

Efeitos quimiopreventivo e antimutagênico *in vivo* do extrato hidroetanólico de frutos de *Carica papaya* L.

Chemopreventive and antimutagenic potential *in vivo* of hydroethanolic fruit extract of *Carica papaya* L.

Efectos quimiopreventivos y antimutagénicos *in vivo* del extracto hidroetanólico de frutos de *Carica papaya* L.

Farm. Paula Marchiori Mariani,¹ Farm. Paula Da Rós Freitas,¹ MSc. Iêda Carneiro Kalil,¹ MSc. Girlandia Alexandre Brasil,¹ MSc. Silas Nascimento Ronchi,¹ Dr. Dominik Lenz,¹ Dr. José Aires Ventura,¹¹ Dr Tadeu Uggere De Andrade,¹ Dra. Denise Coutinho Endringer¹

¹ Universidade Vila Velha. Vila Velha, ES, Brasil.

¹¹ Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (Incaper). Vitória, ES, Brasil.

RESUMO

Introdução: os frutos de *Carica papaya* L. são amplamente consumidos em todo o mundo e no Brasil, porém pouco se sabe sobre seu efeito citotóxico, antimutagênico e quimioprotetor.

Objetivos: avaliar o potencial antimutagênico e quimioprotetor de frutos de *Carica papaya* e quantificar as suas substâncias fenólicas.

Métodos: a atividade antimutagênica foi avaliada pelo método de micronúcleo e as substâncias fenólicas foram analisadas pelo método de Folin-Ciocalteu (fenólicos totais), e pelo método colorimétrico cloreto de alumínio (flavonóides totais).

Resultados: o extrato hidroetanólico de frutos de *Carica papaya* possui potencial antimutagênico e quimioprotetor (370 mg/100 g peso corporal). O teor de substâncias fenólicas do extrato hidroetanólico de frutos foi inferior a 0,001 µg/mg.

Conclusão: o efeito antimutagênico e quimioprotetor observado nos extratos dos frutos de *Carica papaya* pode estar associado a outras substâncias. Estudos químicos precisam ser conduzidos para identificar as substâncias envolvidas na atividade.

Palavras-chave: *Carica papaya* L., teste do micronúcleo, compostos fenólicos.

ABSTRACT

Introduction: the fruits of *Carica papaya* L. are widely consumed around the world and in Brazil, but little is known about its cytotoxic, antimutagenic and chemoprotector effects.

Objectives: to evaluate the antimutagenic and chemoprotector potential of fruits of *Carica papaya* and quantify the phenolic substances present in those fruits.

Methods: mutagenic activity was evaluated by micronucleus assay and phenolic substances were analyzed by the Folin-Ciocalteu method (total phenolics), and by aluminum chloride colorimetric method (total flavonoids).

Results: the hidroetanolic extract of fruits of *Carica papaya* elicited antimutagenic and chemoprotector effects (370 mg/100 g body weight). The content of phenolic substances of hidroetanolic extract of fruits was lower than 0.001 µg/mg.

Conclusions: the antimutagenic and chemoprotector effects observed must be related to other compounds. Chemical studies must be conducted to identify the substances involved in the activity.

Key words: *Carica papaya* L., micronucleous assay, phenolic compound.

RESUMEN

Introducción: los frutos de *Carica papaya* L. son ampliamente consumidos en todo el mundo y en Brasil, pero poco se sabe acerca de su efecto citotóxico, antimutagénico y quimioprotector.

Objetivos: evaluar el efecto antimutagénico y quimioprotector de los frutos de *Carica papaya* y cuantificar las sustancias fenólicas.

Métodos: la actividad mutagénica se evaluó por micronúcleos y las sustancias fenólicas se analizaron por el método Folin-Ciocalteu (fenólica), y el método colorimétrico cloruro de aluminio (flavonoides).

Resultados: el extracto hidroetanólico de frutas de *Carica papaya* tiene efecto antimutagénico y quimioprotector (370 mg/100 g de peso corporal). El contenido de sustancias fenólicas de extracto hidroetanólico resultó inferior a 0,001 µg/mg.

Conclusión: el efecto antimutagénico y quimioprotector observado en extractos de frutos de *Carica papaya* puede estar asociado con otras sustancias. Estudios químicos deben llevarse a cabo para identificar las sustancias que intervienen en la actividad.

Palabras clave: *Carica papaya* L., prueba de micronúcleos, compuestos fenólicos.

INTRODUÇÃO

Atualmente a correlação entre uma dieta saudável e a saúde plena tem sido alvo de estudos.¹⁻³ O estudo de alimentos com finalidades terapêuticas, desperta grande interesse nos pesquisadores, as pesquisas visam comprovar a ação medicinal dos alimentos.²

Estudos demonstram que a alimentação balanceada, com alto consumo de verduras, grãos e frutas reduz o risco de inúmeras doenças, como arteriosclerose, enfermidades hepáticas, câncer, entre outras.^{4,5} Os efeitos benéficos causados pela boa alimentação podem ser atribuídos a presença de substâncias funcionais encontradas nos

alimentos, tais como vitaminas, compostos fenólicos, carotenos, ácidos graxos poli-insaturados, fibras entre outros,^{4,5} algumas destas substâncias ainda tem propriedade antioxidante aumentando a sua capacidade protetora.⁶⁻⁸

A dieta é a principal fonte de substâncias carcinogênicas para o organismo,³ deste modo, pode-se ligar algumas doenças ao tipo de dieta que o indivíduo tem, e há indícios de que intervenções dietéticas podem gerar uma diminuição na progressão de doenças como o câncer.^{9,10}

O câncer é uma doença difundida por todo o mundo, 12,7 milhões de pessoas foram diagnosticadas com a doença em 2008, e no mesmo período, 7,6 milhões morreram em decorrência dessa enfermidade,¹¹ por isso a prevenção passa a ser a melhor abordagem.

Estudos demonstram que dieta rica em alimentos funcionais tem papel importante nos primeiros estágios de evolução do câncer.¹²

A espécie *Carica papaya* L., conhecida como mamoeiro, pertence à família Caricaceae,^{13,14} e ocorre em países tropicais e sub-tropicais.¹⁵ As folhas desta espécie são consumidas por sua suposta ação anti-cancer,^{13,14} e, frutos produzidos pelo mamoeiro possuem alto valor nutritivo, com produção abundante durante todo o ano, sendo uma das atividades de grande representatividade econômica do Brasil.¹⁶

Devido ao complexo perfil químico dos frutos, ricos em vitamina C, carotenóides, sais minerais e carboidratos,⁴ além de proteínas e alcalóides, estas partes da planta são utilizadas na produção de cosméticos e outros produtos industriais.¹³ Em função desse rico elenco de substâncias, esses frutos podem ser empregados como quimiopreventivos de doenças.

Uma das formas de avaliar o potencial protetor desses frutos é através do teste do micronúcleo. *Silva* e outros¹⁷ descrevem micronúcleos como estruturas provenientes de fragmentos cromossômicos ou cromossomos inteiros que durante a anáfase, não migraram para os pólos da célula. O teste do micronúcleo (MN) foi igualmente eficaz na detecção da mutação, em comparação aos tradicionais testes citogenéticos.¹⁷

Portanto, o objetivo do presente estudo foi avaliar a possível ação antimutagênica da do extrato hidroetanólico do fruto de *C. papaya* através do ensaio do micronúcleo bem como as suas substâncias de natureza fenólica.

MÉTODOS

Os frutos verdes e maduros de *C. papaya* das variedades Solo (Improved Sunrise Solo Line 72-12) e Rubi (Rubi INCAPER 511) foram coletados em junho/2011 na Fazenda Experimental do Incaper em Sooretama ES, identificados e cedidos pelo INCAPER.¹⁸

Os frutos foram triturados com multiprocessador (TSK560, NKS-Brasil) na presença de etanol 90 % na proporção 1:3 (v/v). A suspensão permaneceu em repouso por 20 min, seguido de filtração. O extrato foi armazenado em frasco âmbar e o solvente foi evaporado em evaporador rotatório (Fisatom 802, São Paulo-Brasil) a fase aquosa residual foi evaporada em banho-maria à 50 °C, este extrato foi empregado nas análises.

Foram utilizados ratos da raça *Wistar-Kyoto* (WKY), machos com idade entre três e quatro meses e com peso corporal variando entre 200 e 300 g. Os animais foram mantidos em gaiolas de polipropileno com sistema de umidade e temperatura controladas, ciclo claro-escuro de 12 h e acesso a água e comida *ad libitum*. Esses animais foram fornecidos pelo Biotério do Complexo Biopráticas da Universidade de Vila Velha UVV.

Os animais foram divididos em seis grupos (n= 5 cada). Grupo controle positivo recebeu ciclofosfamida 40 mg/kg intraperitoneal. Grupo controle negativo recebeu, por gavagem, o veículo (água ultrapura) e os grupos tratados (Rubi maduro, Sunrise solo maduro, Rubi verde e Sunrise solo verde) receberam, por gavagem o extrato hidroetanólico de cada amostra de fruto (370 mg/100 g de peso corporal), nos intervalos de 60, 48, 36 24 e 12h antes da eutanásia. A dose do extrato, administrada de 24 h antes da eutanásia foi concomitante à dose ciclofosfamida 40 mg/kg (Sigma Aldrich, St. Louis, EUA) intraperitoneal.

O protocolo do experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética e Bem-Estar Animal da Universidade Vila Velha (protocolo 116/2010), sendo respeitadas as normas de segurança e bem estar animal da Universidade Vila Velha.

O teste do micronúcleo desenvolvido inicialmente por *Schimid*,^{19,20} foi executado como descrito em *Ribeiro*,²¹ seguindo as orientações recomendadas pela OECD.²²

Os animais foram anestesiados por deslocamento cervical e eutanasiados. Para a obtenção da medula óssea, a extremidade final do fêmur foi extraída para expor o canal da medula e com o auxílio de uma agulha foi injetado soro fetal bovino, de modo a empurrar a medula para dentro de um tubo de centrifuga o qual foi homogeneizado até a obtenção de uma suspensão homogênea. Essa suspensão foi centrifugada, por 10 min, a 1 200 rpm, e o sobrenadante foi parcialmente descartado e encaminhado para a preparação de esfregaços.

Três esfregaços foram preparadas para cada animal que foram fixadas com metanol e coradas com o corante de Leishman. As leituras das lâminas foram feitas em objetiva de imersão e para cada lâmina foram contadas 1 000 células, sendo nas primeiras 200 células contados eritrócitos normocromáticos (ENC) e eritrócitos policromáticos (EPC). Após atingir esse valor, seguiu-se a contagem de apenas EPC até completar-se 1 000 células. Pelo menos 2 000 EPC foram contados e analisados por animal, para pelo menos cinco animais por grupo de tratamento. As análises foram realizadas por analistas cegos para o experimento. Os critérios para identificação do micronúcleo (MN) são seu tamanho, forma e coloração. No tamanho, eles devem ter 1/10 a 1/20 do tamanho do EPC. O micronúcleo deve ser arredondado ou oval, com contorno liso e definido, e coloração azul escuro. O micronúcleo, geralmente, apresenta menor evidência de estrutura interna que o núcleo das células nucleadas, mas são semelhantes, em aparência, a esses núcleos. Foram considerados 2.000 EPC's por animal, para pelo menos 5 animais por grupo de tratamento. Os MN identificados nos EPC foram identificados como EPCMN e nos ENC, ENCMN. A citotoxicidade foi avaliada pelo índice mitótico, calculado pela relação entre EPC/ENC. A mutagenicidade foi estipulada por meio do número de eritrócitos policromáticos contendo micronúcleos (EPCMN).

A determinação do teor de polifenóis totais foi realizada por meio de espectroscopia na região do visível utilizando o método de Folin-Ciocalteu com modificações.²³ Preparou-se, quantitativamente, uma solução 4,0 mg/mL da amostra. Uma alíquota de 100 µL desta foi agitada com 500 µL do reagente de Folin-Ciocalteu (Sigma

Aldrich, St. Louis, EUA) e 5 mL de água ultrapura (Pure Lab, Ultra, ELGA, Bucks, UK) por alguns segundos. Após agitação, 2 mL da solução de Na₂CO₃ 15 % foram adicionado à mistura e agitada por 30 segundos. Finalmente, a solução teve seu volume completado para 10 mL com água ultrapura (Pure Lab, Ultra, ELGA, Bucks, UK).

As amostras foram armazenadas ao abrigo da luz por 2 h. Transcorrido esse tempo, a absorbância das amostras foi medida em espectrofotômetro (T80+UV/VIS Spectrometer, PG Instruments Ltda) no comprimento de onda 750 nm, tendo como branco o metanol e todos os reagentes, excetuando-se o extrato. A curva de calibração foi preparada com solução de pirogalol (Sigma Aldrich, St Louis, EUA) (10 a 350 µg/mL). A quantificação dos polifenóis totais foi feita através da equação da reta da curva de calibração $y = 1,1429x + 0,007$, $r^2 = 0,9977$. Os resultados foram expressos como µg de EP (equivalentes de pirogalol) por g de extrato seco. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

Para determinação dos flavonóides total, foi utilizado o método colorimétrico de cloreto de alumínio.²⁴ Preparou-se, quantitativamente, uma solução 4 mg/mL da amostra. Para o ensaio, foram misturados 4 mL de metanol, 1 mL da solução do extrato 1,5 mg/mL, 200 µL de solução de AlCl₃ a 10 %, 200 µL de solução de NaCO₃ a 15 % e 5 mL de água ultrapura (Pure Lab, Ultra, ELGA, Bucks, UK). Incubou-se por 30 minutos à temperatura ambiente e protegida da luz. A absorbância foi determinada em espectrofotômetro (T80+UV/VIS Spectrometer, PG Instruments Ltda) no comprimento de onda 415 nm. A curva de calibração foi preparada com soluções de rutina (Sigma Aldrich, St Louis, EUA) 3,91 a 500,00 µg/mL. A quantificação de flavonóides foi determinada a partir da equação de regressão de calibração $y = 0,0033x + 0,0121$, $r^2 = 0,9991$. As análises foram realizadas em triplicata.

A análise estatística para os bioensaios de medula óssea dos roedores foi feita utilizando análise de variância de uma via (ANOVA) seguida pelo teste de comparação de médias a posteriori de Tukey com nível de significância de $p < 0,05$.

RESULTADOS

Os grupos experimentais tratados com extrato hidroetanólicos de frutos verdes e maduros de variedades de *C. papaya* e que receberam a dose de ciclofosfamida 24h antes da eutanásia apresentaram uma diminuição no número de eritrócitos policromáticos com micronúcleo (EPMN) ([tabela](#)) que se aproxima do valor encontrado no grupo controle negativo. A análise do índice mitótico (EPC/ENC) indica que os grupos tratados com o extratos de frutos de *C. papaya*, apresentaram índice mitótico semelhante ao grupo controle negativo, indicando que a *C. papaya* induziu a morte celular das células com alterações no DNA.

A análise dos resultados indica uma diferença da quantidade de EPCMN entre os grupos ([tabela](#)). Quando se analisa o grupo controle positivo, percebe-se um aumento na quantidade de micronúcleos encontrada, confirmando assim a genotoxicidade da ciclofosfamida, e ainda uma diminuição no Índice Mitótico, mostrando a indução de morte celular.

Na determinação de polifenóis totais e flavonóides totais os valores para estes constituintes para os extratos hidroetanólicos de frutos de *C. papaya* foram abaixo do limite de quantificação, de $< 0,001$ µg/mL e 3,9 µg/mL respectivamente.

Tabela. Atividade antimutagênica de extratos hidroetanólicos de frutos de *Carica papaya* de duas variedades e de dois estágios de maturação representada pelo número de eritrócitos policromáticos micronucleados (EPCMN) e índice mitótico (EPC/ENC) em medula óssea de ratos Wistar-Kyoto

Tratamentos	EPC	ENC	EPCMN	EPC/ENC
Controle negativo	114 ± 18	88 ± 18	3,2 ± 1,8	1,38 ± 0,52
Controle positivo	62 ± 20***	139 ± 21**	20 ± 5***	0,47 ± 0,21**
Rubi maduro	61 ± 28***	144 ± 27**	3,1 ± 0,8**	0,47 ± 0,26**
Sunrise solo maduro	50 ± 6 ***	152 ± 9***	3,5 ± 0,6**	0,33 ± 0,12**
Rubi verde	46 ± 17***	158 ± 17**	3,8 ± 1,9**	0,34 ± 0,15**
Sunrise solo verde	51 ± 29***	148 ± 29**	3,5 ± 1,9**	0,39 ± 0,32**

***p < 0,01 em relação ao controle negativo; **p < 0,01 em relação ao controle positivo. EPC: eritrócitos policromáticos; ENC: eritrócitos normocromáticos; EPCMN= eritrócitos policromáticos com micronúcleos eritrócitos normocromáticos.

DISCUSSÃO

O ensaio do micronúcleo pode ser empregado para a detecção de dano celular no processo da divisão, bem como a avaliação da extensão destes danos. Deste modo o ensaio pode mensurar a capacidade nociva ou protetora de determinada substância.²⁵

Ribeiro²¹ descreve que para realizar uma análise dos dados, devem-se avaliar as diferenças estatísticas nas frequências de EPCMN entre o grupo tratado e o grupo controle negativo. O índice mitótico (tabela) mostra que o tratamento com os extratos hidroetanólicos de frutos de variedades diferentes de *C. papaya*, em diferentes estágios de maturação diminui a formação de micronúcleos, porém não impede a morte celular causada pela ciclofosfamida.

Os grupos que foram tratados com os extratos hidroetanólicos de frutos de *C. papaya* apresentaram uma quantidade pequena de EPCMN, sendo semelhante ao grupo controle negativo e diferente do grupo positivo, indicando assim que o extrato de frutos maduros de *C. papaya* atua protegendo a célula medular quanto à formação de micronúcleos. Em estudo prévio utilizando extrato etanólico de folhas de *C. papaya* demonstrou a diminuição no número de EPCMN no grupo tratado indicando assim a possível antimutagenicidade do extrato.²⁶

Otsuki e outros¹⁴ estudando o extrato das folhas da mesma planta constataram a presença de atividade anti-proliferativa direta em células de diversas linhagens tumorais e ainda aumento de citocinas Th1, *up regulation* de genes antitumorais relacionados às células mononucleadas do sangue periférico humano. Estes dados indicam melhorada resposta humoral e celular frente às linhagens estudadas.

Substâncias fenólicas estão amplamente distribuídas na natureza, fazendo parte dos constituintes de vegetais e frutas.¹⁷ As substâncias são produtos do metabolismo secundário de plantas, importantes para a proteção dessas contra agressões do ambiente.⁶

Silva e outros²⁷ relatam que os níveis de substâncias fenólicas presentes em *C. papaya* variam na fruta, látex, folhas e raízes. Cultivares diferentes também

apresentam quantidades variadas dessas substâncias.^{6,27,28} Além disso, partes masculinas e femininas da planta também possuem diferenças, sendo a masculina rica em substâncias fenólicas quando comparado à feminina.²⁹

Uma pesquisa realizada com diversas plantas, dentre elas o mamão, relata que folhas de *C. papaya* são ricas em alcalóides e outras substâncias, sendo utilizadas no tratamento de doenças do coração.³⁰ A variedade, grau de maturação, clima, época do ano, fatores edáficos, como tipo de solo e fertilidade são outras variáveis que influenciam a composição dos frutos.⁶

Pesquisas investigando a presença de miricetina, quercetina, canferol, luteolina e apigenina, na polpa de mamão não obtiveram êxito na detecção dessas substâncias.²⁸ Outros estudos relatam a análise dos constituintes de frutas como substâncias fenólicas, carotenóides e ácido ascórbico e sua atividade antioxidante. Dentre as frutas estudadas, o mamão foi o que apresentou menor teor de substâncias fenólicas,²⁹ fato também observado no presente estudo.

A detecção de baixos níveis de substâncias fenólicas e flavonóides no presente estudo pode ser atribuído ainda à presença de enzimas que degradem essas substâncias. Normalmente, a atividade enzimática aumenta durante a maturação dos frutos.⁶ Enzimas como a polifenol oxidase e peróxido de hidrogênio redutase estão amplamente distribuídos em plantas³⁰ e agem catalisando a oxidação de fenóis, aminas aromáticas e outros compostos orgânicos. Estas reações contribuem para a perda da cor, sabor e textura, além das propriedades nutricionais bem como possíveis propriedades farmacológicas.⁶

Outro constituinte químico natural presente no latex e em frutos de mamão é o benzil-isotiocianato (BITC), que tem sido relatado com atividade biocida, principalmente ovicida para mosca das frutas, diminuindo a sua concentração com a maturação dos frutos ou quando estes estão infectados pelo vírus da meleira.³¹

Diante do exposto, os resultados demonstrados neste estudo evidenciam que o extrato hidroetanólico de frutos maduros de *C. papaya* apresenta baixa toxicidade e apresenta efeito antimutagênico e quimioprotetor, além de baixos teores de substâncias fenólicas e flavonóides.

AGRADECIMENTOS

Agradece-se à CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pelas bolsas de Mestrado (BRASIL, G.A e RONCHI, S.N.) Este trabalho foi financiado pela UVV (Universidade Vila Velha).

Colaboradores: todos os autores participaram da construção da pesquisa. P M. MARIANI, P.D.R. FREITAS, G. A. BRASIL e S. N. RONCHI participaram da obtenção dos dados, discussão do artigo e revisão da versão final. J.A. VENTURA contribuiu na obtenção da matéria prima vegetal, na discussão do artigo e revisão da versão final. T. U. ANDRADE e D. LENZ participaram da análise estatística dos dados e do processo de quantificação. I.C. KALIL contribuiu no planejamento, revisão bibliográfica, obtenção dos dados, discussão do artigo, redação do artigo e revisão da versão final. D.C. ENDRINGER responsabilizou-se pela orientação e coordenação do trabalho.

REFERÊNCIAS

1. Fortes RC, Recôva VL, Melo AL, Novaes MRCG. Hábitos dietéticos de pacientes com câncer colorretal em fase pós-operatória. Rev Bras cancerol. 2007;53(3):277-89.
2. Padilha PC, Pinheiro RI. O papel dos alimentos funcionais na prevenção e controle do câncer de mama. Rev bras cancerol. 2004;50(3):251-60.
3. DeMarini DM. Dietary interventions of human carcinogenesis. Mutat Res. 1998;400(1-2):457-65.
4. Santana LRR, Matsuura FCAU, Cardoso RL. Genótipos melhorados de mamão (*Carica papaya* L.): Avaliação sensorial e físico-química dos frutos. Cienc Tecnol Aliment. 2004;24(2):217-22.
5. Moraes FP, Colla LM. Alimentos Funcionais e Nutracêuticos: Definições, Legislação e Benefícios a Saúde. REF. 2006; 3(2):109-22.
6. Shinagawa FB. Avaliação das características bioquímicas da polpa de mamão (*Carica papaya* L.) processada por alta pressão hidrostática [Dissertação de Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos]. UFRJ, RJ: Escola de Química; 2009. p. 133.
7. Stahl W, Sies H. Antioxidant activity of carotenoids. Mol Aspects Med. 2003;24(6):345-51.
8. Paiva SA, Russell RM. Beta-carotene and other carotenoids as antioxidants. J Am Coll Nutr. 1999;18(5):426-33.
9. Greenwald P. Experience from clinical trials in cancer prevention. Ann Med. 1994;26:73-80.
10. Block G, Patterson B, Subar A. Fruit, vegetables, and cancer prevention: a review of the epidemiologic evidence. Nutr Cancer. 1992;18(1):1-29.
11. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. CA Cancer J Clin. 2011;61:69-90.
12. Endringer DC, Valadares YM, Campana PV, Campos JJ, Guimarães KG. Evaluation of Brazilian plants on cancer chemoprevention targets *in vitro*. Phytother Res. 2010;24(6):928-33.
13. Department of health and ageing office of the gene technology regulator. The biology and ecology of *Carica papaya* L. Australia; 2003 [Acesso 2011 mar 23]. Disponível em: <http://www.ogtr.gov.au>
14. Otsuki N, Dang NH, Kumagai E, Kondo A, Iwata S, Morimoto C. Aqueous extract of *Carica papaya* leaves exhibits anti-tumor activity and immunomodulatory effects. J Ethnopharmacol. 2010;127:760-7.
15. Department of health and ageing office of the gene technology regulator. The biology of *Carica papaya* L. Australia; 2008 [Acesso 2011 mar 23]. Disponível em: <http://www.ogtr.gov.au>

16. Leal-Costa MVM, Munhoz M, Filho PEM, Reinert F, Tavares ES. Anatomia foliar de plantas transgênicas e não transgênicas de *Carica papaya* L. (Caricaceae). Acta Bot Bras. 2010;24(2):595-7.
17. Silva MLC, Costa RS, Santana AS, Koblitz MGB. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. Emina Ciênc Agrar. 2010;31(3):669-82.
18. Rubi Incaper 511. Primeira variedade de Mamão do grupo "Formosa" para o Espírito Santo. 2010 [Acesso 2011 Out 26]. Disponível em: <http://incaper.web407.uni5.net/revista.php?idcap=961>
19. Schmid W. The micronucleus test. Mutat Res. 1975;31(1):9-15.
20. Schmid W. The micronucleus test for cytogenetic analysis. Am J Hum Genet. 1976;4:31-53.
21. Ribeiro LR. Teste do Micronúcleo em Medula Óssea de roedores *in vivo*. In: Ribeiro LR, Salvatori DMF, Marques EK, editores. Mutagênese ambiental. Canoas: ULBRA; 2003. p. 201-23.
22. OECD Guideline for the Testing of Chemicals. Mammalian Erythrocyte Micronucleus Test; 1997 [Acesso 2011 mar 20]. Disponível em: <http://www.oecd.org/dataoecd/18/34/1948442.pdf>
23. Souza CMM, Silva HR, Vieira-Jr G, Ayres MCC, Costa CLS, Araújo DS, et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. Quím Nova. 2007;30(2):351-5.
24. Abouzid SF, Elsherbeiny GM. Increase in flavonoids content in red onion peel by mechanical shredding. JMPR. 2008;2(9):258-60.
25. Flores M, Yamaguchi UM. Teste do Micronúcleo: Uma triagem para avaliação genotóxica. Saud Pesq. 2010;1(3):337-40.
26. Kalil IC, Gibson BA, Ribeiro CA, Benica LS, Brasil GA, Andrade TU, et al. Antimutagenic activity *Carica papaya* L. by micronucleus bioassay. Rev Ciênc Farm Básica Apl. 2012;32(3):419-23.
27. Silva JAT, Rashid Z, Nhut DT, Sivakumar D, Gera A, Souza-Jr MT, et al. Papaya (*Carica papaya* L.) biology and biotechnology. Tree Forest Science Biotechnol. 2007;1(1):43-73.
28. Shami NJIE, Moreira EAM. Licopeno como agente antioxidante. Rev Nutr. 2004;17(2):227-36.
29. Ribeiro ML. Efeito do processamento térmico nas características físico-químicas, nutricionais, microbiológicas e na atividade enzimática de polpa de mamão Formosa (*Carica papaya* L.) [Dissertação Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos]. Rio de Janeiro: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro; 2009.
30. Bicalho UO, Chitarra AB, Chitarra MF, Coelho AHR. Modificações texturais em mamões submetidos a aplicação pós-colheita de cálcio e embalagem de PVC. Ciênc Agro. 2000;24(1):136-46.

31. Martins DS, Ventura JA, Lima RCA, Ferreira PSF, Culik, MP, Costa H. Interaction between Papaya meleira virus (PMeV) infection of papaya plants and Mediterranean fruit fly infestation of fruits. *Crop Protection*. 2012;36(1):7-10.

Recibido: 28 de noviembre de 2012.

Aprobado: 10 de marzo de 2013.

Denise Coutinho Endringer. Rua Comissário José Dantas de Mello, No. 21, Boa Vista, 29102-770. Vila Velha, ES, Brasil. +5527 34212072. E-mail: endringe@gmail.com