

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA
ESCUELA DE POSGRADO**
Programa de Doctorado en Ingeniería Agroindustrial



UNS
E S C U E L A D E
POSGRADO

**Extracción y purificación de papaína obtenida a partir
de tres especies nativas del género *Vasconcellea***

**Tesis para optar el grado de Doctor en
Ingeniería Agroindustrial**

Autor:

Mg. Rivera Botonares, Ralph Stein
Código ORCID: 0000-0002-1493-5507

Asesora:

Dra. Paucar Menacho, Luz María
Código ORCID: 0000-0001-5349-6167
DNI. N° 08099817

**Línea de investigación
Desarrollo biotecnológico**

**Nuevo Chimbote - PERÚ
2025**



CONSTANCIA DE ASESORAMIENTO DE LA TESIS

Yo, Luz María Paucar Menacho, mediante la presente certifico mi asesoramiento de la Tesis de doctorado titulada: "EXTRACCIÓN Y PURIFICACIÓN DE PAPAÍNA OBTENIDA A PARTIR DE TRES ESPECIES NATIVAS DEL GENERO VASCONCELLEA", elaborado por el doctorando Ralph Stein Rivera Botonares, para obtener el Grado Académico de Doctor en Ingeniería Agroindustrial en la Escuela de Posgrado de la Universidad Nacional del Santa.

Nuevo Chimbote, 22 de setiembre de 2025


.....
Luz María Paucar Menacho
ASESOR (A)

CODIGO ORCID 0000-0001-5349-6167

DNI N° 08099817



UNS
ESCUELA DE
POSGRADO

HOJA DEL AVAL DEL JURADO EVALUADOR

“EXTRACCIÓN Y PURIFICACIÓN DE PAPAÍNA OBTENIDA A PARTIR DE TRES ESPECIES NATIVAS DEL GENERO VASCONCELLEA”

TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE DOCTOR EN INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

Elza Berta Aguirre Vargas

PRESIDENTE

CODIGO ORCID: 0000-0003-1659-9874

DNI N°: 19096335

Wilson Daniel Símpalo López

SECRETARIO

CODIGO ORCID: 0000-0002-8397-7145

DNI N°: 40186130

Paucar Menacho Luz María

VOCAL

CODIGO ORCID: 0000-0001-5349-6167

DNI N°: 08099817



ACTA DE EVALUACIÓN DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

A los seis días del mes de octubre del año 2025, siendo las 11:30 horas, en el aula P-01 de la Escuela de Posgrado de la Universidad Nacional del Santa, se reunieron los miembros del Jurado Evaluador, designados mediante Resolución Directoral N° 608-2025-EPG-UNS de fecha 23.06.2025, conformado por los docentes: Dra. Elza Berta Aguirre Vargas (Presidenta), Dr. Wilson Daniel Símpalo López (Secretario) y Dra. Luz María Paucar Menacho (Vocal); con la finalidad de evaluar la tesis titulada: "**EXTRACCIÓN Y PURIFICACIÓN DE PAPAÍNA OBtenida A PARTIR DE TRES ESPECIES NATIVAS DEL GÉNERO VASCONCELLEA**"; presentado por el tesista **Mg. Ralph Stein Rivera Botonares**, egresado del programa de Doctorado en Ingeniería Agroindustrial.

Sustentación autorizada mediante Resolución Directoral N° 832-2025-EPG-UNS de fecha 30 de setiembre de 2025.

La presidenta del jurado autorizó el inicio del acto académico; producido y concluido el acto de sustentación de tesis, los miembros del jurado procedieron a la evaluación respectiva, haciendo una serie de preguntas y recomendaciones al tesista, quien dio respuestas a las interrogantes y observaciones.

El jurado después de deliberar sobre aspectos relacionados con el trabajo, contenido y sustentación del mismo y con las sugerencias pertinentes, declara la sustentación como Aprobado, asignándole la calificación de Diciembre (18).

Siendo las 12:45 horas del mismo día se da por finalizado el acto académico, firmando la presente acta en señal de conformidad.

Dra. Elza Berta Aguirre Vargas
Presidenta

Dr. Wilson Daniel Símpalo López
Secretario

Dra. Luz María Paucar Menacho
Vocal/Asesor



Recibo digital

Este recibo confirma que su trabajo ha sido recibido por Turnitin. A continuación podrá ver la información del recibo con respecto a su entrega.

La primera página de tus entregas se muestra abajo.

Autor de la entrega: Ralph Stein Rivera Botonares
Título del ejercicio: Quick Submit
Título de la entrega: Extracción y purificación de papaina obtenida a partir de tres ...
Nombre del archivo: Informe_de_Tesis_Doctorado_UNS_2025.pdf
Tamaño del archivo: 2.53M
Total páginas: 83
Total de palabras: 17,288
Total de caracteres: 91,526
Fecha de entrega: 14-nov-2025 08:06a. m. (UTC-0300)
Identificador de la entrega: 2814580474



Ralph Stein Rivera Botonares

Extracción y purificación de papaína obtenida a partir de tres especies nativas del género Vasconcellea

-  Quick Submit
-  Quick Submit
-  Universidad Nacional de Jaén

Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid::1:3410777859

83 páginas

Fecha de entrega

14 nov 2025, 8:05 a.m. GMT-5

17.288 palabras

Fecha de descarga

14 nov 2025, 9:12 a.m. GMT-5

91.526 caracteres

Nombre del archivo

Informe_de_Tesis_Documento_UNS_2025.pdf

Tamaño del archivo

2.5 MB

10% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Filtrado desde el informe

- ▶ Bibliografía
- ▶ Texto citado
- ▶ Texto mencionado
- ▶ Coincidencias menores (menos de 15 palabras)

Fuentes principales

- | | |
|----|---|
| 9% | Fuentes de Internet |
| 1% | Publicaciones |
| 4% | Trabajos entregados (trabajos del estudiante) |

Marcas de integridad

N.º de alerta de integridad para revisión

- 🚩 **Texto oculto**
16 caracteres sospechosos en N.º de páginas
El texto es alterado para mezclarse con el fondo blanco del documento.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

DEDICATORIA

Al todopoderoso JEHOVÁ, que ilumina nuestro camino por nuestra tierra y más allá.

A mi madre Rosa Botonares, por siempre acompañarme en el trascurrir de mi existencia.

A mi esposa Raquel, mis hijos Ryan Josiah y Jessia Rashel, motor y motivo para amar la vida con esperanza.

A mis hermanos: Roy, Bethel, Goldy e Yvy; y sobrinos por su cariño eterno.

A mi tío Rafael Torres Mejía y primo Víctor Soto Rodríguez por su estima y apoyo incondicional.

AGRADECIMIENTOS

A la UNS, mi alma mater, y a los docentes por seguir brindando Educación Superior Universitaria de calidad y prestigio.

A la Dra. Luz María Paucar Menacho, por sus orientaciones como asesora de tesis desde la época pre hasta el doctorado, se le agradece.

Al Fondo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico (FONDECYT) por el financiamiento para la ejecución de la tesis, con Contrato N° 11-2018-FONDECYT-BM-IADT-SE.

A la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas (UNTRM), como Entidad Ejecutora, que a través del Instituto de Investigación para el Desarrollo Sustentable de Ceja de Selva (INDES-CES), se brindó las facilidades de su personal y laboratorios para la ejecución de la tesis.

Al Mg. Daniel Tineo Flores, por su apoyo invaluable como responsable del proyecto: Cuajo natural a base de papaína liofilizada proveniente de diferentes especies nativas del género Vasconcellea en la elaboración de queso.

A los amigos y profesionales que apoyaron de una u otra forma en este trabajo, millón de gracias.

El autor

ÍNDICE

	Pág.
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
RESUMEN	ix
ABSTRACT	x

Contenido

I. INTRODUCCIÓN	12
1.1 DESCRIPCIÓN Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	12
1.2 OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN	14
1.3 FORMULACIÓN DE LA HIPÓTESIS	14
1.4 JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA	14
2 II MARCO TEÓRICO	16
2.1 ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN	16
2.2 MARCO CONCEPTUAL	18
3 III. METODOLÓGIA	25
3.1 DE ACUERDO CON EL ENFOQUE DE LA INVESTIGACIÓN	25
3.2 MÉTODO	25
3.3 DISEÑO DE INVESTIGACIÓN	28
3.4 POBLACIÓN Y MUESTRA	31
3.5 OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES	31
3.6 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS	32
3.7 TÉCNICAS DE ANÁLISIS DE RESULTADOS	33
4 IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	35
5 V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	55
5.1 5.1 CONCLUSIONES	55
5.2 5.2 RECOMENDACIONES	56
6 VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	57
7 VII. ANEXOS	63

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Operacionalización de variables	32
Tabla 2. Arreglo experimental con 4 repeticiones	34
Tabla 3. Caracterización biométrica de los frutos de las especies del género <i>Vasconcellea</i>	35
Tabla 4. Rendimiento del látex de las especies del género Vasconcellea	39
Tabla 5. Rendimiento de la papaína liofilizada	43
Tabla 6. Contenido proteico de las enzimas purificadas de Vasconcellea	45
Tabla 7. Resultados de la Actividad Enzimática de las especies Vasconcellea	49
Tabla 8. Análisis de varianza de la Actividad Enzimática de las Vasconcellea	50
Tabla 9 Actividad proteolítica de las especies Vasconcellea	53

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fotos de las especies <i>Vasconcellea</i> en estudio	21
Figura 2. Mapa de ubicación de <i>Vasconcellea</i> en la región Amazonas – Perú	21
Figura 3. Diagrama de fases con el punto triple del agua	23
Figura 4. Etapas de la liofilización	23
Figura 5. Diseño experimental de la investigación	29
Figura 6. Diagrama de flujo para la obtención de enzima papaína	30
Figura 7. Fotografías de <i>Vasconcellea chachapoyensis</i>	35
Figura 8. Fotografías de <i>Vasconcellea pubescens</i>	36
Figura 9. Fotografías de <i>Vasconcellea x heilbornii</i>	36
Figura 10. pH del látex	38
Figura 11. Fotografía de la papaína liofilizada envasada	40
Figura 12. Imágenes de la apariencia de las enzimas liofilizadas	44
Figura 13. Contenido de humedad	46
Figura 14. Contenido de ceniza	48
Figura 15. AE de la papaína de las <i>Vasconcelleas</i>	50
Figura 16. Interacción Especie y pH en la Actividad Enzimática	52

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Resultados del análisis de humedad de la papaína	66
Anexo 2. Resultados del análisis de cenizas de la papaína	67
Anexo 3. Cuantificación de la actividad enzimática	68
Anexo 4. Determinación de la actividad proteolítica de la papaína	69
Anexo 5. Análisis de Proteínas por el Método Dumas	70
Anexo 6. Resultados de la actividad enzimática de los tratamientos	71
Anexo 7. Análisis estadístico de la actividad enzimática de los tratamientos	72
Anexo 8. Análisis estadístico de la actividad enzimática con la papaína comercial	75
Anexo 9. Resultados de la actividad proteolítica y remoción de proteína	76
Anexo 10. Análisis estadístico de la humedad y cenizas de las papaínas	77
Anexo 11. Análisis estadístico de los resultados de rendimiento del látex	79
Anexo 12. Solicitud para acceso a recursos genéticos	81
Anexo 13. Fotografía de los frutos de las especies Vasconcellea	83
Anexo 14. Fotografías de las etapas del proceso de extracción, purificación	84
Anexo 15. Fotografías de las etapas del proceso de liofilización	85
Anexo 16. Fotografía del producto final: Papaína envasada	85
Anexo 17. Equipos utilizados para los diferentes análisis	86

RESUMEN

La producción mundial de papaína, una enzima extraída de la papaya (*Carica papaya*), crece anualmente debido a sus múltiples aplicaciones en diversas industrias, como ablandador de carne y clarificador de cerveza. En la región amazónica, existen especies nativas del género *Vasconcellea*, perteneciente a la misma familia de la papaya, que aún no han sido plenamente aprovechadas ni se les ha dado valor agregado. El objetivo de esta investigación fue obtener papaína a partir del látex de las especies *Vasconcellea chachapoyensis*, *Vasconcellea pubescens* y *Vasconcellea heilbornii*, variando el pH (6.0 y 8.0).

Para la purificación, se adaptó el método descrito por Andrade et al. (2011). Al látex extraído se le añadió un buffer de acetato de sodio 10 mM, EDTA 5 mM, y bisulfito de sodio 0.5%; el pH se ajustó a 6.0 y 8.0 con NaOH 0.1 N. Luego, la mezcla resultante se homogeneizó en vórtex y se centrifugó tres veces (8000 rpm, 5 minutos a -4 °C). Para la precipitación, se agregó 45% de sulfato de amonio, luego se diluyó con etanol al 96% (v/v: 1/3) por duplicado. Posteriormente, la solución se ultracongeló a -65 °C durante 12 horas y se liofilizó por 36 horas. La actividad enzimática (AE) se evaluó mediante el método de coagulación de leche de Balls y Hoover. Los resultados evidenciaron que la AE de las tres especies fueron superiores a pH 6.0 en comparación con pH 8.0. La AE de *V. chachapoyensis* (240.97 Upe) fue significativamente superior que la de las otras especies a pH 6.0, mientras que la de *V. heilbornii* (112.45 Upe) fue la más baja. La AE de la papaína comercial de Merck y la de *V. chachapoyensis* a pH 6.0 no presentaron diferencias significativas, y esta última mostró el mayor rendimiento en la producción de papaína liofilizada. La enzima con mayor actividad proteolítica (AP) fue la de *Vasconcellea pubescens*, evaluada con caseína. Además, las enzimas obtenidas presentaron un contenido de humedad muy bajo, lo que garantiza su conservación y efectividad. Estas enzimas pueden ser utilizadas como coagulantes naturales para la producción de quesos y otras industrias alimentarias.

.

.Palabras clave: papaína, purificación, liofilización, actividad enzimática, *Vasconcellea*.

ABSTRACT

Global production of papain, an enzyme extracted from papaya (*Carica papaya*), is growing annually due to its multiple applications in various industries, such as meat tenderizer and beer clarifier. In the Amazon region, there are native species of the genus *Vasconcellea*, belonging to the same family as papaya, which have not yet been fully exploited or given added value. The objective of this research was to obtain papain from the latex of the species *Vasconcellea chachapoyensis*, *Vasconcellea pubescens*, and *Vasconcellea heilbornii*, varying the pH (6.0 and 8.0).

For purification, the method described by Andrade et al. (2011) was adapted. A buffer of 10 mM sodium acetate, 5 mM EDTA, and 0.5% sodium bisulfite was added to the extracted latex; the pH was adjusted to 6.0 and 8.0 with 0.1 N NaOH. The resulting mixture was then homogenized in a vortex and centrifuged three times (8000 rpm, 5 minutes at -4 °C). For precipitation, 45% ammonium sulfate was added, then diluted with 96% ethanol (v/v: 1/3) in duplicate.

Subsequently, the solution was deep-frozen at -65 °C for 12 hours and freeze-dried for 36 hours. Enzymatic activity (EA) was evaluated using the Balls and Hoover milk coagulation method. The results showed that the EA of the three species was higher at pH 6.0 than at pH 8.0. The EA of *V. chachapoyensis* (240.97 Upe) was significantly higher than that of the other species at pH 6.0, while that of *V. heilbornii* (112.45 Upe) was the lowest. The PA of Merck commercial papain and that of *V. chachapoyensis* at pH 6.0 did not show significant differences, and the latter showed the highest yield in the production of freeze-dried papain. The enzyme with the highest proteolytic activity (PA) was that of *Vasconcellea pubescens*, evaluated with casein. In addition, the enzymes obtained had a very low moisture content, which guarantees their preservation and effectiveness. These enzymes can be used as natural coagulants for cheese production and other food industries.

Keywords: papain, purification, freeze-drying, enzymatic activity, *Vasconcellea*

I. INTRODUCCIÓN

1.1 DESCRIPCIÓN Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

La papaína es una enzima proteolítica de tipo cisteína con amplia aplicación en las industrias alimentaria, farmacéutica y cosmética, debido a su capacidad para hidrolizar proteínas en un amplio rango de pH y temperatura (Choudhary et al., 2025). Es muy utilizada por su capacidad de ablandar carnes, clarificar cervezas y coagular leches en la producción de quesos frescos (Kuddus, 2018; Villacréz et al., 2024). Tradicionalmente, esta enzima se obtiene de látex de *Carica papaya*, aunque existen otras fuentes potenciales en especies del género *Vasconcellea* originarias de la región andino-amazónica.

La papaína es obtenida principalmente del látex de papaya, un fluido lechoso que contiene el exudado de papaya verde. Gracias a la cisteína en su sitio activo, estas proteasas son clasificadas como EC 3.4.22.2 (cisteína endopeptidasa) (Tacias-Pascacio et al., 2021). La papaína tiene una amplia función proteolítica para péptidos de cadena corta, proteínas, aminoácidos esterificados y enlaces de amidas; y es funcional en medicamentos y en alimentos (Ramírez, 2019).

El género *Vasconcellea* comprende alrededor de 22 especies nativas de Sudamérica, con notable presencia en Ecuador, Colombia y Perú (Ocampo, 2021; Scheldeman et al., 2011) Diversos estudios han evidenciado que algunas especies del género *Vasconcellea* poseen mayor contenido y actividad enzimática de papaína que la *Carica papaya* (Gutiérrez et al. 2017 Torres et al. 2010). Sin embargo, la información sobre sus características bioquímicas y condiciones óptimas de extracción y purificación aún es limitada, especialmente para especies nativas de la región Amazonas peruana como *V. Chachapoyensis*, *V pubescens* y *V. x heilbornii*. Estas plantas crecen sin cuidado agrícola, los frutos son consumidos y comercializados en pequeña escala. Con una posible industrialización como: papillas, salsas, bebidas saludables, gelatinas, tratando de mantener su contenido nutricional, aromas o sabores, o producción de la enzima papaína de los frutos de *Vasconcellea* podría impulsar su siembra a mayor escala generando una nueva cadena productiva. (Aguirre-Rodríguez et al., 2024). Nutricionalmente son bajas en calorías (alrededor de 18-262 kcal/100 g) y grasas, altas en humedad (hasta un 93 %) y ricas en vitaminas (A, B1, B2 y C), minerales (calcio, hierro, potasio, sodio),

carbohidratos (22-36 %), fibra dietética (1,4-32.8 %) y proteínas (1-9.65 %) (Lemus-Mondaca et al., 2024; Silva et al., 2022a).

Los procesos de purificación y conservación de enzimas como la papaína suelen verse afectados por factores físicos-químicos, particularmente el pH y la temperatura. Investigaciones recientes indican que la actividad óptima de la papaína comercial de *Carica papaya* ocurre a pH 7.5 (Dejene et al., 2024). Sin embargo, se desconocen los rangos adecuados para las especies de *Vasconcellea*. La falta de control del pH durante la extracción puede provocar inactivación parcial o perdida significativa de la actividad enzimática. Además, con investigaciones a pH < 6.0 la papaína pierde hasta el 40 % de su actividad en 30 minutos.

Los estudios realizados sobre la extracción, caracterización y purificación de papaína de las especies del género *Vasconcellea* son escasos. Tovar-Colmenárez et al. (2018) trajeron la enzima papaína de látex de *Carica papaya*, la cual fue deshidratada mediante estufa a 25 °C durante 20 horas y a 60 °C durante 40 horas, se obtuvo resultados de Upe de 159.67 y 157.28 respectivamente.

Asimismo, el proceso de liofilización se presenta como una alternativa eficaz para conservar la estabilidad de la enzima (Orua y Reuben, 2025). Este método mantiene eficazmente el poder enzimático y prolonga la duración de la conservación al eliminar la humedad, lo que inhibe el crecimiento microbiano y la degradación enzimática (Kittiphattanabawon et al., 2024). La liofilización aun siendo esencial para enzimas termosensibles, carece de protocolos optimizados para las enzimas, la papaína purificada y liofilizada conserva más de 80 % de su actividad luego de doce meses a 4 °C, por lo contrario, se reduce a 50 % cerca de 30 días (Marković et al., 2021).

El mercado internacional de las enzimas aumenta a tasas superiores al 4 % anualmente, y podría superar los 600 millones USD al 2033, crecimiento debido a la búsqueda de nuevos coagulantes vegetales, ablandadores de carne y excipientes para nutracéuticos (Matkawala et al., 2022).

La determinación del pH para la extracción y purificación de la papaína de las *Vasconcellea* permitiría tener procesos no solo empíricos. Dando la posibilidad de reemplazar enzimas importadas para la industria láctea (coagulantes), cárnea (ablandadores) y nutracéutica con enzimas producidas a partir de fuentes vegetales regionales.

¿Es posible obtener papaína purificada y liofilizada, con una actividad enzimática mínima de 200 Upe, a partir de especies nativas del género *Vasconcellea*, (*V. chachapoyensis*, *V. pubescens* y *V. x heilbornii*), al variar el pH durante la purificación?

1.2 OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

OBJETIVO GENERAL

Obtener papaína purificada liofilizada a partir de especies nativas del género *Vasconcellea* (*V. chachapoyensis*, *V. pubescens*, y *V. x heilbornii*) de la región Amazonas.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar biométrica y fisicoquímicamente los frutos de las *Vasconcellea chachapoyensis*, *Vasconcellea pubescens*, y *Vasconcellea x heilbornii* de la región Amazonas.
- Extraer, purificar y liofilizar papaína de los frutos de las especies nativas *Vasconcellea chachapoyensis*, *Vasconcellea pubescens*, y *Vasconcellea x heilbornii* bajo diferentes condiciones de pH.
- Caracterizar fisicoquímicamente la papaína obtenida del látex de los frutos de las especies *Vasconcellea chachapoyensis*, *Vasconcellea pubescens*, y *Vasconcellea x heilbornii*.
- Evaluar la actividad enzimática de la papaína purificada, y comparar con papaína comercial utilizando caseína comercial.

1.3 FORMULACIÓN DE LA HIPÓTESIS

Del látex de las especies endémicas del género *Vasconcellea* (*Vasconcellea pubescens*, *Vasconcellea chachapoyensi* y *Vasconcellea x heilbornii*) se obtendrá papaína purificada y liofilizada con una actividad enzimática superior a 200 Upe a pH 6.0.

1.4 JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA

Actualmente, se produce papaína a partir de *Carica papaya* para diversos usos en las diferentes industrias como la alimentaria, farmacéutica entre otras. En la región

Amazonas se cuenta con algunas especies del género *Vasconcellea*, genero oriundo de estas latitudes, de estos frutos lactíferos se podrían obtener papaína purificada que podría ser utilizada en la cuajada para elaborar quesos. En la actualidad son insuficientes los estudios, y de poca profundidad en la obtención de papaína de estas especies (*Vasconcellea chachapoyensi*, *Vasconcellea pubescens* y *Vasconcellea x heilbornii*).

Las tendencias hacia el consumo de alimentos saludables han aumentado en los últimos años, lo que ha permitido a la industria alimentaria investigar e innovar nuevos productos. Por lo que, el uso de papaína como cuajo, de origen vegetal, sería una alternativa de uso para diferentes productores de quesos.

La papaína de *Carica papaya* domina el mercado global debido a su alto rendimiento y métodos establecidos de extracción, pero las especies de *Vasconcellea*, ofrecen ventajas como mayor resistencia a condiciones climáticas adversas y un nivel enzimático potencialmente superior en actividad proteolítica, con hasta cinco veces más concentración de enzimas en su látex (Villacréz et al., 2024)

En la actualidad la producción agrícola de *Vasconcellea*s en el Perú es relativamente baja y no se cuenta con registros según el Ministerio de Agricultura (2015), por lo que con la implementación de una agroindustria productora de papaína u otro producto del fruto podría aumentar la producción de estas plantas en las regiones que se presentan, y así poder dinamizar la economía local o regional y tener mejores condiciones de vida para los agricultores, emprendedores y su comunidad.

Los actuales procesos para la obtención de la papaína constan de varias etapas lo que puede ocasionar la disminución de su actividad enzimática. El costo de un proceso en general debe reducirse sin perder la actividad de la enzima original. El proceso enzimático está directamente vinculado con los procesos de producción y purificación de la enzima.

II MARCO TEÓRICO

2.1 ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

Se han realizado diversas investigaciones para la extracción y purificación de proteínas incluidas enzimas utilizando diversos métodos. Algunos métodos de extracción se han basado en el uso de solventes, sales y control de pH para optimizar y mantener la actividad enzimática.

Cuchupoma y Orozco (2019), evaluaron el efecto del etanol a diferentes concentraciones (76°, 86° y 96° GL), en *Vasconcellea pubescens*, obteniendo mayor rendimiento (6.29 %) y actividad enzimática a 96° GL. Este hallazgo sugiere que el etanol no solo actúa como un solvente, además podría facilitar la solubilización de las proteínas, mejorando la recuperación de la papaína. Además, se ha empleado la extracción alcohólica en dos pasos para purificar la papaína del látex, diluyéndose con etanol al 96% hasta una concentración final del 10 % (v/v) para solubilizar el látex, y luego se añade más etanol (proporción 1:3) para precipitar la papaína (Tovar-Colmenárez et al., 2018).

De manera complementaria, Modelos pseudo-anti-solvente muestran que el etanol al 60 % (v/v) disminuye la solubilidad proteica y precipita selectivamente la enzima papaína manteniendo su actividad mayor a 90 %. Su cinética demostró un proceso rápido y de fácil escalabilidad sin co-precipitar polifenoles látex-dependientes (El-Zalaki, 2021).

En la investigación al extraer papaína a partir de *Vasconcellea pubescens*, como alternativa de cuajo vegetal, la enzima fue purificada con etanol, sulfato de amonio y cloruro de sodio. Se obtuvo actividad enzimática en el rango de 251-257 Upe (Arellano, 2019).

Con *Carica papaya* se logró una purificación con índice de recuperación del 81 % adicionando sulfato de amonio hasta 50 % de saturación a pH 5.0 (Marković et al., 2021).

En la purificación de papaína del latex de papaya y su cuantificación de actividad enzimática, se evaluó la relación de condiciones de secado, deshidratando el látex bajo dos condiciones (25 °C - 20 h, y 60 °C - 4 h), se purificó y cuantificó la actividad enzimática y la actividad proteolítica en base a la eficiencia de separación de proteínas de un efluente de residuos lácteos con un 60.03% en promedio. (Tovar-Colmenares et al., 2018).

Para la purificación de proteínas también se han utilizado equipos como cromatógrafos, y para los análisis cualitativos electroforesis. En la investigación purificación y caracterización preliminar de proteasa del latéx de *Vasconcellea candicans*, investigaciones previas reportaron al látex fresco con una actividad específica de la enzima papaína en 1.84 veces más a la reportada

en el látex de *Carica papaya*, el látex se suspendió (1:1) en buffer acetato de sodio a 10 mM y pH 5.0; se precipitaron las proteínas a pH 9.0 con sulfato de amonio al 45%, luego se purificó en una columna Sephadex G-100 y se obtuvo tres fracciones (A, B y C). La actividad enzimática específica (AEE) se cuantificó con caseína, la AEE de las fracciones A, B y C fueron de 87.74; 14.93 y 16.13 nkat.mg⁻¹ proteína respectivamente (Gutierrez et al., 2017).

En estudios de secado por liofilización, se han realizado trabajos para evaluar los efectos de parámetros de proceso como temperatura, presiones y tiempos de congelación. La liofilización a -55 °C a 0.011 mbar conserva hasta un 97 % de actividad proteolítica durante un año de almacenamiento (El-Zalaki, 2021). En la investigación sobre el efecto del tiempo de congelación y temperatura de liofilizado del latex de *Carica pubescens* sobre la actividad proteolitica en leche de vaca, variando la congelación entre 8, 12 y 16 horas, y temperatura de liofilización entre 50, 55 y 60 °C. Determinando la actividad proteolítica utilizando como sustrato en proteína la leche de vaca. La mayor cantidad de UTP (0,0149 UTP/g muestra- min) del látex se tuvo con temperatura de liofilizado de 55 °C, 12 h de congelado, y tiempo de secado de 3 h 40 minutos (Herrera y Ruiz, 2014).

La papaína purificada de *V. pubescens*, en mediciones con caseína (37 °C, pH 6.5), alcanzó una actividad específica de 143 ± 5 U / mg, lo cual fue superior en 28 % a los resultados obtenidos en *Carica papaya* bajo idénticas condiciones experimentales (Pino-Ramos et al., 2024).

Guevara-Silva et al. (2019) indican que el secado mediante liofilización representa el método más eficiente para conservar esta enzima, pero no se ha evaluado ampliamente la actividad enzimática de extractos de papaína obtenidos por diferentes métodos de extracción y que, para el proceso de extracción, es necesario conocer el efecto de variables como el pH y la liofilización en la actividad de papaína.

La actividad de la papaína se ve significativamente influenciada por las condiciones de pH y temperatura. La enzima muestra una actividad óptima dentro de un rango de pH de 6.5 a 7.5, y su actividad disminuye a niveles de pH más bajos, alcanzando solo alrededor del 46 % en la queratina a un pH de 4.5 (Trevisol et al., 2022).

La actividad optima del enzima papaína suele encontrarse en el rango neutro o ligeramente ácido. En estudios de optimización, la actividad máxima del enzima crudo de *Carica papaya* se encontró a pH 7.5 (Dejene et al., 2024). La papaína es generalmente estable en u amplio rango de pH (3.0 – 9.0) (Hafid et al., 2020). sin embargo, se ha observado que la enzima extraída del látex exhibe una estructura semicompacta en condiciones de pH bajo (Nekoueinaeini et al., 2024).

2.2 MARCO CONCEPTUAL

2.2.1 Enzimas

Las enzimas son catalizadores biológicos esenciales que aceleran las reacciones químicas en los organismos vivos, facilitando procesos metabólicos vitales (Castañeda, 2019; Kuddus, 2018).

Su estructura, predominantemente proteica, determina su función y especificidad (Punekar, 2018). Cada enzima actúa eficazmente en condiciones específicas de pH, temperatura, concentración y actividad del agua (Motta et al., 2023).

Las enzimas macromoléculas proteicas, las proteasas como la papaína, son hidrolasas que rompen los enlaces peptídicos (Nekoueinaeini et al., 2024) . Las enzimas de origen vegetal son capaces de funcionar en un amplio rango de temperaturas y pH (Choudhary et al., 2025) .

2.2.2 Papaína

La papaína es una proteasa de cisteína obtenida principalmente del fruto de la papaya. Es bien conocida por su capacidad para hidrolizar proteínas, lo que la hace muy valiosa en diversas aplicaciones, incluyendo la transformación de alimentos y medicamentos. La enzima tiene características como actividades óptimas para niveles específicos de pH y temperaturas. Los estudios han demostrado que la papaína mantiene su actividad catalítica en un rango de niveles de pH, con un pico de actividad que se observa a menudo en torno a un pH de 6 a 7 (Nekoueinaeini et al., 2024a)

La papaína es una enzima capaz de aglomerar proteínas y de resistir la temperatura, y en bajas concentraciones puede funcionar adecuadamente; no contiene productos químicos, es fácil de obtener, se fabrica por sí misma, no es tóxica y no tiene reacciones secundarias (Fachraniah et al., 2019).

En términos de conformación química, la papaína es una endopeptidasa que presenta una estructura tridimensional única, lo que le permite interactuar eficazmente con los sustratos proteicos. La estabilidad y la eficacia de la papaína se ven influidas por los métodos de purificación y acondicionamiento utilizados (Cornejo, 2023) compara diferentes métodos de purificación de la papa y concluye que las variaciones en la técnica utilizada pueden afectar significativamente a la actividad catalítica de la enzima.

La combinación de la papaína con otras enzimas, como la quimotripsina, ha demostrado ser prometedora en la extracción de productos marinos, lo que evidencia su versatilidad en diferentes contextos (Guzhñay, 2022).

2.2.3 Actividad enzimática (AE)

Medir la AE implica medir la velocidad de una reacción química catalizada enzimáticamente. Dado que una enzima puede catalizar la reacción en la que intervienen un sustrato en particular o en una familia de sustratos relacionados estructuralmente, la medida de AE resulta ser específica para cada par E-S. así, la medida de la AE brinda información cuantitativa de la presencia de una enzima particular en una muestra en la que la enzima en cuestión puede no estar pura (Lodeiro, 2017). Hay dos variables que juegan un papel fundamental en la catálisis enzimática, estas dos variables afectan tanto a la enzima como al sustrato y también al curso de la reacción. Tienen influencia tanto en la estabilidad estructural de la enzima como en las constantes cinéticas, con lo cual no solo afecta la velocidad de reacción sino también la proporción de enzima activa que hay en la muestra. El efecto del pH sobre el sustrato también determina la proporción de sustrato en la forma iónica adecuada para unirse a la enzima (Battaner, 2014).

La velocidad de las reacciones catalizadas por enzimas se incrementa con la temperatura. En las reacciones catalizadas por enzimas el efecto de la temperatura es más complejo porque casi todas las enzimas se desnaturalizan al ser calentadas por encima de las temperaturas fisiológicas (Lodeiro, 2017).

Además de su extraordinaria especificidad y eficiencia catalítica, las enzimas presentan otra propiedad única: son capaces de regular su actividad en función de la concentración de sustrato, de la presencia de ciertas sustancias en el medio o de ciertos cambios producidos en su entorno, lo que les dota de cierto grado de inteligencia. (Plou, 2016).

La actividad catalítica de la papaína se atribuye a su estructura química única, que incluye una triada catalítica de aminoácidos cruciales para su función proteolítica. La enzima rompe principalmente los enlaces peptídicos de las proteínas, catalizando así su hidrólisis. Las investigaciones han indicado que los cambios en la papaína, como su inmovilización en quitosano, pueden mejorar su eficiencia catalítica y su estabilidad (Ol'shannikova et al., 2022)

La capacidad de hidrólisis de la papaína es significativa y ha sido diseñada para su eficacia en la descomposición de diversos sustratos proteicos. Por ejemplo, las investigaciones sobre su uso para la hidrólisis enzimática de proteínas de garbanzo han mostrado resultados prometedores,

mejorando tanto la actividad antioxidante como las propiedades funcionales (Ahmad Nadzri et al., 2021)

La actividad enzimática es muy afectada por el pH, tampones, fuerza iónica y constante dieléctrica de la solución. Las reacciones catalizadas por enzimas casi siempre implican grupos ionizables en la enzima y/o en el sustrato. Debido a la gama de valores de pH, es posible requerir más de un tampón en un experimento. (Punekar, 2018).

2.2.4 *Vasconcellea*

Las investigaciones destacan que estas frutas, entre las que se incluyen especies como *Vasconcellea quarifolia* y *Vasconcellea pubescens*, son ricas en nutrientes y tienen importantes propiedades antioxidantes, lo que las posiciona como candidatas potenciales para el desarrollo de alimentos funcionales (Folharini et al., 2019)

La fruta se utiliza a menudo en diversas preparaciones, desde bebidas hasta dulces tradicionales, lo que pone de relieve su versatilidad y su importancia como fuente de alimento básico para las poblaciones locales (Castro Medina, 2025).

La composición nutricional de estas frutas muestra altos niveles de vitaminas esenciales, carbohidratos y minerales, lo que sugiere su utilidad para mejorar la diversidad alimentaria, especialmente en regiones donde las fuentes de nutrientes son limitadas (Silva et al., 2022).

El látex de las diferentes especies de Caricáceas muestra diferentes composiciones de proteinasas. Las proteinasas de la papaya común han sido estudiadas en detalle, y utilizada ampliamente para la obtención de papaína comercial. Las enzimas más importantes son la papaína, quimopapaína, caricain (formalmente conocida como proteinasa Ω y glicylendopeptidasa (también conocida como papaya proteinasa IV) (Chittaranjan, 2011, p. 216).

En la figura 1 se muestra las imágenes de especies de *Vasconcellea*.

Figura 1

Fotografías de las especies *Vasconcellea* en estudio

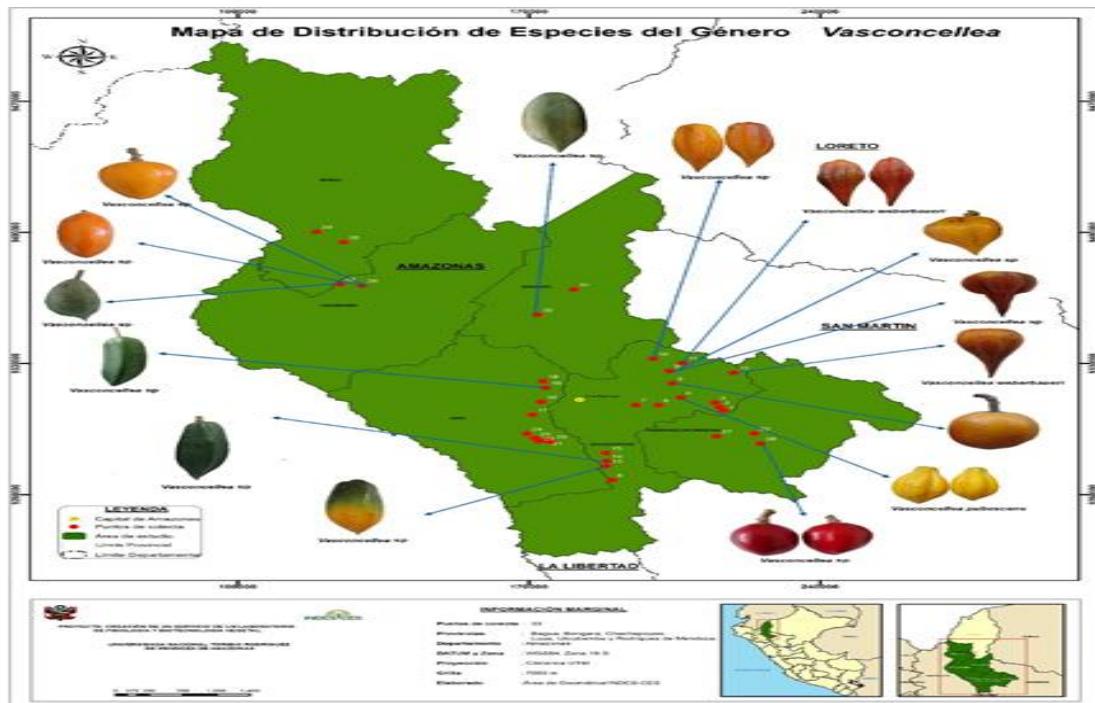


Nota. a) *Vasconcellea chachapoyensis*, b) *Vasconcellea heilbornii* c) *Vasconcellea pubescens*.

En la figura 2, se presenta algunas localidades donde se producen algunas especies del género *Vasconcellea* en la región Amazonas.

Figura 2

Distribución de especies del género *Vasconcellea* en la región Amazonas- Perú



Nota: imágenes de Tineo et al. (2020).

2.2.5 Liofilización

La liofilización es un proceso de deshidratación ampliamente utilizado en la industria alimentaria, que se distingue por su capacidad para conservar la estructura y la calidad nutricional de diversos alimentos. Este método consiste en eliminar el agua de los alimentos y desorber los productos alimenticios, lo que permite una conservación eficaz sin una degradación térmica significativa (Ismed et al., 2024; Wolkers y Olednhof, 2021). Esta técnica conserva los alimentos al impedir el crecimiento microbiano y mantener mejor el contenido de nutrientes y el sabor que los métodos de secado convencionales (Liu et al., 2022; Yao et al., 2023).

El principio científico subyacente de la liofilización abarca tres etapas principales: congelación, secado primario (sublimación) y secado secundario (desorción) (Nwankwo et al., 2023).

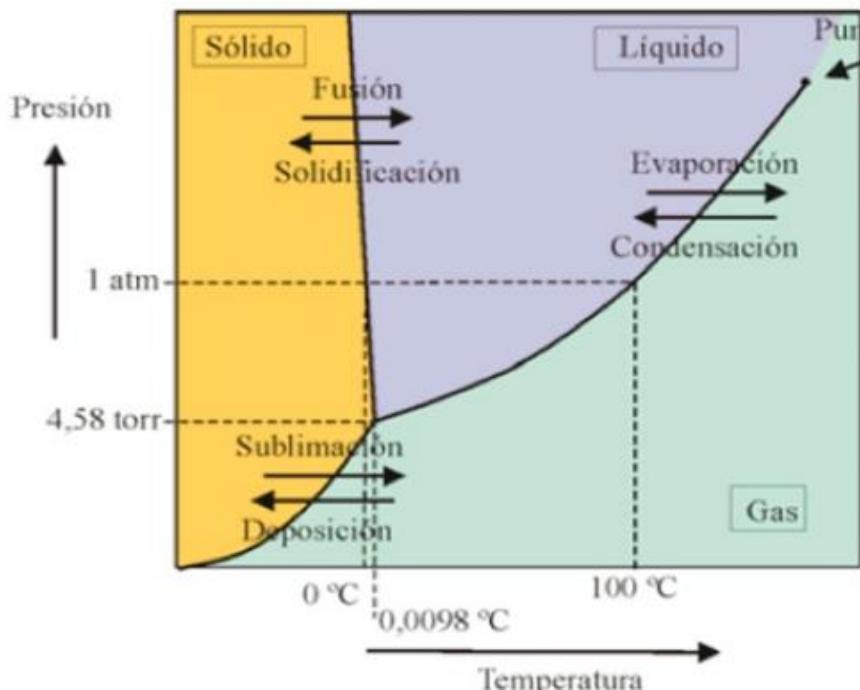
En la congelación, la humedad del producto se cristaliza, es fundamental ya que la morfología de los cristales formados afecta la resistencia a la transferencia de masa durante el secado primario (Tchessalov et al., 2023).

En la fase de secado primario, se reduce la presión, lo que permite que el hielo se convierta directamente en vapor, sin pasar por la fase líquida (Al Faruq et al., 2025; Mujumdar, 2020). La presión de vacío favorece la fusión del hielo, la presión y la temperatura son directamente proporcionales, condición necesaria para este fenómeno. La sublimación en el secado de alimentos elimina la humedad, transformando el hielo directamente en vapor, lo que preserva la estructura y la calidad nutricional de los alimentos (Nowak y Jakubczyk, 2020).

La fase de secado secundario reduce aún más el contenido de humedad residual, lo que da como resultado un producto final con bajo contenido de agua que mantiene sus características originales (Al Faruq et al., 2025).

Figura 3

Diagrama de fases con el punto triple del agua

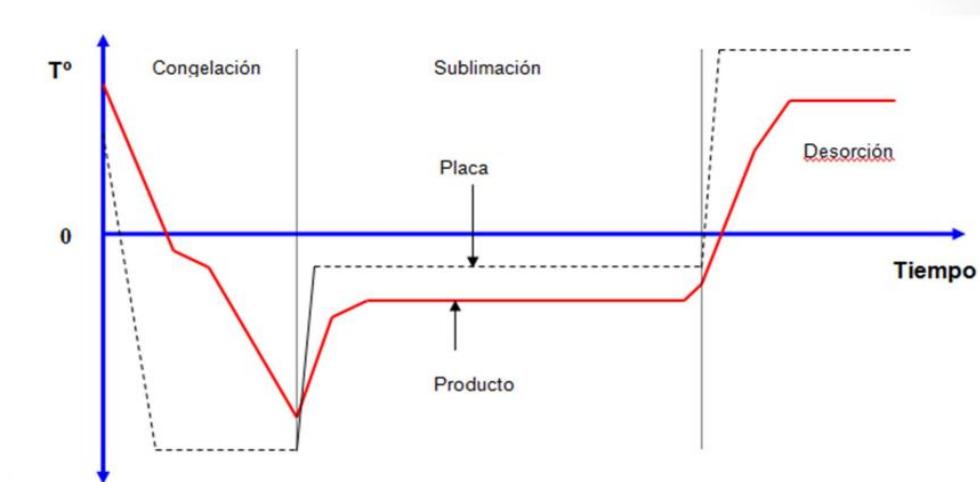


Nota: Proyecto de Desarrollo de la Agricultura Orgánica

El control de parámetros como la temperatura y la presión es crucial para minimizar este efecto, garantizando la estabilidad y la calidad de los productos (Assegehegn et al., 2021; Nowak & Jakubczyk, 2020). Una optimización eficaz mejora las propiedades físicas generales de los productos liofilizados, lo que contribuye a su calidad nutricional (Liu et al., 2022).

Figura 4

Etapas de la liofilización



Se ha destacado la conservación de los compuestos beneficiosos durante la liofilización, lo que demuestra sus ventajas con respecto a los métodos de secado al sol en lo que respecta a la actividad enzimática (Yap, 2021).

A pesar de estos avances, siguen existiendo retos en el ámbito de la congelación, como el elevado consumo de energía y los prolongados tiempos de procesamiento, que pueden provocar un aumento de los costos de producción (Tchessalov et al., 2023).

2.2.6 Extracción de proteínas con etanol

La precipitación de proteínas basada en solventes proporciona una recuperación excepcional, particularmente cuando se controla la fuerza iónica de la solución; se ha demostrado que la adición de disolventes orgánicos favorece la precipitación de proteínas de alto peso molecular (Baghalabadi y Doucette, 2020).

Los diferentes disolventes orgánicos suelen diferir en su capacidad para precipitar proteínas, y los precipitantes orgánicos comunes incluyen acetona, isopropanol, etanol y metanol, además los disolventes orgánicos suelen ser volátiles, por lo que los disolventes orgánicos residuales en las proteínas diana se pueden eliminar fácil y rápidamente (Du et al., 2022).

III. METODOLÓGIA

3.1 DE ACUERDO CON EL ENFOQUE DE LA INVESTIGACIÓN

Por el enfoque: Cuantitativo
Por el fin perseguido: Aplicada
Por la técnica para contrastar: Experimental.

3.2 MÉTODO

3.2.1 Proceso de obtención de papaína del género Vasconcellea

La parte experimental de la investigación se realizó en los laboratorios de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas en Chachapoyas.

Recolección de la fruta

Se selecciono frutas sanas y que no han alcanzado su estado de madurez final, la recolección de los frutos se realizó entre las 6 a 8 a.m. y fue aleatoria en los diferentes fundos, con el fin de disminuir el porcentaje de error, se colectaron los frutos que no presenten su índice de madurez final, luego se transportaron a los laboratorios de la UNTRM en Chachapoyas en recipientes refrigerados.

Caracterización de la fruta

Se realizo a la fruta una caracterización biométrica (tamaño, diámetro y peso).

Obtención del Látex

Las muestras seleccionadas se sometieron a un lavado utilizando agua potabilizada, luego se desinfectó con alcohol etílico, posteriormente haciendo incisiones con una punta de acero inoxidable con cortes 2 a 3 mm de profundidad, iniciando desde la parte superior hasta la parte inferior, la cual se colectaron en recipientes de vidrio con tapa rotulada.

Parte del látex se destinó como muestra para realizar los análisis fisicoquímicos como: sólidos solubles, pH, contenido de proteínas, actividad enzimática, cenizas, minerales, de acuerdo con los métodos de la AOAC (Association of Official Analytical Chemists, 1990). Estas pruebas se realizaron con el objetivo de estandarizar la materia prima.

Purificación

Para purificar la papaína se modificó el método de extracción con alcohol en dos pasos, utilizada por (Andrade et al., 2011). Desarrollándose las siguientes etapas del proceso:

- El látex extraído, se recolectó en vasos de precipitación de vidrio las cuales contenían buffer acetato de sodio (10 mM a pH 5), EDTA (5 mM) y solución de bisulfito de sodio (0.5 % p/p). Los tratamientos se estandarizaron a pH a 6.0 y 8.0 utilizando NaOH (0.1 N); para esto se utilizó un agitador vortex, por un tiempo de 2 minutos, con el propósito de homogenizar.
- Centrifugación a temperatura de refrigeración: 8000 rpm por 5 min y 4 °C.
- Precipitación, se añadió lentamente y en agitación sulfato de amonio (45 %) hasta saturación, manteniéndolo a temperatura de 4 °C por un tiempo aproximado de 14 horas. Permitiendo precipitar para remover luego gran parte de las moléculas orgánicas e inorgánicas.
- Dilución, el remanente líquido se diluyó en etanol (96 %, volumen 1:3).
- Centrifugación, 8000 rpm por 5 min y 4 °C.
- Dilución, el remanente líquido se diluyó en etanol (96%, volúmenes 1: 3, volumen filtrado/etanol).
- Centrifugación, 8000 rpm por 5 min y 4 °C.
- La muestra se congeló a -65 °C por 12 horas aproximadamente, en un ultracongelador.
- Se utilizó el equipo de liofilización de laboratorio, marca Labconco (4,5 l/-84 °C), operando a una presión de vacío de 0,001 mbar. El tiempo total entre sublimación, secado primario y secundario fue hasta 36 horas.
- El envasado se realizó inmediatamente finalizada la liofilización, en botellas de vidrio oscuras; para luego ser almacenados en ambiente limpio, bajo sombra y en refrigeración a 4 °C.

3.2.2 Técnicas e instrumentos de investigación

Se realizaron los análisis fisicoquímicos según métodos de la Association of Official Analytical Chemists (1990), así como también la actividad enzimática, actividad proteolítica. Se realizaron los siguientes análisis:

- **Peso:** se utilizó una balanza de precisión. Marca: Digital Precisión y modelo: E300A.
- **Medidas de longitudes y diámetros,** se realizó con un vernier calibrado.
- **pH:** se utilizó un pH metro, marca: Quimis, modelo: Q400MT. La muestra por analizar se colocó en la balanza digital, adicionando a este 10 ml de agua destilada y finalmente colocar el potenciómetro dejando que se estabilice el valor de pH en la pantalla del equipo (AOAC, 2007, 981.12 41.1.04);
- **Humedad:** se utilizó un equipo medidor de humedad. Marca: Adam y modelo: AMB50. Se colocó 2 g de la prueba a ser analizada.

- **Cenizas:** se obtuvo con el equipo mufla, donde se incineró la muestra, adaptando la metodología descrita en la norma (AOAC: Official Methods of Analysis, 2005) empleando el método 940.26.
- **Proteínas:** se determinó por el método AOAC Official Method 968.06 (Dumas Method for Nitrogen in Food).
- **Actividad enzimática:** se evaluó mediante el método de Balls y Hoover (C. A. Castro, 2023).
- **Actividad proteolítica:** se utilizó el método Sorensen-Walker (Anexo 4).
- **Rendimiento** en base al peso del látex y fruta, se calculó con la siguiente relación:
 - % Rendimiento de extracción = $\frac{\text{Peso de látex obtenido (g)}}{\text{Peso de fruta (g)}} \times 100$
- **Rendimiento** en base a la papaína liofilizada y el látex, se calculó con la siguiente relación:
 - % Rendimiento de purificación = $\frac{\text{Peso de papaína obtenido (g)}}{\text{Peso del látex (g)}} \times 100$

3.2.3 Materiales y Equipos

Insumos y reactivos

- Papaína comercial, de la marca: Merck EMPROVE ESSENTIAL, Papaín 6000 USP/mg.
- EDTA, 5 mM
- Solución bisulfito de sodio 0.5 % m/m
- Buffer acetato de sodio, 10mM, pH 5.0
- Sulfato de amonio, qp
- Etanol, 96°
- Ácido fosfórico, 0.1 N
- Hidróxido de sodio, 0.1 N
- Agua ultrapura
- Caseína comercial, marca Merck de grado alimentario
- Solución de ácido tricloroacético 5%

Equipos, instrumentos y otros

- Equipo Liofilizador de laboratorio, marca Labconco (4,5 L / - 84 °C).
- Balanza marca Digital Precisión, modelo: ES-300A.
- pH metro, marca: Quimis, modelo: Q400MT.
- Refractómetro, marca: MRC, modelo: REF-W
- Analizador de humedad, marca: Adam, modelo: AMB50

- Centrifuga refrigerada, marca: Hetich, modelo Universal 320R
- Mufla, marca Pinzuar Ltda.
- UltraCongelador, marca Bosch
- Equipo Dumas, marca LECO, modelo CHN628
- Refrigeradora, marca Bosch, modelo KAN58A40J
- Baño maría de 22l digital, YCW-910
- Termómetro digital, marca GN modelo TP-|101
- Agitador magnético, marca Quimis, modelo Q261-22
- Cooler de plástico.
- Filtro de papel Whatman N° 12

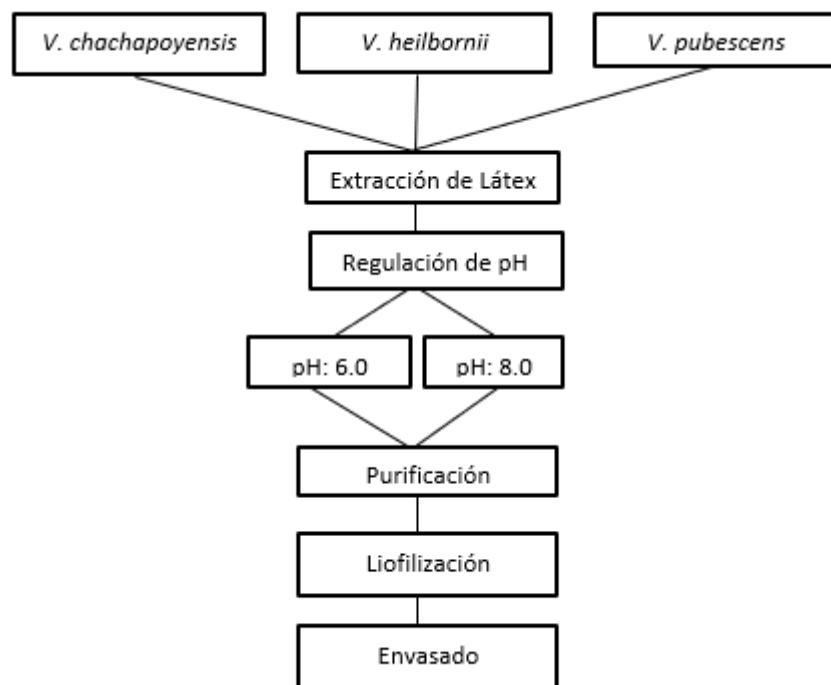
3.3 Diseño de investigación

Para fines de este estudio el diseño de experimentos se realizó con un diseño completamente al azar (DCA) y arreglo factorial de 3 x 2 (3 especies del género *Vasconcellea* y 2 niveles de pH); con 4 repeticiones en cada tratamiento, como se muestra en la figura 5.

Con el planteamiento del diseño se buscó obtener la enzima papaína purificada y liofilizada con una actividad enzimática superior a 200 Upe, para un potencial uso comercial.

Figura 5

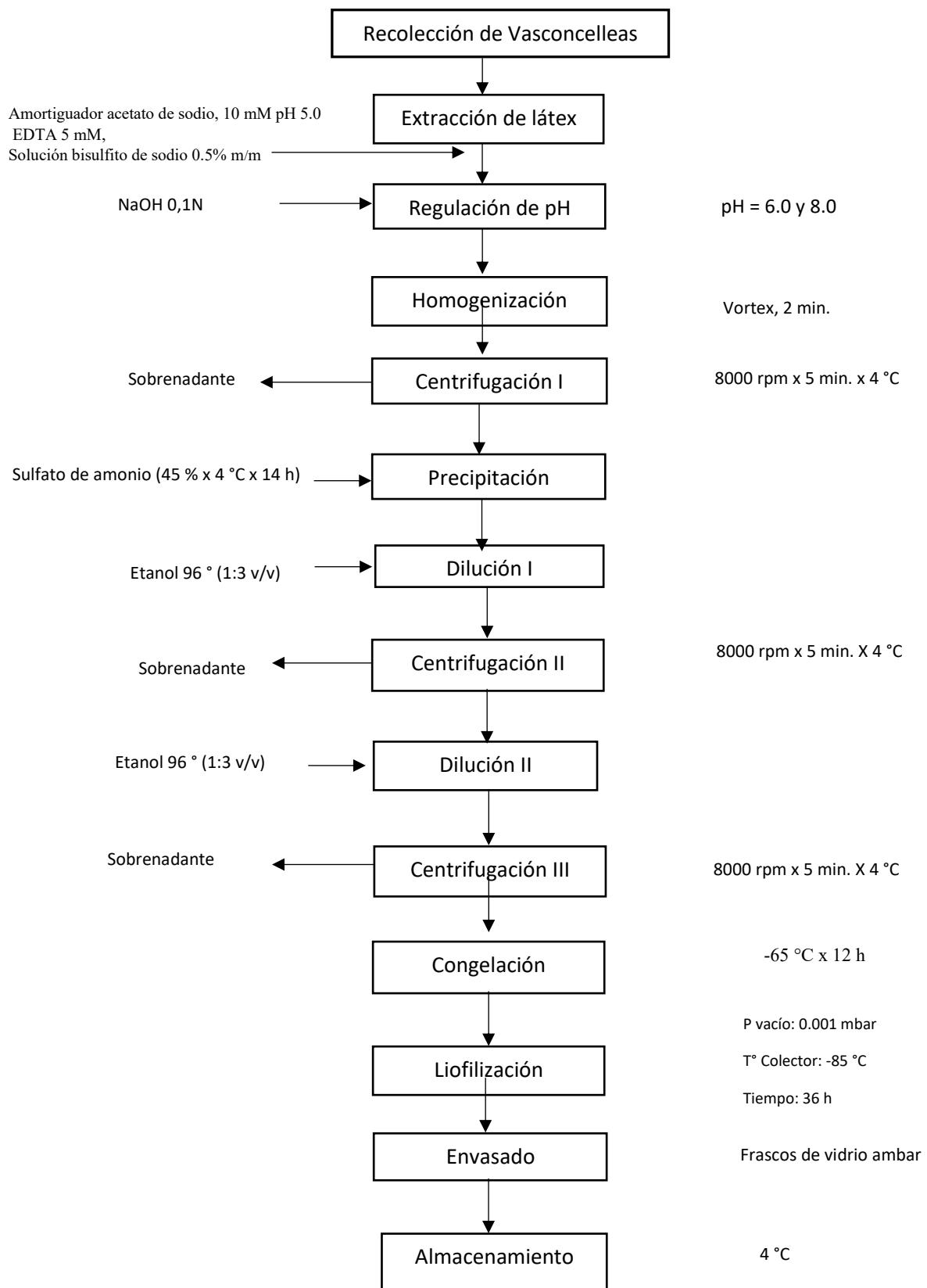
Diseño experimental de la investigación



Para la obtención de la enzima se siguió las operaciones como se muestra en la figura 6.

Figura 6

Diagrama de flujo para la obtención de enzima papaina



3.4 POBLACIÓN Y MUESTRA

Población

Se consideró las producciones de los centros poblados de los distritos de Molinopampa, Luya y Bongará, donde se ha ubicado presencia de las tres especies de *Vasconcellea*s. Las plantas de estas especies crecen en forma natural sin cuidado agrícola de sus propietarios.

Muestra

Las muestras fueron recolectadas de agricultores de centros poblados pertenecientes a distritos como: Molinopampa, Luya y Jumbilla en las provincias de Chachapoyas, Luya y Bongará en la región Amazonas. Los frutos fueron recolectados de biohuertos familiares, estos se cultivan sin cuidados agronómicos alguno. Las muestras se seleccionaron por conveniencia, aquellas frutas con índice de madurez menor a 40% de color amarillo, considerando lo recomendado por la FAO; además con un buen estado de conservación. Se colectaron un aproximado de 24 kilogramos por especie.

3.5 OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

Variables independientes:

- Tipo de materia prima: Especies de *Vasconcellea*, *V. pubescens*, *V. chachapoyensis* y *V. x heilbornii*.
- Niveles de pH: 6.0 y 8.0

Variable dependiente:

- Actividad enzimática

Indicadores:

Proteínas, Cenizas, Humedad y Rendimiento

Actividad proteolítica

- Peso, diámetro y peso de las frutas

- Rendimiento de enzima / látex.
- Contenido de proteínas en la enzima purificada.
- Actividad enzimática y proteolítica de la papaína

Tabla 1

<i>Operacionalización de variables</i>					
	Variables	Definición		Dimensión	Indicador
		Conceptual	Operacional		
V. Independientes	Especies Vasconcellea	Especies lactíferas que contienen complejos enzimáticos en su látex	El látex extraído de las tres especies de Vasconcellea se purificó y liofilizó.	Látex de las Vasconcelleas	- Látex (g)
		pH	Carga potencial de hidrogeniones en una materia.	Regulador de carga potencial	- Rendimiento (%)
		Actividad enzimática	Medida de la velocidad con que transcurre una reacción catalizada por una enzima.	Actividad enzimática y proteolítica	-Unidad enzimática específica (Upe)
					- Características fisicoquímicas

3.6 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Los resultados fueron recolectados vía observación experimental directa y sistemática de los diferentes análisis fijados. Estas mediciones se realizaron utilizando diversos métodos, equipos e instrumentos particulares para cada fin previsto, se tomó los siguientes datos:

- Materia prima: humedad, pH, cenizas, pesos y medidas.
- Producto final: proteínas, actividad enzimática, actividad proteolítica, humedad, cenizas.

Como instrumento de recolección de datos se utilizó las fichas de registros de datos, estos datos fueron obtenidos de los diferentes resultados en las respectivas pruebas. Para los diversos análisis se utilizaron los materiales, equipos e instrumentos anteriormente descritos.

3.7 TÉCNICAS DE ANÁLISIS DE RESULTADOS

Análisis estadístico

Se aplicó análisis estadístico de acuerdo con los objetivos específicos establecidos.

Para fines de este estudio el diseño de experimentos se realizó un diseño completamente al azar (DCA) con arreglo factorial de 3A x 2B, considerando el factor A: las tres especies del género *Vasconcellea*, y el factor B: dos valores de pH (6.0 y 8.0), con cuatro repeticiones para cada tratamiento, por lo cual se tuvo un total de 24 unidades experimentales. Se utilizó un nivel de significancia de 5 %. Para el procesamiento de datos se utilizó el programa estadístico R.

Factores: 3A x 2B

Factor A: especies del género *Vasconcellea*.

A1= *V. chachapoyensis*

A2= *V. x herbonii*

A3= *V. pubescens*

Factor B: valores pH

B1= pH 6,0 y

B2= pH 8,0

Modelo aditivo lineal:

$$Y_{ijk} = U + A_i + B_j + (AB)_{ij} + E_{ijk}$$

Dónde:

i = 1, 2, 3 (Nivel del factor A)

j = 1, 2 (Nivel del factor B)

$k = 1, 2, 3, 4$ repeticiones.

U: Efecto de la media poblacional

A_i : Efecto de i -ésimo especie del género Vasconcellea.

B_j : Efecto de j -ésimo pH

$(AB)_{ij}$: Efecto de la interacción del factor A_i y el factor B_j .

E_{ijk} : Efecto de error experimental en el i -ésimo especie; j -ésimo pH y k -ésimo repetición.

Nivel de significación (α): 5%

Tabla 2

Arreglo experimental con 4 repeticiones

Repeticiones	A1		A2		A3	
	B1	B2	B1	B2	B1	B2
1	A1B1	A1B2	A2B1	A2B2	A3B1	A3B2
2	A1B1	A1B2	A2B1	A2B2	A3B1	A3B2
3	A1B1	A1B2	A2B1	A2B2	A3B1	A3B2
4	A1B1	A1B2	A2B1	A2B2	A3B1	A3B2
	T1	T2	T3	T4	T5	T6

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 CARACTERIZACIÓN DE LAS VASCONCELLEAS

4.1.1 Caracterización biométrica de las frutas

En la tabla 3 se presenta la caracterización biométrica de las frutas de *Vasconcellea pubescens*, *Vasconcellea x heilbornii* y *Vasconcellea chachapoyensis*. Se evaluaron variables como peso unitario, diámetro y altura promedio.

Tabla 3

Caracterización biométrica de frutos de las especies de Vasconcelleas

Especie	Nº de frutos	Peso unitario (g)	Diámetro Promedio (cm)	Altura promedio (cm)
<i>V. chachapoyensis</i>	750	32.00 ± 4.6	4.1 ± 0.9	6.48 ± 1.4
<i>V. x heilbornii</i> cv	36	666.67 ± 89.6	10.6 ± 2,18	22.3 ± 5.65
<i>V. pubescens</i>	222	108.11 ± 21.8	6.18 ± 0.85	8.82 ± 0.86

Se observaron diferencias en las medidas biométricas entre las especies nativas del género como los pesos, diámetros y altura de las frutas.

Figura 7

Fotografías de V. chachapoyensis



Nota: a) fuente propia, b) Tineo et al. (2020)

Figura 8

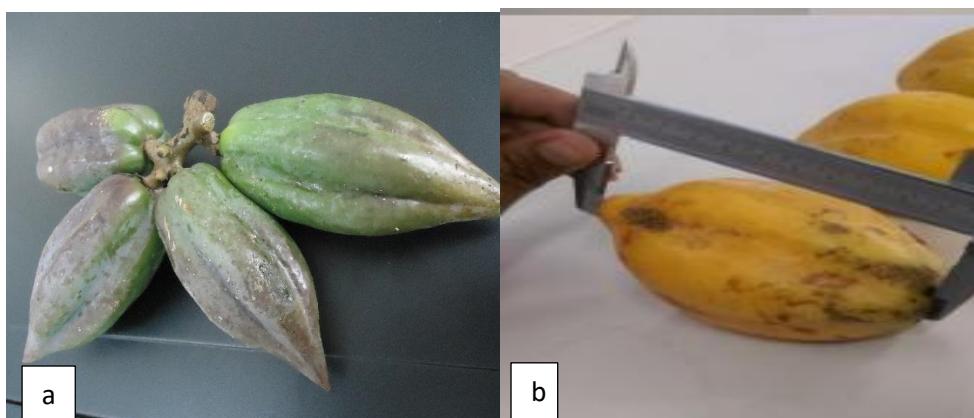
Fotografías de *V. pubescens*



Nota: a) fuente propia, b) Lemus-Mondaca et al. (2024)

Figura 9

Fotografías de *V. x heilbornii*



Nota: a) fuente propia, b) Auquiñivin (2019)

La especie *V. chachapoyensis* registró los valores más bajos en todas las variables evaluadas, con un peso promedio de 32.00 ± 4.6 g, diámetro de 4.1 ± 0.9 cm y altura de 6.48 ± 1.4 cm. En contraste, *V. heilbornii* registro los mayores valores, alcanzando un peso unitario promedio de 666.67 ± 89.6 g, un diámetro de 10.6 ± 21.8 cm y una altura de 22.3 ± 5.65 cm. Por su parte, *V. pubescens* presento valores intermedios, con un peso promedio de 108.11 ± 21.8 g, diámetro de 6.18 ± 0.85 cm y altura de 8.82 ± 0.86 cm.

Es importante destacar que *V. chachapoyensis* fue recientemente identificada botánicamente en la región Amazonas - Perú (Tineo et al., 2020a) motivo por el cual no se dispone de antecedentes suficientes que permiten establecer comparaciones más amplias.

Con respecto a estudios de la *V. pubescens*, estudios previos reportan valores superiores en la presente investigación. Herrera y Ruiz (2014) obtuvieron peso promedio de 167.56 g, 6.26 cm de diámetro y 9.94 cm de altura; mientras que Arellano (2019) reportó promedios de 176.43 g en peso, 6.31 cm en diámetro y 9.55 cm en altura, observándose con estas investigaciones que el peso es la mayor diferencia. Estas diferencias podrían atribuirse a las prácticas agroecológicas, climas propios o a la variabilidad genética propia de la especie.

De lo mencionado se reafirma la notable diversidad morfológica presente en el género *Vasconcellea*.

Cabe señalar que las muestras analizadas en este estudio fueron recolectadas con índice de madurez inferior al 40 %, es decir con color amarillo, lo que pudo influir en las diferencias observadas respecto a la literatura, ya que la madurez afecta notablemente los atributos físicos de los frutos. Por ello, se resalta la importancia de estandarizar criterios de madurez en futuros estudios comparativos. Las recolecciones se realizaron entre los meses de febrero y marzo.

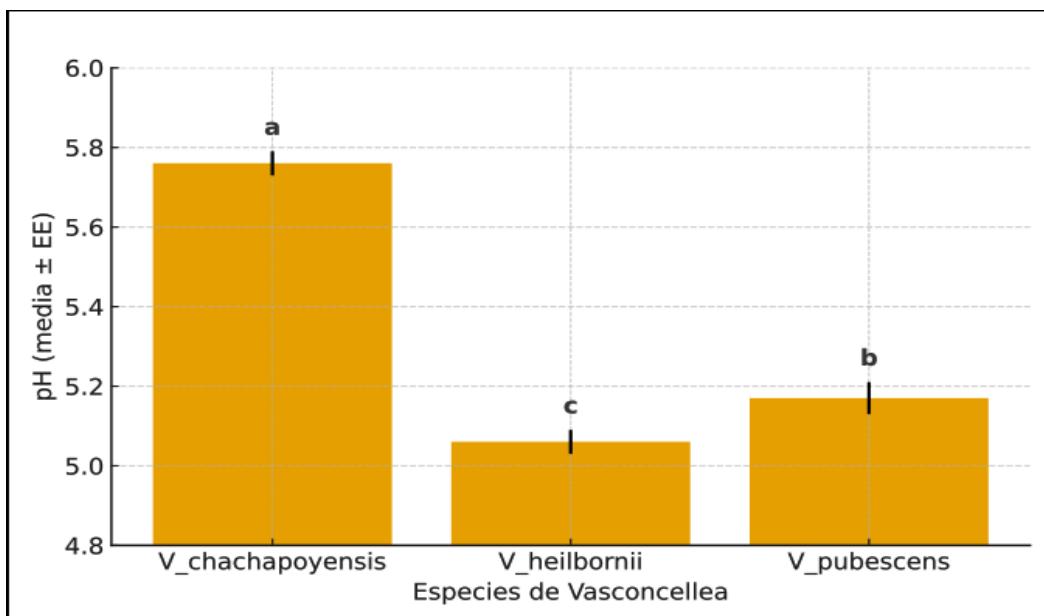
4.1.2 Caracterización fisicoquímica del látex

pH de látex de las tres especies

La figura 10 muestra los valores de pH del látex extraído de las tres especies de *Vasconcellea*s estudiadas.

Figura 10

pH del látex de las especies de *Vasconcellea*, con prueba tukey



Los resultados evidencian diferencias significativas entre las tres especies de *Vasconcellea*s en cuanto al pH. El valor más ácido se observó en *V. x heilbornii* (5.1), mientras que *V. chachapoyensis* presentó el más alto (5.7).

Estos valores se encuentran dentro del rango reportado para especies de la familia *Caricácea*, cuyo látex presenta un pH entre 5.0 y 6.0 (El-Zalaki, 2021). La proximidad de valores obtenidos en el género *Vasconcellea* a dicho rango sugiere similitud fisiológica que puede tener implicancias en la estabilidad y actividad enzimática de la papaína, enzimas de relevancia biotecnológica.

La variabilidad encontrada entre las especies podría estar asociada a diferencias genéticas y fisiológicas propias de cada taxón, así como a condiciones ambientales específicas de los lugares de muestreo.

Estas variaciones concuerdan con lo señalado en estudios previos sobre la influencia del pH en la funcionalidad enzimática, donde se destaca que ligeros cambios en la acidez del látex pueden modificar la eficiencia catalítica y estabilidad de enzimas proteolíticas, un pH fuera del rango óptimo podría llevar a la desnaturación parcial de la enzima o a precipitaciones indeseadas, afectando el rendimiento final del proceso.

Determinación del rendimiento de producción de la enzima a partir del látex y fruto

Tabla 4

*Rendimiento de las especies Vasconcellea*s

Especies	Peso	Látex /	Látex	Rendimiento	Rendimiento
	total, frutos (g)	fruto (g)	Total (g)	(látex/fruta)	(enzima/látex)
<i>V. chachapoyensis</i>	24 000	0.4458	334.32	1.39	16.89
<i>V. x heilbornii</i>	24 000	4.6567	167.64	0.70	16.92
<i>V. pubescens</i>	24 000	0.9672	214.71	0.89	15.93

La *V. chachapoyensis* presentó mayor rendimiento en látex (1.39) que el de *V. pubescens* y la *V. heilbornii*.

El rendimiento en *V. pubescens* (0.89) es muy cercano al obtenido por Herrera y Ruiz (2014) (0.71 %), y menor al obtenido por Arellano (2019) (1.11 %).

Sinche (2009), menciona que los contenidos de látex fluido y seco tienen relación directa al tamaño, con los frutos de más dimensiones se puede tener rendimientos superiores; lo que concuerda con lo obtenido en esta investigación, pero que en el rendimiento total resulta superior la especie de menor tamaño debido al número que ellos representan. Gutiérrez et al. (2017) obtuvieron 3.3 más contenido de enzima papaína de látex fresco de *V. candicans* que la *Carica papaya*. Estas desigualdades en peso y rendimientos con otros estudios se deberían a condiciones variadas como el aspecto genético, cultivo, condiciones ambientales. La eficacia de la extracción de la papaína se ve significativamente afectada por la madurez del fruto, ya que los frutos maduros tienden a contener concentraciones más altas de la enzima (Choudhary et al., 2025). A medida que el fruto madura, la actividad enzimática aumenta, lo que mejora el rendimiento de la papaína, por lo que el momento de la cosecha es crucial para una extracción óptima (Urgessa et al., 2019).

4.2 EXTRACCIÓN, PURIFICACIÓN Y LIOFILIZACIÓN DE PAPAÍNA

4.2.1 Papaína purificada y liofilizada

Se pudo obtener extraer papaína liofilizada del látex de las *Vasconcellea*s, en la figura 11 se presenta la enzima envasada en frascos de vidrio oscuro.

Figura 11

Fotos de papaína envasada



La secuencia experimental (estandarización del pH, centrifugaciones en frio, precipitación con sulfato de amonio al 45 %, doble dilución con etanol al 96 %, ultracongelación y liofilización) permitió obtener papaína en polvo de las tres especies.

Estudios como el de Cuchupoma y Orozco (2019) revelan que la concentración de etanol influye significativamente en el rendimiento de la extracción enzimática, lo que sugiere la necesidad de optimizar estos parámetros para mejorar la eficiencia.

Milošević et al. (2019) estudiaron la estabilidad de la papaína en presencia de etanol en condiciones ácidas, revelando que el etanol no solo ayuda en la purificación, sino que también estabiliza la enzima. Es importante destacar que los estudios han demostrado que las diferentes concentraciones de etanol pueden afectar significativamente la recuperación y la pureza de la papaína. Babalola et al., (2023) informaron del éxito de la extracción y la caracterización de la papaína utilizando etanol, estableciendo las condiciones óptimas que maximizan el rendimiento de las enzimas y minimizan la presencia de contaminantes.

El etanol no solo ayuda a mantener la actividad enzimática de la papaína, sino que también contribuye a minimizar las impurezas asociadas a otros disolventes (Erba Urgessa et al., 2019). La eficiencia de la extracción puede aumentarse aún más combinando el etanol con diversas técnicas de extracción, como la extracción asistida por ultrasonidos, que ha demostrado un notable aumento del rendimiento enzimático (Singla y Sit, 2023).

Una comparación entre la extracción con etanol y los métodos tradicionales de extracción acuosa muestra una notable mejora en el proceso de purificación cuando se utiliza etanol. Esto se debe principalmente a la capacidad del etanol para precipitar proteínas y facilitar el aislamiento de la papaína con un mínimo de sustancias contaminantes (Khatun et al., 2023a). Por lo tanto, el nivel de pureza de la enzima extraída se convierte en un factor importante para determinar su idoneidad para diversas aplicaciones.

La precipitación con sulfato de amonio se basa en los principios físico-químicos de solubilidad e interacciones proteicas, donde se utiliza el cambio en la concentración de salina para las proteínas de interés intermedio de las impurezas de otras (Cornejo, 2023). La solubilidad de la papaína en soluciones salinas es un factor clave, ya que las proteínas suelen presentarse en forma compleja en concentraciones elevadas de sal, lo que favorece su precipitación (Tellechea, 2012). Se produce una papaína con grado de pureza aceptable y una alta actividad enzimática relativa, con la ventaja de ser un método simple, rápido y económico, sin implicar el uso de altas concentraciones salinas, o sustancias contenido tóxicas, o técnicas cromatográficas, obteniéndose por tanto una papaína con una mínima de alteraciones en su actividad enzimática (Cornejo, 2023)

La liofilización es considerada como uno de los métodos que mejor conserva los alimentos y medicinas, por mantener los componentes biológicos, nutricionales y sensoriales, esto debido a que protege estructuras proteicas sensibles y su diseño (congelación, secado primario y secundario) puede optimizarse para minimizar reabsorción de humedad y consumo energético.

Por los resultados en este estudio, en relación con la evaluación de la AE y proteica de la papaína de las *Vasconcellea*s, se corrobora que la liofilización conserva la actividad biológica de la papaína. Haber sometido la muestra a ultracongelación, se pudo formar pequeños cristales en corto tiempo, no dañando a la estructura celular.

Aplicar centrifugaciones con un numero de giros elevados, pudo permitir que la separación del sobrenadante sea más rápida y eficiente, y con refrigeración incluida en la operación se evita el calentamiento de la muestra al ser centrifugada.

Otros de los factores a considerar para evaluar la posibilidad de la purificación de la papaína con este método es el rendimiento, habiendo presentando mayor rendimiento la *V. chachapoyensis*.

Por lo tanto, la purificación de la papaína es un proceso que implica una serie de técnicas fisicoquímicas y bioquímicas bien fundamentadas, cada una con su propio conjunto de beneficios y consideraciones. Mediante métodos como la precipitación con sulfato de amonio, el uso de etanol, la liofilización y la centrifugación a bajas temperaturas, se puede obtener un producto de alta calidad. Estas técnicas no solo mejoran la pureza de la papaína, sino que también facilitan sus propiedades funcionales en diferentes aplicaciones, desde el ablandamiento de la carne hasta el procesamiento de productos lácteos como quesos.

4.2.2 Rendimiento enzimático

Un adecuado rendimiento permite obtener una elevada producción de papaína en términos de actividad, repercutiendo directamente en la rentabilidad, y atractivo para su potencial industrialización. En la tabla 5, se presentan los valores de rendimiento y densidad de la papaína liofilizada obtenida a partir de tres especies de *Vasconcellea*.

Respecto al rendimiento, la *Vasconcellea chachapoyensis* presento el valor más alto en relación enzima/fruta, (0.24 %) lo que evidencia su mayor eficiencia productiva en comparación con las otras especies, posicionándola como especie prometedora para la obtención de papaína. Si embargo, al analizar la relación enzima/látex, la *Vasconcellea heilbornii* proporcionó un rendimiento ligeramente superior (16.92 %) respecto a las demás especies, pero que no fue estadísticamente significativo.

Tabla 5*Rendimiento de la enzima liofilizada*

Origen	Enzima (g)	Rendimiento (%)	
		(enzima/ fruta)	(enzima/látex)
<i>Vasconcellea chachapoyensis</i>	56.47	0.24	16.89
<i>Vasconcellea x heilbornii</i>	28.36	0.12	16.92
<i>Vasconcellea. pubescens</i>	34.20	0.14	15.93

Los resultados coinciden parcialmente con lo reportado con otras investigaciones. Ramírez (2019) encontró que la papaína constituye entre el 5 % y 8 % de la fracción enzimática total del lixiviado de papaya verde, mientras Shouket et. al, mencionado por Matkawala et al. (2022) mencionaron que la precipitación de proteínas puede rendir hasta 53 g de enzima cruda por kg de látex. Complementando, Castro et al. (2023) reportaron que el rendimiento de papaína cruda a partir de látex fresco es del 20 % en peso, incrementándose hasta 25% en el caso de papaína semirrefinada.

Estos resultados sugiere que las especies de *Vasconcellea* evaluadas poseen un potencial competitivo para aplicaciones biotecnológicas e industriales. Sin embargo, la ausencia de diferencias estadísticas significativas en la relación enzima / látex resalta la imperiosa necesidad de investigar otros factores que podrían influir en el rendimiento final.

4.2.3 Apariencia de la papaína obtenida

Un producto con características sensoriales brinda mejores oportunidades para su uso y comercialización, siendo la apariencia una característica sensorial muy apreciada. Luego de la purificación y liofilización de la papaína de los frutos de las *Vasconcellea*s, el producto resultante se presenta en polvo, cada especie muestra apariencia y color propio, esto se aprecia en la figura 123.

Figura 12

Imágenes de papaínas liofilizadas de tres especies de *Vasconcellea*s



Nota: A) *Vasconcellea chachapoyensis*, B) *Vasconcellea heilbornii* y C) *Vasconcellea pubescens*

4.3 CARACTERIZACIÓN FISICOQUÍMICA DE LA PAPAÍNA

La caracterización fisicoquímica de la papaína purificada y liofilizada incluyó la determinación de proteínas, humedad y cenizas. Además, se evaluó el rendimiento, parámetros importantes para determinar la calidad y potencial industrial.

4.3.1. Contenido de proteínas

En la tabla 6 se presentan los valores de proteínas de las enzimas purificadas, seleccionadas en función de los mayores valores de AE obtenidas a pH 6.0.

El análisis reveló que la *V. x heilbornii* y *V. pubescens* presentaron contenidos proteicos significativamente más altos ($96.02 \pm 0.23\%$ y 95.54 ± 0.74 , respectivamente), en comparación con *V. chachapoyensis* ($94.19 \pm 0.36\%$). Estos valores confirman que el género *Vasconcellea* constituye una fuente importante de proteasas tipo proteína.

Tabla 6

Contenido de proteínas de las enzimas purificadas de Vasconcellea

Especie	R	Proteína (%)	DE (%)	
V. x heilbornii	R1	96.23	0.23	a
	R2	95.78		
	R3	96.04		
	ȳ	96.02		
V. pubescens	R1	94.87	0.73	a
	R2	95.42		
	R3	96.33		
	ȳ	95.54		
V. chachapoyensis	R1	93.86	0.36	b
	R2	94.57		
	R3	94.14		
	ȳ	94.19		

Estos resultados indicarían que, aunque las tres especies poseen un contenido proteico elevado, existe una variabilidad intragénero que podría estar asociada a factores genéticos, fisiológicos o a las condiciones del proceso de purificación.

Estudios recientes han demostrado que la composición proteica del latex de especies andinas supera a la de *Carica papy*, atribuido a la presencia de isoformas adicionales de cistein-proteasas (Lemus-Mondaca et al., 2024; Pino-Ramos et al., 2024). Este contenido proteico es un indicador favorable para aplicaciones en la industria alimentaria.

Un aspecto relevante es el papel del método de extracción en el rendimiento proteico. Cuchupoma y Orozco, (2019) demostraron que el uso de etanol en el proceso de extracción de *V. pubescens* mejora la recuperación de papaína, más aún cuando se utiliza concentraciones elevadas de disolvente. Este resultado es consistente con lo observado en la presente investigación, ya que no solo aumenta la eficiencia de la extracción, sino que también se ajusta a las prácticas agrícolas sostenibles, lo que podría reducir la dependencia de los disolventes químicos en el proceso de producción de la papaína.

La elevada contenido proteico en *Vasconcellea* contrasta con papaya común, confirmando su potencial como fuente superior de enzimas proteolíticas. Estudios previos

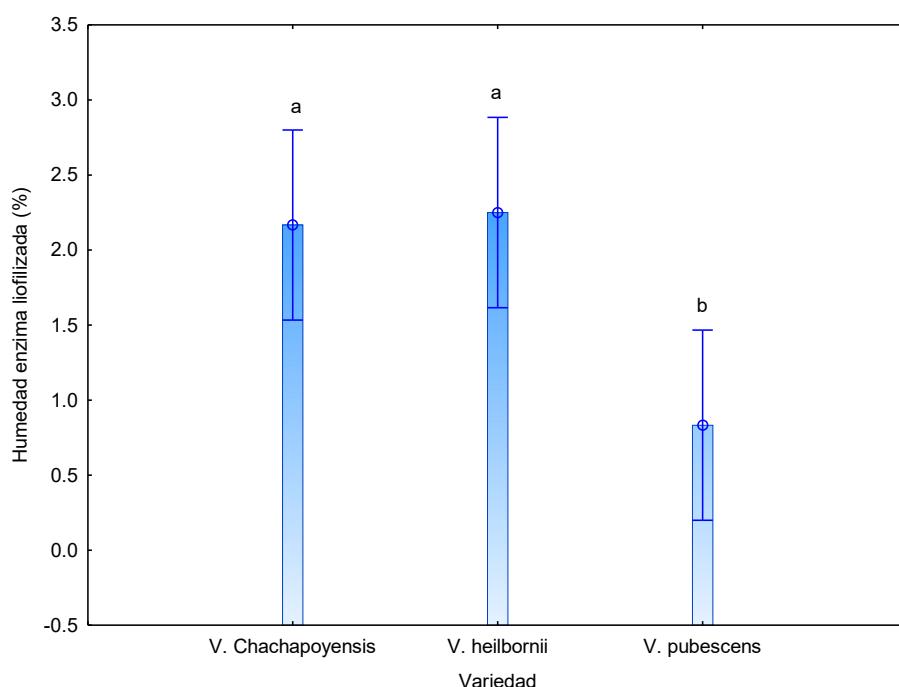
revelan que el látex de *Vasconcellea* contiene múltiples isoformas de proteasas tipo papaína, cuya diversidad genética amplifica su valor funcional (Kyndt et al., 2007).

4.3.2. Contenido de Humedad

Como se muestra en la figura 13, los valores de humedad fueron bajos en todas las especies con el mínimo en *V. pubescens* (0.83%), seguido de la *V. chachapoyensis* (2.17 %), y *V. x heilbornii* (2.25 %), estas últimas no mostraron diferencias significativas entre sí, sin embargo, ambas especies presentaron niveles superiores a la *V. pubescens*. Este resultado es consistente con la literatura, donde se resalta que niveles inferiores al 5 % aseguran estabilidad enzimática y prolongan la vida útil del producto (Ismed et al., 2024; Yao et al., 2023).

Figura 13

Contenido de humedad



Comparado con otros métodos de secado, como estufa o vacío, la liofilización resultó ser superior en la retención de actividad enzimática debido al menor desnaturación de las proteínas (Al Faruq et al., 2025); Herrera y Ruiz (2014) obtuvieron 10.4 % en el látex liofilizado de *Carica pubescens*; mientras que Tovar-Colmenárez et al. (2018), al secar

látex de la especie *C. papaya* con estufa a temperaturas de 25 y 60 °C con tiempos de 20 y 4 horas respectivamente, reportaron humedad de 4.73 y 8.50 % respectivamente.

Las fuentes muestran variabilidad en los valores de humedad, lo cual puede atribuirse a la diferencia en la materia prima (Látex fresco, cascara, hojas, *Carica*, *Vasconcellea*), los métodos de extracción y purificación, y las condiciones de secado.

Estas diferencias evidencian la eficacia de la liofilización para reducir la humedad, aspecto que resulta crítico al estar asociada a parámetros de calidad, vida útil y selección de material de empaque.

La baja humedad alcanzada en los productos liofilizados de *Vasconcellea* disminuye considerablemente la probabilidad de deterioro enzimático, favoreciendo su estabilidad sin perdida significativa de actividad catalítica.

4.3.3. Determinación de cenizas

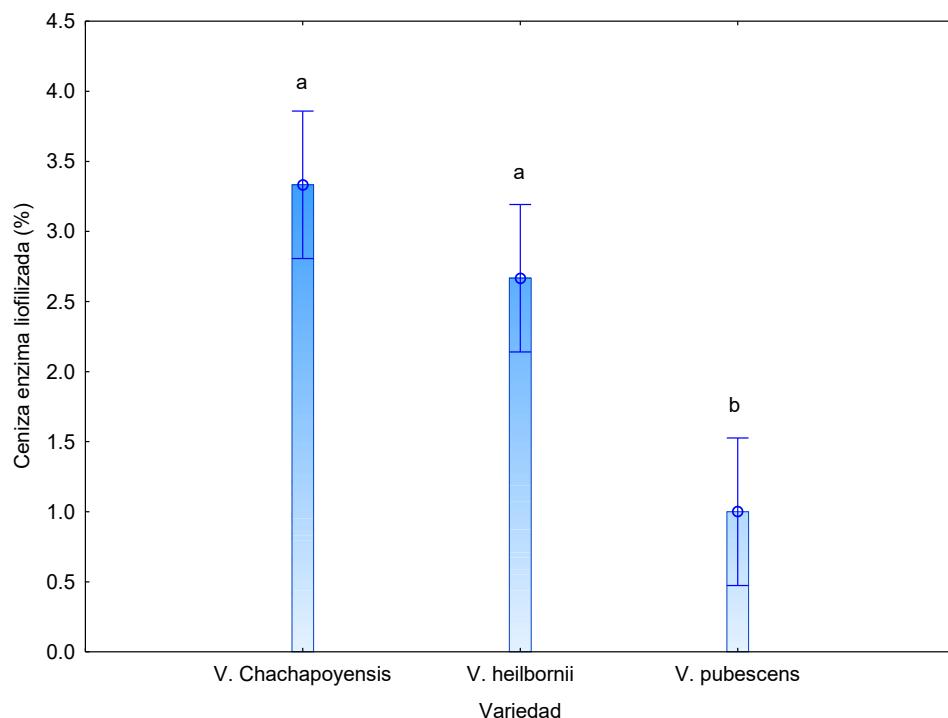
El nivel de cenizas se muestra en la figura 14. El contenido de cenizas es superior en *V. chachapoyensis* (3.33 ± 0.29) y *V. heilbornii* (2.67 ± 0.29) comparado a *V. pubescens* (1.0 ± 0.5).

La *Vasconcellea chachapoyensis* tuvo un contenido de cenizas significativamente superior a las otras especies, el resultado demostraría mayor presencia de minerales, lo que pudo determinar una más alta valoración en su AE. Este parámetro refleja la concentración de minerales, relevantes para la estabilidad de la enzima y su interacción con sustratos (Moses et al., 2018). Además, la adición de buffers o el EDTA pudieron haber coadyuvado.

La variabilidad entre especies coincide con informes previos en frutos andinos, donde factores edafoclimáticos influyen en la acumulación mineral (Silva et al., 2022). Además, la presencia de minerales como el calcio y magnesio podría tener un efecto protector frente a la inactivación enzimática, como se ha señalado en proteasas vegetales (Trevisol et al., 2022).

Figura 14

Contenido de ceniza



Arellano, (2019) reportó contenido de 8.73% de ceniza de papaína purificada partir de látex de *V. pubescens*. siendo muy superior al de la presente investigación. Gutierrez *et al.* (2017), demostraron en su estudio para purificar proteasas de látex de *V. candicans*, que la AEE de la enzima papaína crece linealmente incluso hasta la concentración de 10 μM de Ca.

El contenido de cenizas puede variar significativamente dependiendo de si se analiza el látex crudo o seco, el grado de purificación de la papaína. Además, considerando las especificaciones generales comercial para la papaína en un rango de 11 a 12 % (Tilinti, 2023).

El contenido de cenizas es un parámetro fundamental en la evaluación nutricional de los productos alimenticios, ya que representa el contenido mineral total disponible. Diversos estudios han indicado que la papaína no solo es rica en carbohidratos y vitaminas, sino que también contiene minerales esenciales como potasio, calcio, magnesio y fósforo (Moses et al., 2018).

4.4 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LA PAPAÍNA DE VASCONCELLEAS

4.4.1 Actividad enzimática de la papaína purificada de las especies en estudio

En la tabla 7 se presentan los valores de la AE de las tres especies de *Vasconcellea* a dos niveles de pH (6.0 y 8.0), determinándose por el método de coagulación de la leche de Balls y Hoover.

Tabla 7

Resultados de AE de las especies de Vasconcellea

Especie	pH	AE (Upe), Media ± DS
V. chachapoyensis	6.0	238.82 ± 19.70
	8.0	203.70 ± 8.91
V. x heilbornii	6.0	112.45 ± 18.77
	8.0	96.55 ± 4.60
V. pubescens	6.0	195.80 ± 13.52
	8.0	181.40 ± 15.26

Leyenda: DS, Desviación Estandar

Los datos cumplieron con los supuesto de normalidad y homogeneidad de varianzas. En el ANOVA (Tabla 8) se evidencia diferencias altamente significativas entre especies y entre niveles de pH ($p < 0.05$), mientras que la interacción especie x pH no resultó significativa ($p > 0.05$).

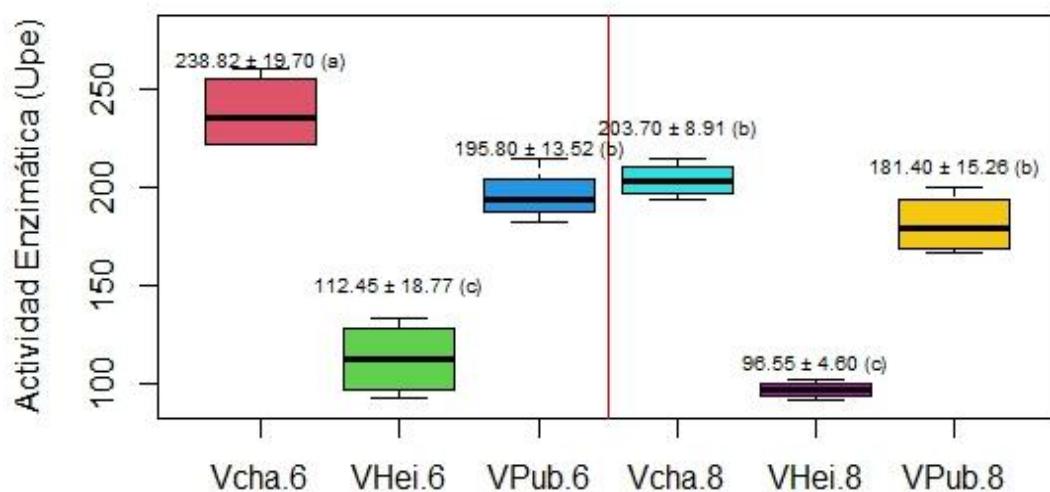
Tabla 8*Análisis de varianza de AE de las Vasconcellea y pH*

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Especie	2	58062	29031	138.539	1.17e-11 ***
pH	1	2854	2854	13.618	0.00167 **
Especie:pH	2	534	267	1.275	0.30356
Residuals	18	3772	210		

Signif. codes: 0 ‘***’ 0.001 ‘**’ 0.01 ‘*’ 0.05 ‘.’ 0.1 ‘ ’ 1ok

En el análisis post hoc de Tukey (Figura 15) confirmó que *V. Chachapoyensis* presentó una AE (240.97 Upe) significativamente superior a las otras especies a pH 6.0, en tanto que la AE de la *V. heilbornii* presentó los valores más bajos de AE en ambos niveles de pH.

En general, las tres especies de Vasconcellea mostraron mayor AE a pH 6.0 que a pH 8.0, lo que confirma la sensibilidad de la papaína a condiciones alcalinas y su preferencia a ambientes ligeramente ácidos.

Figura 15*AE de las enzimas de las especies de Vasconcellea en estudio (Upe)*

Al comparar con estudios previos, los valores de la *V. pubescens* (181.80 -214.30 Upe a pH 6.0) fueron inferiores a lo obtenido por Arellano (2019) con valores de 251 a 257 Upe,

pero superaron a los valores obtenidos para *Carica papaya* por Tovar-Colmenárez et al. (2018) con valores de 157.28 a 159.67 Upe, asimismo superior a lo informado por Andrade et al. (2011) con *Carica papaya* con valores de 150 a 200 Upe.

Los resultados evidencian diferencias significativas al variar el pH en las tres especies de Vasconcelleas, aumenta la AE al disminuir el pH de 8.0 a 6.0. Estudios previos reportan variabilidad en el pH óptimo de la papaína. Mientras algunos estudios señalan que la papaína puede alcanzar su máximo de actividad alrededor de 6.0 (Hafid et al., 2020; Nandini Bala y Padma, 2019), otros ubican el rango óptimo entre 6.0 a 7.5 (Lin et al., 2020; Storer y Ménard, 2013).

A un pH demasiado alcalino la AE se reduce por su interacción con la presencia de molécula de agua e iones. Según Ramírez (2019), la enzima papaína se desnaturaliza muy fácil, pero mantiene estabilidad en pH de 3 a 9. También, Ming et al. (2002), mencionado por Andrade (2011), determinaron la actividad óptima alrededor de pH 7 y observaron que la actividad mejora cuando agentes quelantes de metales pesados como EDTA están también presentes.

En la misma línea, Gutiérrez et al. (2017) indicaron que, en la *V. candidans*, la AE disminuye considerablemente cuando el pH aumenta de 7.5 a valores más alcalinos (disminución del 40.6 % a pH 8.8 y 60 % a pH 9.5).

Khatun et al., (2023) destacaron que parámetros como el pH y la temperatura durante la purificación de papaína desempeñan un papel fundamental en la determinación del aislamiento posterior de la actividad enzimática. Este reconocimiento de las condiciones ambientales subraya la importancia de adaptar los procesos de purificación a las necesidades industriales específicas.

La *V. chachapoyensis* logró un mayor potencial enzimático dentro de las especies evaluadas, especialmente a pH 6.0, posicionándola como especie promisoria para futuras aplicaciones. Además, la disminución de la AE en condiciones alcalinas respalda la necesidad de optimizar procesos de purificación en rango de pH cerca a lo neutral.

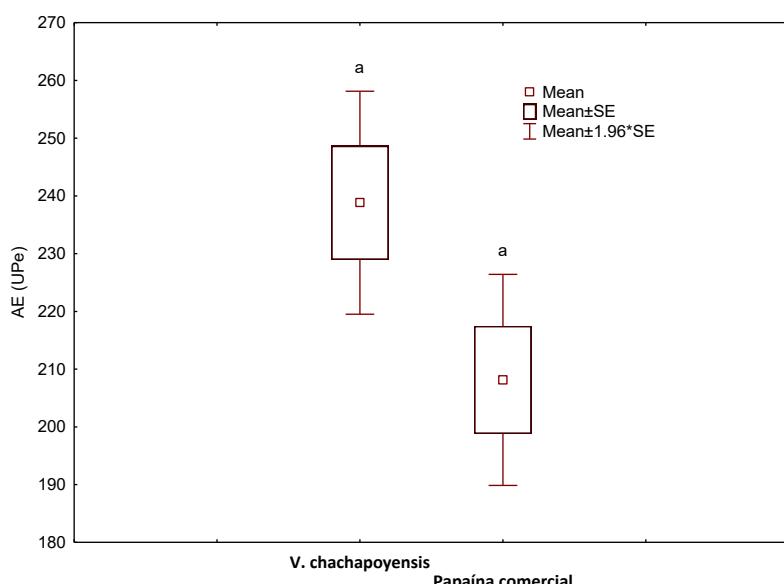
Por otro lado, *V. pubescens* mantiene su reconocido interés industrial por su riqueza en papaína, lo cual puede sobrepasar a los de papaya común (Lemus-Mondaca et al., 2024).

4.4.2 Comparación de la AE de la enzima papaína comercial con *Vasconcellea chachapoyensis*

La figura 16 muestra la comparación entre la AE de la enzima papaína comercial (Merck, 6000 USP–U/mg, de *Carica papaya*), y la papaína extraída de *Vasconcellea chachapoyensis* con pH 6.0, elegida por presentar mayor actividad enzimática.

Figura 16

Comparación de AE de las enzimas de la especie Chachapoyensis y papaína comercial



En la figura se demuestra que no existe diferencia significativa entre la AE de la *V. chachapoyensis* y la papaína comercial. Este resultado es relevante, ya que sugiere que la papaína de *V. chachapoyensis* puede alcanzar niveles de actividad comparables a los de una enzima purificada y estandarizada a nivel industrial.

En similitud, Gutiérrez et al. (2017) encontraron que la papaína de *V. candicans* presentó una actividad 3.5 veces más de que papaína comercial de *C. papaya* (fabricante Sigma); demostrando que algunas Vasconcelleas pueden tener mayor AE que la papaína que la *Carica papaya*.

La metodología de extracción y purificación, que incorpora etanol y sulfato de amonio con control de pH y liofilización, demuestra ser eficaz para preservar tanto la calidad como la actividad de las enzimas.

La papaína comercial representa actualmente un insumo estratégico en sectores como la farmacéutica, alimentaria, textil y cosmética, donde se emplea en procesos de hidrólisis

proteica, ablandamiento de carnes, clarificación de bebidas. La posibilidad de obtener enzimas con rendimiento similar de *V. chachapoyensis* abre la puerta a diversificar las fuentes de enzimas, reduciendo la dependencia de C. papaya.

4.4.3 Determinación de la actividad proteolítica de la papaína en caseína comercial

La tabla 9 presenta los valores de la actividad proteolítica de las papaínas de las tres especies en estudio, utilizando como sustrato caseína comercial. La actividad proteolítica de la *V. heilbornii* fue superior a *V. chachapoyensis* y a *V. pubescens*, siendo esta última superior en relación a la remoción de la proteína.

Tabla 9

Actividad proteolítica de las tres especies de Vasconcellea

Tiempo (h)	<i>V. chachapoyensis</i>				<i>V. x heilbornii</i>				<i>V. pubescens</i>			
	Co	Ci	Ap	Rp (%)	Co	Ci	Ap	Rp (%)	Co	Ci	Ap	Rp (%)
6 h	90	41.25	0.46	54.17	90.00	44.96	0.50	50.04	90.00	36.48	0.41	59.47

Este hallazgo pone en contexto el potencial de cada especie de *Vasconcellea*, notándose que *V. heilbornii* brinda mayor capacidad de degradación de proteínas lácteas bajos las condiciones experimentales, pudiéndose considerar la fuerte actividad proteolítica que presenta la papaína cuando se utiliza como cuajo natural. En la investigación donde se elaboró queso, provocó una coagulación deficiente de la leche en todas las muestras, concluyéndose que la excesiva naturaleza proteolítica de los coagulantes vegetales puede afectar negativamente la textura y calidad del producto final (Liburdi et al., 2019). Dicho fenómeno está relacionado con la capacidad de la papaína en hidrolizar sin control las fracciones proteicas de la caseína, perjudicando la formación de una red estable de la cuajada.

Villacréz et al. (2024) concluyen que, de las tres especies utilizadas en la elaboración de queso fresco, la *V. x heilbornii* y *V. chachapoyensis* no rindieron resultados prometedores, sin embargo, la *V. pubescens* exhibió un mejor potencial, como resultado en un alto rendimiento de queso fresco con bajo enzima residual.

García y Roldan (2005), reportaron que la papaína purificada e inmovilizada en gel de agar, podría aplicarse en el tratamiento de aguas residuales provenientes de la industria alimenticia como la cárnica, láctea y panadería; debido que lograron disminuir unidades de absorbancia en dichos efluentes a las 6 horas de aplicarlo, resaltando la versatilidad de la enzima no solo como coagulante, sino también como agente biotecnológico para procesos de biorremediación. Con los altos valores de encontrados en este estudio de la *V. chachapoyensis*, sería un potencial alternativo de aplicación.

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

- La *Vasconcellea heilbornii* presento mayor tamaño, diámetro y peso que la *Vasconcellea pubescens* y *Vasconcellea chachapoyensis*, sin embargo, esta última tuvo mejor rendimiento en látex.
- La purificación y la liofilización resultaron ser una buena alternativa para producir papaína con AE mayor a 200 Upe, aplicándose una nueva metodología de extracción y purificación. Se podría concluir que el método aplicado es confiable para obtener papaína liofilizada a partir de las tres especies: *Vasconcellea chachapoyensis*, *Vasconcellea pubescens* y *Vasconcellea heilbornii*.
- La papaína purificada y liofilizada de las *Vasconcellea*s mostraron un contenido de proteínas mayores al 94%, humedades menores a 3%, y contenido de cenizas en *V. chachapoyensis* (3.33 ± 0.29) y *V. x heilbornii* (2.67 ± 0.29) comparado a *V. pubescens* (1.0 ± 0.5).
- Los mayores valores de AE en las tres especies fueron a pH 6.0, la AE de la *V. chachapoyensis* (238. 82 Upe) fue significativamente superior a las otras especies. La AE de la *V. heilbornii* fue significativamente menor a las otras dos especies. La AE de la papaína comercial Merck y la *V. chachapoyensis* a pH 6.0, no presentaron diferencias significativas. La *Vasconcellea x heilbornii* registro una mayor actividad proteolítica al actuar con caseína comercial, pero la *V. pubescens* obtuvo el mayor porcentaje de remoción de proteína.

5.2 Recomendaciones

- En nuevos estudios de purificación de la enzima papaína, estudiar el posible beneficio del uso protectores de la enzima como surfactantes.
- Utilizar equipos como cromatógrafo para nuevos estudios de este generó endémico de Amazonas.
- Las plantas de estas frutas del género *Vasconcellea* en la región Amazonas al no ser cultivadas ni cuidadas en su crecimiento por los agricultores, se desconoce información como la edad, el riego y si fue abonado; lo cual podría afectar las características del látex.
- Por los resultados obtenidos, la enzima podría ser estudiado para su aplicación como cuajo vegetal en la producción de diferentes tipos de quesos.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguirre-Rodríguez, A., Duarte-Casar, R., Rojas-Le-Fort, M., & Romero-Benavides, J. C. (2024). Food uses, functional activities, and bioactive compounds of three Ecuadorian Vasconcellea fruits: Bibliometric analysis and review. *Journal of Agriculture and Food Research*, 17, 101244. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2024.101244>
- Ahmad Nadzri, F. N., Tawalbeh, D., & Sarbon, N. M. (2021). Physicochemical properties and antioxidant activity of enzymatic hydrolysed chickpea (*Cicer arietinum L.*) protein as influence by alcalase and papain enzyme. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 36, 102131. <https://doi.org/10.1016/J.BCAB.2021.102131>
- Al Faruq, A., Farahnaky, A., Dokouhaki, M., Khatun, H. A., Trujillo, F. J., & Majzoobi, M. (2025). Technological Innovations in Freeze Drying: Enhancing Efficiency, Sustainability, and Food Quality. *Food Engineering Reviews*. Springer. <https://doi.org/10.1007/s12393-025-09415-8>
- Andrade, M., Morales, O. & Martínez, H. (2011). Estudo do processo de extração de papaína a partir do látex do fruto de mamão (*Carica papaya L.*) cv. Maradol. *Acta Agronómica*, 60(3 SE-), 218–224.
- Arellano, J. V. (2019). *Extracción de la enzima papaína presente en el chilacuan (Vasconcellea pubescens) como alternativa de cuajo vegetal*. Universidad Politécnica Estatal del Carchi.
- Assegehegn, G., Brito-de la Fuente, E., Franco, J. M. & Gallegos, C. (2021). Understanding and optimization of the secondary drying step of a freeze-drying process: a case study. *Drying Technology*, 39(8), 1003–1017. <https://doi.org/10.1080/07373937.2020.1739065>
- Auquiñivin, E. (2019). *Estudio comparativo de las características fisicoquímicas y vida útil de las papayas nativas (*carica pubescens*) papayita de monte y (*carica pentagona heilb*) babaco deshidratadas mediante liofilización* [Tesis de grado, Universidad Nacional del Santa].
- Babalola, B. A., Akinwande, A. I., Gboyega, A. E., & Otunba, A. A. (2023). Extraction, purification and characterization of papain cysteine-proteases from the leaves of *Carica papaya*. *Scientific African*, 19. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2022.e01538>
- Baghalabadi, V., & Doucette, A. A. (2020). Mass spectrometry profiling of low molecular weight proteins and peptides isolated by acetone precipitation. *Analytica Chimica Acta*, 1138, 38–48. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2020.08.057>
- Battaner, E. (2014). *Compendio de Enzimología* (Primera). Ediciones Universidad de Salamanca. <https://books.google.com.pe/books?id=gdfoAgAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=es#v=o nepage&q&f=false>
- Castañeda, M. (2019). *Enzimas de interés biotecnológico*. <https://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/89649>
- Castro, C. A. (2023). *Comparación de los métodos de purificación de la papaína, utilizadas en diferentes industrias*. Arequipa, 2022. Universidad Católica de Santa María.

- Castro, D., & Alvarado, D. (2023). *Comparación de los métodos de purificación de la papaína, utilizadas en diferentes industrias*. Arequipa, 2022 [Universidad Católica de Santa María]. <https://repositorio.ucsm.edu.pe/items/2b4c2be3-5884-4c6e-b6a1-5fc29d5a47ad>
- Choudhary, R., Kaushik, R., Chawla, P., & Manna, S. (2025a). Exploring the extraction, functional properties, and industrial applications of papain from *Carica papaya*. In *Journal of the Science of Food and Agriculture* (Vol. 105, Issue 3, pp. 1533–1545). John Wiley and Sons Ltd. <https://doi.org/10.1002/jsfa.13776>
- Cornejo, D. (2023). *Comparación de los métodos de purificación de la papaína, utilizadas en diferentes industrias*. Arequipa, 2022. Universidad Católica de Santa María.
- Cuchupoma, L., & Orozco, A. (2019). Efecto de la concentración del etanol en el rendimiento de extracción de papána a partir de gualacongo (*Vasconcellea pubescens*). In *Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo*.
- Dejene, F., Molla, Y., & Wedajo, B. (2024). Optimization of Papain Enzyme Activity Using a Response Surface Methodology Approach. *American Journal of Biological and Environmental Statistics*, 10(2), 28–41. <https://doi.org/10.11648/j.ajbes.20241002.12>
- Du, M., Hou, Z., Liu, L., Xuan, Y., Chen, X., Fan, L., Li, Z., & Xu, B. (2022). Progress, applications, challenges and prospects of protein purification technology. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 10, 1–26. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.1028691>
- El-Zalaki, M. (2021). Preparation and Properties of Papain Precipitated from Fresh Latex of Papaya Fruits (*Carica papaya*). In *Alex. J. Fd. Sci. & Technol* (Vol. 18, Issue 1).
- Erba Urgessa, O., Dibbisa Itana, D., & Oljira Raga, T. (2019). Extraction of Papain from Papaya (*Carica papaya L.*) Fruit Latex and Its Application in Transforming Tannery Raw Trimming. In *Ethiopian Journal of Science and Sustainable Development* (Vol. 6, Issue 2). www.ejssd.astu.edu.et
- Fachraniah, Rihayat, T., Zaini, H., Nita, D., & Fazil, M. (2019). Papain Enzyme and Lemon as Coagulants in Cottage Cheese. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 536(1). <https://doi.org/10.1088/1757-899X/536/1/012103>
- Folharini, Z. F., Orlandi, C. R., Martini, M. C., Bruxel, F., Altmayer, T., Brietzke, D. T., Gonçalves, T. E., Finatto, J., Ethur, E. M., Moura, N. F. de, Hoehne, L., & Freitas, E. M. de. (2019). Nutritional characterization of *vasconcellea quercifolia* a.St-hil.: Potential for the development of functional food. *Food Science and Technology (Brazil)*, 39, 432–438. <https://doi.org/10.1590/fst.18018>
- Gutiérrez, A., Nolasco, O., & Santa, C. (2017). Purification and preliminary characterization of latex proteases of *Vasconcellea candicans* (A. Gray) A. DC (Mito). *Scientia Agropecuaria*, 8(1), 7–17. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2017.01.01>
- Guzhñay, G. (2022). Evaluación de la eficiencia de extracción de quitina de la cáscara de camarón (*litopenaeus vannamei*), obtenida enzimáticamente con papaína y quimotripsina [Universidad Politécnica Salesiana]. <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/21665/1/UPS-CT009516.pdf>
- Hafid, K., John, J., Sayah, T. M., Domínguez, R., Becila, S., Lamri, M., Dib, A. L., Lorenzo, J. M., & Gagaoua, M. (2020). One-step recovery of latex papain from *Carica papaya* using three

phase partitioning and its use as milk-clotting and meat-tenderizing agent. *International Journal of Biological Macromolecules*, 146, 798–810.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.10.048>

Herrera, E., & Ruiz, Lord. (2014). *Efecto del tiempo de congelación y temperatura de liofilizado del látex del fruto papayita de monte (Carica Pubescens) sobre su actividad proteolítica en leche de vaca*. Universidad Nacional Toribio Rodriguez de Mendoza de Amazonas.

Ismed, I., Yenrina, R., Hasbullah, H., Syukri, D., & Yusniwati, Y. (2024). Comparative study of solar drying and freeze drying methods in amino acid content of crude ficin enzyme from *ficus aurata* (MIQ.). *Agritepa*, 11(2), 445–456.

Khatun, M. N., Saeid, A., Mozumder, N. H. M. R., & Ahmed, M. (2023a). Extraction, purification and characterization of papain enzyme from papaya. *Food Research*, 7(2), 241–247.
[https://doi.org/10.26656/fr.2017.7\(2\).723](https://doi.org/10.26656/fr.2017.7(2).723)

Kittiphattanabawon, P., Srikit, C., Nalinanon, S., Visessanguan, W., & Benjakul, S. (2024). Gelatin hydrolyzed by papaya latex enzymes as an alternative cryoprotectant for frozen raw Pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*). *Food Bioscience*, 60, 104199.
<https://doi.org/10.1016/J.FBIO.2024.104199>

Kuddus, M. (2018). Introduction to food enzymes. *Enzymes in Food Biotechnology: Production, Applications, and Future Prospects* (pp. 1–18). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813280-7.00001-3>

Kyndt, T., Van Damme, E. J. M., Van Beeumen, J., & Gheysen, G. (2007). Purification and characterization of the cysteine proteinases in the latex of *Vasconcellea* spp. *FEBS Journal*, 274(2), 451–462. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2006.05592.x>

Lemus-Mondaca, R., Puente-Díaz, L., Cifuentes, A., Lizama, K., & González, P. (2024). Chilean Papaya (*Vasconcellea pubescens*): A Native Fruit with a High Health-Promoting Functional Potential. In *Antioxidants* (Vol. 13, Issue 12). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/antiox13121521>

Liburdi, K., Boselli, C., Giangolini, G., Amatiste, S., & Esti, M. (2019). An evaluation of the clotting properties of three plant rennets in the milks of different animal species. *Foods*, 8(12), 1–12. <https://doi.org/10.3390/foods8120600>

Lin, N. M., Linn, K. S., Than, Y. M., & Thu, M. K. (2020). Enzymatic Studies on Crude Papain from Papaya Peels. *Maubin University Research Journal*, 11, 173–180.
<https://meral.edu.mm/records/7110>

Liu, Y., Zhang, Z., & Hu, L. (2022). High efficient freeze-drying technology in food industry. In *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* (Vol. 62, Issue 12, pp. 3370–3388). Taylor and Francis Ltd. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1865261>

Lodeiro, A. R. (2017). *Catálisis enzimática* (Primera ed). Universidad Nacional de la Plata.

Marković, S., Milošević, J., Đurić, M., Lolić, A., & Polović, N. (2021a). One-step purification and freeze stability of papain at acidic pH values. *Archives of Biological Sciences*, 73(1), 57–64.
<https://doi.org/10.2298/ABS201217001M>

- Matkawala, F., Nighojkar, S., & Nighojkar, A. (2022). Next-generation nutraceuticals: bioactive peptides from plant proteases. In *Biotechnologia* (Vol. 103, Issue 4, pp. 397–408). Termedia Publishing House Ltd. <https://doi.org/10.5114/bta.2022.120708>
- Milošević, J., Janković, B., Prodanović, R., & Polović, N. (2019). Comparative stability of fcin and papain in acidic conditions and the presence of ethanol. *Amino Acids*, 51(5), 829–838. <https://doi.org/10.1007/s00726-019-02724-3>
- Ming, C. C., Bono, A., Krishnaiah, D., & Han, T. S. (2002). Effects of ionic and non-ionic surfactants on papain activity. *Borneo Science*, 12, 71–77.
- Moses, M. O., Olanrewaju, M. J., & Olanrewaju, J. (2018). Proximate and selected Mineral Composition of Ripe Pawpaw (*Carica papaya*) Seeds and Skin. *Journal of Scientific and Innovative Research*, 7(3), 75–77. www.jsirjournal.com
- Motta, J. F. G., de Freitas, b. c. b., de Almeida, A. F., Martins, G. A. de S., & Borges, S. V. (2023). Use of enzymes in the food industry: a review. *Food Science and Technology (Brazil)*, 43, 1–14. <https://doi.org/10.1590/fst.106222>
- Mujumdar, A. S. (2020). *Handbook of Industrial Drying; Second Edition* (2nd ed., Vol. 1). Taylor & Francis.
- Nandini Bala, B., & Padma, A. S. (2019). Isolation of Papain from leaf & latex of Papaya (*Carica Papaya*) and study of various factors affecting enzyme activity. *International Journal of Scientific Research. Biological Sciences*, 6(1), 89–92. <https://doi.org/10.26438/ijsrbs/v6si1.8992>
- Nekoueinaeini, S., Aliahmadi, A., & Soleimani, N. (2024a). An Overview of Papain enzyme Characteristics, Applications and Production. *Plant, Algae, and Environment*, 8(2), 1505–1527. <https://doi.org/10.48308/jpr.2024.235806.1080>
- Nowak, D., & Jakubczyk, E. (2020). The freeze-drying of foods↔the characteristic of the process course and the effect of its parameters on the physical properties of food materials. In *Foods* (Vol. 9, Issue 10). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/foods9101488>
- Nwankwo, C. S., Okpomor, E. O., Dibagar, N., Wodecki, M., Zwierz, W., & Figiel, A. (2023). Recent Developments in the Hybridization of the Freeze-Drying Technique in Food Dehydration: A Review on Chemical and Sensory Qualities. In *Foods* (Vol. 12, Issue 18). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/foods12183437>
- Ocampo, J. (2021). Papaya de Olor (*Vasconcellea pubescens*). In *Los Andes y los alimentos del futuro*. <https://www.researchgate.net/publication/358932653>
- Ol'shannikova, S. S., Red'ko, Y. A., Lavlinskaya, M. S., Sorokin, A. V., Holyavka, M. G., & Artyukhov, V. G. (2022). Preparation of Papain Complexes with Chitosan Microparticles and Evaluation of Their Stability Using the Enzyme Activity Level. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 55(11), 1240–1244. <https://doi.org/10.1007/s11094-022-02564-8>
- Orua, E., & Reuben, B. (2025). Quality assessment of dried cassava slices: A freeze-drying approach. *World Journal of Advanced Research and Reviews*, 25(2), 723–732. <https://doi.org/10.30574/wjarr.2025.25.2.0310>

- Pino-Ramos, L. L., Farias, D. R., Olivares-Caro, L., Mitsi, C., Mardones, C., Echeverria, J., Avila, F., & Gutierrez, M. (2024). Chilean papaya (*Vasconcellea pubescens* A. DC.) residues as a source of bioactive compounds: Chemical composition, antioxidant capacity, and antiglycation effects. *Helijon*, 10(19). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e38837>
- Plou, F. J. (2016). Las enzimas. In *Fisiología General* (Vol. 2). Editorial CSIC.
- Punekar, N. S. (2018). Reversible Inhibitions. In *ENZYMES: Catalysis, Kinetics and Mechanisms*. Springer. https://doi.org/10.1007/978-981-13-0785-0_22
- Ramirez, F. (2019). La papaína y su potencial como producto de valor agregado en Costa Rica. *Research Gate, April*. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.32076.46729>
- Scheldeman, X., Kyndt, T., Ming, R., Droogenbroeck, B. Van, Dame, P. Van, Coppens, G., & Moore, P. (2011). *Vasconcellea*. In C. Kole (Ed.), *Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources* (Issue June). Springer. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-20447-0>
- Silva, L. de F. F. da, Rodrigues, K. F., Ethur, E. M., Hoehne, L., Souza, C. F. V. de, Bonemann, D. H., Ribeiro, A. S., & Freitas, E. M. de. (2022a). Nutritional potential of *Vasconcellea quercifolia* A. St.-Hil. green fruit flour. *Brazilian Journal of Food Technology*, 25. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.08021>
- Sinche, M. (2009). *Aislamiento, purificación parcial y caracterización cinética de las proteasas presentes en el látex de los frutos de una planta del género Vasconcellea*. Escuela Politecnica Nacional.
- Singla, M., & Sit, N. (2023). Isolation of papain from ripe papaya peel using aqueous two-phase extraction. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 17. <https://doi.org/10.1007/s11694-022-01741-3>
- Storer, A., & Ménard, R. (2013). Papain. In *Handbook of Proteolytic Enzymes* (Vol. 2, pp. 1852–1858). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-382219-2.00417-8>
- Tchessalov, S., Maglio, V., Kazarin, P., Alexeenko, A., Bhatnagar, B., Sahni, E., & Shalaev, E. (2023). Practical Advice on Scientific Design of Freeze-Drying Process: 2023 Update. *Pharmaceutical Research*, 40(10), 2433–2455. <https://doi.org/10.1007/s11095-023-03607-9>
- Tilinti, B. Z. (2023). Review on “scope and opportunities of papain as food tenderizing agent for food processing in Ethiopia.” *Food Nutrition Chemistry*, 1(2). <https://doi.org/10.18686/fnc.v1i2.51>
- Tineo, D., Bustamante, D. E., Calderon, M. S., Mendoza, J. E., Huaman, E., & Oliva, M. (2020a). An integrative approach reveals five new species of highland papayas (Caricaceae, *Vasconcellea*) from northern Peru. *PLoS ONE*, 15(12 December). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0242469>
- Tovar-Colmenárez, Y., Ávila de Hernández, R., Pire-Sierra, M. C., & González-Ortíz, M. T. (2018a). Purificación de la papaína del látex de la lechosa y cuantificación de la actividad enzimática. *Revista Científica A.S.A, August*, 44–59.
- Trevisol, T. C., Henriques, R. O., Cesca, K., Souza, A. J. A., & Furigo, A. (2022). In vitro effect on the proteolytic activity of papain with proteins of the skin as substrate. *International Journal of Cosmetic Science*, 44(5), 542–554. <https://doi.org/10.1111/ics.12805>

- Villacréz, G., Chávez, S. G., Rivera Botonares, R., Vilca Valqui, N. C., Zuta Puscan, M., Oliva, M., & Tineo, D. (2024). Fresh cheese production using freeze-dried papain as a vegetable coagulant. *Brazilian Journal of Food Technology*, 27. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.00624>
- Wolkers, W. F., & Olednhof, H. (2021). *Cryopreservation and Freeze-Drying Protocols* (Fourth). https://doi.org/10.1007/978-1-0716-0783-1_3
- Yao, J., Chen, W., & Fan, K. (2023). Novel Efficient Physical Technologies for Enhancing Freeze Drying of Fruits and Vegetables: A Review. In *Foods* (Vol. 12, Issue 23). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/foods12234321>
- Yap, J. Y. (2021). EFFECTS OF DRYING CONDITIONS ON DRYING KINETICS, PRODUCT QUALITY AND RETENTION OF CARPAIN in PAPAYA LEAVES (CARICA PAPAYA LINN.). In *University of Nottingham*. University of Nottingham.

VII. ANEXOS

Anexo 1. Resultados del análisis de humedad de la papaína liofilizada

Se determinó en una balanza de humedad ADAM, modelo AMB50 colocando 2 gramos de muestra y leyendo los resultados hasta lograr un peso estable.

Tabla 10

Resultados del contenido de humedad

Rep.	V. chachapoyensis	V. x heilbornii	V. pubescens
1	1.5	1.75	1
2	2.5	2.5	1
3	2.5	2.5	0.5

Anexo 2. Resultados de análisis de cenizas de la papaína

Se determinó por incineración de la materia orgánica adaptando la metodología descrita en la norma (AOAC: Official Methods of Analysis, 2005) empleando el método 940.26

Tabla 11

Resultados del contenido de ceniza

				Vasconcellea chachapoyensi
Rep.	m1	m2	m0	% Cenizas Totales= ((m2-m0)/(m1-m0))*100
1	34.91	32.98	32.91	3.5
2	31.17	29.23	29.17	3
3	35.12	33.19	33.12	3.5
				Vasconcellea x heilbornii
Rep.	m1	m2	m0	% Cenizas Totales= ((m2-m0)/(m1-m0))*100
1	30.14	28.19	28.14	2.5
2	33.78	31.83	31.78	2.5
3	35.73	33.79	33.73	3
				Vasconcellea pubescens
Rep.	m1	m2	m0	% Cenizas Totales= ((m2-m0)/(m1-m0))*100
1	36.79	34.8	34.79	0.5
2	36.49	34.51	34.49	1
3	36.62	34.65	34.62	1.5

Leyenda

m1= masa en gramos de la cápsula con la muestra

m2= masa en gramos de la cápsula con las cenizas

m0= masa en gramos de la cápsula vacía

Anexo 3. Cuantificación de la actividad enzimática.

La cuantificación de la actividad enzimática de la papaína se realizó mediante el método de Balls y Hoover (Andrade et al. 2011), se colocó en tubos de ensayos 10 mg de solución de papaína a una concentración de 1 g de enzima en 10 g de ácido acético (0,01%) y se mezcló con una solución de 10 mL de leche (2,5 g de leche en polvo en 100 g de agua) que se calentó en un baño maría (50 °C). Posteriormente, se agitó el tubo hasta el primer signo de coagulación. El tiempo que tardó en formarse el coágulo se empleó para estimar la actividad enzimática, que se expresó en Unidades de Potencia de Coagulación de Leche por gramo de enzima seca (Upc), según la expresión 1. Donde, E: miligramos de papaína utilizados para 10 mL del sustrato precipitante (leche) en el momento t (min).

$$Upc = \frac{1000}{E*t} \quad (1)$$

Anexo 4. Determinación de la actividad proteolítica de la papaína en caseína comercial

Esta etapa tuvo como propósito medir el potencial uso de la papaína, poniendo a prueba la actividad proteolítica, empleándola para tratar con caseína comercial, se le comprobó la presencia de caseína de la siguiente manera: se homogenizó y se llevó a temperatura ambiente. Se tomaron 5 mL en un tubo de ensayo, y se calentó mediante baño termostatado hasta 30 °C. Luego se agregaron 5 mL de solución de ácido tricloroacético al 10%, y se observó la formación, o no, de un precipitado (caseína).

Para determinar la concentración de proteínas durante el tratamiento enzimático, se empleó el método Sorensen-Walker, que consistió en transferir 9 mL de suero lácteo a una fiola, luego se le adicionó 1 mL de fenolftaleína y se valoró con NaOH (0,1 N) hasta la permanencia de una tonalidad rosa suave. Luego, se agregaron 2 mL de solución de formaldehído (40%, la muestra se reacidificó y desapareció el color rosa).

Se valoró nuevamente hasta la aparición del rosa y se anotó el volumen de valorante final (gasto 2). El porcentaje de proteínas se calculó mediante la expresión 3 (Faria et al. (1988), citados por Hernández *et al.* (1992)).

$$\text{proteína \%} = \text{gasto } 2 * 2,0 \quad (1)$$

Tratamiento enzimático

Para evaluar la acción enzimática de la papaína sobre la caseína se utilizó una combinación de la metodología propuesta por Curvelo et al. (2015) y la de García y Roldán (2005). Se ajustó a 6 unidades el pH del suero lácteo, mediante la adición de NaOH (0,1 N) y se estimó la concentración inicial de proteínas (Co). Se prepararon 6 fiolas agregándole 30 mL de suero y 160 mg de papaína purificada, se mantuvo en agitación durante 6 horas utilizando una plancha con agitación magnética. Cada hora se determinó la concentración de proteínas. La actividad proteolítica de la enzima (Ap), se calculó según la expresión 4. Donde Co es la concentración de proteínas inicial en el suero y Ci, la proteína para cada instante t del tratamiento.

$$Ap = Ci / Co \quad (2)$$

Para estimar el porcentaje de remoción de la proteína (Rp) en el efluente, se empleó la siguiente expresión.

$$Rp = 100(1 - Ap) \quad (3)$$

Anexo 5. Método de Análisis de Proteínas por el Método DUMAS

Equipos, Materiales e Insumos

- Equipo DUMAS.
- Balanza analítica con precisión ± 0.1 mg.
- Matraz o soporte para muestras.
- Gas portador

Método

I. Preparación de la muestra

- Secar y homogenizar la muestra para obtener un tamaño de partícula uniforme.
- Pesar con precisión entre 50 mg de muestra seca.
- Colocar la muestra en la cápsula.

II. 4.2 Preparación del equipo

- Encender el analizador y calibrar con un patrón certificado de nitrógeno.
- Asegurar que el sistema de gases (oxígeno, gas portador) esté conectado y funcionando correctamente.
- Establecer las condiciones de operación: temperatura de combustión ($\sim 950^\circ\text{C}$), temperatura del reactor de reducción ($650\text{--}800^\circ\text{C}$).

III. 4.3 Análisis

- Introducir la muestra en el horno.
- Registrar el tiempo y señal del detector.

IV. 4.4 Cálculos

- El sistema calcula el porcentaje de nitrógeno en la muestra.
- Para convertir nitrógeno a proteína:

$$\text{Proteína (\%)} = \text{Nitrógeno (\%)} \times \text{Factor de conversión}$$

Anexo 6

Tabla 12

Resultados de la actividad enzimática de los tratamientos: Especie-pH (Upe)

Actividad Enzimática (Upe)				
Tratamiento	pH	Especie	Repetición	AE
T1	6.0	Vcha	1	260.90
	6.0	Vcha	2	250.00
	6.0	Vcha	3	222.12
	6.0	Vcha	4	222.20
T2	8.0	Vcha	1	214.30
	8.0	Vcha	2	200.00
	8.0	Vcha	3	206.90
	8.0	Vcha	4	193.60
T3	6.0	VHei	1	133.30
	6.0	VHei	2	122.50
	6.0	VHei	3	101.70
	6.0	VHei	4	92.30
T4	8.0	VHei	1	98.40
	8.0	VHei	2	101.70
	8.0	VHei	3	95.20
	8.0	VHei	4	90.90
T5	6.0	VPub	1	214.30
	6.0	VPub	2	193.60
	6.0	VPub	3	181.80
	6.0	VPub	4	193.50
T6	8.0	VPub	1	171.40
	8.0	VPub	2	166.70
	8.0	VPub	3	187.50
	8.0	VPub	4	200.00

Anexo 7

Tabla 13

Análisis estadístico de los resultados de la AE (Upe) de los 6 tratamientos - Especie x pH

	<i>V. chachapoyensi</i>		<i>V. pubescens</i>		<i>V. x heilbornii</i>	
Medida	pH 6.0	pH 8.0	pH 6.0	pH 8.0	pH 6.0	pH 8.0
Rango	222.22 --	200.00 -	181.82 -	166.67 -	92.31 -	90.91 -
	260.87	214.29	214.29	200.00	133.33	101.69
Promedio	240.97	203.68	195.80	181.40	112.45	96.55

Medidas de tendencia central:

pH	Especie	Repeticion	AE
Min. :6	Length:24	Min. :1.00	Min. : 90.9
1st Qu.:6	Class :character	1st Qu.:1.75	1st Qu.:117.3
Median :7	Mode :character	Median :2.50	Median :190.5
Mean :7		Mean :2.50	Mean :171.5
3rd Qu.:8		3rd Qu.:3.25	3rd Qu.:208.8
Max. :8		Max. :4.00	Max. :260.9

```
> ##ANVA##
> f.anva=aov(AE ~ Especie + pH + pH*Especie)
> shapiro.test(residuals(f.anva))
```

Shapiro-Wilk normality test

```
data: residuals(f.anva)
W = 0.95288, p-value = 0.3124
```

```
> bartlett.test(AE ~ interaction(Especie, pH))
```

Bartlett test of homogeneity of variances

```
data: AE by interaction(Especie, pH)
```

Bartlett's K-squared = 5.7177, df = 5, p-value = 0.3347

```
> summary(f.anova)
   Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
Especie     2  58062  29031 138.539 1.17e-11 ***
pH          1   2854   2854 13.618  0.00167 **
Especie:pH  2    534    267  1.275  0.30356
Residuals   18  3772    210
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

```
> cv.model(f.anova)
[1] 8.442989
> interaction.plot(Especie,pH,AE, col=2:4)
> ##Comparacion de Medias - TUKEY##
> HSD.test(f.anova, c("Especie", "pH"), console=T)
```

Study: f.anova ~ c("Especie", "pH")

HSD Test for AE (TUKEY)

Mean Square Error: 209.5504

Especie:pH, means

	AE	std r	se	Min	Max	Q25	Q50	Q75	
Vcha:6	238.825	19.705900	4	7.237928	222.2	260.9	222.200	236.10	252.725
Vcha:8	203.700	8.912538	4	7.237928	193.6	214.3	198.400	203.45	208.750
VHei:6	112.450	18.773297	4	7.237928	92.3	133.3	99.350	112.10	125.200
VHei:8	96.550	4.607602	4	7.237928	90.9	101.7	94.125	96.80	99.225
VPub:6	195.800	13.520108	4	7.237928	181.8	214.3	190.575	193.55	198.775
VPub:8	181.400	15.267176	4	7.237928	166.7	200.0	170.225	179.45	190.625

Alpha: 0.05 ; DF Error: 18

Critical Value of Studentized Range: 4.49442

Minimun Significant Difference: 32.53029

Treatments with the same letter are not significantly different.

	AE groups	
Vcha:6	238.825	a
Vcha:8	203.700	b
VPub:6	195.800	b
VPub:8	181.400	b
VHei:6	112.450	c
VHei:8	96.550	c

```
> abline(v=c(3.5), col="red")
> ##Evaluando la diferencia en la interaccion##
> SNK.test(f.anova, c("Especie", "pH"), console=T)
```

Study: f.anova ~ c("Especie", "pH")

Student Newman Keuls Test
for AE

Mean Square Error: 209.5504

Especie:pH, means

	AE	std	r	se	Min	Max	Q25	Q50	Q75
Vcha:6	238.825	19.705900	4	7.237928	222.2	260.9	222.200	236.10	252.725
Vcha:8	203.700	8.912538	4	7.237928	193.6	214.3	198.400	203.45	208.750
VHei:6	112.450	18.773297	4	7.237928	92.3	133.3	99.350	112.10	125.200
VHei:8	96.550	4.607602	4	7.237928	90.9	101.7	94.125	96.80	99.225
VPub:6	195.800	13.520108	4	7.237928	181.8	214.3	190.575	193.55	198.775
VPub:8	181.400	15.267176	4	7.237928	166.7	200.0	170.225	179.45	190.625

Alpha: 0.05 ; DF Error: 18

Critical Range

2	3	4	5	6
21.50499	26.12388	28.92984	30.95150	32.53029

Means with the same letter are not significantly different.

AE groups

Vcha:6	238.825	a
Vcha:8	203.700	b
VPub:6	195.800	b
VPub:8	181.400	b
VHei:6	112.450	c
VHei:8	96.550	c

Anexo 8

Tabla 14

Análisis estadístico de la actividad enzimática de la papaína comercial y del mejor tratamiento del estudio

Actividad enzimática	Papaína de <i>V.</i>	Papaína comercial
	<i>chachapoyensis</i> (Upe)	(Upe)
Rango	222.22-260.87	181.82-230.77
Promedio	240.97	208.14

Factores inter-sujetos

Fuente	N	
	Papaína comercial	4
V. Chachapoyensis		4

Pruebas de efectos inter-sujetos

Variable dependiente:	Actividad enzimática (Upe)				
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	1883,138 ^a	1	1883.138	5.119	0.064
Intersección	399555.422	1	399555.422	1086.154	0.000
Fuente	1883.138	1	1883.138	5.119	0.064
Error	2207.176	6	367.863		
Total	403645.737	8			
Total corregido	4090.315	7			

a. R al cuadrado = ,460 (R al cuadrado ajustada = ,370)

Anexo 9

Tabla 15

Resultados de la actividad proteolítica y Remoción de proteínas de especies *Vasconcellea*

Tiempo	V. chachapoyensis				V. x heilbornii				V. pubescens			
(h)	Co	Ci	Ap	Rp	Co	Ci	Ap	Rp	Co	Ci	Ap	Rp
1	90	79.85	0.89	11.28	90.00	80.22	0.89	10.87	90.00	79.35	0.88	11.83
2	79.85	72.12	0.90	9.68	80.22	74.40	0.93	7.26	79.35	71.42	0.90	9.99
3	72.12	66.14	0.92	8.29	74.40	65.25	0.88	12.30	71.42	61.24	0.86	14.25
4	66.14	59.48	0.90	10.07	65.25	57.84	0.89	11.36	61.24	53.14	0.87	13.23
5	59.48	51.47	0.87	13.47	57.84	50.41	0.87	12.85	53.14	44.60	0.84	16.07
6	51.47	41.25	0.80	19.86	50.41	44.96	0.89	10.81	44.60	36.48	0.82	18.21
Global			0.46	54.17			0.50	50.04			0.41	59.47

Ap= Actividad proteolítico

Rp= Porcentaje de Remoción de proteínas

Anexo 10

Tabla 16

Análisis estadísticos de la Humedad y Cenizas de las especies del género Vasconcellea

Especie	Humedad, %	Cenizas, %
<i>V. chachapoyensi</i>	2.17	3.33
<i>V. x heilbornii</i>	2.25	2.67
<i>V. pubescens</i>	0.83	1.0
Factores inter-sujetos		
Fuente	V. Chachapoyensis V. heilbornii V. pubescens	N 3 3 3

Pruebas de efectos inter-sujetos

Origen		Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	Humedad EL (%)	3,792 ^a	2	1.896	9.414	0.014
	Ceniza EL (%)	8,667 ^b	2	4.333	31.200	0.001
Intersección	Humedad EL (%)	27.563	1	27.563	136.862	0.000
	Ceniza EL (%)	49.000	1	49.000	352.800	0.000
Fuente	Humedad EL (%)	3.792	2	1.896	9.414	0.014
	Ceniza EL (%)	8.667	2	4.333	31.200	0.001
Error	Humedad EL (%)	1.208	6	0.201		
	Ceniza EL (%)	0.833	6	0.139		
Total	Humedad EL (%)	32.563	9			
	Ceniza EL (%)	58.500	9			
Total corregido	Humedad EL (%)	5.000	8			
	Ceniza EL (%)	9.500	8			

a. R al cuadrado = ,758 (R al cuadrado ajustada = ,678)

b. R al cuadrado = ,912 (R al cuadrado ajustada = ,883)

Pruebas post hoc

Subconjuntos homogéneos

Humedad EL (%)

HSD Tukey_{a,b}

Fuente	N	Subconjunto	
		1	2
V. pubescens	3	0.8333	
V. Chachapoyensis	3		2.1667
V. heilbornii	3		2.2500
Sig.		1.000	0.972

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = ,201.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

b. Alfa = .05.

Ceniza EL (%)

HSD Tukey_{a,b}

Fuente	N	Subconjunto	
		1	2
V. pubescens	3	1.0000	
V. heilbornii	3		2.6667
V. Chachapoyensis	3		3.3333
Sig.		1.000	0.151

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = ,139.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

b. Alfa = .05.

Anexo 11

Tabla 17

Análisis estadístico de los resultados: Rendimiento del látex

Pruebas de normalidad						
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Rendimiento_Látex	,307	6	,081	,719	6	,010

a. Corrección de significación de Lilliefors

∴ De la prueba de normalidad, se concluye que los datos no se distribuyen normalmente.

Para evaluar se utiliza la prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes

PRUEBA DE HIPÓTESIS:

1. Formulación de la hipótesis

H_0 : Todas las poblaciones son idénticas

H_1 : No todas las poblaciones son idénticas

2. Nivel de significación

$\alpha = 0,05$

4. Regla de decisión

Rechazar H_0 cuando la significación observada “ p ” de los coeficientes del modelo logístico es menor que α .

No rechazar H_0 cuando la significación observada “ p ” de los coeficientes del modelo logístico es mayor que α .

5. Cálculos

Resumen de contrastes de hipótesis

	Hipótesis nula	Prueba	Sig.	Decisión
1	La distribución de Rendimiento_latex es la misma entre categorías de grupo.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	,050	Rechace la hipótesis nula.

Se muestran significaciones asintóticas. El nivel de significación es de ,050.

**Resumen de prueba Kruskal-Wallis de muestras
independientes**

N total	6
Estadístico de prueba	3,857 ^{a,b}
Grado de libertad	1
Sig. asintótica (prueba bilateral)	,050

a. Las estadísticas de prueba se ajustan para empates.

b. No se realizan múltiples comparaciones porque hay menos de tres campos.

6. Decisión

Se rechaza H_0

7. Conclusión

Existe evidencia suficiente para concluir que las poblaciones no son idénticas, con un nivel de significancia de 5%.

Anexo 12. Solicitud para acceso a recursos genéticos a SERFOR



PERÚ

Ministerio
de Agricultura y Riego

SERFOR

"Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres"
"Año de la Universalización de la Salud"

RESUMEN DE LA SOLICITUD PRESENTADA PARA SUSCRIPCIÓN DE CONTRATO PARA EL ACCESO A LOS RECURSOS GENÉTICOS

La Dirección de Gestión Sostenible del Patrimonio Forestal de la Dirección General de Gestión Sostenible del Patrimonio Forestal y de Fauna Silvestre, pone en conocimiento del público en general, que se ha recibido la solicitud para la suscripción de contrato para el acceso a los recursos genéticos, para la ejecución del proyecto de investigación científica "Cuajo natural a base de papaina liofilizada proveniente de diferentes especies nativas del género *Vasconcellea* en la elaboración de queso", la solicitud en extenso se encuentra publicada en el Registro Público de Acceso a Recursos Genéticos.

Solicitante: Sr. Daniel Tineo Flores, investigador del Instituto de Investigación para el Desarrollo Sustentable de Ceja de Selva (INDES-CES) de la Universidad Nacional Toribio Rodriguez de Mendoza de Amazonas (UNTRM). El INDES-CES es un órgano descentrado e interfacultativo de la UNTRM de Amazonas, creado por Resolución de Comisión de Gobierno N° 033-2007-UNAT-A-CG, el 07 de junio de 2007, ubicado en el Campus Universitario, Barrio de Higos Urco, Chachapoyas, Chachapoyas, Amazonas.

Cabe indicar que el presente proyecto de investigación se encuentra financiado por el Fondo Nacional de Desarrollo Científico Tecnológico y de Innovación Tecnológica FONDECYT a través del Contrato N° 011-2018-FONDECYT-BM-IADT-SE, suscrito entre FONDECYT, la Universidad Nacional Toribio Rodriguez de Mendoza de Amazonas (UNTRM) y el Sr. Daniel Tineo Flores, Investigador Principal de la Universidad citada.

Instituciones participantes:

- Laboratorio de Tecnología Industrial de la UNTRM.
- Laboratorio de Alimentos y Poscosecha de la UNTRM.
- Laboratorio de Fisiología y Biotecnología Vegetal (FISIOBVEG) del INDES-CES/UNTRM.

Nº de Autorización: Resolución de Dirección General N° D000296-2020-MINAGRI-SERFOR-DGGSPFFS, se autoriza la colecta del material biológico, de las siguientes especies de *Vasconcellea* (Papayitas de huerta), para el desarrollo del proyecto por un periodo de 10 meses en el distrito de Molinopampa, provincia de Chachapoyas, departamento de Amazonas, fuera de Áreas Naturales Protegidas.

Objetivos del Proyecto:

Objetivo General: Elaborar cuajos naturales a base de papaina liofilizada proveniente de diferentes especies nativas del género *Vasconcellea* para la elaboración de queso.

Objetivos Específicos:

- Desarrollar un protocolo para la elaboración de cuajos naturales a base de papaina liofilizada.
- Desarrollar protocolos de aplicación de cuajos naturales a base de papaina liofilizada.
- Caracterizar el aspecto físico, químico y organoléptico del queso.
- Validar la tecnología de la aplicación de cuajos naturales a base de papaina liofilizada.

Materiales y métodos:

Se realizarán las siguientes actividades:

- a) Análisis físico químico de látex y enzimas
- b) Se realizarán los análisis físiocoquímicos según métodos reportados en al Association of Official Analytical Chemists (Helrich, 1990). Se evaluará pH, sólidos solubles, ceniza, proteínas, análisis de pureza, rendimiento, color, textura.



PERÚ

Ministerio
de Agricultura y Riego

SERFOR

"Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres"
"Año de la Universalización de la Salud"

- c) Elaboración de cuajos naturales utilizando la metodología de Ordiales (2013). Esta actividad y las posteriores se realizarán en el laboratorio de Tecnología Industrial, y el laboratorio de Alimentos y Poscosecha de la UNTRM.
- d) Aplicación de la enzima obtenida, seguirá la metodología de Ordiales (2013), con modificaciones para este proyecto, ya que, de acuerdo con el objetivo.
- e) Caracterización físico - química y organoléptica del Queso, siguiendo la metodología de Yanza-Guananga (2011).
- a) Validar la tecnología a través de la actualización de los protocolos para obtener uno solo, estandarizar y corregir algunos pasos para optimizar recursos y que puedan estar al alcance del productor.

De la Institución Nacional de Apoyo:

El objetivo principal del acuerdo con la institución nacional de apoyo, en este caso siendo el laboratorio de Fisiología y Biotecnología Vegetal (FISIOBVEG) del INDES-CES/UNTRM, es brindar los ambientes para el desarrollo de ciertas actividades y objetivos del proyecto. Asimismo, su participación en el desarrollo de la investigación, apoyando con equipos.

Identificación de riesgos e implicancias del acceso:

El desarrollo de esta investigación no presenta riesgos o implicancias negativas sobre el acceso a los recursos genéticos. Este proyecto de investigación no presenta riesgos debido a que se trata de una planta comúnmente encontrada en el área de estudio. Además, ninguna planta será eliminada por completo, ya que solo se tomará una porción de ramas y hojas, mas no es necesario matar toda la planta. La porción que es destinada para la realización del proyecto es mínima, por lo que no se genera alguna repercusión negativa en las poblaciones silvestres de las plantas. Los métodos de colecta empleados no implican riesgo a poblaciones de otras plantas u animales.

Se publica el presente aviso de conformidad con el artículo 28º de la Decisión 391, Régimen Común sobre Acceso a Recursos Genéticos, aprobado por la Comunidad Andina - CAN.

Av. Javier Prado Oeste N° 2442 - Magdalena del Mar
T. (511) 225-9005
www.serfor.gob.pe
www.mnagri.gob.pe

EL PERÚ PRIMERO

Anexo 13

Figura 14

Fotografía de los frutos de las especies *Vasconcellea*

Vasconcellea heilbornii Babaco



Vasconcellea chachapoyensis



V. pubescens



Anexo 14.

Figura 15

Fotografías de las etapas del proceso de extracción y purificación



Anexo 15.

Figura 16

Fotografías de las etapas del proceso de liofilización



Anexo 16.

Figura 17

Fotografías del Producto final: Papaína envasada



Anexo 17.

Figura 18

Equipos y reactivos utilizados para los diferentes análisis

Equipo utilizado para la determinación de humedad

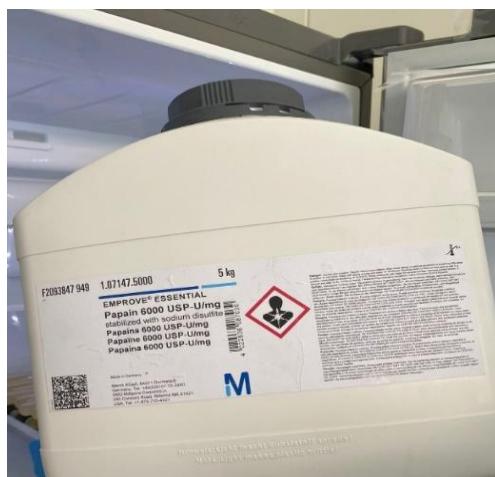


Equipo utilizado para la determinación de cenizas



Reactivos utilizados

Papaína comercial Merck



Sulfato de amonio

