

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

## Extraction and purification of papain obtained from three native species of the genus *Vasconcellea*

Ralph Rivera-Botonares<sup>1</sup>, Segundo Manuel Oliva-Cruz<sup>2</sup> y Daniel Tineo Flores<sup>3,\*</sup>

### Resumen

En esta investigación se obtuvo la enzima papaína a partir de látex de tres especies del género *Vasconcellea*, *V. chachapoyensis*, *V. heilbornii* y *V. pubescens*, especies nativas de la región Amazonas en Perú. El látex extraído se acondicionó con buffer acetato de sodio, EDTA y solución de bisulfito de sodio. La purificación se realizó adaptando el método de Andrade (2011), se utilizó sulfato de amonio para la precipitación; etanol de 96° en dos etapas para la dilución; se reguló el pH a 6.0 y 8.0 con NaOH 0.1 N, se centrifugó en tres etapas; se congeló a -65 °C por 12 horas; y liofilizó de 24 a 36 horas con vacío de 0.1 a 0.6 mbar y temperatura de colector de -84 a -85 °C, finalmente se envasó en frascos oscuros. Utilizando el método de coagulación de leche (Balls and Hoover) se determinó la actividad enzimática (AE), las tres especies obtuvieron mayores valores de AE a pH 6.0 que a pH 8.0; la *V. chachapoyensis* presentó mayor promedio significativo de AE (240.97 Upe), seguido de *V. pubescens* (195.80 Upe) y *V. heilbornii* (112.45 Upe), también fue significativamente superior a la papaína comercial (208.14 Upe). La *V. pubescens* tuvo mayor actividad proteolítica que las otras especies.

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

### Abstract

In this research, the papain enzyme was obtained from the latex of three species of the *Vasconcellea* genus, *V. chachapoyensis*, *V. heilbornii* and *V. pubescens*, species native to the Amazon region in Peru. The extracted latex was conditioned with sodium acetate buffer, EDTA and sodium bisulfite solution. The purification was carried out adapting the method of Andrade (2011), ammonium sulfate was used for precipitation; 96° ethanol in two stages for dilution; the pH was regulated at 6.0 and 8.0 with NaOH 0.1 N, it was centrifuged in three stages; frozen at -65 °C for 12 hours; and lyophilized from 24 to 36 hours with a vacuum of 0.1 to 0.6 mbar and a collector temperature of -84 to -85 °C, finally it was packed in dark bottles. Using the milk coagulation method (Balls and Hoover) the enzymatic activity (AE) was determined, the three species obtained higher values of AE at pH 6.0 than at pH 8.0; *V. chachapoyensis* presented a higher significant average of EA (240.97 Upe), followed by *V. pubescens* (195.80 Upe) and *V. heilbornii* (112.45 Upe), it was also significantly higher than commercial papain (208.14 Upe). *V. pubescens* had higher proteolytic activity than the other species.

**Keywords:** *Vasconcellea*, papain, lyophilization, purification, enzymatic activity.

**Recibido:** 23/05/2022

**Aceptado:** 16/04/2023

**Publicado:** 30/04/2023

**Sección:** Artículo original

\*Autor correspondiente: [dtineo@indes-ces.edu.pe](mailto:dtineo@indes-ces.edu.pe)

### Introducción

La producción anual de la enzima papaína aumenta debido a sus diversas propiedades y aplicaciones. Actualmente la papaína es obtenida de frutos de la especie *Carica papaya*. Los dos géneros más importantes de esta familia son las especies de *Carica papaya* y el grupo de papayas de altura (*Vasconcellea* spp.) (Kyndt et al., 2007). La biodiversidad del género *Vasconcellea* se centra en el noroeste de América del Sur, especialmente en Ecuador, Colombia y Perú; teniendo mayor diversidad en el sur ecuatoriano y norte peruano (Schedelman et al. 2007; mencionado por Schedelman et al. 2011). El desconocimiento de sus características morfológicas, genéticas y productivas no han permitido establecer su variabilidad total de esta

promisoria frutícola andina (Ocampo, 2021). En la región Amazonas en Perú, existen varias frutas nativas entre ellas: la papayita de monte y el babaco, de importancia nutricional y organoléptica (Santillan, 2013). Entre las

<sup>1</sup>Escuela de Ingeniería de Industrias Alimentarias -Universidad Nacional de Jaén - Perú. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5263-6316>

<sup>2</sup>Instituto de Investigación para el Desarrollo Sustentable de Ceja de Selva (INDES-CES), Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza, Chachapoyas, Amazonas, Perú. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9670-0970>

<sup>3</sup>Instituto de Investigación para el Desarrollo Sustentable de Ceja de Selva (INDES-CES), Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza, Chachapoyas, Amazonas, Perú. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1493-5507>

**Cómo citar:** Rivera-Botonares, R. S., Oliva-Cruz, S. M., & Tineo Flores, D. (2023). Extracción y purificación de papaína obtenida a partir de tres especies nativas del género *Vasconcellea*. *Revista De Investigaciones Altoandinas*, 25(2), 109–116. <https://doi.org/10.18271/ria.2023.447>



especies nativas del género *Vasconcellea* presentes en Amazonas se tiene: *V. chachapoyensis*, *V. pubescens* y *V. heilbornii* cv. babaco.

La papaína es una enzima cisteína proteasa hidrolasa presente en la papaya (*Carica papaya*) y en las diferentes especies de *Vasconcellea*. La papaína es obtenida del látex de papaya, un fluido lechoso conocido como látex 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 (Ramirez, 2019). Esta enzima se utiliza en diversas aplicaciones como farmacia, alimentos, bebidas, manejo de aguas, medicina entre otras.

En investigaciones realizadas a algunas especies del género *Vasconcellea* encontraron mayor contenido de papaína que la *Carica papaya*. Gutiérrez et al. (2017) encontraron que la actividad enzimática específica (AEE) de la fracción A de papaína de látex de *V. candicans* (A. Gray) fue 13,3 veces mayor que la *C. papaya*. Torres et al., (2010) encontraron que la actividad específica del preparado enzimático del látex de *V. quercifolia* A. St.-Hil fue más alta que del látex de la *Carica papaya*.

Para la obtención de la papaína se ha realizado diversos estudios a nivel mundial, con el objetivo de obtener la más alta producción, bajos costos y una alta actividad enzimática, en general combinando diferentes operaciones y equipos como: extracción del látex del fruto, estabilización, concentración y purificación. No se cuenta con bastos estudios en la extracción, caracterización y métodos de purificación de papaína de las especies del género *Vasconcellea*. Tovar-Colmenárez et al., (2018), obtuvo papaína a partir de *Carica papaya*, secado en estufa a 25 °C con 20 h y 60 °C con 40 h con valores de 159,67 y 157,28 Upe; Gutiérrez et al. (2017), obtuvieron papaína de *Vasconcellea candicans* 3,3 veces mayor que la papaína del látex fresco de *Carica papaya*. Andrade et al. (2011), obtuvieron actividad enzimática en un rango de 150 a 200 Upe a partir de *Carica papaya*. Acosta, (2011), estudió la variación de la AE proteolítica del látex *Vasconcellea heilbornii* cv babaco en función de la edad del fruto, al mes 5 tuvo una actividad proteolítica de 8125, 65 U/g y un rendimiento de 0,3075 g de látex liofilizado por fruto, y al mes 7 se tuvo una actividad proteolítica de 5778,89 U/g y un rendimiento de 0,3978 g de látex liofilizado por fruto. Andrade et al., (2011) extrajeron papaína de látex de papaya (*Carica papaya* L.) especie cv Maradol, teniendo el mejor resultado en

actividad enzimática y rendimiento utilizando secado al vacío y la relación látex: alcohol de 1:3.

Sinche (2009) purifico parcialmente con etanol al 96% el látex de los frutos del género *Vasconcellea* (especies *Vasconcellea stipulata*, *Vasconcellea cundinamarcensis* y *Vasconcellea monoica*). El látex de *V. stipulata* fue el más activo con valores de 49,98 U/ml de actividad caseinolítica; 0,116 U/ml de actividad esterásica con p-NPA y 0,327 U/ml de actividad proteolítica con BApNA.

Puig(2008) comparo métodos de secado de papaína a partir de papaya, utilizo secado en bandejas, secado al vacío, horno y liofilizador. Concluyo que la temperatura de operación no afecta la actividad enzimática obtenida para una muestra sometida a un proceso de secado. Bajo las condiciones no encontraron diferencia estadística significativa entre los valores de actividad enzimática específica. Chaverri (1983) mencionado por (Ramirez, 2019) determinó que la liofilización es el método más eficiente para secar látex, seguido del secado al vacío.

## Materiales y métodos

### Colección de muestras

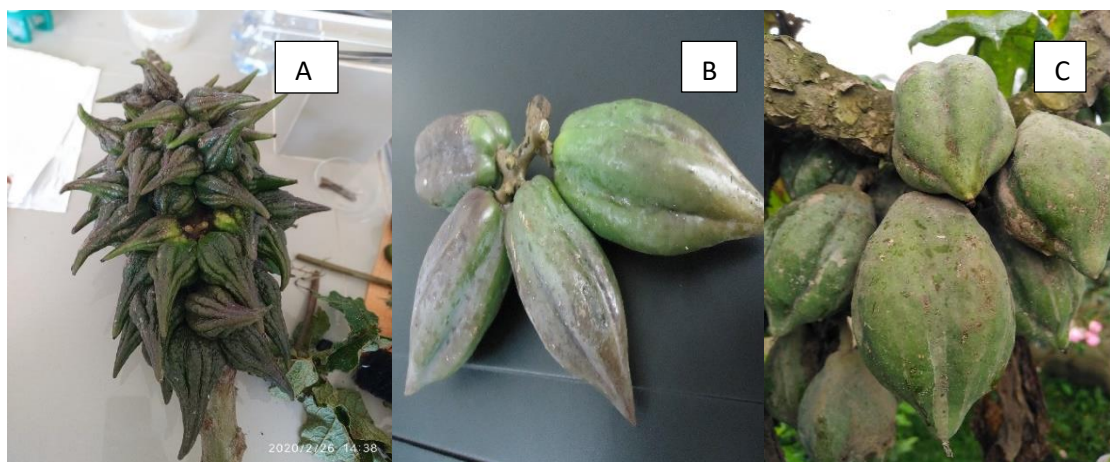
Las muestras de las frutas de *Vasconcellea* fueron recolectadas de huertos familiares donde crecen naturalmente y de otras partes no cultivadas en los distritos de Molinopampa, Luya y Bongará en la región Amazonas -Perú. Las muestras se seleccionaron al azar, un aproximado de 24 kilogramos por especie, se colectaron frutas que no presenten índice de madurez mayor a 40% de color amarillo, según carta de la FAO, sin presencia de magulladuras, cortes o lesiones.

### Caracterización de la fruta

El peso se caracterizó con una balanza digital marca: Digital Precisión, modelo: E300A; el diámetro y longitud con un vernier; además, por la relación peso de látex y número de frutas se obtuvo los rendimientos. Para el pH se utilizó el pHmetro, marca: Quimis, modelo: Q400MT.

### Obtención del látex

Las frutas se lavaron con agua potable y se desinfectó con etanol, se aplicó incisiones de 2 mm de profundidad, con cuchillo de acero inoxidable, el látex se colectó en recipientes de vidrio con tapa rotulada, y refrigeradas hasta 4 °C. Se realizaron análisis de pH, pesos y rendimientos de látex.



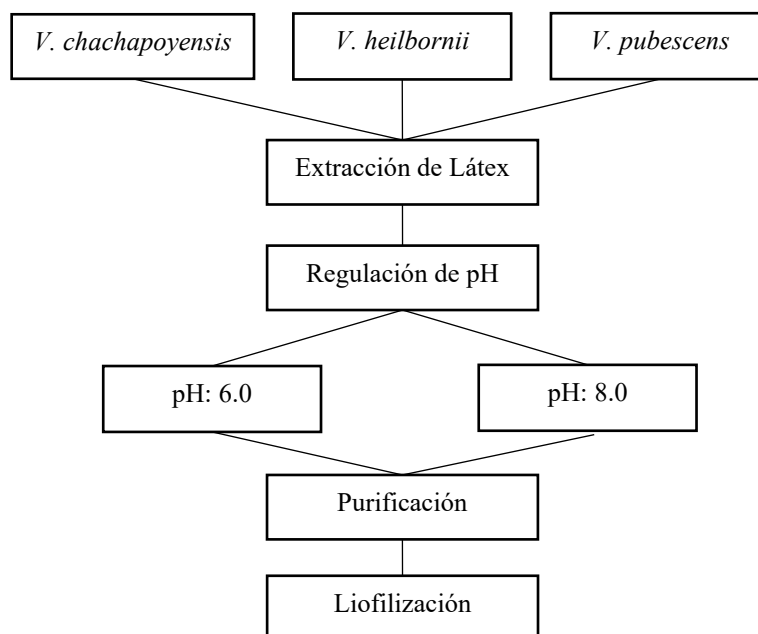
**Figura 1.** Fotos de las especies *Vasconcellea*. A) *V. chachapoyensis*, B) *V. heilbornii* y C) *V. pubescens*.

### Purificación de las enzimas

En la purificación de la enzima papaína se utilizó la adaptación del método de extracción alcohólica en dos pasos descrita por (Andrade et al., 2011). Donde se desarrolló el proceso de la figura 2.

El látex obtenido se colectó en recipientes conteniendo buffer acetato de sodio 10 mM a pH 5, 5 mM de EDTA y solución de bisulfito de sodio 0,5 %

(w/w), las muestras se ajustaron a pH a 6,0 y 8,0 con NaOH 0,1 N en un vortex por tiempo de 2 minutos, esto con la finalidad de homogenizar; se centrifugó en una centrifuga refrigerada, marca: Hetich, modelo Universal 320R, a 8000 rpm por 5 min y 4 °C.; al sobrenadante se le añadió sulfato de amonio con agitación lenta, hasta saturación de 45% a temperatura de 4 °C por 14 horas aproximadamente, con la precipitación se permitió la remoción moléculas orgánicas e inorgánicas.



**Figura 2.** Diseño experimental de la investigación

Luego el látex se solubilizó y diluyó en alcohol etanol al 96% (en volúmenes de 1: 3, volumen filtrado/ etanol). Se realiza el segundo centrifugado a 8000 rpm por 5 min y 4 °C; al líquido centrifugado se añadió etanol al 96% (en volúmenes de 1: 3, volumen filtrado/ etanol). Se centrifugó por tercera vez a 8000 rpm por 5 min y 4 °C; la muestra se congeló hasta -65 °C por

12 horas aproximadamente, el cual fue el mejor tiempo encontrado por Herrera y Ruiz (2014), y se liofilizó por 24-36 horas, en un liofilizador marca Labconco (4,5 l/-84 °C) a presión de vacío de 0,1 - 0,6 mbar y con temperatura de colector de -84 a -85 °C; se envasó en botellas de vidrio oscuras, y finalmente se almacenó en ambiente limpio, bajo sombra y ventilado.

## Evaluación de la actividad enzimática (AE)

La AE se evaluó con el método de Balls y Hoover mencionado por Andrade *et al.*, (2011). En un tubo de ensayo se coloca 10 mg de solución de papaina (0.05 g papaina purificada en 10 g 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 baño maría hasta 50 °C; se agita el tubo hasta la primera presencia de coágulos. Se calcula la AE en Unidades de Potencia de Coagulación de leche por gramo de enzima seca (Upe) según la fórmula 1. Donde, E: miligramos de papaina utilizado para 10 ml del sustrato precipitante (leche) en el momento t (min).

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

## Actividad proteolítica en caseína

Se utilizó caseína comercial, el suero lácteo se homogenizó y se llevó a temperatura ambiente (29 °C). Se tomaron 5 mL en un tubo de ensayo y se calentó mediante baño termostado 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 2 (Faría *et al.* (1988), citados por Hernández *et al.* (1992).

$$proteína\% = gastos\ 2 * 2.0 \quad (2)$$

**Tabla 1.** Caracterización de los frutos de las especies del género *Vasconcellea*

Especie	Peso total de frutos (g)	Peso unitario (g)	Nº de frutos	Diámetro promedio (cm)	Altura promedio (cm)
<i>V. chachapoyensis</i>	24000	32.00	750	4.1	6.48
<i>V. x heilbornii</i> cv Babaco	24000	666.67	36	10.6	22.3
<i>V. pubescens</i>	24000	108.11	222	6.18	8.82

En la tabla 2, se presenta el pH y el rendimiento de látex. La *V. chachapoyensis* presenta mayor rendimiento en látex (peso total de látex/peso total de los frutos),

## Análisis fisicoquímicos

### Proteínas

Se utilizó el método Bradford, con el espectrofotómetro Eppendor, medido a 595 nm.

### Humedad

Se utilizó un analizador de humedad, marca: Adam, modelo: AMB50. colocando 2 gramos de muestra y leyendo los resultados hasta lograr un peso estable.

### Cenizas

Se determinó por incineración de la materia orgánica en una mufla marca Pinzuar Ltda. Se empleó el método 940.26. de las AOAC (AOAC: Official Methods of Analysis, 2005).

## Resultados y discusión

### Caracterización de los frutos y látex de las especies del género *Vasconcellea*

Las mediciones de peso, diámetro y altura realizadas a los frutos se presentan en la tabla 1. La especie *V. chachapoyensis*, nueva especie descubierta el 2020 en la región Amazonas en Perú (Tineo *et al.*, 2020), presenta menor peso, diámetro y altura respecto a las otras especies en estudio. En relación al *V. pubescens*, Arellano (2019) encontró peso promedio de 176,43 g, diámetro de 6,31 cm. y altura de 9,55 cm.; Herrera y Ruiz (2014) obtuvieron peso promedio de 167,56 g., 9,94 cm. de altura y 6,26 cm. de diámetro. Se observa que la mayor diferencia con esta investigación es el peso, esto se debería a la práctica agrícola que pueda recibir las plantas en cada zona.

por ser una especie recién identificada no se tiene antecedentes.

**Tabla 2.** Caracterización del látex de las especies del género *Vasconcellea*

Especie	pH látex	Peso total de frutos (g)	Látex/fruto (g)	Látex total (g)	Rendimiento total (%)
<i>V. chachapoyensis</i>	5.7	24 000	0.4458	334.32	1.39
<i>V. x heilbornii</i> cv Babaco	5.1	24 000	4.6567	167.64	0.70
<i>V. pubescens</i>	5.3	24 000	0.9672	214.71	0.89

Herrera y Ruiz (2014) obtuvieron de la *V. pubescens* un rendimiento de látex de 0,71 %, y Arellano (2019) obtuvo 1,11 % de rendimiento de látex, por lo que el resultado obtenido está comprendido entre dichas investigaciones. Según (Sinche, 2009), las cantidades de látex fluido y látex seco se relacionan directamente con su tamaño, del fruto más grande se obtiene el rendimiento más alto. Las diferencias con los resultados de otras investigaciones podrían deberse a

diversos factores como el genético, cultivo, condiciones ambientales (Arana & Quijano, 2012). Además, podría influir el método y tiempo de recolectar el látex del fruto.

### Actividad enzimática de las *Vasconcelleas*

En la tabla 3, se presenta los resultados de la actividad enzimática de la papaína obtenida de las tres especies del género *Vasconcellea*.

**Tabla 3.** Actividad enzimática de las especies nativas de género *Vasconcellea* de Amazonas

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

El análisis de varianza indica que existe diferencia significativa de la AE en las tres especies, y la prueba Tukey demuestra que la *V. chachapoyensis* estadísticamente es superior a las otras especies. Los resultados de la *V. chachapoyensis* (222.22 – 260.87 Upe) fue similar a lo reportado por Arellano y Torres (2019) al extraer papaína de la *V. pubescens* (251 a 257 Upe); y mayor a lo obtenido por Tovar-Colmenárez et al. (2018) a partir de *Carica papaya* con valores (157,28 a 159,67 Upe); mayor a lo reportado por Andrade et al., (2011) a partir de *Carica papaya* (150 a 200 Upe). De la *V. candicans* se obtuvo 3,3 veces más papaína que del látex fresco de *Carica papaya* (Gutiérrez et al. 2017).

### Efecto del pH en la actividad enzimática

Se observa que la actividad enzimática es mayor a pH de 6,0 en las tres especies de *Vasconcelleas*. Según Muriel et al. (2005), a pH muy alcalino habría una pérdida de interacción con iones y agua. La papaína es fácilmente desnaturizable, y se mantiene estable en un rango de pH entre 3,0 y 9,0. El pH óptimo de la reacción de catalizada de la papaína en *Carica papaya* fue 7.4 (Lin et al., 2020).

Gutiérrez et al. (2017) encontraron que la actividad enzimática específica (AEE) de la papaína aumenta en forma lineal, hasta una concentración de Ca de 10  $\mu$ M, y para fósforo inorgánico la AEE aumenta hasta una concentración del Pi de 3.25  $\mu$ M a diferencia de lo reportado por Kaul et al. (2002) que encontró que la enzima con Pi es inhibida en un 50 % a concentraciones de 20 a 60  $\mu$ g de Pi, y una total inhibición al usar 80  $\mu$ g de Pi; además, reportan que el Ca y Mg son activadores de la AEE.

### Evaluación de la actividad enzimática de papaína comercial con *V. chachapoyensis*

En la tabla 4, se presenta la actividad enzimática de la papaína comercial de la marca Merck, Improve -Essential Papain 6000 USP-U/mg, comparado con la enzima *V. chachapoyensis* a pH 6.0, (tratamiento con más alto valor AE). Se observa que la papaína de la *V. Chachapoyensis* presenta valores de AE significativamente superior a la papaína comercial (origen de papaya).

**Tabla 4.** Actividad enzimática de la papaína comercial y del mejor tratamiento del estudio

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

Gutiérrez et al. (2017) obtuvieron papaína de *Vasconcellea candicans* 3.5 veces más activa que papaína de papaya de la marca Sigma; además, obtuvieron una mayor actividad enzimática de la papaína en caseína al 0.65% (p/v) con buffer fosfato de potasio 50 mM y pH 7.5, donde al aumentar el pH a 8,8 y 9,5 disminuye la actividad enzimática en 40,6% y 60% respectivamente.

### Actividad proteolítica de la papaína purificada utilizando caseína comercial

En la tabla 5 se muestra la actividad proteolítica de la enzima papaína, de las tres especies nativas de Amazonas, utilizando como sustrato caseína comercial. En las seis repeticiones, se observó que la especie *V. pubescens* presenta mayor actividad proteolítica.

**Tabla 5.** Determinación de la actividad proteolítica de especies del género *Vasconcellea* (% proteína)

Especie	<i>Vasconcellea chachapoyensis</i>	<i>Vasconcellea x heilbornii</i>	<i>Vasconcellea pubescens</i>
Rango	0.30-0.50	0.50 - 0.66	0.40 - 0.80
Promedio	0.37	0.58	0.60

### Caracterización fisicoquímica de la papaína liofilizada

Para la caracterización de la papaína liofilizada, se analizaron los mejores resultados obtenidos de la AE

de cada especie. Después del proceso de extracción, purificación y liofilización se obtuvo un producto en forma de polvo, cada especie presenta un color característico tal como se observa en la figura 3.



**Figura 3.** Fotos de muestras de enzimas liofilizadas de especies del género *Vasconcellea*. A) *V. chachapoyensis*, B) *V. heilbornii* y C) *V. pubescens*

### Densidad y rendimiento de la enzima

En la tabla 6, se presenta la densidad y el rendimiento de la papaína liofilizada. El rendimiento de papaína liofilizada, en relación al peso inicial de la fruta, la *V. chachapoyensis* presenta un rendimiento superior,

estadísticamente significativo con respecto a las otras especies estudiadas; y sobre la relación enzima/látex, la *V. heilbornii* presenta un rendimiento ligeramente superior al *V. chachapoyensis*, estadísticamente no significativo.

**Tabla 6.** Caracterización fisicoquímica de papaína liofilizada

Especie	Enzima (g)	Densidad enzima (g/cc)	Rendimiento en base a fruta (%)	Rendimiento en base a látex (%)
<i>V. chachapoyensis</i>	56.47	0.169	0,24	16.89
<i>V. x heilbornii</i> cv Babaco	28.36	0.169	0,12	16.92
<i>V. pubescens</i>	34.20	0.160	0,14	15.93

## Determinación de proteínas

En la tabla 7, se muestra los contenidos de proteínas de los mejores resultados de AE de cada especie. El mayor promedio lo tuvo la *V. heilbornii*, estadísticamente significativo a las otras especies.

**Tabla 7.** Contenido proteico de los mejores tratamientos de las especies del género *Vasconcellea*

Especie	Promedio, µg/l	Rango, µ/l
<i>V. chachapoyensis</i>	283	200-374
<i>V. Heilbornii</i>	425	217-645
<i>V. pubescens</i>	270	196-432

## Determinación de humedad y cenizas

La *V. heilbornii* presentó un mayor contenido de humedad, como se muestra en la tabla 8, estadísticamente no mostró diferencia significativa con la *V. chachapoyensis*, pero si fueron superiores a *V. pubescens*.

**Tabla 8.** Humedad y cenizas de las especies del género *Vasconcellea*

Especie	Humedad, %	Cenizas, %
<i>V. chachapoyensis</i>	2.17	3.33
<i>V. x heilbornii</i>	2.25	2.67
<i>V. pubescens</i>	0.83	1.0

Con estos niveles de humedad en las enzimas liofilizadas. En el secado de látex de la especie *Carica papaya*, en estufa a temperaturas de 25 °C y 60 °C y tiempos de 20 y 4 horas respectivamente, se reportó humedad de 4,73 y 8,50% (Tovar-Colmenares et al., 2018). La liofilización permitió tener menores niveles de humedad que otros métodos de secado, por lo que las tres especies presentarían un bajo riesgo de deterioro garantizando su vida útil por tiempos más prolongados.

En cenizas, la *V. chachapoyensis* presentó un contenido significativamente superior a las otras especies. Este contenido de cenizas indica un mayor contenido de minerales, lo cual podría haber influido en su mayor valoración de actividad enzimática.

## Conclusiones

Los frutos de la especie *V. chachapoyensis* son de menor longitud y diámetro que las *V. pubescens* y *V. heilbornii*, pero presenta un mayor rendimiento en la producción de la enzima papaína.

Se pudo obtener la enzima papaína de las especies *V. chachapoyensis*, *V. pubescens* y *V. heilbornii*

utilizando la metodología propuesta; obteniéndose una mayor actividad enzimática en las tres especies con pH de 6.0; la especie *V. chachapoyensis* presentó la mayor actividad enzimática, siendo también superior a la papaína comercial.

La especie *V. pubescens* presentó una mayor actividad proteolítica con la caseína comercial. Por estos resultados se podría decir que el método propuesto para la obtención de papaína es confiable.

## Declaración de contribución del autor

Daniel Tineo, Ralph Rivera-Botonares, Segundo Manuel Oliva-Cruz: Concibieron y diseñaron los experimentos; RB: Realizó los experimentos y analizó e interpretó los datos; OC: Reactivos, materiales, herramientas de análisis o datos aportados; Escribió el manuscrito.

## Declaración de financiación

Esta investigación fue financiada por el BANCO MUNDIAL, a través del Programa Nacional de Investigación Científica y Estudios Avanzados (PROCIENCIA) con el Proyecto PAPAÍNA Contrato N°11-2018-FONDECYT-BM-IADT-SE”.

## Referencias

- Acosta, R. (2011). *Estudio del variación de la actividad enzimática proteolítica del látex del Babaco (Vasconcellea heilbornii cv babaco) en función de la edad del fruto*. Escuela Politécnica Nacional.
- Andrade, M., Morales, O., & Martínez, H. (2011). Estudio 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. [https://revistas.unal.edu.co/index.php/acta\\_agronomica/article/view/28818](https://revistas.unal.edu.co/index.php/acta_agronomica/article/view/28818)
- Arana, P., & Quijano, M. (2012). Extracción, caracterización y comparación de látex obtenido en secado por aspersión, de variedades de papaya (*Carica papaya* L.). In *Escuela Superior Politécnica del Litoral*. Escuela Superior Politécnica del Litoral.
- 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]. <http://repositorio.upec.edu.ec/handle/123456789/877>
- 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>
- 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 Rodríguez de Mendoza de Amazonas]. <http://repositorio.untrm.edu.pe/handle/UNTRM/553>
- 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>
- 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.
- Muriel, O., Gutiérrez, P., Quequezana, M., & Arenas, C. (2005). Extracción de la papaina de *Carica* var. *Arequipensis*. *Véritas*, 9(1), 128–135.
- Ocampo, J. (2021). Papaya de Olor (*Vasconcellea pubescens*). *Research Gate, March*.
- Puig, A. M. (2008). Desarrollo de un proceso para la extracción de papaina en Colombia. In *Universidad de los Andes*. Universidad de los Andes.
- Ramírez, F. (2019). La papaina y su potencial como producto de valor agregado en Costa Rica. *Research Gate, April*. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.32076.46729>
- Schedelman, X., Kyndt, T., Ming, R., & Droogenbroeck, V. (2011). Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources. In *Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources* (Issue June). <https://doi.org/10.1007/978-3-642-20447-0>
- 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 Politécnica Nacional]. <http://bibdigital.epn.edu.ec/handle/15000/1661>
- Tacias-Pascacio, V. G., Morellon-Sterling, R., Castañeda-Valbuena, D., Berenguer-Murcia, Á., Kamli, M. R., Tavano, O., & Fernandez-Lafuente, R. (2021). Immobilization of papain: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 188(October), 94–113. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.08.016>
- Tineo, D., Bustamante, D. E., Calderon, M. S., Mendoza, J. E., Huaman, E., & Oliva, M. (2020). 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>
- Torres, M. J., Trejo, S. A., Martín, M. I., Natalucci, C. L., Avilés, F. X., & López, L. M. I. (2010). Purification and characterization of a cysteine endopeptidase from *vasconcellea quercifolia* A. St.-Hil. latex displaying high substrate specificity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(20), 11027–11035. <https://doi.org/10.1021/jf904295x>
- Tovar-Colmenárez, Y., Ávila de Hernández, R., Pire-Sierra, M. C., & González-Ortiz, M. T. (2018). Purificación de la papaina del látex de la lechosa y cuantificación de la actividad enzimática. *Revista Científica A.S.A*, August, 44–59.