúan a las moléculas de baja masa molecular, más no evalúan ninguna enzima.

“*La capacidad antioxidante total (CAT)* se define como el potencial de una sustancia o compuesto para demostrar su reactividad (inhibir o dificultar) frente a la oxidación de un sustrato hasta en cantidades muy pequeñas (< 1%, comúnmente 1-1,000 mg/L). Su medición es útil para valorar la calidad de un alimento, la cantidad de antioxidantes en un sistema, o la biodisponibilidad de compuestos antioxidantes en el cuerpo humano”. (Benites-Estrada, 2020).

Sin embargo, este concepto que está ampliamente utilizado por los científicos para demostrar el potencial de alguna sustancia frente a la oxidación, sólo involucra a moléculas de baja masa molecular, pero no a las enzimas y sus cofactores, por lo que según Sies (2020), debería llamarse *Capacidad antioxidante no enzimática*.

Pulpa de fruto.

En la fruta, la pulpa es la parte blanda y carnosa (tejido mesocarpio), que generalmente se come. También se define como el tejido vegetal cuyo objetivo es mejorar la dispersión de las semillas siendo importante para la nutrición. El tejido está compuesto por fibras de celulosa, hemicelulosa, lignina y pectina, las cuales son de lenta absorción, por lo que ayudan a incrementar la absorción de nutrientes, bajar el colesterol, reducir las

enfermedades cardiacas, eliminar toxinas y células cancerosas. ([Diccionario léxico \(s.f.\)](#);

[Pulpa \(s.f.\)](#))

Vasconcellea candicans “mito”

La especie *Vasconcellea candicans* (A. Gray) A. DC (Mito), según el sistema de clasificación APG IV ([The Catalogue of Life Partnership, 2017](#)), pertenece a la Clase Eudicots, Orden Brassicales, Familia Caricaceae y género *Vasconcellea* denominándose con los nombres comunes (según la zona de procedencia) como Mito, Papaya andina, Toronche, Sozoranga, Chipote o Kichwa, estando categorizada como una especie en Peligro Critico (PC) según [D.S. 043-2006-AG](#).

Potencial uso para la industria

Potencial es un adjetivo probabilístico susceptible de tener existencia de algo diferente, como usarse en la industria. En el caso del “mito” puede potencialmente ser usado en la industria, dado que al pertenecer a la familia Caricacea, en donde se ubica la papaya, la cual si se ha demostrado que tiene una Capacidad Antioxidante y que actualmente se utiliza en la industria, tiene la probabilidad de tener esa capacidad, pero primero hay que saber si lo tiene o no, y es con esta investigación y otras investigaciones que se realicen, se podrá saber qué tipo de biomoléculas presenta la pulpa madura o inmadura del “mito” que son las que le proporcionarían esa capacidad antioxidante y si sola o en conjunto con otros alimentos se conserva dicha capacidad y se podría usar en la industria cuidando la seguridad alimenticia.

1.5 Objetivos

Objetivo Principal

Evaluar la capacidad antioxidante de extractos acuosos y etanólicos de la pulpa madura e inmadura del fruto de *Vasconcellea candicans* (A. Gray) A. DC (Mito), con potencial uso como aditivo natural en la industria de alimentos, frente a la cinética de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil).

Objetivos Específicos

Evaluar la capacidad antioxidante de extractos acuosos de la pulpa de fruto inmaduro de *Vasconcellea candicans* (A. Gray) A. DC (Mito), con potencial uso como aditivo natural en la industria de alimentos.

Evaluar la capacidad antioxidante de extractos etanólicos de la pulpa de fruto maduro de *Vasconcellea candicans* (A. Gray) A. DC (Mito), con potencial uso como aditivo natural en la industria de alimentos.

Comparar la capacidad antioxidante de extractos acuosos y etanólicos de la pulpa de fruto inmaduro y maduro de *Vasconcellea candicans* (A. Gray) A. DC (Mito), y de *Carica papaya*, con potencial uso como aditivo natural en la industria de alimentos.

1. METODO

Esta es una investigación básica, por lo cual se trata de analizar la capacidad antioxidante de los biometabolitos de la pulpa del fruto inmaduro y maduro de “Mito” frente a la capacidad de captación de los radicales libres (RSC).

Por la naturaleza de los datos es una investigación de tipo cuantitativa. Los datos son numéricos y representan la capacidad de captación de los biometabolitos presentes en el extracto acuoso y etanólico de la pulpa del fruto inmaduro y maduro de *Vasconcellea candicans* (A. Gray) A. DC (Mito).

Por su estrategia, es una investigación de asociación que determinará la probabilidad de que los biometabolitos del extracto de la pulpa de los frutos inmaduros y maduros de “Mito” tengan un efecto antioxidante frente a algunos productos de la industria alimentaria.

Ámbito Espacial y Temporal del Estudio

El estudio fue ejecutando en el Laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular de la Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas de la Universidad Nacional Federico Villarreal, desde el mes de enero hasta octubre del 2022.

2.1 Universo y Muestra

Universo

Se consideran a todos los frutos maduros e inmaduros de “mito” de Santo Domingo de Los Olleros durante el periodo de enero, a marzo del 2022.

Muestra Biológica

Se recolectaron 20 frutos maduros y 20 frutos inmaduros, al azar, de 5 plantas de “mito” de Santo Domingo de Los Olleros, de los cuales se seleccionaron para el trabajo 10 frutos de cada grupo, cuyo criterio de selección fueron las características físicas que ellos tenían (ver figura 1 y tabla 1).

Unidad de análisis

Son los extractos acuoso y etanólico obtenidos de la pulpa de los frutos inmaduros y maduros de “mito” de las muestras enviadas desde Santo Domingo de Los Olleros

2.2 Instrumento y Procedimiento

Toda la data fue recolectada en una base de datos en Excel, que fue utilizada posteriormente para el análisis estadístico, donde se utilizó el mismo Excel y el Programa Estadístico R. Así, pudimos crear la base de datos de las características físicas de los frutos, contenido de humedad por el método de [AOAC #934.06 \(1990\)](#), empleando un horno y la balanza analítica (ADAM/RS232) con precisión de $\pm 0,0001$ g; contenido de proteínas soluble se determinó por el método de [Bradford \(1976\)](#) a 595 nm; los azúcares reductores por el método de [Somogy \(1952\) - Nelson \(1944\)](#) a 540 nm; la concentración de glucosa, con el kit del método enzimático (Glucosa GOD FS*, DiaSys) a 500 nm, todas estas determinaciones fueron leídas en el espectrofotómetro visible/UV (SHIMADZU/ UV-1700, 2007).

Reactivos

Agua destilada grado molecular, albumina bovina (BSA), glucosa anhidra buffer acetato de sodio pH 5, Sulfato de bario, sulfato de zinc. Todos los reactivos tuvieron un grado de pureza química (99.99%) ACS (Estándares de la American Chemical Society)

Procedimiento

Extracto del fruto inmaduro y maduro con agitación y deshidratación.

Los frutos fueron desinfectados con hipoclorito de sodio 1,5% durante 5 minutos y luego se procedió al enjuague con abundante agua de caño, el último enjuague se hizo con agua destilada estéril. Se determinó el peso utilizando Balanza analítica (ADAM/RS232, 0 g a 120 g \pm 0.0001g AE4382559, 2011), además para medir el tamaño (longitud y diámetro) se utilizó una cinta métrica y un calibre o pie de rey o Vernier; mientras que para el color se tomó en cuenta la tonalidad del color verde asociado a las clorofilas. Después se eliminó los

extremos de cada fruto y se cortó en forma longitudinal eliminando las semillas y mucílago, para posteriormente trozarlo en una licuadora (muy baja velocidad) para la extracción sólido-líquido.

Para la preparación de los extractos de cada muestra (Selvamuthukumarán & Shi, 2017; Soib, et al., 2020), se utilizó 20 g de muestra, la que se colocó en un matraz con 100 mL de agua para inyección y 20 g de muestra en otro matraz con 100 mL de etanol absoluto /acuoso al 70% (70:30), en un sistema sólido/líquido. Colocamos sobre un agitador orbital (ORBITAL GENIE 2014) a 180 rpm durante 3 horas a temperatura ambiente y luego se dejó en refrigeración entre 4 a 8°C por 15 días. Esta extracción madre, se centrifugó (HERMLE Labortechnik GmbH 2017) a 8000 x g/10 min, se midió el volumen del sobrenadante y se retiró 20 mL, el cual se evaporó en un refrigerador no frost (BOSCH/541L 2014), por 15 días (extracto deshidratado) que sirvió para calcular la materia seca del extracto y para evaluar la concentración de fenoles totales y la capacidad antioxidante. El resto del sobrenadante se guardó a -20°C para utilizarse en las otras evaluaciones.

Determinación de Proteínas (Bradford (1976)).

Tabla 1

Se preparó el reactivo de Bradford, utilizando los siguientes reactivos.*

REACTIVOS	CANTIDADES
Azul de Coomasie blue G-250 (Merck)	10 mg
Etanol 99.9% (Sigma-Aldrich)	5.0 mL
Ácido fosfórico (Merck)	10 mL
Agua para inyección	Cantidad suficiente para completar 100 mL

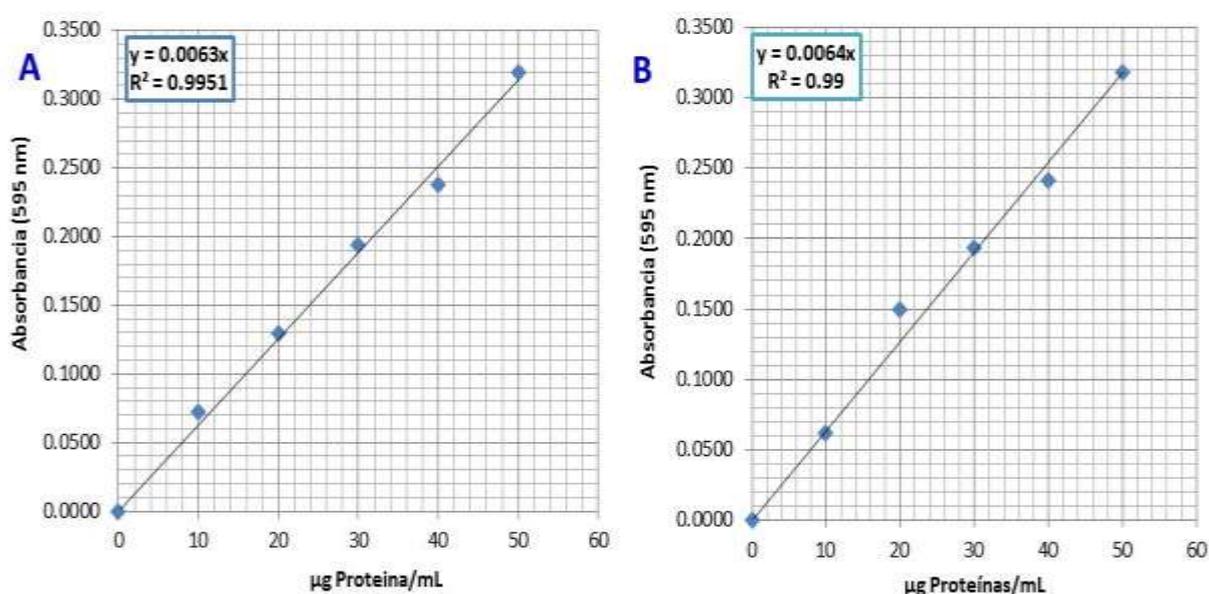
Este reactivo preparado fue probado con reactivo de Bradford que vende comercialmente Sigma-Aldrich, para comprobar las curvas patrón y ver su eficiencia. Se construyó por triplicado una curva estándar utilizando Albúmina bovina de suero (BSA), adquirida en ampollas SIGMA P0814, a una concentración de 1 mg/mL, la cual se diluye en

fiola de 10 mL completando con agua para inyección, pasando a tener una concentración de 0.1 mg/mL, con la cual se construyeron dos set de trabajo (0 a 50 $\mu\text{g/mL}$).

En la curva A, se utilizó el reactivo de Bradford que preparamos en el Laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular (LBBM) y en la curva B se utilizó el reactivo de Bradford de Sigma-Aldrich, en ambos casos las absorbancias fueron leídas en el espectrofotómetro a 595 nm, que se pueden observar en la Figura 1: A y B. Para ver la eficiencia y repetibilidad del reactivo que preparamos, se utilizó el extracto madre de pulpa de “mito” maduro e inmaduro, haciéndose 10 repeticiones, los cuales en promedio nos dieron los mismos resultados, con una desviación estándar de < 0.01 . Para la evaluación de proteínas en las muestras de este trabajo se utilizó la formula $y = 0.0063x$,

Figura 1

Curva estándar de Albúmina bovina de suero (BSA- Sigma P0814).



Nota: Elaboración propia. **A)** Se utilizó reactivo Bradford preparado en LBBM. **B)** Se utilizó reactivo Bradford comprado en Sigma-Aldrich

Determinación de Azúcares reductores (método de Somogy (1952) - Nelson (1944))

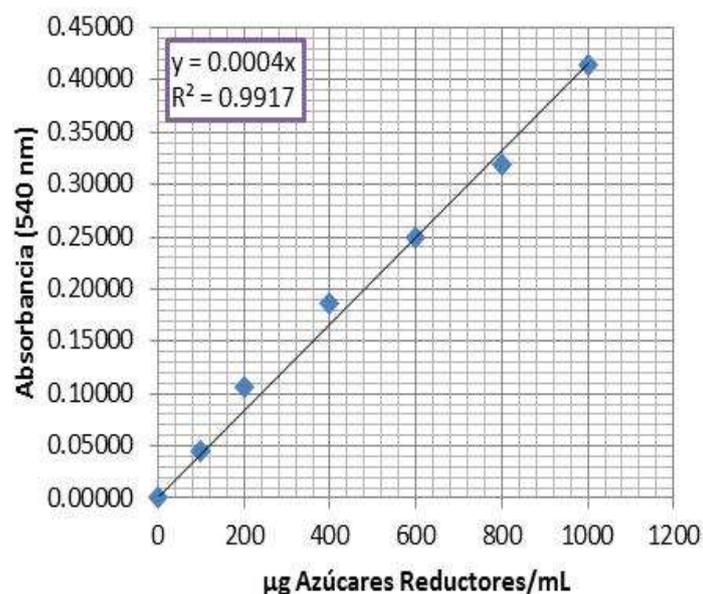
Se prepararon los reactivos de Somogy y Nelson, el estándar de Glucosa (1g/L) que representará a los azúcares reductores y los reactivos para desproteínizar en forma alcalina a las muestras.

Para la curva estándar se diluyó la glucosa en 1/10 y se preparó una curva estándar de azúcares reductores (0 a 1000 µg/mL) por triplicado, cuyos valores fueron leídos en un espectrofotómetro a 540 nm.

Las muestras son previamente desproteínizadas, utilizando 1.0 mL del extracto madre de pulpa de “mito” maduro e inmaduro, y al cual se le agrega 1.0 mL de sulfato de zinc, 1,0 mL de sulfato de bario y luego 7.0 mL de agua para inyección, en cada caso se agita por 1 minuto en vortex y luego se deja reposar por 15 minutos para centrifugar a 5000 rpm/ 5 min.

Figura 2

Curva de azúcares reductores (método Somogy-Nelson).



Nota: Elaboración propia. Se utilizó para el cálculo en muestras. Lectura 540 nm.

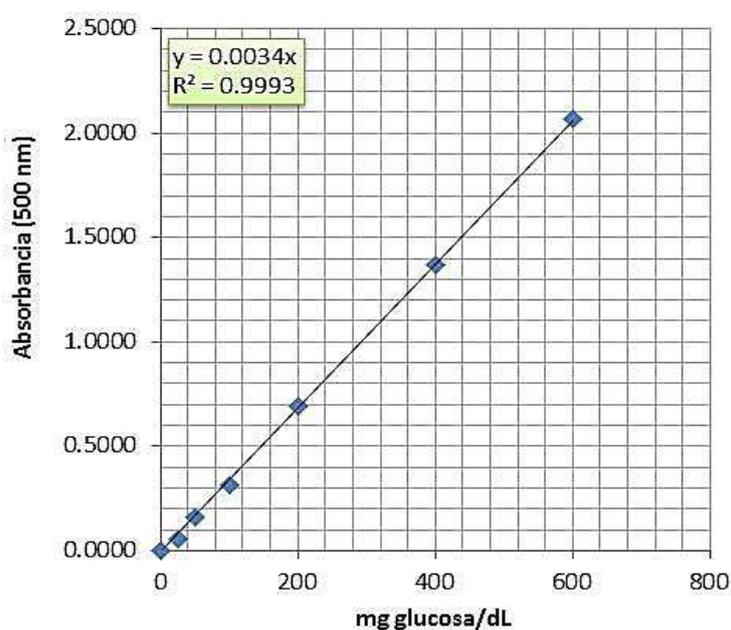
Determinación de Glucosa (método Enzimático GLUCOSA GOD FS*)

Se utilizó el kit enzimático de los laboratorios Diagnostic Systems GmbH, del cual se utilizó el reactivo R y se preparó un stock de glucosa 600 mg/dL (D+Glucosa anhidra,

PM= 180.16, Merck), con el cual se hizo una curva estándar (por triplicado) en un rango de 0 a 600 mg/dL, se utilizó 10 μ L de cada estándar y se le agregó 1.0 mL del reactivo R. Se incubo a medio ambiente por 20 minutos y se leyó a 500 nm. Los resultados generaron la curva de la figura 3, con la siguiente formula $y = 0.0034x$ y un $R^2 = 0.9993$, la cual fue utilizada en la cuantificación de los extractos.

Figura 3

Curva estándar de glucosa.



Nota: Elaboración propia. En un rango de 0 a 600 mg/dL. Se utilizó para el cálculo de muestras. Lectura 500 nm.

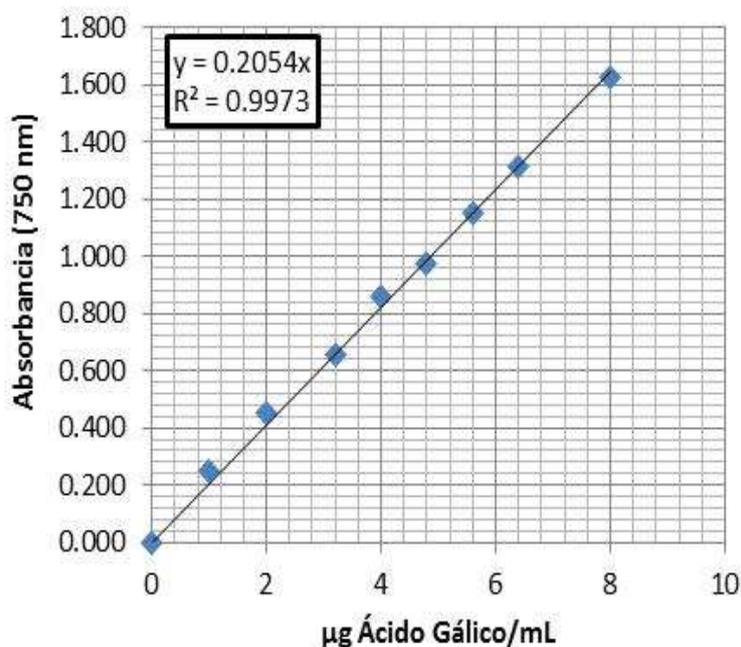
Polifenoles totales (PFT) (Método de Singleton & Rossi,1965)

Curva de Ácido Gálico para Fenoles Totales (PFT)

Se preparó la curva de ácido gálico (AG)(PM= 170.12, 98.7% Sigma-Aldrich) a partir de un stock de 0.2 g/L, cuyas concentraciones fueron de 1, 2, 3.2, 4, 4.8, 5.6, 6.4 y 8 μ g/mL y se les trato igual que las muestras. Lectura a 750 nm en lector de microplacas.

Figura 4

Curva de ácido gálico expresada en μg ácido gálico/mL.



Nota: Elaboración propia. Cuyas absorbancias fueron leídas a 750 nm, en el lector de microplacas: Accuris SmartReader 96, modelos MR9600.

Determinación del contenido polifenólico totales (TPC)

Para el contenido de polifenoles totales (TPC) se adaptó y estandarizó el método colorimétricamente utilizando el reactivo de Folin-Ciocalteu (FC) (2N, Sigma-Aldrich), según Singleton & Rossi, (1965), para su lectura en microplacas (Accuris SmartReader 96, modelos MR9600). Se tomó una alícuota de 20 μL de la solución de extracto madre a un tubo de vidrio, se le agrega 100 μL de FC (1N, diluido 1:5) reposar 5 min y luego agregarle 80 μL de Na_2CO_3 (7.5%)(PM= 105.99, 99.5%, Sigma-Aldrich), se agitó y se prosiguió con la reacción en oscuridad por 100 minutos, después del cual se leyó la absorbancia a 750 nm en el lector de microplacas y se utilizó la siguiente formula $y = 0.2054x$ extraída de la curva de calibración de ácido gálico (A), para las muestras acuosas y la formula $y = 0.1984x$, extraída de la curva de calibración de ácido gálico (B), para las muestras etanol:agua (70:30). Los

resultados se expresaron como Fenoles Totales (μg Ácido Gálico/g Extracto M.S) (μg ácido gálico por gramo de extracto materia seca). Todas las mediciones se realizaron por triplicado.

Determinación de la capacidad de radicales libres

Ensayo de la Actividad Antioxidante por DPPH

Para evaluar la actividad antioxidante a través de la captación de radicales (CRL), se estandarizó el método reportado por [Kedare, & Singh, \(2011\)](#). Se preparó una solución de DPPH 0.1mM en etanol 96%, la cual se agitó /40 min, para su completa dilución (mantenerse en oscuridad y prepararse antes de su uso). Luego se preparó el siguiente coctel en una cubeta de cuarzo: 1.0 mL de DPPH 0.1mM.+50 μL del extracto deshidrato de pulpa (equivalente a 4 mg). Se anotó la absorbancia del DPPH antes de agregar la muestra (tiempo cero = t_0) y luego se anotó la lectura a los 30 min (tiempo final = t_f) a 517 nm. Los valores del porcentaje de Captación de Radicales Libres (CRL_t) se obtuvieron con la siguiente ecuación:

$$CRL_t (\%) = [1 - A_t/A_0] \times 100$$

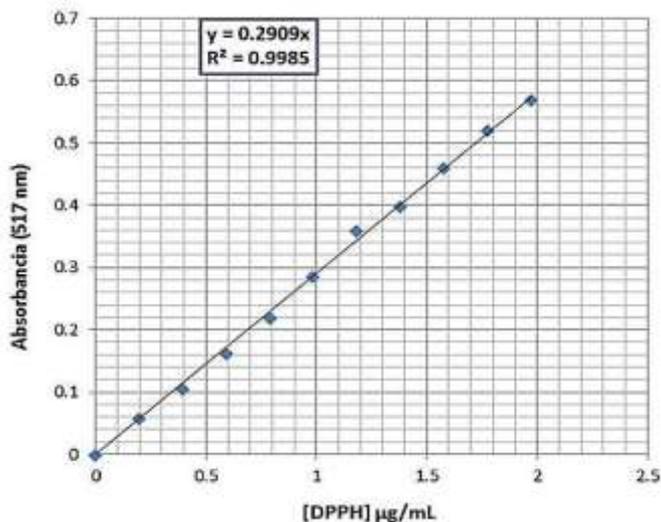
Dónde: A_t/A_0 = Absorbancia del extracto de mito y la solución DPPH en el tiempo de reacción t_0 y $t_{30 \text{ min}}$

Curva de DPPH.

Para obtener la concentración real de DPPH (PM = 394 g/mol, 95%, Sigma-Aldrich) se construyó una curva de calibración en el rango de 0 a 300 μM , en etanol 96% (PM =46.05; 99.5%, Sigma Aldrich). Se utilizó como blanco, etanol 96%. Lectura fue a 517 nm. La figura 5 nos muestra la curva obtenida con la ecuación $y = 0.2909$ con un $R^2 = 0.9985$ para asegurarnos que las concentraciones de DPPH utilizada en nuestro experimento siguen una constante lineal a medida que aumentamos la concentración del DPPH.

Figura 5

Curva de calibración de DPPH, lecturas registradas a 517 nm.



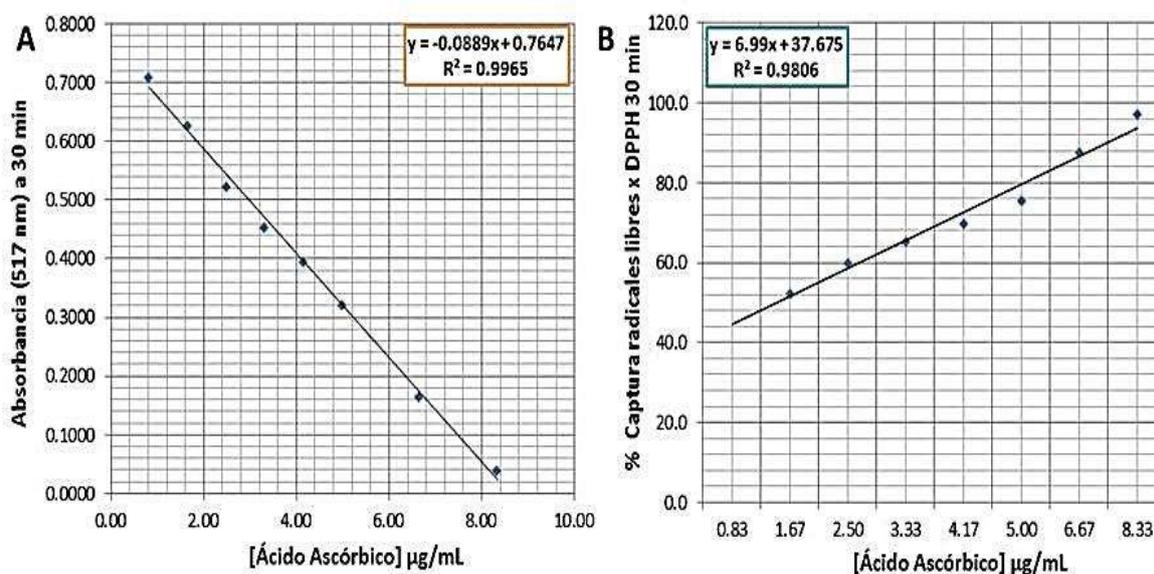
Nota: Elaboración propia.

Curva de Ácido Ascórbico para DPPH

Se preparó una solución stock con 25 mg de ácido ascórbico (P.M.= 176.13, 99.0%, CDH= Central Drug House) en alcohol etílico al 96% de 0.83, 1.67, 2.5, 3.33, 4.17, 5.0, 5.83, 6.67, 7.5 y 8.33 µg/mL. Blanco con etanol 96%. Lectura fue a 517 nm.

Figura 6

Curva de calibración equivalente a Ácido Ascórbico para DPPH (AAEC-DPPH), lecturas registradas a 517 nm. A) Absorbancia vs. Concentración AA, B) Porcentaje de captura de radicales libres del AA por el DPPH.



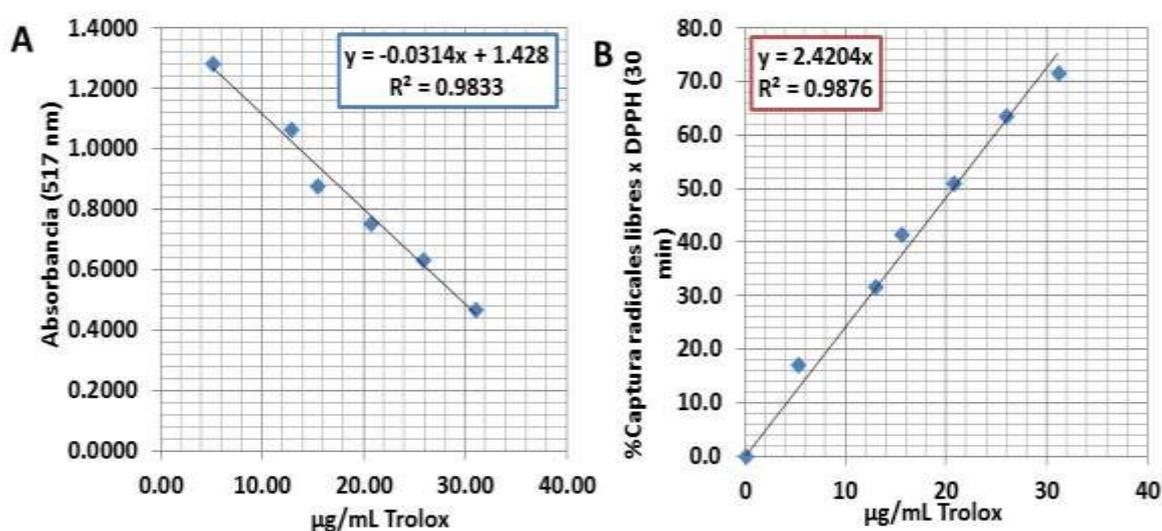
Nota: Elaboración propia.

Curva de TROLOX para DPPH

Se preparó una solución stock de 5 mM de trolox (PM = 250.29 g/mol, 97%, Sigma-Aldrich) en etanol 96%. Esta se diluyó 1:5 y se preparó una curva de calibración con concentraciones de 20, 60, 80, 100, 120 y 140 μM . Blanco con etanol 96%. Lectura fue a 517 nm.

Figura 7

Curva de calibración equivalente a TROLOX para DPPH (TroloxEC-DPPH), lecturas registradas a 517 nm



Nota. Elaboración propia.

Análisis estadístico

Los datos fueron sometidos a un análisis de varianza unidireccional (ANOVA), el análisis de regresión y correlación de Pearson, usando el software estadístico R. Para analizar la distribución de los datos de cada variable se utilizó la Prueba de Kolgomorov, Anderson Darling y Shapiro-Wilk. Los datos que presentaron diferencias estadísticas, o sea que tuvieron un $p < 0,05$ y/o $p < 0,01$, se les aplicó la prueba T de Student. La prueba no paramétrica de Mann-Whitney ($p \leq 0.05$) y el coeficiente de correlación de Pearson se utilizó en el análisis bivariado. Para el análisis multivariado se utilizó el modelo de regresión lineal múltiple.

2. RESULTADOS

En la tabla 2 se muestra los promedios de todas las características físicas evaluadas, tanto de los frutos maduros e inmaduros, los cuales guardaron homogeneidad. Así mismo, la figura 9 nos muestra la distribución de algunas características físicas de los frutos de mito maduro, mostrándonos la media (____), el límite superior (-----) y límite inferior (-----), de su distribución, para asegurarnos la homogeneidad de la muestra.

Frutos cuya longitud fluctúan entre 12.44 – 13.42 cm, con un diámetro entre 21.98 – 24.24 cm, sin diferencias significativas entre maduros e inmaduros y con un peso total 254.07 g frutos maduros y 272.5 g frutos inmaduros con una diferencia de $p < 0.5$.

Los frutos cuya longitud fluctúan entre 12.44 – 13.42 cm, con un diámetro entre 21.98 – 24.24 cm, sin diferencias significativas entre maduros e inmaduros y con un peso total 254.07 g frutos maduros y 272.5 g frutos inmaduros con una diferencia de $p < 0.5$.

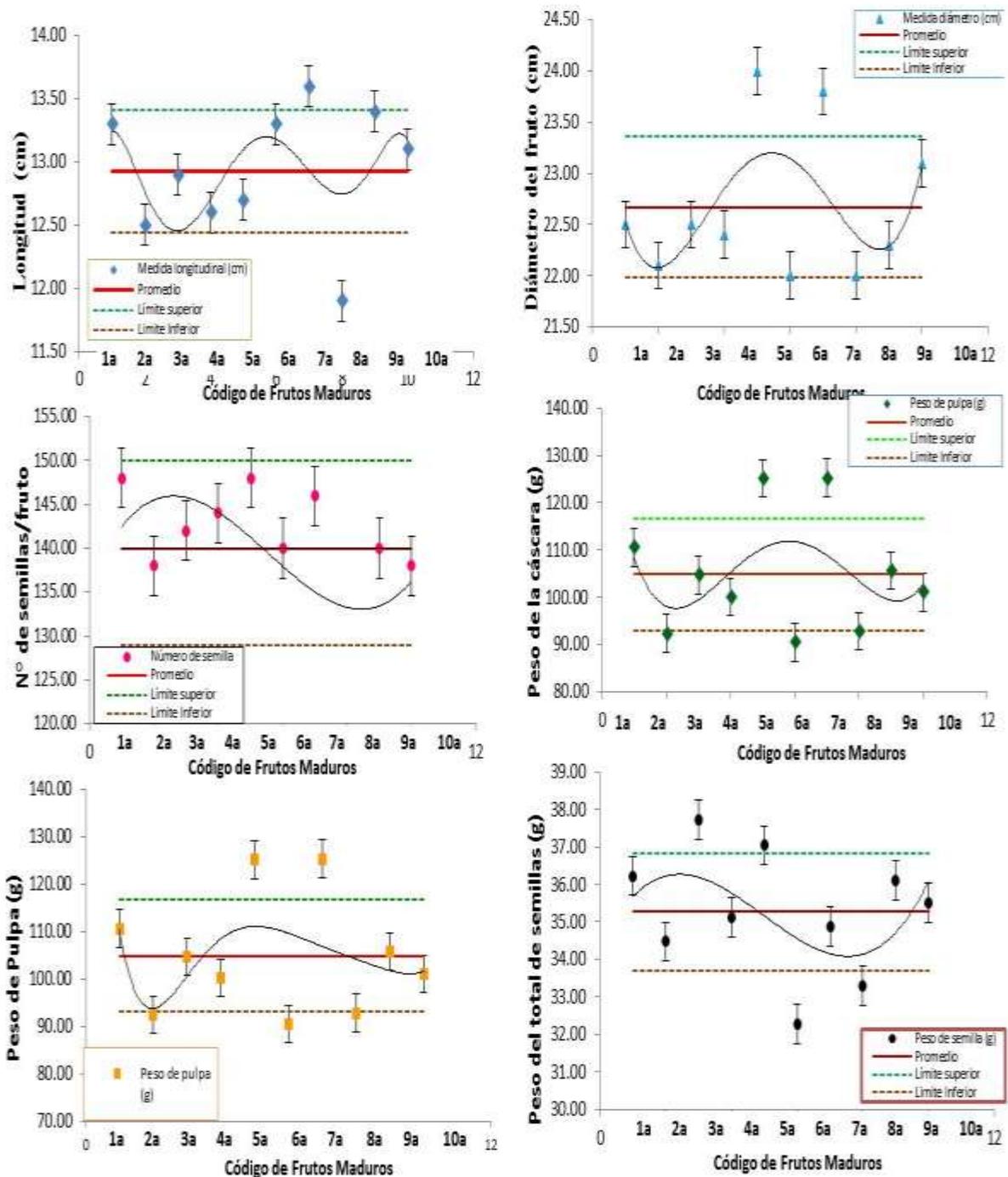
Tabla 2

Promedio de las características de los frutos Vasconcellea candicans (A. Gray) A. DC (mito), Maduros (M) e Inmaduros (I).

	Medida longitudinal (cm)	Medida diámetro (cm)	Peso Total (g)	Peso Cáscara (g)	Peso de pulpa (g)	Peso de semilla (g)	Número de semilla	Aspecto de la semilla	
<i>Promedio</i>	12.93	22.67	254.07	112.06	104.83	35.26	139.50	rugosa	FRUTOS MADUROS (FMMito)
<i>STDEVP</i>	0.49	0.69	17.72	9.11	11.84	1.57	10.15		
<i>Limite mayor</i>	13.42	23.36	271.79	121.17	116.67	36.83	149.65		
<i>Limite menor</i>	12.44	21.98	236.34	102.95	92.99	33.69	129.35		
<i>Promedio</i>	13.09	23.33	272.50	117.50	114.97	35.28	146.20	rugosa	FRUTOS INMADUROS (FIMito)
<i>STDEVP</i>	0.40	0.91	26.77	9.82	18.80	4.87	6.88		
<i>Limite mayor</i>	13.49	24.24	299.27	127.32	133.77	40.15	153.08		
<i>Limite menor</i>	12.69	22.42	245.73	107.69	96.17	30.41	139.32		

Figura 8

Distribución de los características de los frutos de Vasconcellea candicans (A. Gray) A. DC (mito), maduros e inmaduros obtenidos después de seguir el protocolo de desinfección.



Nota. Elaboración propia en base a la data recogida y almacenada en nuestra base de datos.

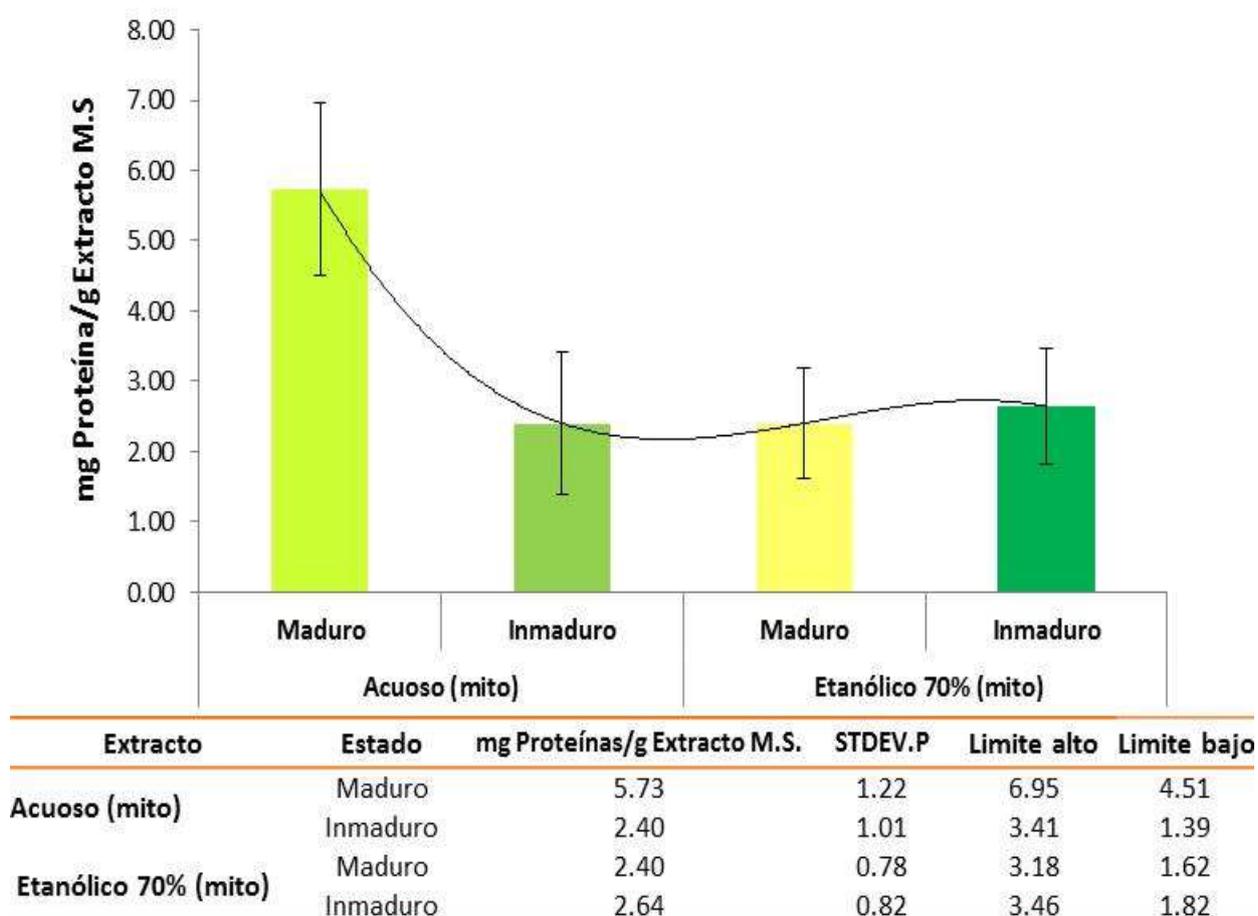
Luego de la homogeneidad de la muestra (frutos de mito), se siguió el protocolo del Anexo 1, para obtener los extractos de pulpa, de cada fruto, con dos solventes: agua (extracto acuoso) y etanol:agua en una proporción de 70:30 (extracto etanólico 70%), siendo estas las unidades de análisis.

3.1 Proteínas solubles (Método de Bradford, 1976)

Después de comprobar que nuestro reactivo de Bradford preparado en el LBBM con la ecuación $y=0.0063x$, con un $R^2= 0.9951$ y margen de error en las repeticiones $\leq 0.1\%$, frente al reactivo de Bradford (Sigma-Aldrich), se procedió a evaluar todos las muestras obteniéndose los resultados mostrados en la figura 9, donde podemos observar que el extracto acuoso de pulpas de frutos maduros presentaron la mayor concentración de proteínas solubles (5.73 mg Proteína/g Extracto M.S.), con una diferencia de $p<0.01$, no encontrándose diferencias significativas entre los otros extractos y estado de madures.

Figura 9

Valores Promedios de Proteínas (mg Prt/g extracto M.S.) de todos los extractos de pulpa de mito maduros e inmaduro de *Vasconcellea candicans* (A. Gray) A. DC (mito).



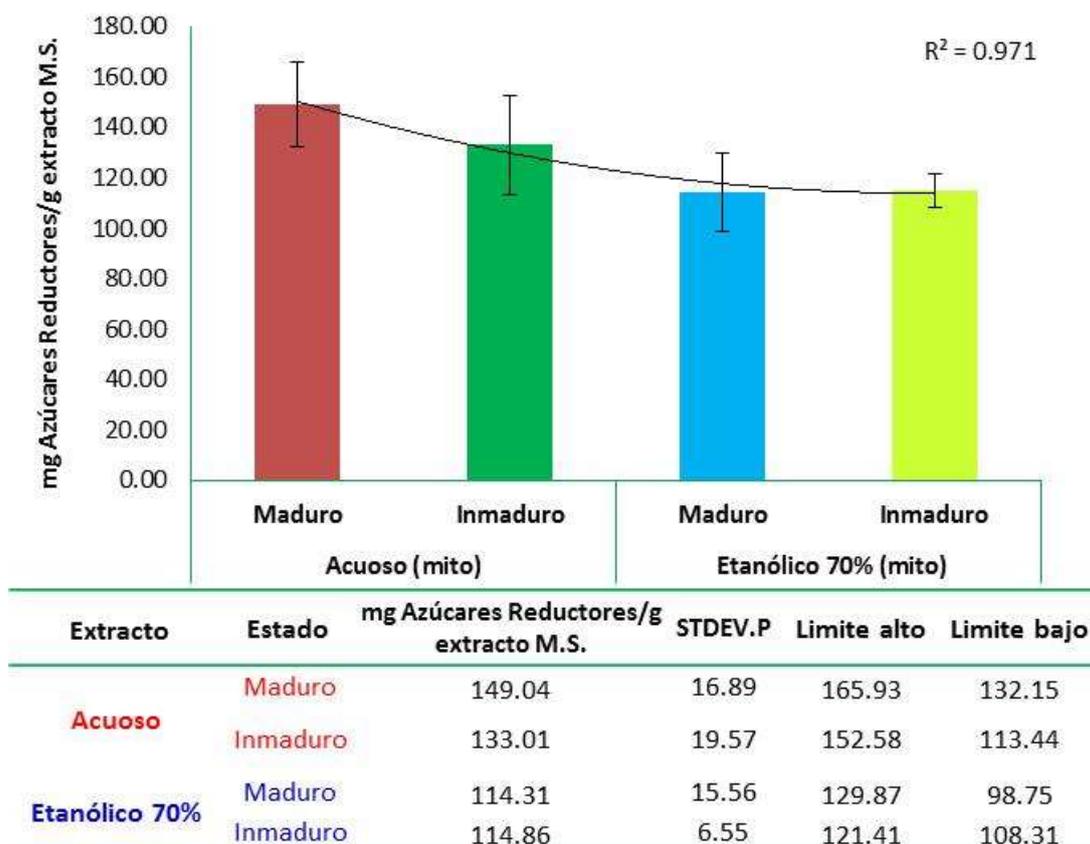
Nota. Elaboración a partir de la data de datos que se obtuvo de las determinaciones.

3.2 Azúcares reductores (Método de Somogy (1952) - Nelson (1944))

A todos los extractos se les cuantificó la cantidad de azúcares reductores, encontrándose que hay diferencia significativa ($p < 0.5$) entre los tipos de solvente (ver figura 10), así los extractos acuosos contienen mayor concentración de azúcares reductores que los etanólicos, sin embargo no se encontraron diferencias significativas entre los estados de madures.

Figura 10

Valores Promedios de azúcares reductores (mg AR/g extracto M.S.) de todos los extractos de pulpa de mito maduros e inmaduro de *Vasconcellea candicans* (A. Gray) A. DC (mito).



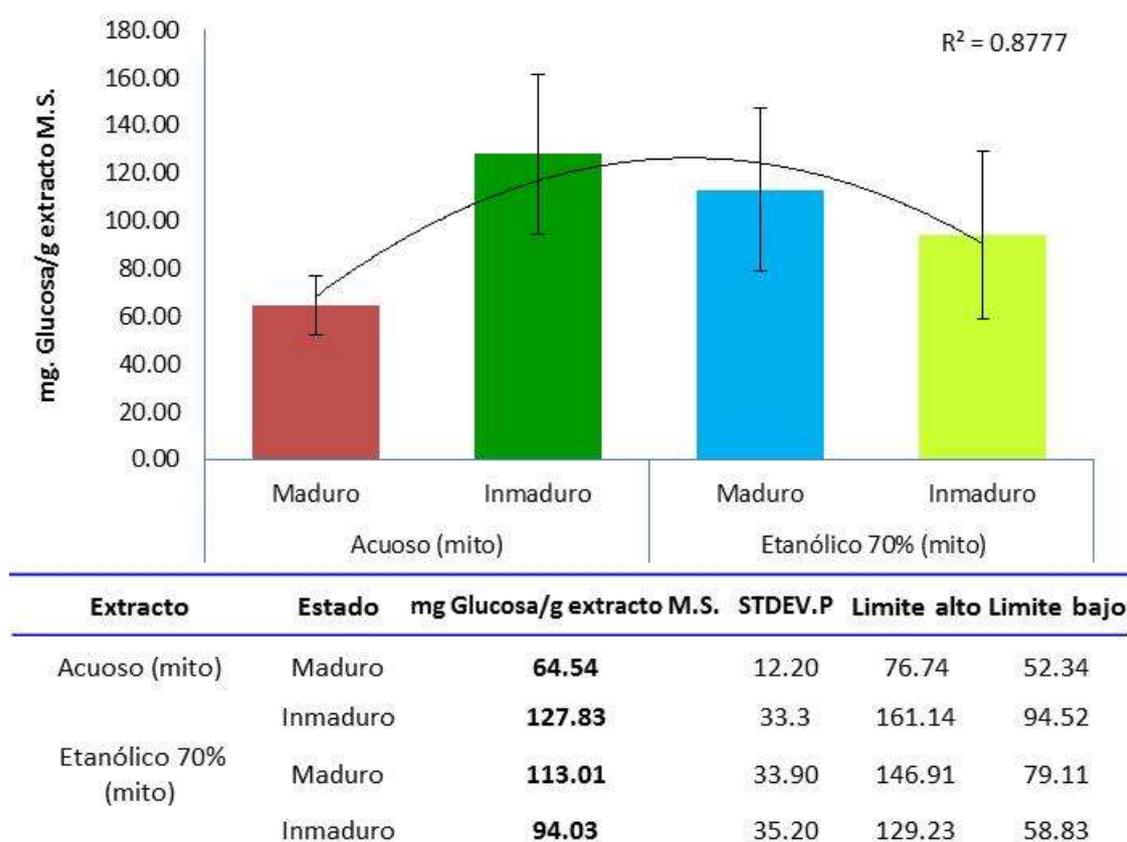
3.3 Glucosa (Método enzimático)

Todos los extractos fueron evaluados, observándose que la concentración de glucosa fue mayor en el extracto acuoso de los frutos inmaduros (127.83 g Glu/g Extracto M.S.), y

menor en el extracto acuoso de los frutos maduros (64.54 g Glu/g Extracto M.S.), con una diferencia significativa $p < 0.01$. Sin embargo, en los extractos etanólicos, los frutos maduros alcanzaron niveles de 113.01 g Glu/g Extracto M.S., mientras que los niveles en los frutos inmaduros fue de 94.03 g Glu/g Extracto M.S.)

Figura 11

Valores Promedios de glucosa (mg Glu/g extracto M.S.) de todos los extractos de pulpa de mito maduros e inmaduro de *Vasconcellea candicans* (A. Gray) A. DC (mito).



Nota: Elaboración propia

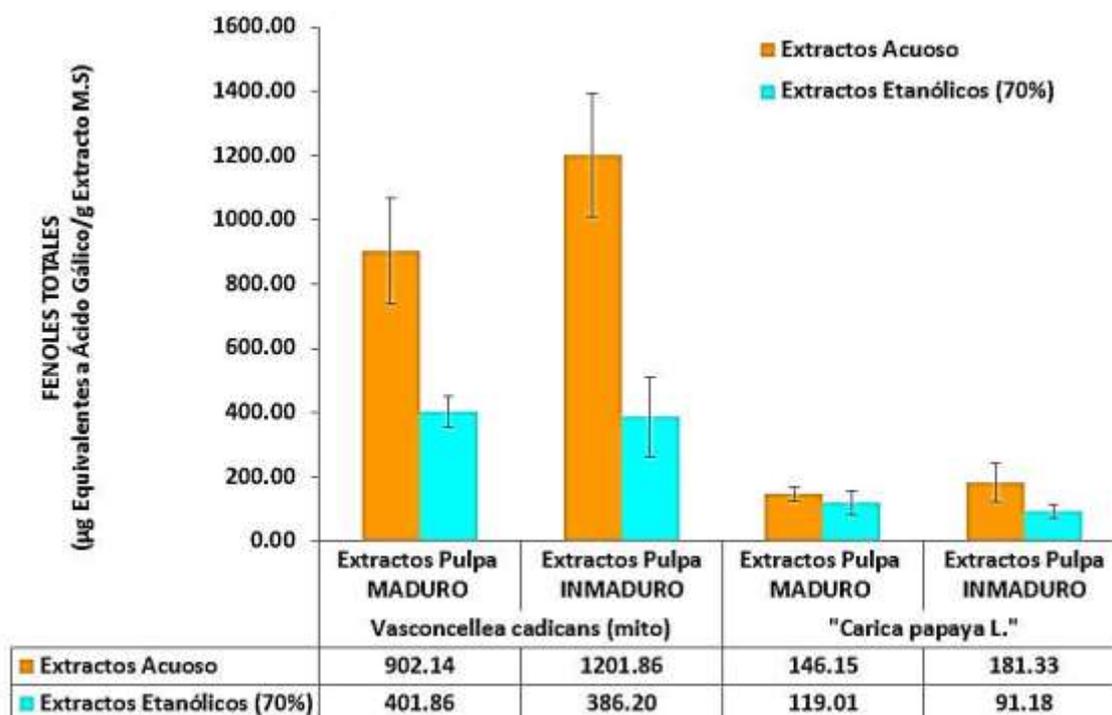
3.4 Polifenoles totales (PFT) (Método de Singleton & Rossi, 1965)

En la figura 12 se puede observar que la concentración de fenoles totales fue significativamente mayor ($p < 0.05$) en la pulpa inmadura del extracto acuoso de mito (1,201.86 μg Eq. AG/g de extracto M.S.) y de papaya (181.33 μg Eq. AG/g de extracto M.S.), sin embargo, se puede apreciar que la diferencia entre ambos estados de madures en

ambos géneros son muy altas ($p < 0.001$). También podemos observar que no existe diferencias significativas entre los estados de madures de los extractos etanólicos, aunque si hay diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los géneros, así, mito tiene entre 401.86 – 386.20 $\mu\text{g Eq. AG/g}$ de extracto M.S, mientras que papaya tiene entre 119.01 – 91.18 $\mu\text{g Eq. AG/g}$ de extracto M.S.

Figura 12

Valores promedios de Fenoles totales (μg Ácido Gálico/g Extracto M.S) en todos los extractos de pulpa de mito maduros e inmaduro de *Vasconcellea candicans* (A. Gray) A. DC (mito) y de *Carica papaya* L. (papaya).



Nota: Elaboración propia.

3.5 Determinación de la capacidad de radicales libres

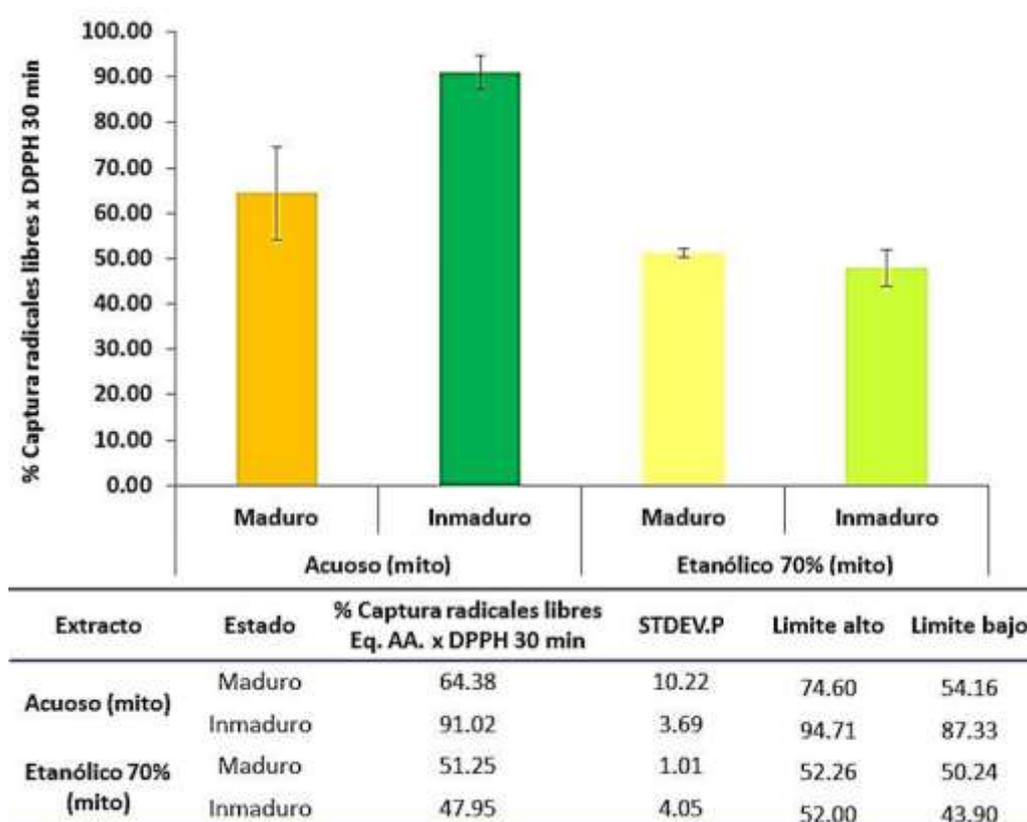
3.5.1 Capacidad Antioxidante por DPPH utilizando como equivalente Ácido Ascórbico

Se evaluaron las muestras de extracto, utilizando la curva de calibración equivalente a Ácido Ascórbico para DPPH (AAEC-DPPH) (figura 6), mediante la cual se pudo calcular el porcentaje de captación de radicales libres de los extractos por el DPPH, utilizando como

equivalente al ácido ascórbico. Los resultados de la figura 13, nos muestra que la mayor capacidad de captación fue de los extractos inmaduros acuosos de la pulpa de mito (91.02%) y la menor captación fue de los extractos inmaduros etanólicos de pulpa de mito (47.95%).

Figura 13

Porcentaje promedio de la captura de radicales de los extractos de la pulpa de Vasconcellea candicans A. Gray A.DC (mito), utilizando la ecuación de curva de calibración de equivalente a Ácido Ascórbico para DPPH (AAEC-DPPH).



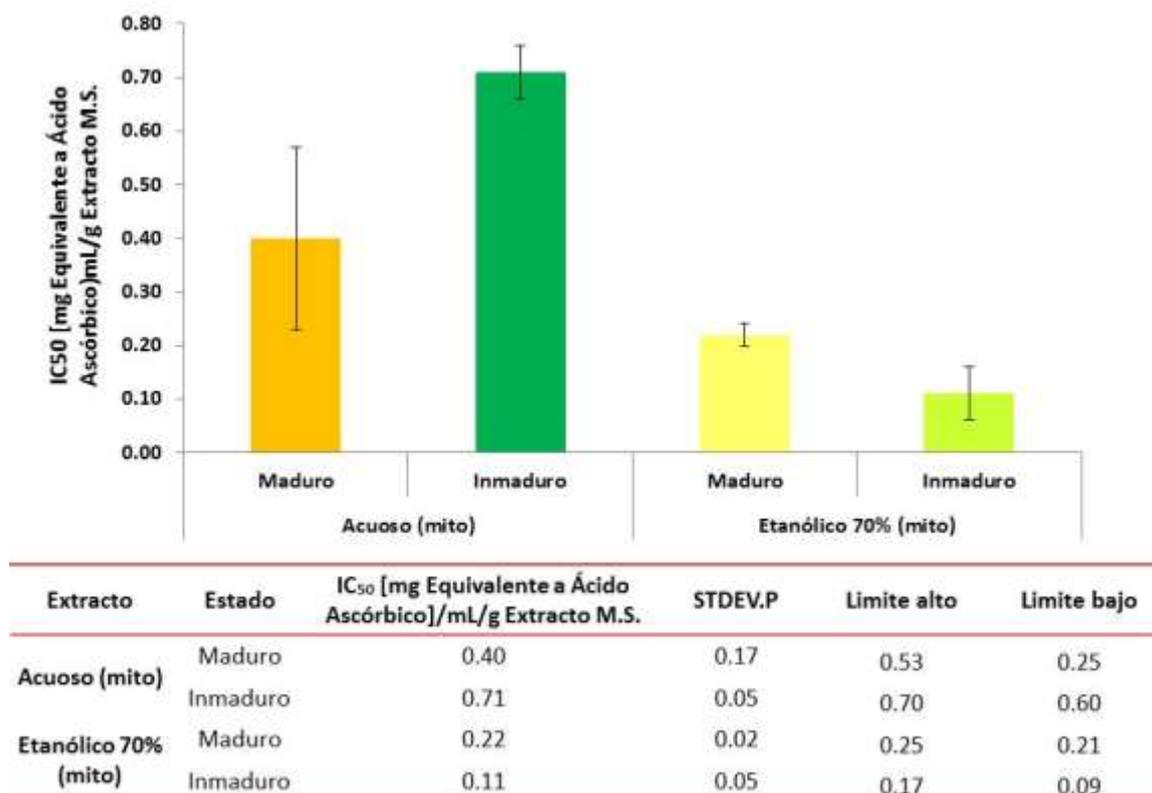
Nota: Elaboración propia.

En la figura 14, se observa que el Coeficiente de inhibición (IC50) calculado desde la ecuación de regresión (figura 6, B), nos indica la concentración de extracto necesario para inhibir el 50% de la captura del radical por DPPH, así de los extractos de pulpa inmadura acuosa de mito se requiere 0.65 mg. Eq. AA/mL/g extracto M.S. siendo las más altas, mientras que de los extractos de pulpa de mito inmaduros etanólicos, se requiere 0.13 mg. Eq

AA/mL/g extracto M.S.) para inhibir el 50% de la captura del radical por DPPH, valor más bajo.

Figura 14

Promedio de los coeficientes de inhibición (IC₅₀) de los extractos de pulpa de mito maduros e inmaduro de *Vasconcellea candicans* (A. Gray) A. DC (mito).



Nota: Elaboración propia.

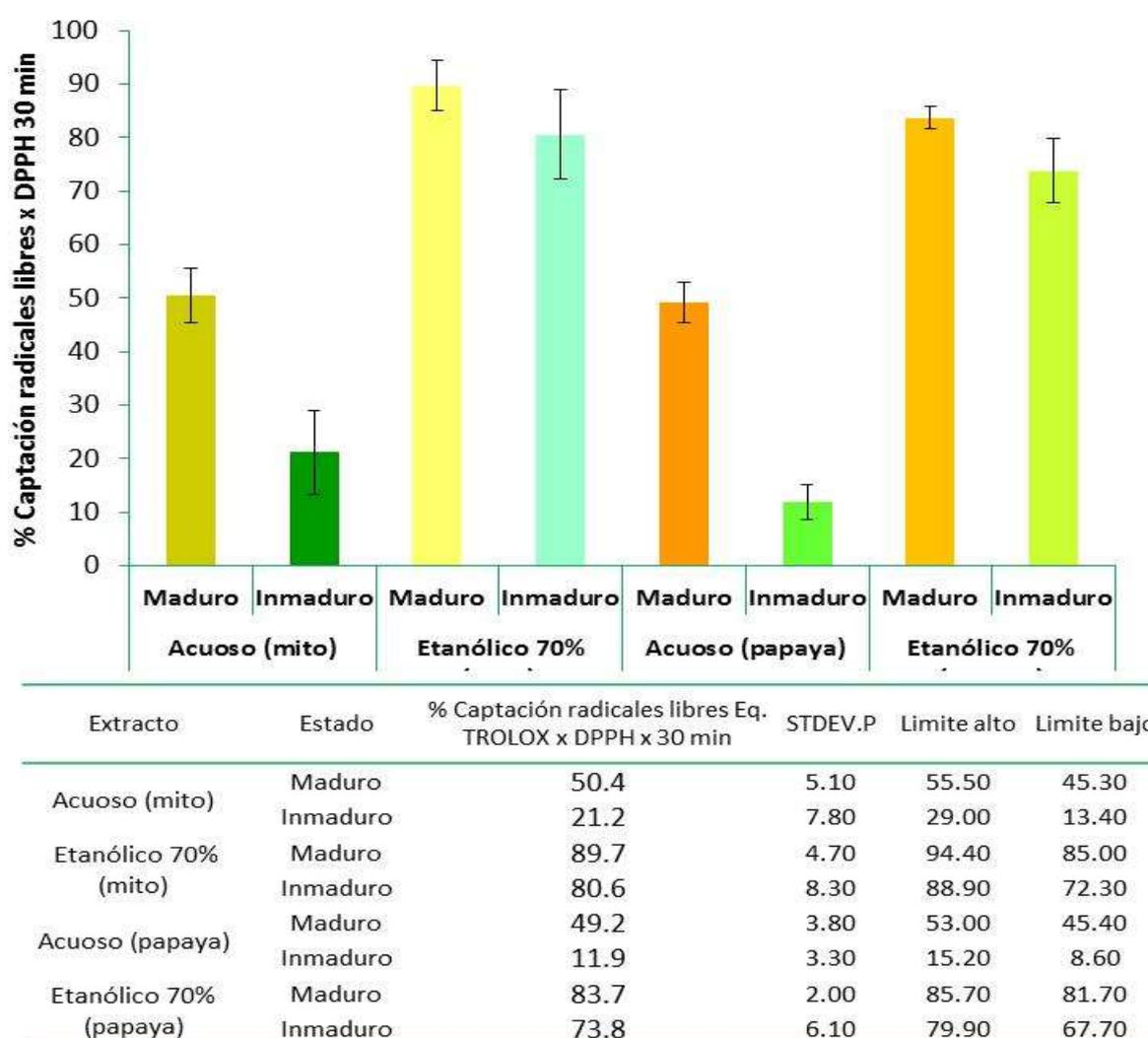
3.5.2 Capacidad Antioxidante por DPPH utilizando como equivalente Trolox (T),

Se evaluaron las muestras de extracto, utilizando la curva de calibración equivalente a Trolox para DPPH (TEC-DPPH) (figura 7), mediante la cual se pudo calcular el porcentaje de captación de radicales libres de los extractos por el DPPH, utilizando como equivalente al trolox. Los resultados de la figura 15, nos muestra que la mayor capacidad de captación fue de los extractos maduros etanólicos de la pulpa de mito (89.7%) y la menor captación fue de los extractos inmaduros acuosos de pulpa de mito (21.2%). En ambos casos estos valores

fueron superior a los encontrados en extractos de pulpa de papaya, 83.7% ($p < 0.05$) y 11.9% ($p < 0.01$) respectivamente.

Figura 15

Porcentaje promedio de la captura de radicales de las muestra de los extractos de pulpa maduros e inmaduro de *Vasconcellea candicans* (A. Gray) A. DC (mito) y de *Carica papaya* L. (papaya), utilizando la ecuación de la curva de calibración equivalente a Trolox para DPPH (TEC-DPPH).



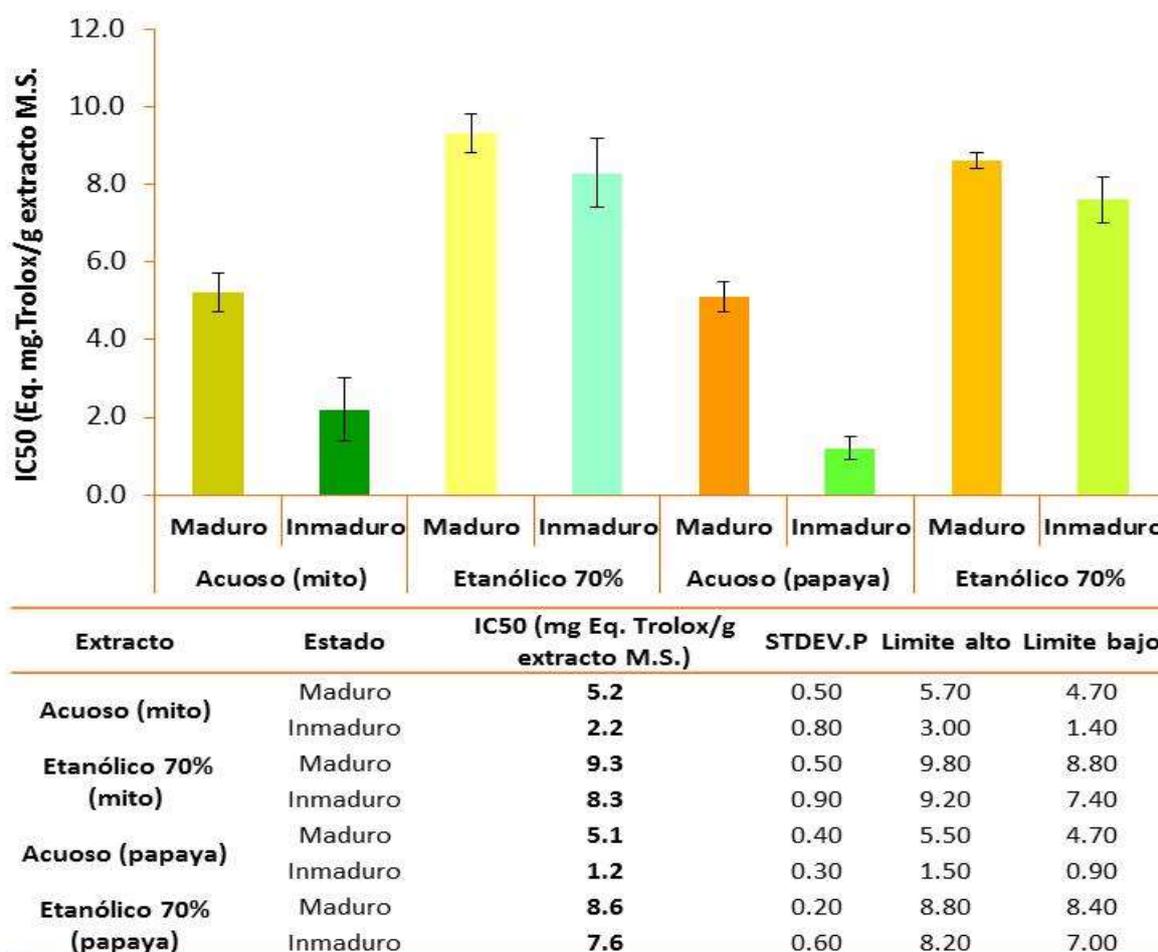
Nota: Elaboración propia.

En la figura 16, se observa que el Coeficiente de inhibición (IC50) calculado desde la ecuación de regresión (figura 7, B), nos indica la concentración de extracto de mito y de

papaya necesario para inhibir el 50% de la captura del radical por DPPH. Así, los extractos de pulpa madura etanólica de mito requiere 18.2 mg. Eq. T/g extracto M.S. siendo las más altas, mientras que los extractos de pulpa de mito inmaduros etanólicos, se requiere 1.4 mg. Eq T/g extracto M.S.) para inhibir el 50% de la captura del radical por DPPH, siendo las más bajas. En los extractos de papaya los valores respectivos fueron de 8.6 y 1.2 mg. Eq. T/g. extracto M.S, siendo estos más bajos que para la pulpa de mito.

Figura 16

Promedio de los coeficientes de inhibición (IC50) de todos los extractos de pulpa de mito maduros e inmaduro de *Vasconcellea candicans* (A. Gray) A. DC (mito) y de *Carica papaya* L. (papaya).



Nota: Elaboración propia.

3. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Esta investigación tenía como objetivo principal evaluar la capacidad antioxidante de la pulpa de *Vasconcellea candicans* A.Gray A. DC (mito), para saber si sus biometabolitos secundarios aporten antioxidantes para proteger la oxidación, ya que estos tienen la capacidad de neutralizar los radicales libres (Addai y col., 2016; Ashgar y col., 2016). Para ello preparamos dos tipos de extractos: uno acuoso que es el más común en la alimentación y el otro etanólico (etanol:agua (70:30)).

Los extractos evaluados contienen biometabolitos primarios como glucosa, azúcares reductores, proteínas y biometabolitos secundarios como los fenoles totales y difieren según el tipo de extracción. Así, la concentración de glucosa frente a la concentración de fenoles presentan una correlación lineal en los extractos acuosos, siendo de 87% (maduros) y 91% (inmaduros) mientras que en los extractos etanólicos la correlación lineal fue de 71% (maduros) y de 79% (inmaduros), siendo mayores en los frutos inmaduros (Anexo 2). Por otro lado, los azúcares reductores también presentaron una correlación lineal positiva con la concentración de fenoles (Anexo 3), así en los frutos del extracto acuoso fue de 83% (maduros) y 88% (inmaduros), mientras que en el extracto etanólico fue de 96.5% (maduros), encontrándose una correlación polinomial de 88.8% en los frutos inmaduros (Anexo 3).

Los resultados anteriores tiene relación con los encontrado por Boss et al., (1996), Álvarez-Herrera et al., (2009) y Serrano (2014) quienes afirman que durante el desarrollo de los frutos la concentración de glucosa y fructosa se incrementa en forma paralela a las antocianinas, a lo cual, Boss et al., (1996) y Serrano (2014) sugieren que estos biometabólitos primarios (glucosa, fructosa, sacarosa) son iniciadores y reguladores de la síntesis de biometabolitos secundarios como las antocianinas, y que según Camacho et al., (2015) estas presentan una correlación positiva con respecto a la concentración de fenoles, actuando en forma sinérgica frente a la capacidad antioxidante.

En cuanto a las proteínas solubles en los extractos, asumimos que las cuantificadas en los extractos acuosos son albúminas y las del extracto etanólico al 70% son principalmente del grupo de las prolaminas, por el extractante utilizado según [Osborne \(1924\)](#). Al correlacionar linealmente las proteínas solubles de las pulpas de mito con la concentración de fenoles, encontramos que en extractos acuoso estas eran de 90% (maduros) y 81% (inmaduros); mientras que en extractos etanólicos estas fueron de 56% (maduros) y 86.5% (inmaduros) y aunque la concentración de proteínas en las frutas es muy pequeña, estas pueden contribuir con la dieta del hombre, así podemos decir que 100 g de pulpa de papaya contribuye con 0.6 g de proteínas ([Farhan Saeed et al., 2014](#)), mientras que 100 g de extracto acuoso M.S. de pulpa de mito puede contribuir con 0.57 g de proteínas solubles (convertidos de 5.73 mg de proteínas/g extracto pulpa mito M.S.), según nuestros resultados.

Por otro lado, la concentración de fenoles en estado fresco concuerda con los encontrados por [Auquiñivin & Paucar \(2020\)](#) en la “papayita de monte” (*Carica pubescens* Lenné & K. Koch), quienes reportan para la pulpa fresca una media de 1.43 ± 0.02 mg AGE/g muestra, lo cual en forma general concuerda con nuestros datos para *V. candica* “mito” (1.201 mg Equivalentes a Ácido Gálico (EAG)/g Extracto Acuoso M.S en el estado inmaduro, y 0.902 mg Equivalentes a Ácido Gálico (EAG)/g Extracto Acuoso M.S en estado maduro). Mientras que, [Morocho \(2017\)](#) encuentra en *Vasconcellea × heilbornii* que la concentración de polifenoles fluctúa entre 7.26 a 8.54 mg Equivalentes a Ácido Gálico (EAG)/g fruto inmaduro y entre 9.19 a 10.39 mg Equivalentes a Ácido Gálico (EAG)/g fruto maduro, indicando que esta fluctuación no solo se debe al estado de madures, sino a la región de donde fueron cosechados los frutos, concluyendo que no sólo influye el método de extracción e incluso las condiciones del cultivo de las frutas.

Utilizando dos tipos de solventes para evaluar fenoles totales en *V. candica* “mito”, encontramos diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los solventes agua y etanol 70%, así, en

los extractos etanólicos son menores en los extractos acuosos, pero sin diferencias significativas entre el estado de madures en estos últimos. Esto puede deberse a la polaridad del extractante y de los polifenoles que está influenciado por la cadena carbonada y/o grupo polar en su estructura (Hernandez-Madrigal et al., 2020). En nuestro estudio el mejor solvente para cuantificar los fenoles totales de la pulpa de mito ha sido el acuoso, por lo que creemos que deben tener fenoles más polares ya que se han solubilizado mejor en el agua, lo cual se observó al correlacionar la concentración de Fenoles totales con biometabolitos primarios como glucosa (Anexo 1), azúcares reductores (Anexo 2) y proteínas solubles (Anexo 3).

Al evaluar la capacidad antioxidante de la pulpa de mito según el extractante y estado de madures, encontramos que el porcentaje (%) de Captación de radicales libres o % de inhibición Equivalente a Ácido Ascórbico por DPPH a los 30 min, con un $p < 0.05$, para los extractos de pulpas acuosas fue mayor (inmaduras 91.02% y maduras 64.38%) que para los extractos de pulpas etanólicas al 70% (inmaduras 47.95% y maduras 51.25%), lo que nos demuestra que el estado de madures y el solvente de extracción influyen en la evaluación de este parámetro. Morocho, (2017) al estudiar a *Vasconcellea × heilbornii* encontró que la capacidad antioxidante en los frutos maduros de diferentes regiones varía entre 27.45 a 60 % y en los frutos inmaduros esta capacidad varía entre 75.10 a 79.02%, no encontrándose una correlación con la concentración de fenoles totales, lo que nos indica que el lugar de procedencia de las muestras también influyen.

Por otro lado, la capacidad antioxidante de la pulpa de *Vasconcellea candica* “mito” expresada como % Captación de radicales libres Equivalente a Trolox por DPPH a los 30 min y con un $p < 0.05$, fue mayor en las pulpas etanólicas (maduras 89,7% e inmaduras 80.6% sin diferencias significativas entre ellas) frente a las pulpas acuosas (maduras 50.4% e inmaduras 21.2%, con diferencias significativas), lo cual nos indica que este estándar (Trolox) refleja la presencia de los antioxidantes en soluciones hidroalcohólicas como el etanol al 70%, en

mayor proporción que las soluciones acuosas, dado que como lo demuestra [Aguedo, et al., \(2008\)](#), la composición de los extractos varían según la polaridad y el tiempo de extracción. Cuando comparamos la capacidad antioxidante de mito frente a la de papaya, se observa que hay diferencia significativa ($p < 0.05$) sólo con respecto al estado inmaduro acuoso que solo alcanzo el 11.9%.

La concentración media inhibitoria (IC_{50}) de la pulpa de *Vasconcellea candica* “mito” con el equivalente a Ácido Ascórbico es mayor en los extractos acuosos, dado que se requiere 0.40 mg Eq a AA/mL/g extracto maduro M.S. y 0.71 mg Eq a AA/mL/g extracto maduro M.S., mientras que para los extractos etanólicos al 70% se requiere 0.22 mg Eq a AA/mL/g extracto maduro M.S. y 0.11 mg Eq a AA/mL/g extracto inmaduro M.S.; estos datos difieren de los encontrados por [Correa \(2020\)](#), quien evaluando el extracto hidroalcohólico al 80% de *Vasconcellea x heilbornii* (babaco) encontró que, el coeficiente de inhibición para reducir en 50% la concentración del radical DPPH al 0.1mM (IC_{50}) fue de 0.315 mg/ml extracto, equivalente a los 0,44mM del Ácido Ascórbico (vitamina C).

Mientras que IC_{50} con el equivalente a Trolox es mayor en los extractos etanólicos donde se requiere 9.3 mg Eq a Trolox/mL/g extracto maduro M.S. y 8.3 mg Eq a Trolox/mL/g extracto maduro M.S., para inhibir el 50% de los radicales libres de DPPH (0.1mM), siendo menores en los extractos acuosos; al comparar estos datos con los que encontramos en papaya, se observó que no hubo diferencias significativos entre ellos, dado que los valores mayores de IC_{50} en papaya son también para el extracto etanólico 70% (8.6 mg Eq a Trolox/mL/g extracto maduro M.S. y 7.6 mg Eq a Trolox/mL/g extracto maduro M.S.) y menores para los extractos acuosos.

No encontramos correlación de los datos de concentración de fenoles totales, capacidad antioxidante y concentración media inhibitoria (IC_{50}).

4. CONCLUSIONES

1. Al evaluar a los biometabolitos primarios de la pulpa de *Vasconcellea candicans* A. Gray A.DC (mito) encontramos que:
 - Las proteínas solubles son mayores en el extracto acuoso del estado maduro.
 - Los azúcares reductores son mayores en los extractos acuosos en ambos estados de madures.
 - La glucosa es mayor en el estado inmaduro acuoso con respecto al maduro y a los obtenidos en el extracto etanólico.
2. Los polifenoles totales de la pulpa de mito son mayores en el extracto acuoso con respecto a los extractos etanólicos 70%, y con los extractos de *Carica papaya* L.
3. La capacidad antioxidante y el IC50 de la pulpa de mito fue la siguiente:
 - Con equivalencia al ácido ascórbico (AAEC-DPPH) fue mayor en los extractos acuosos (maduro 64.38% e inmaduro 91.02%), teniendo un IC50 de 0.71 mg EAC/mL/mg Extracto M.S, para el extracto inmaduro acuoso.
 - Con equivalencia al Trolox (TEC-DPPH) fue mayor en los extractos etanólicos (89.7% maduros y 80.6% inmaduros), teniendo un IC50 de 9.3 mg ET/mL/mg Extracto M.S, para el extracto maduro etanólico.
 - AL comparar la capacidad antioxidante de mito y papaya (*Carica papaya* L.) con trolox (TEC-DPPH) está fue significativamente mayor para el extracto etanólico.
4. No encontramos correlación entre la concentración de fenoles totales, la capacidad antioxidante y el estado de madures de la pulpa de mito.

5. RECOMENDACIONES

1. Identificar los principales grupos de compuestos que estarían presentes en los fenoles totales.
2. Medir la capacidad antioxidante mediante otros métodos químicos.
3. Medir la capacidad antioxidante con frutas que rápidamente se oxidan en contacto con el oxígeno del aire.

6. REFERENCIAS (usando Normas APA 7)

- Acosta, M., Espino, R., & Ramírez, L. (2015). Efecto Hipoglucemiante De Extracto Etanólico Del Fruto De *Vasconcellea Candicans* (Kerco) En Ratones Con Hiperglucemia Inducida Por Aloxano [PDF].
<http://repositorio.unica.edu.pe/bitstream/handle/UNICA/2246/500.110.0000015.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Addai, Z. R., Abdullah, A., Mutalib, S. A., & Musa, K. H. (2016). Evaluation of fruit leather made from two cultivars of papaya. *Ital. J. Food Sci* , 28:73– 83.
- Aguedo A. J, Tinco O. L, Rios H. F, Bonilla R. P, Arroyo A. J. (2008). Efecto gastroprotector de los flavonoides del extracto etanólico de las partes aéreas de *Satureja sericea* (goyal). *Ciencia e investigación* [Online], 11(2):35-4.
<https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/farma/article/view/5008>
- Álvarez-Herrera, Javier Giovanni, Galvis, Jesús Antonio, & Balaguera-López, Helber Enrique. (2009). Determinación de cambios físicos y químicos durante la maduración de frutos de champa (*Campomanesia lineatifolia* R. & P.). *Agronomía Colombiana*, 27(2), 253-259. Online. ISSN 0120-9965.
- AOAC (1990). *Official Method of Analysis*, Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, EE. UU., 15^a ed.
- Armas, E. (2014). *Evaluación fitoquímica Bromatológica de Vasconcellea candicans como recurso promisorio Contumaza, Cajamarca Perú*. [Tesis para Título de Biólogo]. Universidad Nacional de Trujillo – Perú.
- Aruljothi, S., Uma, C., Sivagurunathan, P., & Bhuvanewari, M. (2014). Investigation on Antibacterial Activity of *Carica papaya* Leaf Extracts against Wound Infection Causing Bacteria. *International Journal of Research Studies in Biosciences*, 2(11), 8–12.

- Asghar, N., Naqvi, S. A., Hussain, Z., Rasool, N., Khan, Z. A., Shahzad, S. A., Sherazi, T. A., Janjua, M. R., Nagra, S. A., Zia-Ul-Haq, M., & Jaafar, H. Z. (2016). Compositional difference in antioxidant and antibacterial activity of all parts of the *Carica papaya* using different solvents. *Chemistry Central journal*, *10*, 5. <https://doi.org/10.1186/s13065-016-0149-0>.
- 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*:327–330.
- Augustyniak, A., Bartosz, G., Cipak, A., Duburs, G., Horáková, L., Luczaj, W., Majekova, M., Odysseos, A. D., Rackova, L., Skrzydlewska, E., Stefek, M., Strosová, M., Tirzitis, G., Venskutonis, P. R., Viskupicova, J., Vraka, P. S., & Zarković, N. (2010). Natural and synthetic antioxidants: an updated overview. *Free radical research*, *44*(10), 1216–1262. <https://doi.org/10.3109/10715762.2010.508495>.
- Auquiñivin Silva, Erick Aldo, & Paucar Menacho, Luz Maria -. (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://dx.doi.org/10.22497/arnaldoa.271.27105>.
- Baeza, G.; Correa, D.; Salas C. (1990). Proteolytic enzymes in *Carica candamarcensis*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *51*: 1–9.
- Benítez-Estrada, A.; Villanueva-Sánchez, J.; González-Rosendo, G.; Alcántar-Rodríguez, V. E.; Puga-Díaz, R. & Quintero-Gutiérrez, A. G. (2020). Determinación de la capacidad antioxidante total de alimentos y plasma humano por fotoquimioluminiscencia: Correlación con ensayos fluorométricos (ORAC) y espectrofotométricos

- (FRAP). *TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 23, e20200244. Epub 05 de marzo de 2021. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2020.0.244>
- Boss P, Davies C, Robinson P. (1996). Analysis of the Expression of Anthocyanin Pathway Genes in Developing *Vitis vinifera* L. cv Shiraz Grape Berries and the Implications for Pathway Regulation. *Plant Physiol* 111: 1059-1066.
- Boudet, A.-M. (2007). Evolution and current status of research in phenolic compounds. *Phytochemistry*, 68(22-24), 2722–2735. doi:10.1016/j.phytochem.2007.06.0
- Bradford, M. M. (1976): A rapid and sensitive method for the quantitation of micro-gram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72:248-254
- Camacho Romero, O., Melgarejo Gómez, S., de la Rosa Torres, C., Puertas-Mejía, M., & Rojano, B. (2015). Correlación del contenido de fenoles y antocianinas con la capacidad antioxidante *Syzygium cumini* (L.) Skeels, (jambolan). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 21(1).
<http://www.revplantasmedicinales.sld.cu/index.php/pla/article/view/309>
- Coronado H, Marta, Vega y León, Salvador, Gutiérrez T, Rey, Vázquez F, Marcela, & Radilla V, Claudia. (2015). Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. *Revista chilena de nutrición*, 42(2), 206-212. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182015000200014>
- Correa T. Y. (2020). *Capacidad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos del extracto hidroalcohólico de la pulpa de Vasconcellea x heilbornii (babaco)*. Tesis Pre-Grado Licenciada en Nutrición. Escuela de Nutrición. Facultad de ciencias de la Salud. Universidad César Vallejo. TRUJILLO-PERÚ.
https://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12692/72178/Correa_TY-SD.pdf?sequence=1&isAllowed=y

- Decreto Supremo N° 043-2006-AG (13 de julio de 2006). *Aprueban Categorización de Especies Amenazadas de Flora Silvestre*. Decreto Supremo. *El Peruano* (323527). Lima – Perú.
- Delgado O. L.; Betanzos C. G.; Sumaya M., M. T. (2010). Importancia de los antioxidantes dietarios en la disminución del estrés oxidativo. *Investigación y Ciencia*, 18(50):10-15. <https://www.redalyc.org/pdf/674/67415744003.pdf>
- Diccionario Léxico (s.f.). Diccionario de inglés y español, sinónimos y traductor de español a inglés. *Powered by Oxford 2022*. <https://www.lexico.com/es/definicion/pulpa>
- Farhan Saeed, Muhammad Umair Arshad, Imran Pasha, Rabia Naz, Rizwana Batool, Ammar Ahmed Khan, Muhammad Adnan Nasir & Bilal Shafique (2014). Nutritional and Phyto-Therapeutic Potential of Papaya (*Carica papaya* Linn.): An Overview, *International Journal of Food Properties*, 17(7): 1637-1653, DOI: 10.1080/10942912.2012.709210. <https://www.researchgate.net/deref/http%3A%2F%2Fdx.doi.org%2F10.1080%2F10942912.2012.709210>
- Farías, J., Molina, V., & Carrasco, R. (2017). Antioxidant Therapeutic Strategies for Cardiovascular Conditions Associated with Oxidative Stress. *Nutrients*, 9(9) 966.
- Fuertes, C. C.A. (2019). *Diversidad, distribución y uso del género Vasconcellea (Caricaceae) en el Sur de los Andes Colombianos*. [Tesis Título Ingeniero Agropecuario]. Universidad del Cauca. Colombia. <http://repositorio.unicauca.edu.co:8080/bitstream/handle/123456789/1622/DIVERSIDAD%2C%20DISTRIBUCI%C3%93N%20Y%20USO%20DEL%20G%C3%89NERO%20VASCONCELLEA%20%28CARICACEAE%29%20EN%20EL%20SUR%20DE%20LOS%20ANDES%20COLOMBIANOS.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

- 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>
- Hernandez-Madrigal J.V.; Barragán-Vazquez F.J.; Calvo-Carrillo M.C. y Aguilar Medina E.D. (2020). Determinación de compuestos bioactivos en papaya (*Carica papaya* L., CV. Maradol) en el estado de Colima en dos estados de madurez. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 5: 239-243.
- Husin, F., Ya'akob, H., Rashid, S. N. A., Shahar, S., & Soib, H. H. (2019). Cytotoxicity study and antioxidant activity of crude extracts and SPE fractions from *Carica papaya* leaves. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 101130. doi:10.1016/j.bcab.2019.101130
- Jarisarapurin W, Sanrattana W, Chularojmontri L, Kunchana K, Wattanapitayakul SK. (2019). Antioxidant Properties of Unripe *Carica papaya* Fruit Extract and Its Protective Effects against Endothelial Oxidative Stress. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 20:4912631. doi: 10.1155/2019/4912631. PMID: 31320913; PMCID: PMC6610763.
- Juárez-Rojop, IE, Díaz-Zagoya, JC, Ble-Castillo, JL, Miranda-Osorio, PH, Castell-Rodríguez, AE, Tovilla-Zárate, CA,, Rodríguez-Hernández, A., Aguilar-Mariscal, H., Ramón-Frías, T. & Bermúdez-Ocaña, DY (2012). Hypoglycemic effect of *Carica papaya* leaves in streptozotocin-induced diabetic rats. *BMC medicina complementaria and alternative*, 12(1), 1-11
- Kasote, D. M., Katyare, S. S., Hegde, M. V. & Bae, H. (2015). Significance of antioxidant potential of plants and its relevance to therapeutic applications. *International Journal of Biological Sciences*, 11(8), 982-991. DOI:10.7150/ijbs.12096.

- Kedare, S. B., & Singh, R. P. (2011). Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of food science and technology*, 48(4), 412–422.
<https://doi.org/10.1007/s13197-011-0251-1>.
- Marcano, D. & Masahisa, H. (2018), *Fitoquímica organica*. Ed. Gisell Bonilla, 3ra Ed. (Digital).
- MINAM (2018). *Priorización de las zonas de prospección para la elaboración de las líneas de base de la papaya*. Informe MINAN - Gobierno del Perú.
https://bioseguridad.minam.gob.pe/wp-content/uploads/2020/02/prioriz_ldb_papaya_2018.pdf
- Morocho Chillogallo, Evelyn Carolina (2017). Investigación de la actividad antioxidante del fruto *Mangifera indica* L. (mango) cultivada en Ecuador. Tesis, Título Química de Alimentos. Carrera de Química de Alimentos. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Central del Ecuador.
- Nelson N. (1944): A photometric adaptation of de Somogy Method for the determination of glucosa. *J.Biol.Chem.* 153: 375 – 380
- Nguyen TTT, Shaw PN, Parat M.-O., Hewavitharana AK. (2013). Actividad anticancerígena de *Carica papaya*: una revisión. *Investigación en Nutrición Molecular y Alimentos*, 57(1): 153–164. doi: 10.1002/mnfr.201200388.
- Paula-Neto, H. A., Ausina, P., Gómez, L. S., Leandro, J., Zancan, P., & Sola-Penna, M. (2017). Effects of Food Additives on Immune Cells As Contributors to Body Weight Gain and Immune-Mediated Metabolic Dysregulation. *Frontiers in immunology*, 8, 1478. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.01478>
- Peña, D. F., Villena, P. G.; Aguirre, J.; Jiménez M. C. (2017). Diversidad genética de accesiones de la familia Caricaceae en el sur de Ecuador. *MASKANA*, 8(1): 85 – 102.
<https://doi.org/10.18537/mskn.08.01.08>

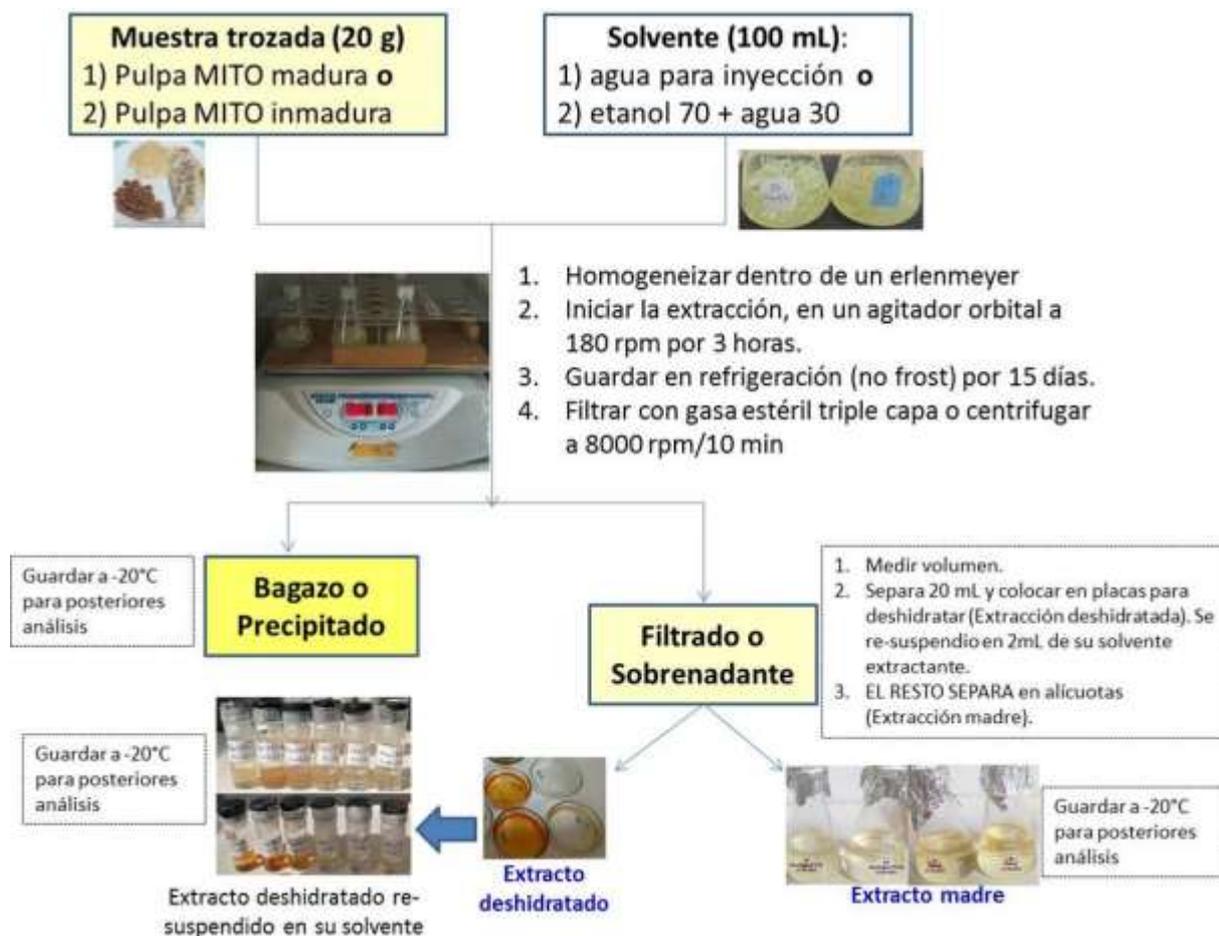
- Phaniendra, A., Jestadi, D. B. & Periyasamy, L. (2015). Free radicals: Properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian Journal of Clinical Biochemistry: IJCB*, 30(1), 11-26. DOI: 10.1007/s12291-014-0446-0.
- Pulpa. (s.f.). *Wikipedia, La enciclopedia libre*. Fecha de consulta: 00:34, julio 29, 2022 desde <https://es.wikipedia.org/w/index.php?title=Pulpa&oldid=134743206>.
- Osborne, T. B. (1924). *The vegetable proteins*. Longmans, Green and Company.
- Reardon, S. (2015). Food preservatives linked to obesity and gut disease. *Nature*. <https://doi.org/10.1038/nature.2015.16984>
- Scalbert, A., & Williamson, G. (2000). Dietary Intake and Bioavailability of Polyphenols. *The Journal of Nutrition*, 130(8), 2073S–2085S. doi:10.1093/jn/130.8.2073s.
- Scheldeman, X.; Van Damme, P.; Romero-Motochi, J.P. (2002). Highland Papayas in Southern Ecuador: need for conservation actions. *Acta Horticulturae (ISHS)*, 575:199–205.
- Selvamuthukumar, M., & Shi, J. (2017). *Recent advances in extraction of antioxidants from plant by-products processing industries. Food Quality and Safety*, 1(1), 61–81. doi:10.1093/fqsafe/fyx004.
- Serrano C. A.(2014). Participación de glucosa en el proceso de maduración del fruto de *Vitis vinifera*, a través de la regulación de la biosíntesis de antocianinas y el transporte polar de auxina. Tesis Doctor en Ciencias Biológicas con mención en Genética Molecular y Microbiología. Pontificia Universidad Católica de Chile.
- Shahidi, F., & Ambigaipalan, P. (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects – A review. *Journal of Functional Foods*, 18, 820–897. doi:10.1016/j.jff.2015.06.018
- Sies, H. (2020). Oxidative Stress: Concept and Some Practical Aspects. *Antioxidants*, 9, 852. <https://doi.org/10.3390/antiox9090852>

- Sies, H. & Jones, D.P. (2020). Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signaling agents. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 21, 363–383.
<https://doi.org/10.1038/s41580-020-0230-3>
- Singleton, V.L. and Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* 16:144-158.
- Soib, H. H., Ismail, H. F., Husin, F., Abu Bakar, M. H., Yaakob, H., & Sarmidi, M. R. (2020). Bioassay-Guided Different Extraction Techniques of *Carica papaya* (Linn.) Leaves on In Vitro Wound-Healing Activities. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 25(3), 517. <https://doi.org/10.3390/molecules25030517>
- Somogyi M. (1952). Notes of sugar determination. *Journal Biology Chemistry*, 195: 19-23.
- The Catalogue of Life Partnership (2017). APG IV: Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants. Checklist dataset <https://doi.org/10.15468/fzuaam> accessed via GBIF.org on 2022-12-01.

7. ANEXOS

Anexo 1

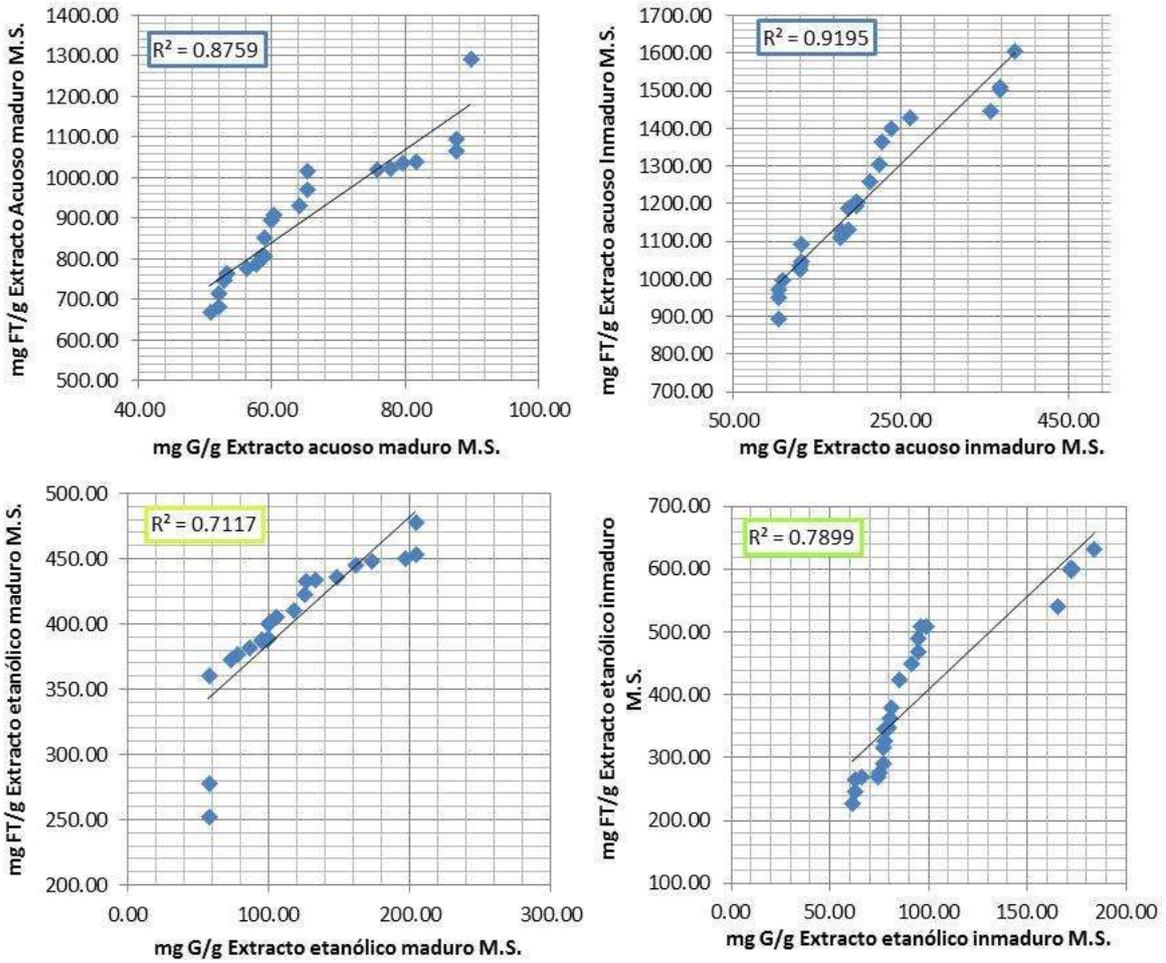
Protocolo que seguimos para hacer los extractos acuoso y etanol:agua (70:30) de las pulpas de “mito” maduras e inmaduras.



Nota: Elaboración propia. Este procedimiento se realizó con las 10 muestras maduras y 10 muestras inmaduras que fueron seleccionadas y estaban dentro o cerca de los límites de

Anexo 2

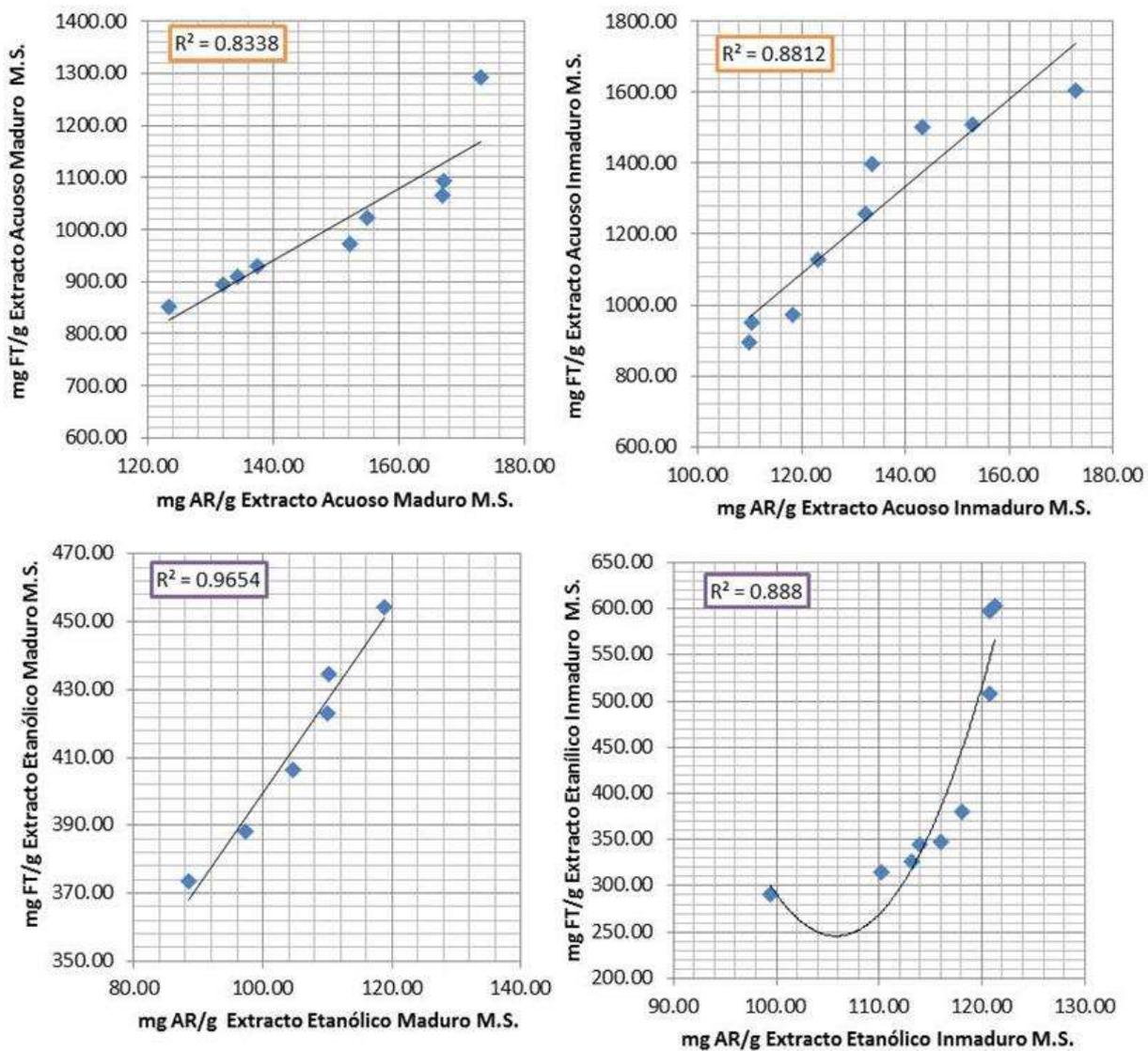
Correlación entre los valores de mg Fenoles totales vs mg de Glucosa en los diferentes extractos, según solvente y estado de madures.



Nota: Elaboración propia

Anexo 3

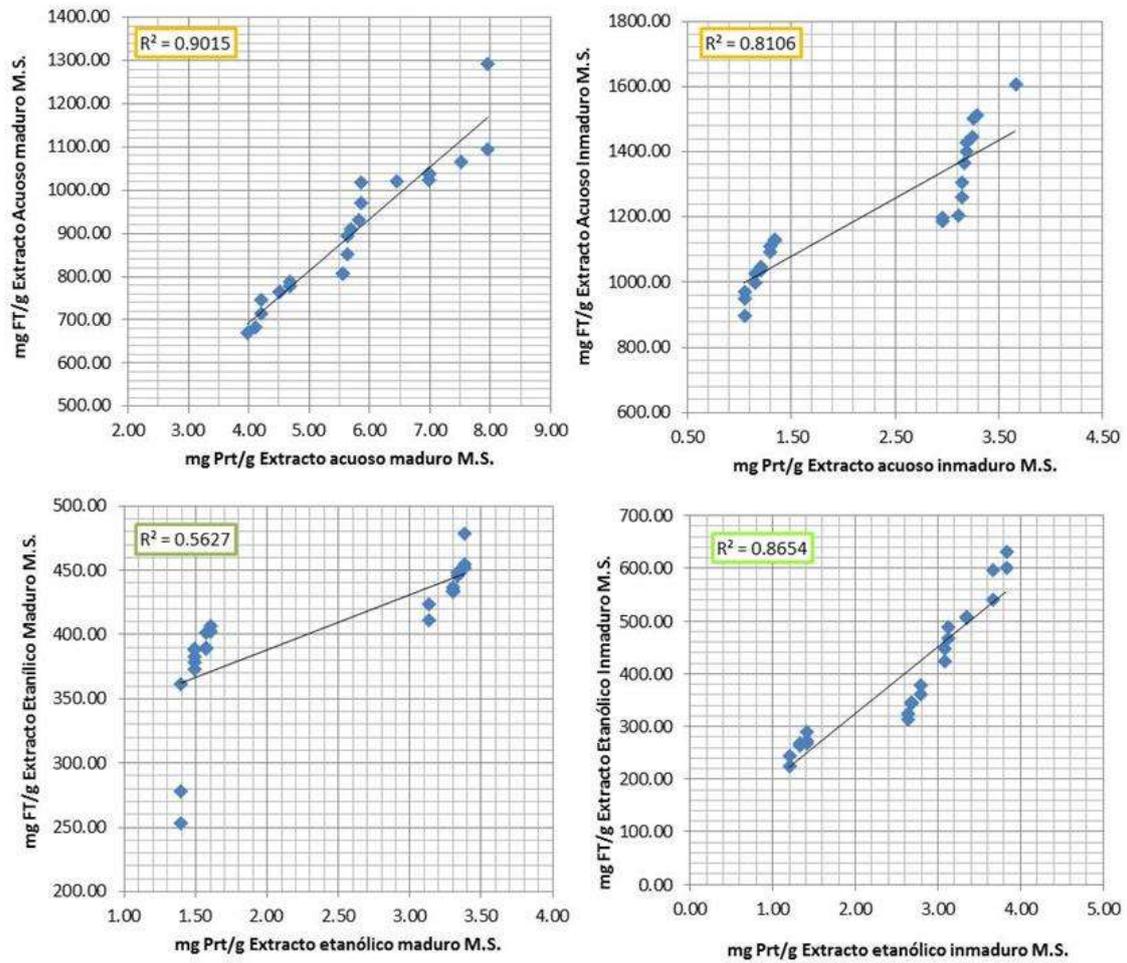
Correlación entre los valores de mg Fenoles totales vs mg de Azúcares Reductores en los diferentes extractos, según solvente y estado de madures.



Nota: Elaboración propia

Anexo 4

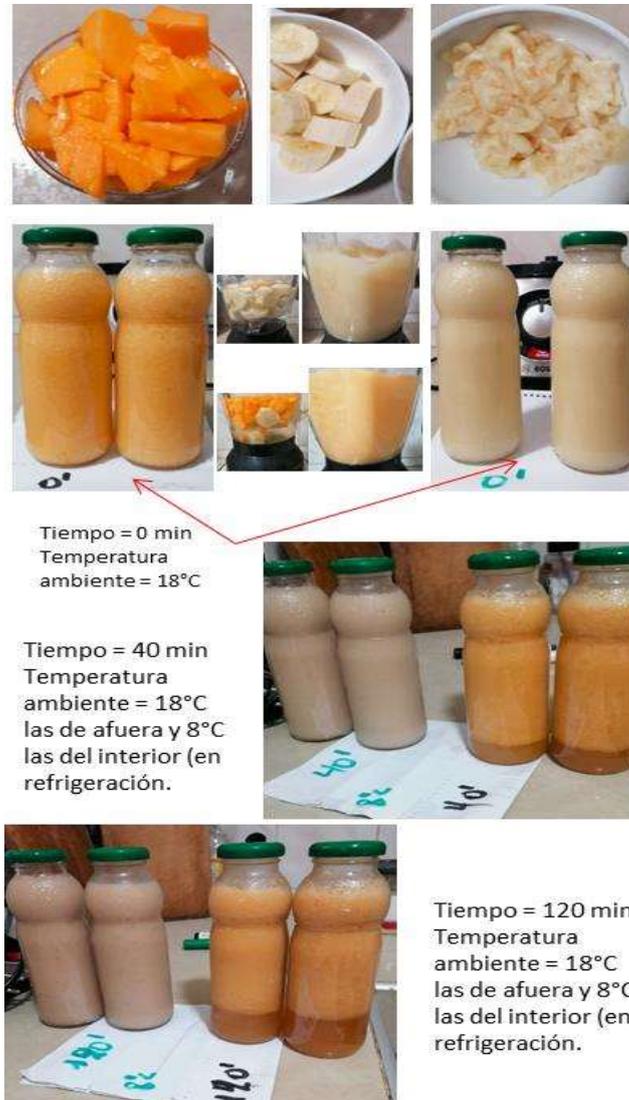
Correlación entre los valores de mg Fenoles totales vs mg de Proteínas Solubles en los diferentes extractos, según solvente y estado de madures.



Nota: Elaboración propia

Anexo 5

Capacidad antioxidante de Vasconcella candica (mito) frente a Carica papaya L., utilizando plátano de seda (Musa paradisiaca L.)



Nota: Elaboración propia. Para la preparación del jugo de plátano se utilizó agua de caño a temperatura ambiente y luego una muestra de cada jugo se dejó a medio ambiente (18°C) y la otra se colocó en refrigeración (8°C) por 120 min. Observándose que el jugo de mito-plátano se conserva mejor en refrigeración que el jugo de papaya-plátano durante las 2 horas.

También se observa que en cualquiera de las dos temperaturas y por el tiempo de dos horas el jugo de mito-plátano es una mezcla homogénea, no observándose separación de fases como en el caso del jugo de papaya-plátano.