

ESTUDO COMPARATIVO PARA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE AMOSTRAS DE PAPAÍNA COMERCIALIZADAS POR EMPRESAS FORNECEDORAS DE INSUMOS FARMACÊUTICOS DO ESTADO DE SÃO PAULO

Júlio César Borella*

Curso de Ciências Farmacêuticas da Universidade de Ribeirão Preto

Laboratório de Manipulação Farmacêutica da Secretaria Municipal da Saúde de Ribeirão Preto

*E-mail: jborella@unaerp.br

Submetido em: 06/07/2015

Aceito em: 25/08/2015

Publicado em: 31/12/2015

Michelly de Pádua

Curso de Ciências Farmacêuticas da Universidade de Ribeirão Preto

Marise C. Bastos Stevanato

Curso de Ciências Farmacêuticas da Universidade de Ribeirão Preto

Resumo

A papaína é um insumo de origem vegetal, usada na produção de medicamentos devido a sua ação cicatrizante e desbridante de feridas. No entanto, a qualidade dessa matéria-prima é questionável. Neste sentido, o presente trabalho teve como objetivo avaliar esse aspecto na papaína disponível no mercado farmacêutico do estado de São Paulo. Assim, foram analisadas amostras de diversos fornecedores por meio de características físico-químicas, microbiológicas e enzimáticas. Quatro amostras de papaína foram avaliadas, comparando-se com padrão e conforme descrito na literatura; em relação às propriedades organolépticas (sensoriais), testes de solubilidade, determinação do pH, determinação de umidade, determinação de contaminação microbiológica e determinação da atividade enzimática. Os resultados mostraram que todas as amostras testadas (100%) passaram nos testes organolépticos, solubilidade, pH, umidade e contaminantes microbiológicos. Três delas (75%) passaram na avaliação da atividade enzimática. Além disso, observou-se que há grande variabilidade da atividade enzimática entre as amostras testadas (458%), mostrando que a papaína disponível no mercado merece análise criteriosa. Este fato pode levar a alterações em relação aos resultados do uso de formulações que incluem esse insumo no que se refere à segurança de uso e eficácia terapêutica.

Palavras-chave: Insumos Farmacêuticos, Controle de Qualidade, Quimopapaína.

Comparative study to evaluate the quality of Papain sold by suppliers of pharmaceutical raw materials located in the state of São Paulo

Abstract

Papain is a raw material of plant origin, used in the production of medicines because of their healing and enzymatic wound debridement actions. However, the quality of raw material is questionable. In this sense, this study aims to evaluate the quality of the available papain in the pharmaceutical market of São Paulo state. We used physical-chemical, microbiological and enzymatic parameters to estimate the quality of the samples. Four samples of papain were assessed by comparing it with standard and as described in the literature regarding the organoleptic properties (sensory), solubility tests, pH determination, humidity determination, determination of microbiological contamination and determination of enzyme activity. The results showed that all tested samples (100%) passed in the evaluation: sensory test, solubility, pH, humidity and microbiological contaminants.

Three of them (75%) passed the evaluation of enzyme activity. There is a great variability of enzyme activity among the tested samples (458%) showing that papain available on the market deserves careful analysis. This may lead to changes regarded to the results of use of compositions that include this input in relation to safe use and therapeutic efficacy.

Keywords: Pharmaceutical Raw Material, Quality Control, Chymopapain.

Estudio comparativo de evaluación de la calidad de muestras de Papaína comercializada por empresas de proveedores de insumos farmacéuticos del estado de São Paulo

Resumen

La papaína es un insumo de origen vegetal, utilizado en la producción de medicamentos debido a su acción cicatrizante y desbridamiento de heridas. Sin embargo, la calidad de esa materia prima es cuestionable. En este sentido, este estudio tuvo como objetivo evaluar ese aspecto en la papaína disponible en el mercado farmacéutico del estado de São Paulo. Esto se logró analizando las muestras de diversos proveedores a través de características físico-químicas, microbiológicas y enzimáticas. Cuatro muestras de papaína fueron evaluadas, se comparando con el estándar y como se describe en la literatura, acerca de las propiedades organolépticas (sensoriales), pruebas de solubilidad, determinación del pH, determinación de humedad, determinación de la contaminación microbiológica y determinación de la actividad enzimática. Los resultados mostraron que todas las muestras analizadas (100%) pasaron en los exámenes organolépticos, solubilidad, pH, humedad y contaminantes microbiológicos. Tres de ellos (75%) pasaron la evaluación enzimática. Además, se observó que hay una gran variabilidad en la actividad enzimática entre las muestras analizadas (458%), que muestran que la papaína disponible en el mercado merece un análisis cuidadosa. Esto puede conducir a cambios en relación con los resultados de uso de formulaciones que incluyen esta materia prima, en relación con el uso de la seguridad y la eficacia terapéutica.

Palabras clave: Insumos Farmacéuticos, control de calidad, Quimopapaína.

1. INTRODUÇÃO

A papaína é uma endopeptidase capaz de catalisar a hidrólise de ligações peptídicas de seu substrato, produzindo compostos mais simples como misturas de peptídeos e aminoácidos. Ela é obtida do látex do mamoeiro (*Caricacapaya L.*), principalmente de seus frutos verdes e é utilizada em vários setores como, por exemplo, na indústria alimentícia, para amaciamento de carnes, clarificação de cerveja, entre outros⁽¹⁾; na indústria cosmética, compõe preparações esfoliantes e atua como agente depilatório⁽²⁾; na indústria farmacêutica ela é usada em produtos digestivos, para a remoção química da cárie dentária⁽³⁾ e, principalmente, para uso tópico, causando o desbridamento de ferimentos, quando utilizada em concentrações mais elevadas (10% p/p), assim como na cicatrização de lesões na pele, quando utilizada em menores concentrações (2% p/p a 4% p/p)⁽⁴⁾.

Sendo assim, essa enzima é uma matéria-prima bastante utilizada na área farmacêutica (indústrias e farmácias de manipulação) para compor suas formulações. Apesar de haver vários fornecedores no mercado, muitas vezes há dúvidas quanto à qualidade da papaína disponível. O comércio de insumos farmacêuticos no Brasil é um setor onde há necessidade de ser monitorado permanentemente, por isso é importante que responsáveis técnicos de indústrias farmacêuticas e farmácias de

manipulação façam qualificação dos fornecedores. Isso ocorre porque há possibilidade de oferta no mercado de insumos que não atendam aos quesitos mínimos de qualidade estipulados para legislação.

Desse modo, é fundamental que o laudo emitido pelo fornecedor não seja o único documento utilizado para ratificar o uso desses insumos⁽⁵⁾. Há necessidade de padronização de técnicas analíticas e os resultados desses testes, comparados com aqueles constantes no laudo do fornecedor e da literatura técnica especializada. Assim, pode-se chegar a uma conclusão a respeito da viabilidade da utilização ou reprovação da matéria-prima⁽⁶⁾.

Neste caso, além da avaliação dos laudos de qualidade expedidos pelos fornecedores, as indústrias farmacêuticas e farmácias de manipulação devem investigar a identidade do insumo e a presença de adulterantes. Isto é realizado por meio de ensaios para determinação de características físico-químicas e análises microbiológicas, tendo como parâmetros informações técnicas sobre a matéria-prima obtidas a partir de farmacopeias e publicações especializadas⁽⁷⁾. Ainda no caso específico da papaína, é também necessária a avaliação da atividade enzimática, fundamental para a ação terapêutica dos medicamentos produzidos com ela.

Essa atividade está ligada diretamente à integralidade da estrutura proteica que reflete, entre outros fatores, as condições de embalagem e armazenamento que este insumo foi submetido (tipo de embalagem, temperatura de estoque, umidade relativa, entre outros)⁽⁸⁾. Também em relação à papaína, é possível encontrá-la com atividades enzimáticas diversas, dependendo da diluição proporcionada pela adição de adjuvantes (normalmente a lactose) à papaína pura.

Na quinta edição da Farmacopeia Brasileira e também nas anteriores não consta monografia deste insumo, mas a padronização para a atividade enzimática para fins farmacêuticos é de ter não menos que seis mil unidades USP/mg. Segundo a *United States Pharmacopeia*, a padronização citada é a atividade de 1 mg da enzima capaz de liberar o equivalente a 6000 µg de tirosina a partir do substrato (caseína), sob condições padronizadas do ensaio⁽⁹⁾. Também é comum a apresentação deste tipo de especificação em outras unidades de atividade enzimática, como por exemplo, em WPA (*Wallerstein Proteolytic Activity*)⁽¹⁰⁾, entre outras. Sendo assim, observa-se a possibilidade de haver, disponível no mercado, papaína com requisitos de qualidade variável para ser utilizada em formulações farmacêuticas, ou ainda possuindo distintas atividades enzimáticas. Esse tipo de insumo pode ser utilizado de forma indiscriminada e equivocadamente para as indicações terapêuticas citadas se não houver um controle rígido de qualidade realizado pelos fornecedores, indústrias farmacêuticas e farmácias de manipulação. Mesmo assim, observa-se na literatura científica a carência de pesquisas envolvendo esse tema. Deste modo, o objetivo desse trabalho foi avaliar a qualidade da papaína disponível no mercado farmacêutico. Isso foi realizado analisando comparativamente amostras de papaína por meio de características físico-químicas, microbiológicas e enzimáticas.

2. MÉTODOS

Para o desenvolvimento do estudo analítico qualitativo comparativo da papaína disponível no mercado farmacêutico, os testes realizados foram avaliação organoléptica (sensorial), testes de solubilidade, determinação do pH, determinação de umidade, determinação de contaminação microbiológica e determinação da atividade enzimática.

2.1 Coleta de amostras

As amostras avaliadas foram adquiridas de diversos fornecedores do estado de São Paulo que são distribuidores nacionais. Nos pedidos enviados a seis fornecedores houve a solicitação de aquisição de "papaína - grau farmacopêico com 6000U/mg". Dois dos fornecedores retornaram informação de que não disponham do insumo em estoque e os demais enviaram o material

solicitado, resultando em quatro amostras de papaína a serem analisadas. Aquisição também foi feita para papaína 6000 USP-U mg (Merck Millipore), utilizada como padrão para comparação de resultados com as amostras testadas.

2.2 Avaliação organoléptica (sensorial)

Esta avaliação foi realizada conforme descrita por Cardoso⁽¹¹⁾ e confrontando os resultados com as informações descritivas para papaína contidas no The Merck Index⁽¹²⁾, além da comparação com o padrão de papaína. Foram avaliados o aspecto, cor e odor.

2.3 Testes de solubilidade

Os roteiros de análise para testes de solubilidade realizados para as amostras e padrão foram aqueles descritos por Cardoso⁽¹¹⁾ e Farmacopeia Brasileira⁽¹³⁾. Como solventes foram utilizados a água, o etanol e o clorofórmio. Informações sobre a solubilidade da papaína foram coletadas no The Merck Index⁽¹²⁾. Os testes foram realizados em triplicata.

2.4 Determinação do pH

A conduta utilizada para determinação do pH das amostras e do padrão foi aquela descrita na Farmacopeia Brasileira⁽¹³⁾. Os resultados foram comparados com dados contidos na monografia da papaína na USP 27⁽⁹⁾. Os testes foram realizados com soluções aquosas de papaína a 2% (p/v), em triplicata e as médias foram utilizadas para apresentação dos resultados.

2.5 Determinação de umidade

O teor de umidade das amostras e do padrão foi determinado de acordo com método descrito na Farmacopeia Brasileira⁽¹³⁾. No entanto, para que os resultados fossem comparáveis com aqueles descritos na literatura⁽⁹⁾, o tempo de aquecimento em estufa foi somente quatro horas. Os testes foram realizados em triplicata e as médias foram utilizadas para apresentação dos resultados.

2.6 Determinação da contaminação microbiológica

As técnicas realizadas visaram à contagem de microrganismos viáveis e envolveram o uso dos meios de cultura TSA (avaliação do crescimento de bactérias) e Sabouraud (avaliação do crescimento de fungos), assim como o possível isolamento de coliformes totais e fecais, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* em meios de cultura MacConkey, Cetrimida e Vogel-Johnson^(13,14,15). As amostras de papaína foram diluídas na proporção de 1:10; 1:100 e 1:1000 antes da semeadura nos meios de cultura. Outras provas bioquímicas foram dispensadas, pois o foco da análise foi para a utilização da papaína em bases galênicas para uso tópico. Os testes foram realizados em triplicata e as médias foram utilizadas para apresentação dos resultados.

2.7 Determinação da atividade enzimática

Para determinação da atividade enzimática das amostras e do padrão foi empregada a metodologia descrita por Andrade-Mahecha et al.⁽¹⁶⁾. Ela se baseia na taxa de hidrólise de um substrato de natureza proteica, como por exemplo, o leite. A escolha dessa metodologia foi feita pelo fato de que é um método reprodutível, rápido e de fácil execução. A técnica desenvolvida consistiu em adicionar 1 g da amostra em 10 g de solução de ácido acético (0,01% p/p) e posteriormente adicioná-los a uma solução de 10 ml do leite (2,5 g do leite em pó desnatado em 100 g de água), a qual foi previamente aquecida em banho de

água na temperatura de 50°C. O conteúdo do tubo foi agitado até o primeiro sinal de formação de coágulos. O tempo que decorreu na formação do coágulo foi empregado para calcular a atividade enzimática, que foi expressa em unidade de potência de coagulação do leite por grama de látex (Upe – unidade de potência enzimática):

$$\text{Upe} = 1000 \times (\text{E} \times \text{t})^{-1}$$

Onde:

E: miligramas de amostra usados para precipitar 10 ml do substrato (leite desnatado) no tempo t(min)⁽¹⁶⁾.

Os testes foram realizados em triplicata para cada amostra e a média utilizada para fins de apresentação e comparação dos resultados.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No desenvolvimento deste trabalho foram utilizadas amostras de papaína obtidas de quatro distribuidores distintos de insumos farmacêuticos do estado de São Paulo (I, II, III e IV), as quais foram comparadas com um padrão com atividade de 6000U/mg (grau farmacopêico – Merck Millipore) e com as especificações descritas na literatura para esse insumo. Essas matérias-primas e o padrão foram avaliados quanto às características organolépticas (sensoriais), solubilidade, pH, teor de umidade, contaminação microbiológica e atividade enzimática. Os resultados dessas avaliações estão apresentados na tabela 1.

Tabela 1: Resultados das avaliações das amostras comerciais de papaína.

Amostras/ Avaliações	I	II	III	IV	Padrão
Aspecto	Amorfo	Amorfo	Amorfo	Amorfo	Amorfo
Coloração	Bege claro	Bege claro	Bege claro	Bege claro	Bege claro
Odor	Característico	Característico	Característico	Característico	Característico
Sol. em água	Solúvel	Solúvel	Solúvel	Solúvel	Solúvel
Sol. em etanol	Insolúvel	Insolúvel	Insolúvel	Insolúvel	Insolúvel
Sol. em CHCl ₃	Insolúvel	Insolúvel	Insolúvel	Insolúvel	Insolúvel
pH	5,33(±0,01)	5,61(±0,01)	5,43(±0,01)	5,20(±0,01)	5,18(±0,01)
Umidade (%p/p)	2,75(±0,35)	1,25(±0,35)	0,50(±0,00)	1,00(±0,00)	3,50(±0,00)
Ativ. enzimática (Upe)	118,1(±2,7)	25,8(±1,3)	69,2(±3,8)	84,2(±2,7)	69,5(±2,7)
Contagem de microrganismos mesofílicos viáveis totais, coliformes totais e fecais, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e <i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/g)					
TSA (dil. 1:10)	40	10	60	10	<10
Sabouraud (dil. 1:10)	10	<10	<10	<10	<10
MacConkey (dil. 1:10)	0	0	0	0	0
Cetrimida (dil. 1:10)	0	0	0	0	0
Vogel-Johnson (dil. 1:10)	0	0	0	0	0

Sol. = solubilidade; dil. = diluição da amostra avaliada; Os valores entre parênteses se referem ao desvio padrão.

Os resultados das análises organolépticas (sensoriais) para todas as amostras avaliadas (100%) correspondem às características descritas na literatura e são semelhantes ao padrão utilizado. Todas as amostras apresentaram aspecto amorfo, coloração bege claro e com odor característico⁽¹²⁾. Também para todas as amostras (100%), os testes de solubilidade tiveram resultados semelhantes, conforme descrito na literatura e semelhantes ao desempenho do padrão. As amostras se mostraram solúveis em água e insolúveis em etanol e clorofórmio⁽¹²⁾. A análise do pH das soluções das amostras foram comparadas tendo como base a informação disponibilizada na USP 27⁽⁹⁾, onde a variação de pH aceita para papaína, usando para teste uma solução a 2% (p/v), é de 4,6 a 6,2. Observou-se que, para todas as amostras (100%), incluindo o padrão, os valores obtidos estavam dentro dos limites estipulados como normais. Todos esses resultados reforçam a identificação das amostras e descartam a hipótese de falsificação, assim como sua decomposição ou adulteração por substâncias que poderiam alterar o pH da solução analisada.

Com relação ao teor de umidade, todas as amostras (100%) apresentaram resultados dentro dos valores de referência descrito na USP 27⁽⁹⁾ que aceita um teor de umidade perdida em até 7,0%(p/p) em 4 horas de aquecimento à 60°C. Deste modo, os resultados dessas análises mostraram que as amostras não possuem valores de umidade elevados, fato que poderia prejudicar a estabilidade e conseqüentemente a atividade desse insumo durante sua armazenagem.

Na avaliação microbiológica das amostras de papaína foi utilizado o meio de cultura TSA, para contagem bacteriana e o meio de cultura Sabouraud, para contagem fúngica. As placas apresentaram baixo crescimento de colônias, não ultrapassando limites permitidos pela Farmacopeia Brasileira⁽¹³⁾, os quais determinam limites máximos de contagem total de bactérias aeróbias de 10³ UFC/g e contagem total de fungos e leveduras de 10² UFC/g para substâncias de uso farmacêutico em bases galênicas. Nesses meios de cultura, utilizando as amostras com diluição de 1:100 e 1:1000, não houve qualquer crescimento microbiano ou fúngico. O crescimento de coliformes totais e fecais, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*, respectivamente, nos ágar MacConkey, Cetrimida e Vogel-Johnson foi negativo. Esses resultados também respeitam os limites aceitos pela Farmacopeia Brasileira⁽¹³⁾ que estabelece ausência desses microrganismos nesses insumos. Desse modo, todas as amostras avaliadas (100%) estão dentro dos limites microbianos estabelecidos pela legislação vigente. Em comparação, Andrade et al.⁽¹⁷⁾ avaliaram, por meio de análises microbiológicas, uma série de matérias-primas de farmácias de manipulação de Goiânia, incluindo insumos de origem vegetal e concluíram que somente 86,3% das amostras analisadas se encontravam em conformidade com os padrões estabelecidos.

A atividade enzimática é uma característica que varia em função de diversos fatores, como por exemplo, temperatura onde se realiza a catálise, concentração da enzima usada na reação, entre outras. Na avaliação dessa atividade, se alguns desses parâmetros forem padronizados e mantidos inalterados durante a realização dos ensaios, pode-se evidenciar características específicas da amostra testada, como o seu potencial para desempenhar a ação catalítica⁽¹⁸⁾. É fato que a papaína disponível no comércio farmacêutico teria que seguir uma padronização em relação a este quesito. Conforme descrito na USP 27⁽⁹⁾, o grau farmacopêico preconizado para este insumo é de possuir, no mínimo, atividade enzimática de 6000U/mg, baseada na realização de ensaio para detectar a potência digestiva da caseína. No entanto, devido à técnica de análise descrita nesse compêndio ser muito dispendiosa em relação aos reagentes e ao tempo de execução, optou-se por utilizar papaína padrão (Merck Millipore) com essas características de atividade enzimática e comparar os resultados através de uma técnica reprodutível, simples e rápida (Tempo de Coagulação do Leite). Deste modo, observou-se para esse quesito, que há grande variabilidade da atividade enzimática entre as amostras testadas (458%). Sendo assim, ficaram evidentes problemas de padronização desse insumo disponível no mercado. Somente uma das amostras (III) apresentou resultado coincidente com o padrão (em torno de 70 Upe). Duas outras amostras (I e IV) resultaram em valores de atividade enzimática superiores ao padrão (118 e 84 Upe, respectivamente). Esses insumos poderão ser utilizados em formulações farmacêuticas, desde que haja um controle da massa usada com a finalidade

de adequar a atividade enzimática na preparação. A amostra llexibiu atividade enzimática muito inferior ao padrão (em torno de 26 Upe). Neste caso, por estar abaixo do limite mínimo estabelecido, essa amostra não passa nesse teste, sendo inviável sua utilização na área farmacêutica. Portanto, é de 75% a porcentagem de aprovação das amostras de papaína testadas. Em comparação, Engel et al.⁽¹⁹⁾ reprovaram todas as amostras testadas em análises sensoriais, botânicas e físico-químicas realizadas com matérias-primas de origem vegetal obtidas de farmácias de manipulação de municípios catarinenses, evidenciando também grande variabilidade para esse tipo de insumo.

4. CONCLUSÃO

Com base nos resultados das análises realizadas conclui-se que, apesar das amostras não apresentarem problemas relacionados com sua identificação, umidade e contaminação microbiológica, a papaína disponível no mercado merece análise criteriosa, principalmente em relação à atividade enzimática, já que há variabilidade em relação a esse requisito. Este fato pode levar a alterações em relação aos resultados do uso de formulações que incluem esse insumo, no que se refere à segurança de uso e eficácia terapêutica.

5. REFERÊNCIAS

1. Benucci EP, Esti M, Liburdi K. *Effect of wine inhibitors on the proteolytic activity of papain from Carica papaya L. latex*. Biotechnol. Prog. 2015; 31(1):48-54.
2. Santos EP. *Enzimas em cosmetologia*. Cosmetic & Toiletries (edição em português). 2011;13:66-71.
3. Agarwal RM, Yeluri R, Singh C, Munshi AK. *Enamel de proteinization using papacarie and 10% papain gel on shear bond strength of orthodontic brackets before and after acid etching*. J. Clin. Pediatr. Dent. 2015;39(4):348-357.
4. Ribeiro AP, Oliveira BG, Soares MF, Barreto BM, Futuro DO, Castilho SR. *Effectiveness of 2% and 4% papain gels in the healing of venous ulcers*. Rev. Esc. Enferm. USP. 2015; 49(3):394-400.
5. Borella JC, Teixeira JCL. *Avaliação comparativa de certificados de análises de empresas que comercializam tintura de Calendula officinalis L. (Asteraceae)*. Visão Acadêmica. 2013;14(3):26-35.
6. Almeida MLC, Nascimento Filho AP. *Análise das cápsulas manipuladas segundo a RDC 67/2007 da ANVISA/MS para a garantia da qualidade*. Rev. Bras. Farm.2010;91(3):119-125.
7. Bonfilio R, Emerick GL, Netto Jr. A, Salgado HRN. *Farmácia magistral: sua importância e seu perfil de qualidade*. Revista Baiana de Saúde Pública. 2010; 34(3):653-664.
8. Degrazio D. *Adapting to biology: maintaining container-closure system compatibility with the therapeutic biologic revolution*. Pharm. Sci. Technol.2015; 69(2):219-235.
9. United States Pharmacopeia: USP 27: The National Formulary: NF 22. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 2003.
10. Travessa E, Machado-Santelli GM, Velasco MVR. *Histological evaluation of hair follicle due to papain's depilatory effect*. International Journal of Pharmaceutics. 2007;335(1-2):163-166.

11. Cardoso CMZ. *Manual de controle de qualidade de matérias-primas vegetais para farmácia magistral*. São Paulo: Pharmabooks; 2009.
 12. Ash JE, Budavari S, O'Neill M, Smith A, Heckelman PE, Kinneary J. The Merck Index. 12^a ed. Chapman and Hall. p. 1205. 1996.
 13. Farmacopeia Brasileira. 5a ed. Volume 1. 2010 *Agência Nacional de Vigilância Sanitária*. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/hotsite/cd_farmacopeia/index.htm. Acesso em 26 de junho de 2015.
 14. Bou-Chacra NA, Ohara MT. *Validação de método para avaliação da qualidade sanitária de preparação cosmética de base lipófila*. Braz. J. Pharm. Sci. 2003;39(2):185-194.
 15. Winn Jr. W, Allen SJW, Koneman E, Procop G, Schreckenberger P, Woods G. Koneman - *Diagnóstico microbiológico*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2008.
 16. Andrade-Mahecha MM, Morales-Rodriguez O, Martinez-Correa HA. *Estudo do processo de extração de papaína a partir do látex do fruto de mamão (Caricapapaya L.) cv. Maradol*. Acta Agronômica. 2011;60:219-225.
 17. Andrade FRO, Souza AA, Arantes MCB, Paula JR, Bara MTF. *Análise microbiológica de matérias primas e formulações farmacêuticas magistrais*. Revista Eletrônica de Farmácia. 2005;2(2):38-44.
 18. Silva MR, Rodrigues DF, Lana FDC, Silva VDM, Morais HA, Silvestre MPC. *Perfil peptídico de hidrolisados enzimáticos do concentrado proteico do soro de leite, obtidos pela ação da pancreatina e da papaína*. Nutrire. 2010;35:97-114.
 19. Engel IC, Ferreira RA, Cechinel-Filho V, Meyre-Silva C. *Quality control of drugs with Bauhinia forficata Link (Fabaceae)*. Rev. Bras. Farmacogn. 2008;18(2):258-264.
-