

Características químicas e citotoxicidade da pectina de camu-camu [*Myrciaria dubia* (H.B.K.) Mcvaugh]

*Chemical characteristics and cytotoxicity of camu-camu pectin [*Myrciaria dubia* (H.B.K.) Mcvaugh]*

BRUNO FIRMEZA VIANA¹ [LATTES] LYARA BARBOSA NOGUEIRA FREITAS² [LATTES]
 ANA CAROLINA BARBOSA RIBEIRO³ [LATTES] LUZIA KALYNE ALMEIDA MOREIRA LEAL² [LATTES]
 ARCELINA PACHECO CUNHA³ [LATTES] NÁGILA MARIA PONTES SILVA RICARDO³ [LATTES]
 DERLANGE BELIZÁRIO DINIZ¹ [LATTES]

CORRESPONDÊNCIA PARA:
 derlange.diniz@uece.br

DOI: 10.59171/nutrivisa-2020v7e13741

¹ Laboratório de Segurança Alimentar e Nutricional, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual do Ceará (UECE), Fortaleza, CE.

² Laboratório de Farmacognosia, Departamento de Farmácia, Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza, CE.

³ Laboratório de Polímeros e Inovações de Materiais, Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza, CE.

RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi caracterizar a estrutura química e toxicidade da pectina do camu-camu (*Myrciaria dubia* H. B. K. (McVough)). Sua estrutura química foi analisada por espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FT-IR), ressonância magnética nuclear de hidrogênio e de carbono (RMN 1H e RMN 13C), análise elementar (AE), calorimetria exploratória de varredura (DSC) e análise termogravimétrica (TGA/DTG), assim como ensaio de toxicidade em neutrófilos humanos. Identificou-se grupos hidroxila, α -D-galacturônico, β -D-galactopiranosil, Arabinose, L-Ramnose metilada, grupos CH₂, grupos carboxílicos metil esterificados e livres, grupos acetila, grupos carboxilatos e anel piranosídico, assim como grau de metoxilação entre 40,8 e 44,7 %. AE indicou presença de sódio e nitrogênio a 1,88%, e a degradação ocorreu acima de 240°C. Não houve toxicidade da pectina em neutrófilos. Concluiu-se que a pectina do camu-camu apresentou baixo grau de metoxilação e ausência de toxicidade aos neutrófilos, possibilitando o seu uso biotecnológico.

Palavras-chave: Pectina. *Myrciaria dubia*. Espectroscopia de Ressonância Magnética. Espectrofotometria Infravermelho. Testes de toxicidade.

ABSTRACT

The aim of this study was to characterize the chemical structure and toxicity of pectin from camu-camu (*Myrciaria dubia* H. B. K. (McVough)). Its chemical structure was analyzed by absorption spectroscopy in the infrared region (FT-IR), hydrogen and carbon nuclear magnetic resonance (1H NMR and 13C NMR), elemental analysis (EA), exploratory scanning calorimetry (DSC) and thermogravimetric analysis (TGA/DTG), as well as toxicity assay in human neutrophils. Hydroxyl groups, α -D-galacturonic, β -D-galactopyranosyl, Arabinose, methylated L-rhamnose, CH₂ groups, esterified and free methyl carboxylic groups, acetyl groups, carboxylate groups and pyranoside ring, as well as a degree of methoxylation between 40.8 and 44.7%, were identified. EA indicated the presence of sodium and nitrogen at 1.88%, and degradation occurred above 240°C. There was no toxicity of pectin in neutrophils. It was concluded that camu-camu pectin presented a low degree of methoxylation and absence of toxicity to neutrophils, enabling its biotechnological use.

Keywords: Neoplasms. Pectins. *Myrciaria dubia*. Toxicity tests. Microbial Sensitivity Tests.

INTRODUÇÃO

Os polissacarídeos naturais são de especial interesse para algumas áreas, como os setores alimentício e farmacêutico. É possível perceber que nas últimas décadas, houve um crescente interesse na utilização desses compostos bioativos, para várias novas aplicações devido a diversas características, como biocompatibilidade, biodegradabilidade e atividades terapêuticas (LIU; WILLFÖR; XU, 2015; PICCIRILLO; AMARAL, 2018).

Destaca-se, entre os diversos compostos investigados, o papel das substâncias pécticas ou pectina, que são as denominações para um grupo de polissacarídeos localizados nas paredes celulares das plantas (VORAGEN *et al.*, 2009). Embora seja mais identificada pelo seu emprego como espessante e agente gelificante, colabora na dieta dos seres humanos como fibra solúvel, a qual se atribuem alegações de benefício à saúde (MAXWELL *et al.*, 2012), tais como redução da ascensão da glicemia pósprandial, auxiliar na manutenção de níveis normais de colesterol sérico (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY, 2010), efeito antinefrótico, antiúlceroativo, antimetastático, imunoestimulante (YAMADA, 1996), bem como contribuir na indução de apoptose de células tumorais, sendo importante no combate ao câncer colorretal (OLANO-MARTIN *et al.*, 2003).

As principais fontes de pectina extraída são as cascas de frutas cítricas e a polpa da maçã, ao passo que outras fontes possivelmente valiosas continuam sendo investigadas (CANTERI *et al.*, 2012; KHAMSUCHARIT *et al.*, 2017; LEÃO *et al.*, 2019; NGUYEN *et al.*, 2019).

O camu-camu (MYRCIARIA DUBIA H.B.K. (MCVOUGH) é uma pequena árvore ou arbusto da família Myrtaceae, disseminada em margens de rios, várzeas e igapós de praticamente toda a Amazônia (INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA, 2015). Apresenta boas características nutricionais, tecnológicas e agrônômicas, embora pouco consumido in natura devido ao amargor de sua casca e elevada acidez, sendo mais utilizado para a produção de licores, geleias, néctares e sucos (FUJITA *et al.*, 2013), além do interesse da indústria de cosméticos (INOUE *et al.*, 2008) devido ao seu conteúdo de flavonoides, antocianinas e, em destaque, o elevado conteúdo de Vitamina C (2606mg/ 100g de fruto), que é superior ao identificado na maioria das plantas fontes da referida vitamina (NASCIMENTO *et al.*, 2013).

Mais de trinta diferentes compostos fenólicos foram identificados no fruto, dentre eles flavanóis (catequinas e seus derivados) e ácido elágico (grupos de maior representatividade), bem como, antocianinas (delfinidina 3-glicosídeo e cianidina 3-glicosídeo), flavonóis (rutina e seus derivados) e flavanonas (naringenina e derivados de eriodictiol), bem como quantidades consideráveis de taninos hidrolisados (galo e/ ou elagitaninos) (CHIRINOS *et al.*, 2010).

Além do mais, vários estudos já vem revelando benefícios do camu-camu, como a grande quantidade de ácido ascórbico, polifenóis e antocianinas, assim como propriedades anti-inflamatória, antiobesidade, antidiabética, antilipêmico, hipoglicemiante, hipoinsulinemiante, antígenotóxico e atividade antimicrobiana (Justi *et al.*, 2000; Inoue *et al.*, 2008; Chirinos *et al.*, 2010; Viera *et al.*, 2010; Villanueva-Tiburcio; Condezo-Hoyos; Asquiere, 2010; Yazawa *et al.*, 2011; Akter *et al.*, 2011; Nascimento *et al.*, 2013; Azevêdo *et al.*, 2014; Fujita *et al.*, 2015; Langley *et al.*, 2015). Embora o camu-camu seja um fruto com grande potencial terapêutico, são poucos os estudos in vivo e sua pectina ainda não foi estudada (LANGLEY *et al.* 2015).

Diante dos fatos demonstrados e considerando que o camu-camu apresenta pectina em sua estrutura, com um possível potencial biológico e nutricional, este estudo teve como objetivo identificar os componentes estruturais e investigar a citotoxicidade da pectina do camu-camu [*Myrciaria dubia* (H. B. K.) McVaugh] em cultura primária de neutrófilos humanos.

MATERIAL E MÉTODOS

Os frutos in natura do camu-camu foram adquiridos no comércio local do município de Manaus – AM e transportados congelados para o Laboratório de Segurança Alimentar e Nutricional do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Estadual do Ceará.

Após descongelamento da amostra (cerca de 550g), as sementes foram separadas manualmente das polpas com casca, que por sua vez foram homogeneizadas e então acondicionadas em tubos de Falcon, em um volume aproximado de 45g de polpa homogeneizada por tubo. Em seguida, as amostras foram liofilizadas e então pesadas para proceder a extração e purificação da pectina.

Extração e purificação da pectina

A obtenção da pectina do camu-camu foi realizada conforme Koubala *et al.* (2008), com algumas modificações, em sete etapas conforme Quadro 1.

janela espectral de 20 ppm (1H) e 200 ppm (13C). Preparou-se uma solução da amostra de pectina do camu-camu na concentração de 27mg.0,6 mL⁻¹ em D2O (99,8%) permanecendo em repouso por 24 horas para completa solubilização. A análise foi realizada em

Quadro 1 – Procedimento de obtenção da pectina do camu-camu.

ETAPA	PROCEDIMENTO
1	Em um béquer de 2L, para cada 1g de amostra liofilizada foram adicionados 40 mL de oxalato de amônia 0,25%. O pH dessa solução foi ajustado para 4,6 e a extração feita a 80°C, por 1h30, em placa aquecedora sob agitação. Em seguida, ocorreu a filtração à vácuo, em que o material filtrado, foi ajustado o pH para 7,0 com solução de ácido oxálico 2%. Essa etapa se repetiu três vezes.
2	A solução obtida na Etapa 1 foi concentrada a ¼ do seu volume em rotaevaporador, a 60°C e na velocidade 3.
3	Ao concentrado adicionou-se etanol, na proporção 3:1 (etanol: solução) para precipitar a pectina, em geladeira, por 24h.
4	A solução foi centrifugada a 7500 RPM/10min.
5	O líquido sobrenadante foi descartado e ao sólido se adicionou 4,5 litros de água deionizada para ser ressolubilizado, a 40°C, por 4 horas (as etapas 2, 3, 4 e 5 foram repetidas três vezes).
6	A solução obtida após as três repetições foi dialisada por cinco dias, utilizando membranas de microporos com limite de exclusão de 25KDa, submersas em água destilada, e trocada duas vezes ao dia.
7	Ao final da diálise, a pectina obtida foi liofilizada e disponibilizada para os ensaios seguintes.

Análise da estrutura química do camu-camu

Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FT-IR)

Para obter o espectro da amostra, a pectina do camu-camu foi triturada em um almofariz de ágata e prensada em pastilhas de KBr sob pressão de 8 toneladas para composição da pastilha. O espectro foi registrado no intervalo de 4000 a 400 cm⁻¹ em uma resolução de 4 cm⁻¹. A análise foi realizada em um equipamento Perkin Elmer, modelo 16 PC, na Universidade Federal do Ceará.

Ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN 1H) e carbono (RMN 13C)

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de Próton (RMN 1H) e de Carbono (RMN 13C) foram obtidos num equipamento Bruker Avance-DRX 500 (USA, CALIFÓRNIA), com transformada de Fourier, equipado com uma sonda de detecção inversa, operando em 499.9 MHz (1H) e 125 MHz (13C), numa

tubos de 5 mm, sob aquecimento de 80 °C, com sinal da água residual em 4,2 ppm e os deslocamentos químicos (δ) expressos em ppm.

Análise elementar (AE)

A determinação dos elementos químicos (C, H, N, S, Na, Ca) presentes na pectina estudada foi por meio de análise elementar, realizada na Universidade de Manchester, Inglaterra, utilizando o equipamento FLASH 2000 Series CHNS Automatic Elemental Analyzer. Para corroborar a eficiência do processo de purificação, realizou-se também a análise de nitrogênio. Para calcular o teor de nitrogênio protéico na cadeia polimérica foi utilizado um fator de correção (BARROS et al., 2013). Para o cálculo de proteína, utilizou-se a fórmula % Proteína = %N x 6,25

Calorimetria exploratória de varredura (DSC)

As curvas DSC foram obtidas na faixa de temperatura entre 0°C e 550 °C, em célula calorimétrica, sob atmosfera dinâmica de Nitrogênio (50 mL.min⁻¹).

A célula DSC foi calibrada antes dos ensaios no eixo de temperatura, utilizando padrão de índio ($T_{\text{fusão}} = 156,6\text{ }^{\circ}\text{C}$) metálico com pureza de 99,99%. Utilizou-se cápsulas de alumínio fechadas contendo aproximadamente 3 mg de amostra e 10 mg de Alumina ($\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$) como referência. O aquecimento foi realizado em uma taxa de $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ e o equipamento utilizado foi um DSC 50 da Shimadzu (JAPÃO, KYOTO).

Análise termogravimétrica (TGA/DTG)

As curvas TGA foram obtidas em um analisador termogravimétrico DTG – 600 Hz (SHIMADZU, JAPÃO, KYOTO). As medidas foram efetuadas usando suporte de amostra de platina, massa de amostra em torno de 5 mg, razão de aquecimento de $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, num intervalo de temperatura de 12 à $800\text{ }^{\circ}\text{C}$, em atmosfera dinâmica de nitrogênio, na vazão de $30\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$.

Ensaio de toxicidade em neutrófilos humanos

O ensaio de citotoxicidade da pectina em tela foi realizado em modelo experimental sobre a membrana plasmática de neutrófilos. O ensaio foi executado no Laboratório de Farmacognosia e Tecnologia Farmacêutica do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal do Ceará (UFC). Como fonte de obtenção de neutrófilos, foi utilizado sangue humano de doadores saudáveis cedido pelo Centro de Hemoterapia e Hematologia do Ceará – HEMOCE.

Isolamento dos neutrófilos

Para obtenção do isolado de neutrófilos foi utilizada a técnica descrita por Henson (1971) e modificada por Lucisano e Mantovani (1984). O sangue foi centrifugado (Centrifuga Universal 320R, Hettich Inc.) juntamente com Alserver (anticoagulante), na proporção de 1-1 v/v em tubos Falcon a 1250 G, por 10 minutos a 25°C . O plasma e a camada branca (composta principalmente por monócitos) foram desprezados com pipeta de Pasteur. Uma solução de gelatina [0,25% em salina (p/v)] foi adicionada (o dobro do volume do sangue) para gerar uma separação entre neutrófilos e demais componentes sanguíneos. Após, o sangue foi incubado em estufa a 37°C por 15 minutos. Em seguida, o sobrenadante foi retirado, transferido para outro tubo, adicionado salina (0,9%) na proporção de 1-1 v/v e centrifugado a 800 g, por

10 minutos a 25°C . Formou-se um pellet de células (precipitado). O sobrenadante foi descartado, o pellet ressuspensão com solução salina (3mL em cada tubo, totalizando 9mL), completado com NH_4Cl 0,83% (com pH 7,2 a 37°C) e deixado incubando em estufa a 37°C por 5 minutos. Depois, foi centrifugado a 800 G, por 10 minutos a 25°C , retirado o sobrenadante, ressuspensão com solução salina (até completar 10mL em cada tubo) e centrifugado novamente a 800 g, por 10 minutos a 25°C . Em seguida, foi retirado o sobrenadante, ressuspensão com Hank's gel [meio nutritivo para as células (3mL com pH 7,4)] e centrifugado a 800 g, por 10 minutos a 25°C .

Após o isolamento, foi mensurado o número de neutrófilos adquiridos por meio de diluição em líquido de Türk e contabilizados em câmara de Neubauer.

Os neutrófilos utilizados foram mantidos em seu estado basal, procurando preservar, ao máximo, as mesmas características que in vivo no momento da coleta do material.

Contagem de células viáveis por líquido de Türk

O líquido de Türk é uma solução que cora levemente os leucócitos provocando seu evidenciamento para que seja possível sua contagem. Para tanto, foi inserido em um eppendorf e homogeneizado, $380\mu\text{L}$ do líquido de Türk (solução de ácido acético 2%) e $20\mu\text{L}$ do isolado de neutrófilos. Logo após, foi colocado $10\mu\text{L}$ da solução sobre a plataforma central da câmara de Neubauer até ocupar toda a área reticulada. As células foram contadas nos quatro quadrantes da câmara. Ao final, somou-se os valores encontrados e dividiu-se pelo número de quadrantes contados.

Teste de exclusão por Azul de Tripan

O Azul de Tripan é um corante ácido integrado somente por células não viáveis, graças a lesões na membrana plasmática; sua assimilação significa dano irreversível da membrana, antecedendo a morte celular (MINERVINI, FORNELLI, & FLYNN, 2004).

A viabilidade celular foi estabelecida, de maneira preliminar, por meio do ensaio de exclusão por Azul de Tripan a 0,1%, no qual, $100\mu\text{L}$ do isolado de neutrófilos (5×10^6 células/mL) foram inseridos a um eppendorf contendo o mesmo volume de uma solução do referido corante e, após 10 minutos em repouso, as células foram contadas em uma câmara

de Neubauer e analisados quanto à sua viabilidade, sendo determinada pela contagem de 200 neutrófilos em microscopia óptica comum.

A suspensão celular dos doadores foi avaliada, obtendo uma média de $90 \pm 2,52\%$ de viabilidade.

Atividade da Lactato Desidrogenase (LDH)

Neutrófilos de doadores ($2,5 \times 10^6$ células/mL) foram inseridos em placa de cultura celular de 96 poços e incubados a 37°C por 15 minutos na presença de Hank's (células não tratadas) ou Triton X-100 (0,2%-controle positivo) na proporção de $135\mu\text{L}$ de células + $15\mu\text{L}$ de água destilada [apenas o veículo (controle negativo) ou com concentrações da pectina ($1\mu\text{g/mL}$, $10\mu\text{g/mL}$, $25\mu\text{g/mL}$, $50\mu\text{g/mL}$ e $100\mu\text{g/mL}$)] ou Triton. Em seguida, as placas foram centrifugadas a 800g , por 10 minutos a 4°C , e os sobrenadantes transferidos para os poços de outra placa.

O ensaio, no qual utilizou-se o Kit LDH Liquiform (Labtest S.A.), consiste na medição do decaimento da absorvância em 340nm em consequência da oxidação do NADH, a qual é relativo à atividade da LDH na amostra. Alíquotas de $270\mu\text{L}$ de substrato (reagente de trabalho) + $30\mu\text{L}$ da amostra de sobrenadante foram inseridas para os poços de outra placa, homogeneizadas e executada a leitura da absorvância em 340nm nos tempos 1 e 3 minutos a 37°C , em espectrofotômetro (HTX Multi-Mode Microplate Reader, Synergy Inc.). A atividade da enzima LDH foi calculada seguindo-se as especificações do fabricante da seguinte maneira: $A = [(A1 - A2) / 2] \times 1587,3$

Onde:

A = atividade da enzima LDH na amostra em U/L;

A1 = absorvância inicial (1 minuto) em 340nm ;

A2 = absorvância final (3 minutos) em 340nm ;

$1587,3$ = fator de cálculo estipulado pelo fabricante para volume de amostra de $30\mu\text{L}$.

Análise estatística

A análise estatística foi realizada através dos programas GraphPad Prism 5.02 (EUA) e Excel 2013 (Microsoft, EUA), conforme apropriado. Todos os testes foram feitos em triplicata e os resultados expressos pela média \pm erro padrão da média (E.P.M.). Para verificar a normalidade dos dados, utilizou-se o teste de Kolmogorov-Smirnov e para comparar as médias entre os grupos foi feita a Análise de Variância (ANOVA

de uma via) seguida do pós-teste de comparação múltipla de Tukey, para a comparação entre os grupos. Para todas as análises, foi considerado $p < 0,05$ como significante.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a análise de infravermelho (Figura 1) foi possível observar uma banda larga e de forte intensidade em 3422cm^{-1} referente ao estiramento de grupos hidroxila (O-H), estando associada à presença de água no polissacarídeo, bem como às interações de hidrogênio inter e intramoleculares das unidades de ácido galacturônico (GNANASAMBANDAM, & PROCTOR, 2000); também apresentou em 2924cm^{-1} banda correspondente ao estiramento C-H de grupos CH_2 . As bandas vibracionais em 1745 e 1637cm^{-1} são atribuídas aos estiramentos de grupos carboxílicos metil esterificados (C=O) e aos grupos carboxilatos (COO^-), respectivamente. A banda em 1637cm^{-1} foi acompanhada pela banda em 1442cm^{-1} sendo correspondentes aos estiramentos assimétrico e simétrico do grupo carboxila, respectivamente. Bandas vibracionais atribuídas ao anel piranosídico foram encontradas em 1153 e 1022cm^{-1} , que corresponde a região denominada "impressão digital" de polissacarídeos (abaixo de 2000cm^{-1}).

As bandas por volta de 1750cm^{-1} (grupos de ésteres carboxílicos) e em torno de 1630cm^{-1} (ácidos carboxílicos desprotonados) são de especial interesse para as pectinas, pois podem ajudar a identificar graus de metoxilação que estão correlacionados com as referidas bandas espectrais (Figura 2). O cálculo baseia-se na medida da razão entre a área da banda de 1740cm^{-1} e a soma das áreas das bandas de 1740cm^{-1} e de $1630 - 1600\text{cm}^{-1}$.

Após os cálculos a partir do espectro de infravermelho, a pectina do camu-camu apresentou grau de metoxilação de $44,7\%$, sendo classificada como de baixa metoxilação ($\text{GM} < 50\%$) (BEAULIEU, TURGEON, & DOUBLIER, 2001).

No espectro de RMN ^1H da pectina do camu-camu (Figura 3), os sinais relativos aos hidrogênios anoméricos H-1 e H-5, adjacentes aos ésteres metílicos de ácidos galacturônicos, localizam-se na região entre $4,96 - 5,08\text{ppm}$. Para a determinação do grau de metoxilação da pectina é calculada a razão entre a integral

adjacente ao éster (ICOOME) com a soma das integrais de H-5 adjacente ao éster (ICOOME) e H-5 adjacente ao carboxilato (ICOO-) (ROSENBOHM et al. 2003). O valor de GM encontrado para a pectina do camu-camu, portanto, foi de 40,8%, estando próximo do valor encontrado através do infravermelho. Assim, a pectina do camu-camu pode ser classificada como sendo de baixa metoxilação.

No espectro de RMN de ^{13}C da pectina do camu-camu (Figura 4) foi possível observar os deslocamentos químicos correspondentes à região anomérica do ácido α -D-galacturônico, evidenciado pelos sinais em δ 108,19 ppm (α -L-arabinose), 104,91 ppm, 100,65 ppm e 99,69 ppm. Os sinais em 79,24 ppm, 75,09 ppm, 73,94 ppm, 71,09 ppm e 61,39 equivalentes aos carbonos C4, C5, C3, C2 e C6, respectivamente, ligados as unidades β -D-galactopiranosil. Em campo muito baixo observa-se o sinal em δ 171,13 ppm, correspondente ao C-6 de grupos carboxílicos metil-esterificados e livres. O sinal em 53,39 ppm é atribuído ao grupo metila ligado a um éster (O-METIL) do C-6 do anel piranosídico. Os sinais vistos em 17,13 ppm e 29,49 ppm são atribuídos à grupos metila ligados a raminose e metila ligado a grupos acetila (OAc-CH₃), respectivamente.

Por meio da análise elementar foi encontrado 40,24% de carboidrato, 6,38% de hidrogênio, < 0,3% de enxofre e 0,52% de cálcio. Observou-se que após o isolamento da pectina do camu-camu foi detectado a presença de sódio (0,47%), podendo ser devido a utilização de NaOH na etapa de neutralização. O teor de nitrogênio da pectina do camu-camu foi de 1,88%, correspondendo a 11,75% de proteína. Para efeito comparativo, o valor de proteína encontrado foi acima do obtido para a pectina do melão, de 5,82%, isolada nas mesmas condições (SOUSA, 2015).

Na curva de DSC da pectina do camu-camu (Figura 5A) foi observado um pico endotérmico em 162°C, relacionado à eliminação de água da amostra. Picos endotérmicos entre 75 °C e 150 °C, onde o pico máximo encontra-se em torno de 100 °C, são característicos de evaporação de água do material (EINHORN-STOLL, & KUNZEK, 2009).

Foram observados dois picos exotérmicos em 242°C e 295°C que sugerem que a degradação do polissacarídeo ocorre em temperaturas acima de 240 °C. Picos exotérmicos iniciando em torno de

200 °C e terminando no intervalo de 240 °C a 280 °C são característicos de degradação da amostra, como despolimerização da cadeia (EINHORN-STOLL, & KUNZEK, 2009).

O termograma da amostra de pectina do camu-camu (Figura 5B) demonstrou, primeiramente, um evento referente à eliminação de água presente na amostra, no intervalo de temperatura de 12 °C a 110 °C, com o pico máximo em 24 °C e perda de massa associada de 14%. Acima de 200°C foram observados três eventos referentes à degradação da cadeia da pectina, em 207°C, 242°C e em 280°C, com perda de massa total de 54%. Eventos ocorridos entre 200 °C e 400°C são atribuídos à decomposição ou despolimerização da cadeia polimérica ou da matéria orgânica (EINHORN-STOLL, KUNZEK, & DONGOWSKI, 2007; GHAFARI *et al.*, 2007).

A Figura 6 reproduz o efeito da pectina do camu-camu em neutrófilos humanos mensurada por meio da enzima LDH. Verificou-se que a pectina nas concentrações 1, 10, 25, 50 e 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ não induziu aumento da atividade da LDH, o que indica ausência de toxicidade (179,2 \pm 19,14; 185,7 \pm 19,04; 174 \pm 17,58; 200,4 \pm 24,96; e 170,2 \pm 16,9 U/L, respectivamente), quando comparada ao grupo veículo (184,1 \pm 18,73U/L) e HBSS (180,9 \pm 18,55U/L).

A suspensão de neutrófilos na presença de Triton X-100 (0,2% v/v) (padrão citotóxico positivo) exibiu uma citotoxicidade importante, representada pelo aumento significativo da atividade de LDH (375 \pm 40,55U/L), quando comparados aos neutrófilos não tratados com o Triton X-100.

Vários estudos de citotoxicidade têm como alvo a liberação da enzima lactato desidrogenase (LDH). Isso porque a principal característica das células necróticas é a permeabilização da membrana plasmática. Por conseguinte, essa permeabilização pode ser observado por meio de testes de cultura celular analisando a liberação da enzima lactato desidrogenase no fluido extracelular. Esse ensaio basea-se na absorbância colorimétrica em placas de microdiluição, sendo um método útil para a detecção de necrose (KENDIG, & TARLOFF, 2007; CHAN, MORIWAKI, & ROSA, 2013).

A atividade dessa enzima citosólica é classificada como um marcador sensível de membrana íntegra. Portanto, sua detecção no meio extracelular indica morte celular ou, ao menos, perda de sua integridade.

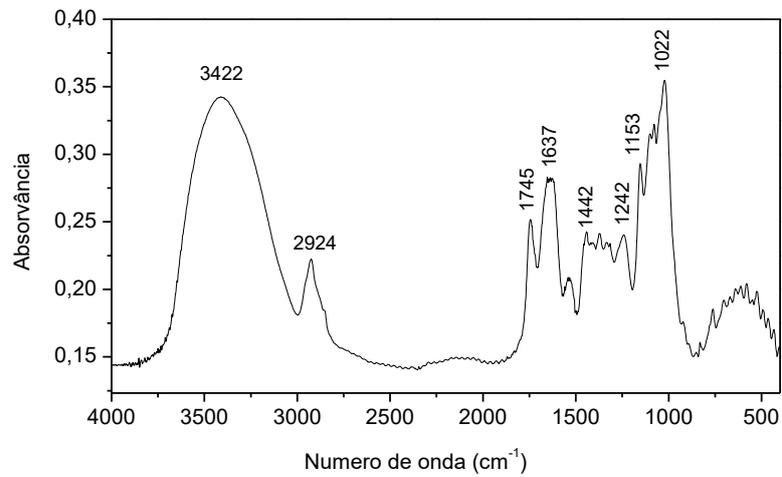
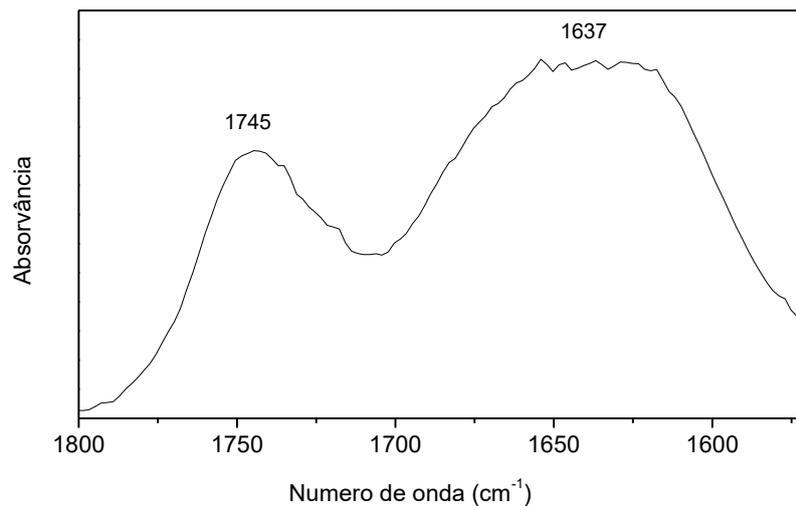
Figura 1 - Espectro de absorção por FT-IR da pectina do camu-camu.**Figura 2** - Bandas do infravermelho da pectina do camu-camu utilizadas para cálculo do GM (região entre 1800 - 1670 cm⁻¹).

Figura 3 - Espectro de RMN ^1H da pectina do camu-camu.

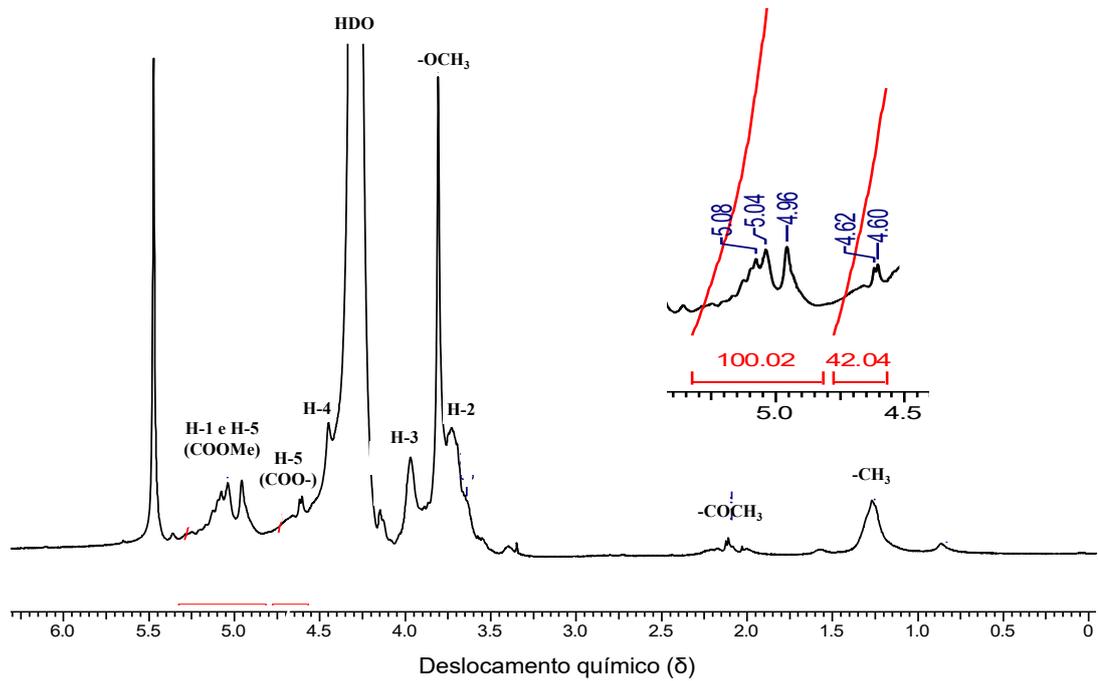


Figura 4 - Espectro de RMN de ^{13}C da pectina do camu-camu.

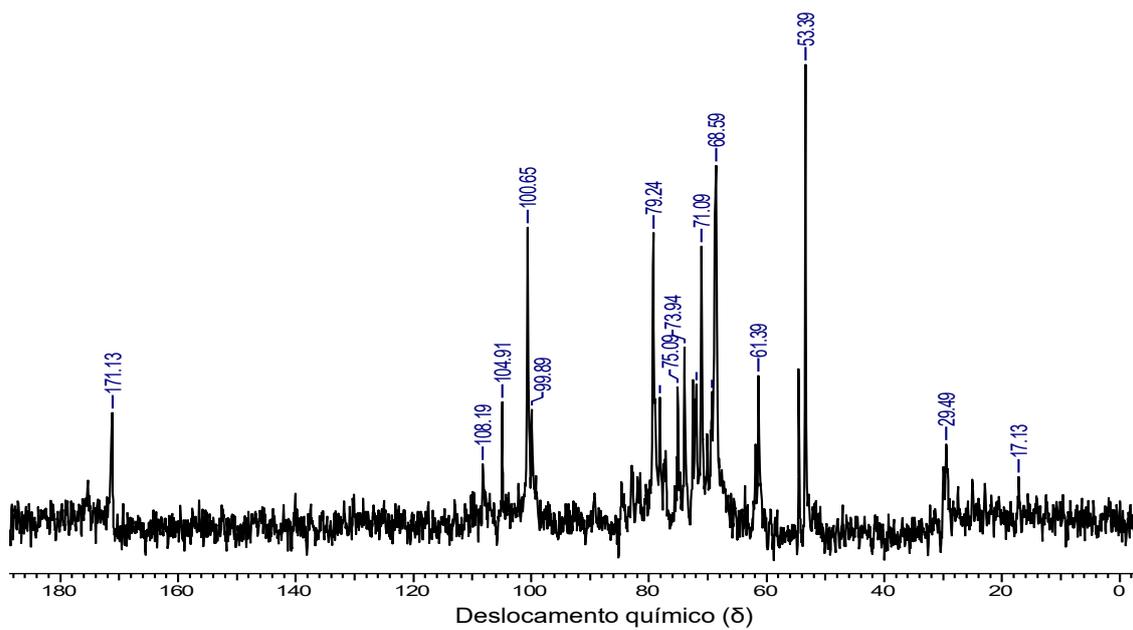


Figura 5 - Curva de DSC da pectina do camu-camu (A) e Termograma da amostra de pectina do camu-camu (B).

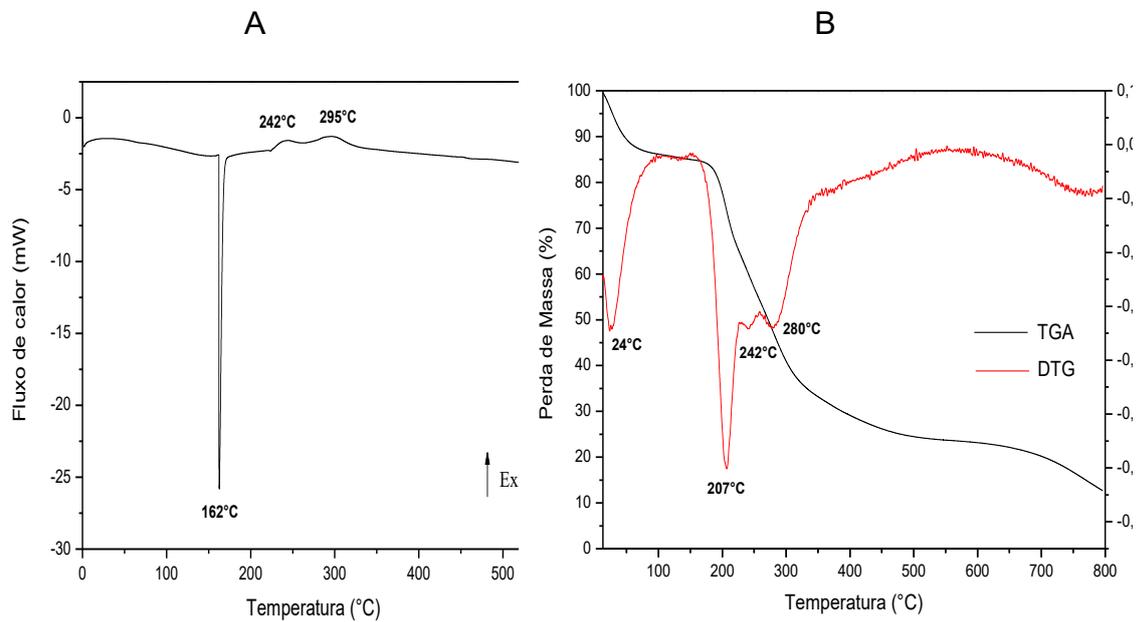
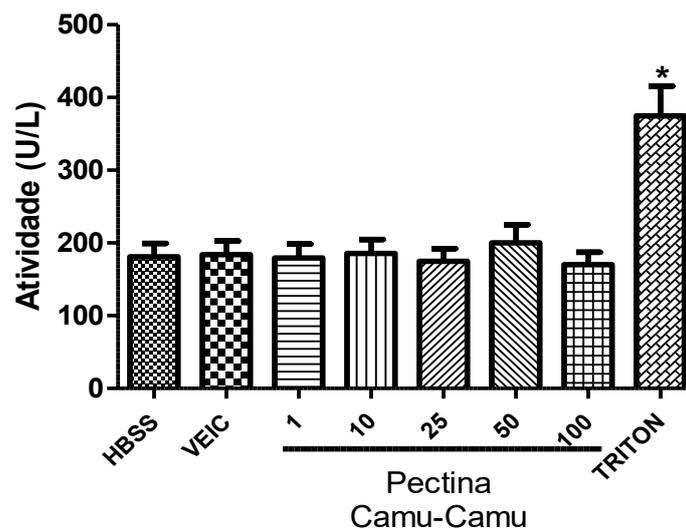


Figura 6 - Avaliação da toxicidade da pectina do camu-camu em neutrófilos humanos mensurada pela atividade da enzima lactato desidrogenase (LDH).



Neutrófilos ($2,5 \times 10^6$ células/mL) foram incubados com pectina (1, 10, 25, 50 e 100µg/mL) e após 15 minutos foi determinada a atividade da enzima LDH. HBSS: células não tratadas na presença do meio Hank's gel; Triton X-100 (0,2% v/v): padrão citotóxico; Veículo: água destilada. Os resultados estão sendo expressos como média \pm E. P. M. * vs HBSS ($p < 0,0001$ - ANOVA de uma via e Teste de Tukey).

Por isso, é considerada de fácil execução, bem como um dos métodos mais sensíveis para aferir a viabilidade celular (LOPES *et al.*, 2013).

Apesar do teste de LDH já ser bem descrito na literatura como um ensaio eficiente para averiguar a citotoxicidade de uma determinada substância, o referido exame funciona como um marcador de membrana íntegra, não detectando possíveis danos internos, como nas mitocôndrias, por exemplo. Destarte, poder-se-ia realizar o teste de MTT, já descrito anteriormente, para avaliar possíveis lesões mitocondriais. Assim, como principal limitação do presente experimento está a não realização do ensaio de MTT para viabilidade celular como complemento do experimento de LDH, a fim de se evitar questionamentos acerca da toxicidade da pectina do camu-camu em neutrófilos de humanos.

Por conta da pectina do camu-camu não ter sido considerada tóxica para seres humanos no nível celular, poder-se-ia elaborar outros trabalhos com o polissacarídeo em tela, para investigar sua relação com a microbiota intestinal, suas possíveis propriedades promotoras da saúde e/ou preventivas de doenças crônicas não transmissíveis, como é o caso do câncer.

A microbiota intestinal influencia o metabolismo e a imunidade do hospedeiro. Assim, essa relação entre microrganismos e intestino pode ser um possível alvo de interesse terapêutico no enfrentamento do câncer (BINDELS; THISSEN, 2016).

Pectinas provenientes de diversas fontes têm características distintas para fornecer metabólitos microbianos e para interferir na composição da microbiota intestinal. A constituição da fibra fermentável na dieta, além de alterar a composição da microbiota intestinal, também o faz no pulmão, principalmente a proporção de Firmicutes para Bacteroidetes nos referidos órgãos (MIN *et al.*, 2015).

Belcheva e Martin (2015) reconhecem a importância das fibras dietéticas ao afirmarem que estas provocam mudanças na população microbiana, e assim, afetam consideravelmente o curso do câncer colorretal, haja vista que alguns trabalhos científicos expõem uma relação inversa entre o risco de câncer de cólon e a ingestão de fibras alimentares (ZENG; LAZAROVA; BORDONARO, 2014).

Jiang *et al.* (2016) estudaram o efeito da pectina da maçã na barreira e microbiota intestinal, bem como o ganho de peso corporal e endotoxemia metabólica

em um modelo de indução de obesidade em ratos. Foi encontrado que no grupo administrado com a pectina houve uma redução no colesterol sérico e no ganho de peso. Embora a dieta de indução de obesidade tenha promovido o aumento de firmicutes e a diminuição de bacteroides na microbiota intestinal, a administração da pectina restabeleceu a microbiota às mesmas quantidades do grupo controle. Além do mais, o grupo pectina diminuiu a inflamação, endotoxemia metabólica e a expressão de TLR-4 no íleo. Os autores sugeriram que a pectina da maçã poderia diminuir a inflamação e a endotoxemia metabólica, assim como modular a microbiota intestinal, suprimindo o ganho de peso corporal.

Sousa *et al.* (2015) avaliaram o efeito hipoglicêmico da pectina extraída de *P. glandulosa* em camundongos diabéticos. Após 30 dias de tratamento, os resultados indicaram efeito hipoglicemiante nas doses de 200, 400 e 600mg/kg de peso corporal, sendo que a primeira não apresentou hepatotoxicidade e toxicidade renal nos animais.

Silva *et al.* (2011) estudaram os efeitos da pectina proveniente da *Passiflora edulis* em ratos diabéticos, no modelo de edema de pata induzido por carragenina e na mieloperoxidase secretada por neutrófilos humanos. Os animais receberam doses diárias de 0,5-25mg/kg (por gavagem oral) de pectina durante 5 dias. O tratamento reduziu os níveis de triacilgliceróis e glicemia, assim como houve diminuição na liberação de mieloperoxidase (0,1-100µg/mL) e volume do edema. Ademais, ocorreu decaimento parcial de TNF- α e da enzima sintase indutora de óxido nítrico, como também redução significativa da infiltração de neutrófilos. Ao final, os pesquisadores afirmaram que a referida pectina tem potencial como tratamento alternativo do diabetes tipo II.

Zhu *et al.* (2013) investigaram os efeitos da pectina isolada de *Crataegus pinnatifida* em camundongos alimentados com dieta hiperlipídica. Os resultados demonstraram uma diminuição significativa de LDL-C, colesterol total sérico e hepático, assim como da expressão gênica das enzimas ACAT e HMGCR. Enquanto isso, houve aumento significativo dos ácidos biliares fecais, expressão gênica do colesterol 7 α -hidroxilase e HDL-C sérico. Dessa forma, os autores alegaram que a pectina estudada tem grande potencial para melhorar o metabolismo do colesterol.

Em função dos efeitos benéficos das pectinas apresentados nos estudos retrocitados e suas características físico-químicas, o referido polissacarídeo vem sendo utilizado pela indústria alimentícia ou farmacêutica no desenvolvimento de produtos, a fim de lhes conferir melhores características, seja quanto ao aspecto tecnológico ou como promotor da saúde (BEZERRA; FERNANDES; RESENDE, 2014; CONCEIÇÃO; FERNANDES; RESENDE, 2016; PHUONG; HOA; HA, 2016; RODRIGUEZ-GARCIA *et al.*, 2016; TUNG *et al.*, 2016).

Além do mais, vários estudos já vem revelando benefícios do camu-camu, como a grande quantidade de ácido ascórbico, polifenóis e antocianinas, assim como propriedades anti-inflamatória, antiobesidade, antidiabética, antilipêmico, hipoglicemiante, hipoinsulinemiante, antigênotoxic e atividade antimicrobiana (Justi *et al.*, 2000; Inoue *et al.*, 2008; Chirinos *et al.*, 2010; Viera *et al.*, 2010; Villanueva-Tiburcio, Condezo-Hoyos; Asquiere, 2010; Yazawa *et al.*, 2011; Akter *et al.*, 2011; Nascimento *et al.*, 2013; Azevêdo *et al.*, 2014; Fujita *et al.*, 2015; Langley *et al.*, 2015).

Destaca-se a importância de novas pesquisas com a pectina do camu-camu, a fim de compreender melhor todos as suas propriedades e possíveis benefícios.

CONCLUSÃO

A partir do espectro de infravermelho a pectina de camu-camu foi classificada como de baixa metoxilação, enquanto os polissacarídeos identificados por FT-IR, RMN 1H, RMN 13C apresentaram importância biotecnológica. Por sua vez, o resultado do ensaio de citotoxicidade revelou ausência de toxicidade, sendo possível seu consumo por seres humanos.

REFERÊNCIAS

AKTER, M. S.; OH, S.; EUN, J.; AHMED, M. Nutritional compositions and health promoting phytochemicals of camu-camu (*myrciaria dubia*) fruit: A review. *Food Research International*, v. 44, n. 7, p. 1728–1732, 2011.

AZEVEDO, J. C. S.; FUJITA, A.; OLIVEIRA, E. L. de; GENOVESE, M. I.; CORREIA, R. T. P. Dried camu-camu (*MYRCIARIA DUBIA* H.B.K. MCVAUGH) industrial

residue: A bioactive-rich Amazonian powder with functional attributes. *Food Research International*, v. 62, p. 934–940, 2014.

BEAULIEU, M.; TURGEON, S. L.; DOUBLIER, J. -L. Rheology, texture and microstructure of whey proteins/low methoxyl pectins mixed gels with added calcium. *International Dairy Journal*, v. 11, n. 11–12, p. 961–967, 2001.

BELCHEVA, A.; MARTIN, A. Gut microbiota and colon cancer: the carbohydrate link. *Molecular & Cellular Oncology*, v. 2, n. 1, p. 1–2, 2015.

BEZERRA, T.S.; FERNANDES, T.N.; RESENDE, J.V. Effects of added sucrose and pectin on the rheological behavior and freezing kinetics of passion fruit pulp Studied by response surface methodology. *Journal of Food Science and Technology*, v. 52, n. 6, p. 3350–3357, 2014.

BINDELS, L. B.; THISSEN, J.P. Nutrition in cancer patients with cachexia: A role for the gut microbiota? *Clinical Nutrition Experimental*, v. 6, p. 74–82, 2016.

CANTERI, M.H.G; MORENO, L.; WOSIACKI, G.; SCHEER, A.P. Pectina: da matéria-prima ao produto final. *Polímeros*, vol. 22, n. 2, p. 149-157, 2012.

CHAN, F.K.M.; MORIWAKI, K.; ROSA, M.J. Detection of Necrosis by Release of Lactate Dehydrogenase Activity. In: SNOW, A. L.; LENARDO, M. J. (Eds.). *Immune Homeostasis: methods and protocols*. Nova Iorque: Humana Press, 2013.

CHIRINOS, R.; GALARZA, J.; BETALLELUZ-PALLARDEL, I.; PEDRESCHI, R.; CAMPOS, D. Antioxidant compounds and antioxidant capacity of Peruvian camu camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh) fruit at different maturity stages. *Food Chemistry*, v. 120, n. 4, p. 1019–1024, 2010.

CONCEIÇÃO, M.C.; FERNANDES, T.N.; RESENDE, J.V. Stability and microstructure of freeze-dried guava pulp (*Psidium guajava* L.) with added sucrose and pectin. *Journal of Food Science and Technology*, v. 53, n. 6, p. 2654–2663, 2016.

EINHORN-STOLL, U.; KUNZEK, H. Thermoanalytical characterisation of processing-dependent structural changes and state transitions of citrus pectin. *Food Hydrocolloids*, v. 23, n. 1, p. 40–52, 2009.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. Health Claims on Pectins Approved by EFSA. *EFSA Journal*, v. 8, n. 10, p. 1747–1753, 2010.

- FUJITA, A.; BORGES, K.; CORREIA, R.; FRANCO, B.D. G.M.; GENOVESE, M.I. Impact of spouted bed drying on bioactive compounds, antimicrobial and antioxidant activities of commercial frozen pulp of camu-camu (*MYRCIARIA DUBIA* MC. VAUGH). *Food Research International*, v. 54, n. 1, p. 495–500, 2013.
- FUJITA, A.; SARKAR, D.; WU, S.; KENNELLY, E.; SHETTY, K.; GENOVESE, M. I. Evaluation of phenolic-linked bioactives of camu-camu (*MYRCIARIA DUBIA* MC. VAUGH) for antihyperglycemia, antihypertension, antimicrobial properties and cellular rejuvenation. *Food Research International*, v. 77, p. 194–203, 2015.
- GHAFFARI, A.; NAVAE, K. OSKOU, M.; BAYATI, K.; RAFIEE-TEHRANI, M. Preparation and characterization of free mixed-film of pectin/chitosan/Eudragit RS intended for sigmoidal drug delivery. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 67, n. 1, p. 175–186, 2007.
- INOUE, T.; KOMODA, H.; UCHIDA, T.; NODE, K. Tropical fruit camu-camu (*MYRCIARIA DUBIA*) has anti-oxidative and anti-inflammatory properties. *Journal of Cardiology*, v. 52, n. 2, p. 127–132, 2008.
- INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA. Cultivo do Camu-Camu. Disponível em: <<https://www.inpa.gov.br/cpca/areas/camu-camu.html>>. Acesso em: 25 ago. 2015.
- JIANG, T.; GAO, X.; WU, C.; TIAN, F.; LEI, Q.; BI, J.; XIE, B.; WANG, H. Y.; CHEN, S.; WANG, X. Apple-derived pectin modulates gut microbiota, improves gut barrier function, and attenuates metabolic endotoxemia in rats with diet-induced obesity. *Nutrients*, v. 8, n. 3, p. 1–20, 2016.
- JUSTI, K. C.; VISENTAINER, J. V.; SOUZA, N. E. de; MATSUSHITA, M. Nutritional composition and vitamin C stability in stored camu-camu (*MYRCIARIA DUBIA*) pulp. *Archivos latinoamericanos de nutrición*, v. 50, n. 4, p. 405–8, 2000.
- KHAMSUCHARIT, P.; LAOHAPHATANALERT, K.; GAVINLERTVATANA, P.; SRIROTH, K.; SANGSEETHONG, K. Characterization of pectin extracted from banana peels of different varieties. *Food Sci Biotechnol*. v.27, n.3, p.623–629, 2017.
- KOUBALA, B.B.; KANSCI, G.; MBOME, L.I.; CRÉPEAU, M.J.; THIBAUT, J.F.; RALET, M. C. Effect of extraction conditions on some physicochemical characteristics of pectins from “Améliorée” and “Mango” mango peels. *Food Hydrocolloids*, v. 22, n. 7, p. 1345–1351, 2008.
- LANGLEY, P.C.; JUNIOR, J.V.P.; JUNIOR, R.T.; RIDGWAY, C. Antioxidant and Associated Capacities of Camu Camu (*MYRCIARIA DUBIA*): A Systematic Review. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, v. 21, n. 1, p. 8–14, 2015.
- LEÃO, D.P.; BOTELHO, B.G.; OLIVEIRA, L.S.; FRANCA, A.S. Potential of pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) peels as sources of highly esterified pectins obtained by microwave assisted extraction. *LWT - Food Science and Technology*. v.87, p.575-580, 2018.
- LIU, J.; WILLFÖR, S.; XU, C. A review of bioactive plant polysaccharides: Biological activities, functionalization, and biomedical applications. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, v. 5, n. 1, p. 31–61, 2015.
- LOPES, A.A.; MAGALHÃES, T.R.; UCHÔA, D.E.A.; SILVEIRA, E.R.; AZZOLINI, A.E.C.S.; KABEYA, L.M.; LUCISANO-VALIM, Y.M.; VASCONCELOS, S.M.M.; VIANA, G.S.B.; LEAL, L.K.A.M. Afrormosin, an Isoflavonoid from *Amburana cearensis* A. C. Smith, Modulates the Inflammatory Response of Stimulated Human Neutrophils. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, V.113, P.363–369, 2013.
- MAXWELL, E. G.; BELSHAW, N. J.; WALDRON, K. W.; MORRIS, V. J. Pectin – An emerging new bioactive food polysaccharide. *Trends in Food Science & Technology*, v. 24, n. 2, p. 64–73, 2012.
- MIN, B.; KOO, O.K.; PARK, S.H.; JARVIS, N.; RICKE, S.C.; CRANDALL, P.G.; LEE, S.O. Fermentation patterns of various pectin sources by human fecal microbiota. *Food and Nutrition Sciences*, v. 6, n. 12, p. 1103–1114, 2015.
- NASCIMENTO, O.V.; BOLETI, A. P.A.; YUYUMA, L.K.O.; LIMA, E.S. Effects of diet supplementation with Camu-camu (*MYRCIARIA DUBIA* HBK MCVAUGH) fruit in a rat model of diet-induced obesity. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v. 85, n. 1, p. 355–363, 2013.
- NGUYEN, B.M.N.; PIRAK, T. Physicochemical properties and antioxidant activities of white dragon fruit peel pectin extracted with conventional and ultrasound-assisted extraction. *Cogent Food & Agriculture*. v.5, n.1, 2019.
- OLANO-MARTIN, E.; RIMBACH, G.H.; GIBSON, G.R.; RASTALL, R. A. Pectin and

- pectic-oligosaccharides induce apoptosis in in vitro human colonic adenocarcinoma cells. *Anticancer Research*, v. 23, n. 1A, p. 341–346, 2003.
- PICCIRILLO, E.; AMARAL, A.T. Busca virtual de compostos bioativos: conceitos e aplicações. *Quim. Nova*. v.41, n.6, p.662-677, 2018.
- PHUONG, H.M.K.; HOA, N.D.H.; HA, N.V.H. Effects of added pectin amounts and drying temperatures on antioxidant properties of mulberry fruit leather. *Journal of Biotechnology*, v. 14, n. 1A, p. 487–495, 2016.
- PICCIRILLO, E.; AMARAL, A.T. Busca virtual de compostos bioativos: conceitos e aplicações. *Quim. Nova*. v.41, n.6, p.662-677, 2018.
- RODRIGUEZ-GARCIA, I.; CRUZ-VALENZUELA, M.R.; SILVA-ESPINOZA, B.A.; GONZALEZ-AGUILAR, G.A.; MOCTEZUMA, E.; GUTIERREZ-PACHECO, M.M.; TAPIA-RODRIGUEZ, M.R.; ORTEGA-RAMIREZ, L.A.; AYALA-ZAVALA, J.F. Oregano (*LIPPIA GRAVEOLENS*) essential oil added within pectin edible coatings prevents fungal decay and increases the antioxidant capacity of treated tomatoes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 96, p. 3772–3778, 2016.
- ROSENBOHM, C.; LUNDT, I.; CHRISTENSEN, T.M.I.E.; YOUNG, N.W.G. Chemically methylated and reduced pectins: Preparation, characterisation by ¹H NMR spectroscopy, enzymatic degradation, and gelling properties. *Carbohydrate Research*, v. 338, n. 7, p. 637–649, 2003.
- SILVA, D.C.; FREITAS, A. L. P.; PESSOA, C.D.S.; PAULA, R.C.M.; MESQUITA, J. X.; LEAL, L.K.A. M.; BRITO, G.A.C.; GONÇALVES, D.O.; VIANA, G.S.B. Pectin from *Passiflora edulis* shows Anti-inflammatory Action as well as Hypoglycemic and Hypotriglyceridemic Properties in Diabetic Rats. *Journal of Medicinal Food*, v. 14, n. 10, p. 1118–1126, 2011.
- SOUSA, R.V.R.B.; GUEDES, M.I.F.; MARQUES, M.M.M.; VIANA, D.A.; SILVA, I. N. G.; RODRIGUES, P.A.S.; VIEIRA, I.G.P. Hypoglycemic Effect of New Pectin Isolated From *Passiflora Glandulosa* Cav in Alloxan-Induced Diabetic Mice. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, v. 4, n. 1, p. 1571–1586, 2015.
- TUNG, N.T.; PHAM, T.M.H.; NGUYEN, T.H.; PHAM, T.T.; NGUYEN, T.Q. Pectin/HPMC dry powder coating formulations for colon specific targeting tablets of metronidazole. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, v. 33, p. 19–27, 2016.
- VIERA, V.B.; RODRIGUES, J.B.; BRASIL, C.C.B.; ROSA, C.S. Produção, caracterização e aceitabilidade de licor de camu-camu (*Myrciaria dúbia* (H. B. K.) MCVAUGH). *Alimentos e Nutrição*, v. 21, n. 4, p. 519–522, 2010.
- VILLANUEVA-TIBURCIO, J.E.; CONDEZO-HOYOS, L.A.; ASQUIERI, E.R. Antocianinas, ácido ascórbico, polifenoles totales y actividad antioxidante, en la cáscara de camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K) McVaugh). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 30, n. Supl. 1, p. 151–160, 2010.
- VORAGEN, A.G.J.; COENEN, G.J.; VERHOEF, R.P.; SCHOLS, H.A. Pectin, a versatile polysaccharide present in plant cell walls. *Structural Chemistry*, v. 20, n. 2, p. 263–275, 2009.
- YAZAWA, K.; SUGA, K.; HONMA, A.; SHIROSAKI, M.; KOYAMA, T. Anti-inflammatory effects of seeds of the tropical fruit camu-camu (*MYRCIARIA DUBIA*). *Journal of nutritional science and vitaminology*, v. 57, n. 1, p. 104–107, 2011.
- ZENG, H.; LAZAROVA, D. L.; BORDONARO, M. Mechanisms linking dietary fiber, gut microbiota and colon cancer prevention. *World journal of gastrointestinal oncology*, v. 6, n. 2, p. 41–51, 2014.
- ZHU, R.; LI, T.; DONG, Y.; LIU, Y.; LI, S.; CHEN, G.; ZHAO, Z.; JIA, Y. Pectin pentasaccharide from hawthorn (*CRATAEGUS PINNATIFIDA* BUNGE. VAR. MAJOR) ameliorates disorders of cholesterol metabolism in high-fat diet fed mice. *Food Research International*, v. 54, n. 1, p. 261–268, 2013.

AGRADECIMENTOS

Ao Laboratório de Polímeros e Inovações de Materiais (LABPIM) da Universidade Federal do Ceará (UFC) pela extração da pectina do camu-camu; ao Laboratório de Farmacognosia da UFC pela execução do teste de LDH; à Universidade de Manchester, Inglaterra, pela análise elementar; ao Centro Nordestino de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear (CENAUREMN) pelos testes RMN ¹H e RMN ¹³C; à Universidade Federal do Ceará (UFC) pelos testes de FT-IR, DSC e TGA/DTG; e à

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de mestrado.

CONFLITO DE INTERESSE

Os autores declaram não haver conflitos de interesse no presente artigo.