

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
CURSO DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

Karina Gonçalves Silveira

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E BIOACESSIBILIDADE DE COMPOSTOS
FENÓLICOS DE SUCOS E CASCAS DE LARANJA E LIMÃO

Florianópolis

2019

Karina Gonçalves Silveira

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E BIOACESSIBILIDADE DE COMPOSTOS
FENÓLICOS DE SUCOS E CASCAS DE LARANJA E LIMÃO

Trabalho de Conclusão do Curso de Graduação em
Ciência e Tecnologia de Alimentos do Centro de
Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa
Catarina como requisito para a obtenção do Título de
Bacharel em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof.^a Dr.^a Isabela Maia Toaldo

Florianópolis

2019

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Silveira, Karina Gonçalves

Caracterização físico-química e bioacessibilidade de
compostos fenólicos de sucos e cascas de laranja e limão /
Karina Gonçalves Silveira ; orientadora, Isabela Maia
Toaldo, 2019.

56 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -
Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências
Agrárias, Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos,
Florianópolis, 2019.

Inclui referências.

1. Ciência e Tecnologia de Alimentos. 2.
Bioacessibilidade. 3. Compostos fenólicos. 4. Valorização do
resíduo. 5. Laranja e limão. I. Toaldo, Isabela Maia. II.
Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em
Ciência e Tecnologia de Alimentos. III. Título.

Karina Gonçalves Silveira

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E BIOACESSIBILIDADE DE COMPOSTOS
FENÓLICOS DE SUCOS E CASCAS DE LARANJA E LIMÃO

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do Título de “Bacharel em Ciência e Tecnologia de Alimentos” e aprovado em sua forma final pelo curso de Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Florianópolis, 27 de novembro de 2019.

Prof.^a Dr.^a Carmen Maria Olivera Müller
Coordenadora do Curso

Banca Examinadora:

Prof.^a Dr.^a Isabela Maia Toaldo
Orientadora
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof.^a Dr.^a Carmen Maria Olivera Müller
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Dr. Pedro Luiz Manique Barreto
Universidade Federal de Santa Catarina

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Kátia e Paulo, pelo suporte, carinho, compreensão e dedicação, que me permitiram estar onde estou hoje, vivendo todas as experiências que sonhei.

À minha professora orientadora, Isabela Maia Toaldo, que me aceitou de braços abertos, com muita dedicação, paciência, respeito e carinho. Muito obrigada!

À minha madrinha Cristina por todo carinho, dedicação e presença, sempre com as palavras certas a dizer. Em especial à minha prima Mariana, que me apresentou o curso de Ciência e Tecnologia de Alimentos. Sou eternamente grata por isso. Muito grata também por todo apoio, todas as conversas e comidas compartilhadas.

Às minhas amigas de ensino médio, de graduação e de vida, Nataly Neves Oliveira dos Santos, Georgia Anne Rech Piccoli e Júlia Mello de Oliveira sempre presentes trazendo leveza, carinho, sorrisos, abraços e novas experiências transformadoras.

À professora Ana Carolina Maisonnave Arisi e todas as meninas do Laboratório de Biologia Molecular, Ana Marina, Elisandra, Franciele, Gabriela, Mirella, e, em especial, agradeço muito à Tuany, que esteve presente em todas as etapas do trabalho, sempre dedicada e paciente.

À professora Renata Dias de Mello Castanho Amboni e à Isabel Hass do Laboratório de Frutas e Hortaliças que prontamente disponibilizaram materiais e reagentes para a realização deste trabalho.

Ao técnico de laboratório Samuel Milanez e à aluna Alice Nied do Laboratório de Bromatologia que disponibilizaram materiais, reagentes e contribuíram para a realização de diversas análises.

À Universidade Federal de Santa Catarina pelo ensino de qualidade, aos colaboradores do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos e, em especial aos professores e professoras que desde o início da graduação compartilharam seus conhecimentos e também a paixão pelo curso.

RESUMO

A laranja e o limão são frutas cítricas presentes na dieta brasileira que contêm na sua composição metabólitos secundários com atividade antioxidante, como o ácido ascórbico e os compostos fenólicos. Um terço destas frutas é utilizado no processamento tecnológico, gerando 50 a 60% de resíduos. Não somente as polpas, mas também as cascas são fonte de compostos bioativos com ação antioxidante, associados à redução do risco de desenvolvimento de doenças crônicas. Portanto há a necessidade de valorização desses resíduos. No entanto, a quantidade de compostos extraídos de uma amostra nem sempre corresponde à quantidade que estará disponível para ser absorvida e metabolizada pelo organismo. Sendo assim, este trabalho teve como objetivos caracterizar sucos de laranja e limão e seus extratos de casca quanto à composição físico-química, teor de polifenóis totais e atividade antioxidante, e empregar a digestão *in vitro* para avaliar as frações digeridas (oral, gástrica e intestinal) dos sucos, cascas e extratos de casca quanto à bioacessibilidade de polifenóis. As amostras foram caracterizadas quanto à concentração de vitamina C, acidez em ácido orgânico, sólidos solúveis totais, pH, teor de polifenóis totais através do método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu e à atividade antioxidante *in vitro* pelo método de captura do radical ABTS. A caracterização das amostras antes da digestão *in vitro* permitiu diferenciar as amostras de suco e extratos de casca. Quanto à vitamina C não houve diferença significativa entre as amostras, de modo que os extratos se mostraram fontes interessantes de ácido ascórbico, podendo incrementar a ingestão diária recomendada de vitamina C. Os extratos diferiram dos sucos apresentando menores valores de acidez e sólidos solúveis. Para acidez obteve-se 0,06g/100g (extrato de laranja) e 0,09g/100g (extrato de limão) e 1,00°Brix para ambos os extratos. Os sucos apresentaram maiores teores de polifenóis totais (615,5 e 868,8mg GAE/L para laranja e limão), quando comparados aos extratos (271,1 e 398,3mg GAE/L para laranja e limão). O suco de laranja apresentou maior capacidade antioxidante que o extrato de casca, enquanto que para as amostras de limão, o extrato se destacou e apresentou maior atividade antioxidante que o suco de limão. Após a digestão *in vitro* foram determinados os índices de bioacessibilidade de polifenóis para as frações digeridas. Os maiores índices foram de 188,7% e 143,6% para casca de laranja e limão. Os estudos de bioacessibilidade permitiram concluir que as frações digeridas de casca, tanto de laranja quanto de limão, apresentaram maiores índices de bioacessibilidade de polifenóis, quando comparadas às frações digeridas de suco. Além disso, as cascas sofreram as menores perdas de atividade antioxidante ao longo da digestão *in vitro*. Portanto, as cascas, quando comparadas aos sucos, apresentaram melhores resultados de bioacessibilidade de polifenóis totais e atividade antioxidante. Estes resultados demonstram o potencial existente nos resíduos de casca de frutas cítricas que comumente são destinados à alimentação animal ou até mesmo descartados, enquanto que poderiam ser aproveitados já que disponibilizam conteúdos importantes de compostos bioativos. Estes podem ser adicionados a formulações de alimentos, agregando propriedades funcionais e atuando na promoção de saúde aos consumidores.

Palavras-chaves: Laranja. Limão. Digestão *in vitro*. Bioacessibilidade. Compostos fenólicos.

ABSTRACT

Orange and lime are citrus fruits present in the Brazilian diet that contain in their composition secondary metabolites with antioxidant activity, such as ascorbic acid and phenolic compounds. One third of these fruits is used in the technological processing, generating 50 to 60% of waste. Not only the pulps, but also the peels are a source of bioactive compounds with antioxidant action, associated with reduced risk of developing chronic diseases. Therefore it is necessary to value these wastes. However, the amount of compounds extracted from a sample does not always correspond to the amount that will be available to be absorbed and metabolized by the body. Thus, the objective of this work was to characterize orange and lime juices and their peel extracts for their physicochemical composition, total polyphenol content and antioxidant activity, and to employ *in vitro* digestion to evaluate the digested fractions (oral, gastric and intestinal) of the juices, peels and peel extracts for the bioaccessibility of polyphenols. The samples were characterized for vitamin C concentration, acidity, total soluble solids, pH, total polyphenol content by Folin-Ciocalteu spectrophotometric method and *in vitro* antioxidant activity by ABTS radical capture method. The characterization of the samples before *in vitro* digestion allowed the differentiation of juice and peel extracts. Regarding vitamin C there was no significant difference between the samples, so the extracts are interesting sources of ascorbic acid and could increase the recommended daily intake of vitamin C. The extracts differed from juices with lower acidity and soluble solids. For acidity, 0.06g/100g (orange extract) and 0.09g/100g (lime extract) and 1.00°Brix were obtained for both extracts. The juices had higher total polyphenol contents (615.5 and 868.8mg GAE/L for orange and lime) when compared to the extracts (271.1 and 398.3mg GAE/L for orange and lime). Orange juice presented higher antioxidant capacity than the peel extract, while for the lime samples the extract stood out and presented higher antioxidant activity than the lime juice. After *in vitro* digestion, polyphenol bioaccessibility indexes for the digested fractions were determined. The highest indexes were 188.7% and 143.6% for orange and lime peel. The bioaccessibility studies showed that the digested peel fractions of both orange and lime presented higher polyphenol bioaccessibility indexes when compared to the digested juice fractions. In addition, the peels suffered the lowest antioxidant activity losses during *in vitro* digestion. Therefore, the peels, when compared to the juices, presented better results of total polyphenol bioaccessibility and antioxidant activity. These results demonstrate the potential existing in citrus peel waste that are commonly destined for animal feed or even discarded, and could be used as they provide an important content of bioactive compounds. These can be added to food formulations, adding functional properties and promoting health promotion to consumers.

Keywords: Orange. Lime. *In vitro* digestion. Bioaccessibility. Phenolic compounds.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Principais variedades de laranja utilizadas no processamento de suco.....	25
Figura 2 - Limão Tahiti (<i>Citrus latifolia</i>) utilizado no processamento de suco.....	25
Figura 3 - Fluxograma do processamento de suco de fruta pasteurizado e concentrado congelado.....	27
Figura 4 - Anatomia de citros.....	28
Figura 5 - Estrutura química da hesperitina.....	30
Figura 6 - Estrutura química da narigenina.....	30
Figura 7 - Teor de polifenóis totais dos sucos e extratos de casca de laranja e limão.....	40
Figura 8 - Atividade antioxidante dos sucos e extratos de casca de laranja e limão.....	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características e composição do suco de laranja segundo os padrões de identidade e qualidade.....	24
Tabela 2 - Características e composição do suco de limão segundo os padrões de identidade e qualidade.....	25
Tabela 3. Polifenóis totais e atividade antioxidantes dos extratos de casca de laranja e limão após 5, 10 e 15 minutos de extração em água quente.....	37
Tabela 4. Caracterização físico-química dos sucos e extratos de casca de laranja e limão.....	39
Tabela 5. Polifenóis totais, atividade antioxidante e índice de bioacessibilidade das frações digeridas de suco, extrato de casca e casca de laranja e limão.....	45

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	19
2 OBJETIVOS	21
2.1 OBJETIVO GERAL.....	21
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	23
3.1 CULTIVO DE LARANJA E LIMÃO NO BRASIL.....	23
3.2 PROCESSAMENTO DOS SUCOS DE LARANJA E LIMÃO E GERAÇÃO DE RESÍDUOS.....	24
3.3 COMPOSIÇÃO DA LARANJA E LIMÃO	28
3.3.2 Minerais	29
3.3.3 Compostos bioativos	29
3.3.3.1 Vitamina C.....	29
3.3.3.2 Carotenoides	29
3.3.3.3 Compostos fenólicos.....	30
3.4 BIOACESSIBILIDADE DE FENÓLICOS E ESTUDOS DE DIGESTÃO <i>IN VITRO</i>	31
3.4.1 Bioatividade de fenólicos de citros	31
4 MATERIAL E MÉTODOS	33
4.1 REAGENTES.....	33
4.2 AMOSTRAS E PREPARO DE AMOSTRA	33
4.3 ESTUDO DAS CONDIÇÕES DE EXTRAÇÃO E OBTENÇÃO DOS EXTRATOS	33
4.4 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	33
4.4.1 Determinação da acidez titulável em ácido orgânico	33
4.4.2 Sólidos solúveis totais e pH	34
4.4.3 Vitamina C	34
4.5 DIGESTÃO <i>IN VITRO</i>	34
4.6 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	35
4.7 POLIFENÓIS TOTAIS	36

4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	36
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
5.1 ESTUDO DAS CONDIÇÕES DE EXTRAÇÃO	37
5.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DOS SUCOS E EXTRATOS DE CASCA ..	38
5.3 TEOR DE POLIFENÓIS TOTAIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS SUCOS E EXTRATOS DE CASCA.....	39
5.4 ESTUDOS DE BIOACESSIBILIDADE	42
6 CONCLUSÃO.....	47
REFERÊNCIAS	49

1 INTRODUÇÃO

Os citros pertencem a um grupo de plantas que fazem parte do gênero *Citrus*, como a laranja (*Citrus sinensis*) e o limão (*Citrus latifolia*) (LOPES, 2011).

Os grandes produtores de citros são Brasil, China, Índia, México, Espanha e Estados Unidos (NEVES *et al.*, 2011). Em torno de 34% da produção de laranja e 61% do total produzido de suco no mundo são originados do Brasil. As principais regiões produtoras, o Cinturão Citrícola, são o Triângulo Mineiro e São Paulo. Desta forma o setor citrícola gera em torno de 200 mil empregos diretos e indiretos e um PIB de aproximadamente US\$ 6,5 bilhões de dólares (FUNDECITRUS 2017; FNP, 2017).

A citricultura se destaca na fruticultura mundial, de modo que, os citros são consumidos *in natura* ou processados como sucos (SILVA *et al.*, 2016; PASSOS *et al.*, 2016). Sendo que aproximadamente um terço das frutas cítricas é utilizado para processamento, produzindo cerca de 50-60% de resíduos orgânicos.

No entanto, a indústria de processamento de citros tem como grande preocupação o manejo dos resíduos sólidos (cascas, sementes e folhas). Isto porque os resíduos sólidos se caracterizam como um problema ambiental devido a sua alta fermentabilidade, causada pelo alto teor de carboidratos presentes.

As estratégias utilizadas tradicionalmente para tratamento de resíduos cítricos, como incineração, aterro, alimentação animal ou extração de pectina, são ineficientes dos pontos de vista ambiental e energético, representando uma subutilização do resíduo. Sendo assim, considerando os impactos negativos ao meio ambiente surge a necessidade de valorização desses resíduos (LIN *et al.*, 2013; WEI *et al.*, 2017; SATARIA; KARIMIA, 2018; REZZADORI, BENEDETTI, 2009).

Não somente os sucos, mas também as cascas são fonte de compostos bioativos e minerais, incluindo antioxidantes como o ácido ascórbico e os compostos fenólicos (BARROS; FERREIRA; GENOVESE, 2012; JAYAPRAKASHA; PATIL, 2007).

No entanto, é necessário compreender a bioacessibilidade destes fitoquímicos, já que os compostos extraídos nem sempre correspondem à quantidade que estará disponível para ser absorvida e metabolizada pelo organismo (SUN *et al.*, 2019). Isto é, no trato gastrointestinal o pH e as enzimas digestivas agem liberando e modificando os compostos fenólicos da matriz alimentar (PODSEDEK *et al.*, 2014).

Sendo assim, a bioacessibilidade fenólica corresponde à quantidade de polifenóis ingeridos que estarão disponíveis para serem absorvidos no intestino após o processo de digestão. Diferentemente da biodisponibilidade que se trata da fração de nutrientes ou compostos secretada na circulação que se torna disponível para captação e metabolismo nos tecidos (AHMAD-QASEM *et al.*, 2014; RODRÍGUEZ-ROQUE *et al.*, 2014).

Para determinar a bioacessibilidade tem sido utilizada como ferramenta a simulação de digestão *in vitro* como uma alternativa de menor custo, mais simples e rápida quando comparada a protocolos de estudos *in vivo* (GUERRA *et al.*, 2012; STINCO *et al.*, 2012).

Os fenólicos cítricos presentes tanto no suco quanto na casca apresentam bioatividade como a ação antioxidante, prevenindo contra o desenvolvimento de doenças crônicas. Sendo assim, o estudo da bioatividade e bioacessibilidade dos fenólicos citros e seus resíduos são de grande relevância. De modo que estes compostos extraídos podem ser aplicados nas formulações de alimentos e bebidas, adicionados a nutracêuticos e suplementos (CHEN; TAIT; KITTS, 2017).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Caracterizar sucos de laranja e limão quanto à composição físico-química, fenólica e à atividade antioxidante, e avaliar a bioacessibilidade de fenólicos dos sucos, suas respectivas cascas e frações digeridas empregando a digestão *in vitro*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Elaborar e caracterizar sucos e extratos de casca de laranja e limão quanto ao teor de vitamina C e sólidos solúveis totais;
- Caracterizar os sucos e extratos de casca quanto ao pH e acidez total;
- Determinar o teor de polifenóis totais e atividade antioxidante dos sucos e extratos de casca;
- Realizar digestão *in vitro* dos sucos, extratos de casca e cascas de laranja e limão;
- Determinar o teor de polifenóis totais e atividade antioxidante das frações digeridas (fase oral, gástrica e intestinal) dos sucos, extratos de casca e cascas de laranja e limão após a digestão *in vitro*.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 CULTIVO DE LARANJA E LIMÃO NO BRASIL

O gênero *Citrus*, família *Rutaceae*, compreende uma grande variedade de frutas de destaque econômico como as laranjas doces (*Citrus sinensis*) e limas ácidas como o Tahiti (*Citrus latifolia*).

A laranja doce é a fruta cítrica mais cultivada do mundo, representando mais de 61% da produção mundial de citros. As laranjas doces (*Citrus sinensis*) são classificadas de acordo com o fruto como: comum; Navel ou a laranja umbigo; sanguíneas; baixa acidez (BASTOS *et al.*, 2014; CUNHA SOBRINHO *et al.*, 2013; STINCO *et al.*, 2016).

Segundo um relatório divulgado pela USDA (2018) a safra de laranja brasileira para o período 2018/19 está prevista em 435 milhões de caixas de 40,8 kg e o total das exportações brasileiras de suco concentrado congelado (FCOJ) para 2018/19 sofrerá um aumento de 11% em relação à 2017/18.

No Brasil, país que mais produz laranjas doces e suco, o estado de São Paulo é considerado o polo citrícola, sendo responsável por 80% da produção nacional. Tendo destaque também a região nordeste sendo responsável por 18,9% da área colhida e 11,3% da produção (USDA, 2017; NEVES *et al.*, 2011; CUNHA SOBRINHO *et al.*, 2013; IBGE, 2017).

Dentre o grupo dos cítricos a cultura do limão também possui importância comercial no Brasil, que é um dos maiores produtores mundiais juntamente com Argentina, Índia, China e México. O limão Tahiti não é um limão verdadeiro e sim uma lima ácida. No Brasil, é comum entre alguns autores e consumidores denominar a lima ácida *Citrus latifolia* como limão ou limão comum (OLIVA *et al.*, 2017; VILLA *et al.*, 2017).

O Brasil é um dos grandes produtores de limão e maior exportador. De acordo com a Associação dos Produtores e Exportadores de Limão (Abpel) no período de 2016/2017 foram plantados cerca de 300 a 400 mil pés. Os grandes estados produtores são: São Paulo sendo responsável por 70% da produção total, Bahia com 12% e Minas Gerais correspondendo a 7% da produção total do país (KIST *et al.*, 2018).

3.2 PROCESSAMENTO DOS SUCOS DE LARANJA E LIMÃO E GERAÇÃO DE RESÍDUOS

De acordo com Instrução normativa nº 37 do MAPA (BRASIL, 2018), suco de laranja é definido como um produto obtido da parte comestível da laranja (*Citrus sinensis*), por meio de processo tecnológico adequado. Além disso, para que o suco esteja adequado aos padrões de identidade e qualidade deve apresentar a composição descrita na Tabela 1.

Tabela 1. Características e composição do suco de laranja segundo os padrões de identidade e qualidade

Parâmetro	Mínimo	Máximo
Sólidos solúveis em °Brix, a 20° C	10	-
Relação de sólidos solúveis em brix/acidez em g/100g de ácido cítrico anidro	7	-
Ácido ascórbico (mg/100g)*	25	-
Açúcares totais naturais da laranja (g/100g)	-	13
Óleo essencial de laranja (%v/v)	-	0,035

Fonte: (*) BRASIL, 2000; BRASIL, 2018.

As laranjas brasileiras possuem características ideais para o processamento de suco e 80% das laranjas cultivadas têm por destino a indústria de bebidas. O Brasil é responsável por 60% da produção mundial do suco de laranja, sendo que a cada cinco copos de suco consumidos no mundo, três são provenientes de sucos produzidos no país. Sendo o Brasil também o maior exportador de suco de laranja, tendo como principais importadores os Estados Unidos, União Europeia, Japão e China. Só no ano de 2016, foram exportados US\$ 437,66 milhões de suco integral (FRANCO, 2016; GOTTEMS, 2016).

Já o suco de limão é definido como o produto obtido da parte comestível do limão (*Citrus limon L.*, *Citrus latifolia*, *Citrus limonia* e *Citrus aurantifolia*), por meio de processo tecnológico adequado. Sendo que a Instrução normativa nº 37 do MAPA (BRASIL, 2018) dispõe sobre os padrões de identidade e qualidade do suco de limão, que deve possuir a composição descrita na Tabela 2.

Tabela 2. Características e composição do suco de limão segundo os padrões de identidade e qualidade

Parâmetro	Mínimo	Máximo
Acidez titulável em ácido cítrico (g/100g)	5	-
Ácido ascórbico (mg/100g)*	20	-
Óleo essencial de limão (% v/v)	-	0,025

Fonte: (*) BRASIL, 2000; BRASIL, 2018.

Segundo Bastos *et al.* (2014), as principais cultivares de laranjas doces utilizadas no processamento de suco são as cultivares Pera, Valência, Natal e Folha Murcha (Figura 1) Enquanto que no processamento de suco de limão são utilizadas as cultivares de lima ácida Tahiti e Galego (Figura 2).

Figura 1. Principais variedades de laranja utilizadas no processamento de suco.



Fonte: Adaptado de CITRÍCOLA LUCATO, 2016.

Figura 2. Limão Tahiti (*Citrus latifolia*) utilizado no processamento de suco.



Fonte: LORENZI *et al.*, 2006.

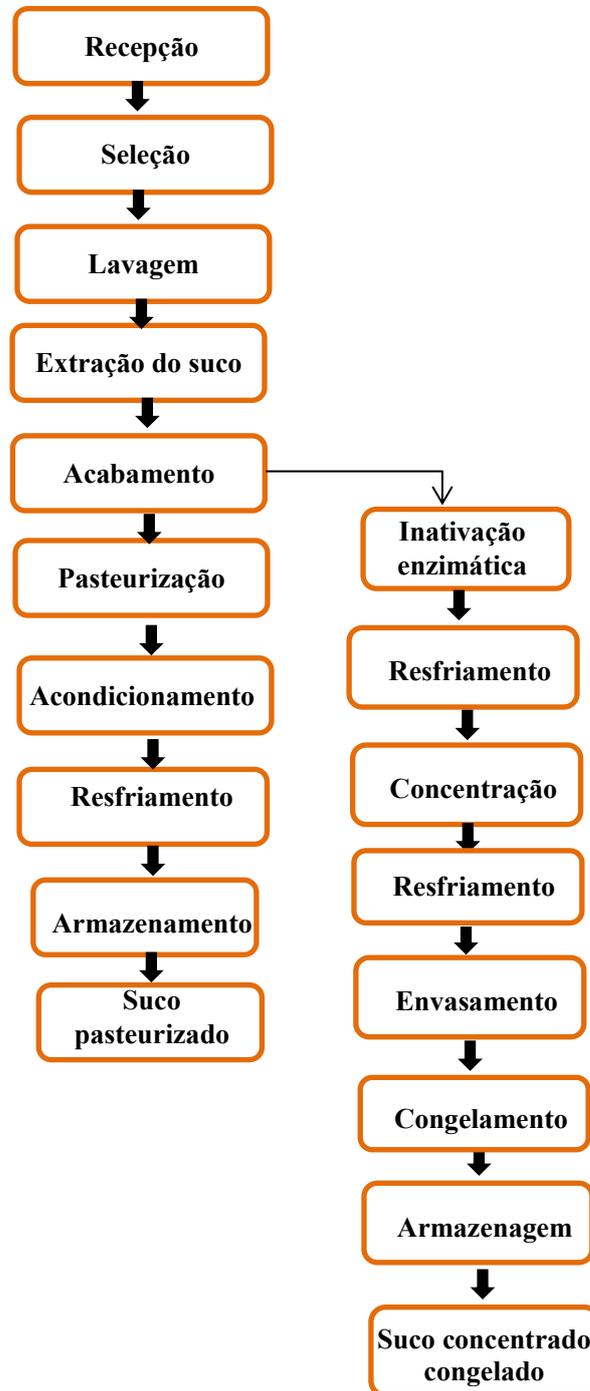
Durante o processamento de suco de frutas cítricas (Figura 3) as principais etapas compreendem a extração na qual o suco é separado dos demais componentes da fruta; o tratamento térmico para inibir a ação enzimática e reduzir a carga de microrganismos; refino ou acabamento para retirada de componentes sólidos que possam prejudicar a qualidade do suco; desaeração para eliminação do oxigênio presente; conservação através de pasteurização ou adição de conservante químico; envase e armazenamento (ROSENTHAL *et al.*, 2003).

Após o processamento dos sucos são gerados em maior quantidade os resíduos sólidos, que correspondem a aproximadamente 50% do fruto. Contendo em torno de 60-65% de casca, 30-35% de tecidos internos e até 10% de sementes. Sendo um resíduo caracterizado por altos níveis de fibras de celulose, pectina, proteínas e hemiceluloses (AWAN; TSUKAMOTO; TASIC, 2013; HEUZÉ *et al.*, 2018).

Os resíduos são um problema durante o processo industrial já que podem causar entupimento de tanques, além de ser necessário um tratamento de efluentes ou uso de aterros sanitários que representam um processo dispendioso para a indústria. Como forma de minimizar esses problemas as indústrias têm utilizado os resíduos principalmente na produção de ração animal, extração de pectina ou em alguns casos são descartados no meio ambiente sem o devido processamento (GARCIA-CASTELLO *et al.*, 2015; TRIPODO *et al.*, 2004; WIDMER; ZHOU; GROHMANN, 2010).

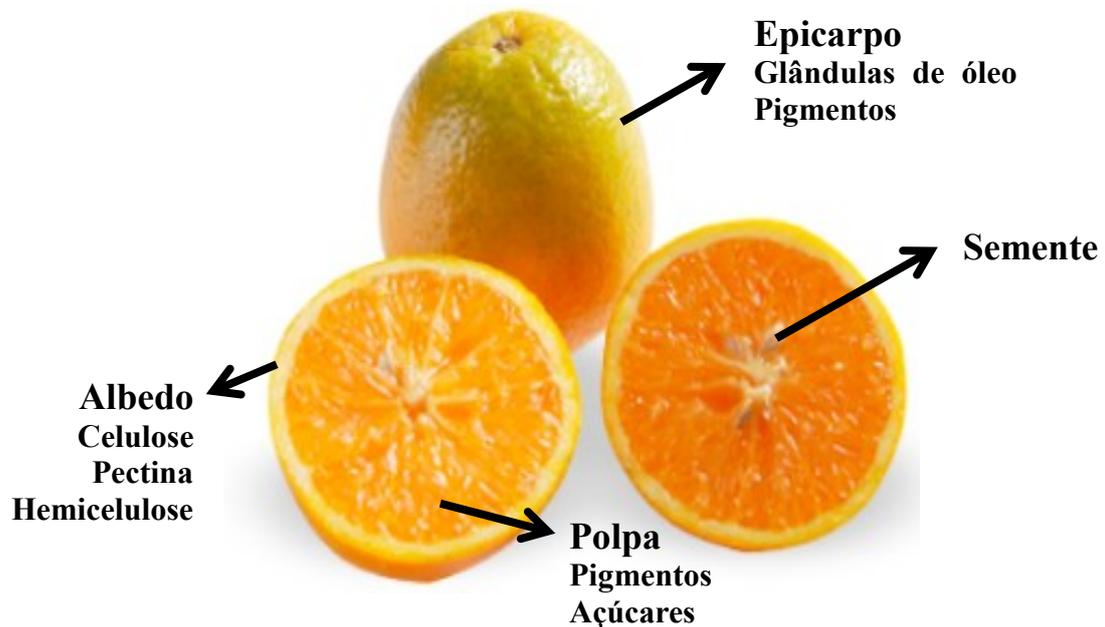
A casca das frutas cítricas é subdividida em epicarpo e mesocarpo ou albedo (Figura 4) (RAFIQ *et al.*, 2018). Diversos compostos importantes de valor comercial podem ser extraídos das cascas, maximizando a reutilização sustentável dos resíduos cítricos. Dentre os compostos encontrados nas cascas de frutas cítricas estão aqueles que são biologicamente ativos, como os polifenóis, incluindo ácidos fenólicos e flavonoides. Estes apresentam ação antioxidante, anti-inflamatória, antiproliferativa, antialérgica, antiviral, anticarcinogênica, neuroprotetora e antimicrobiana. Sendo assim, a reutilização das cascas de frutas cítricas se caracteriza como uma fonte importante de compostos bioativos promotores de saúde, podendo ser extraídos e destinados à indústria de alimentos como ingrediente para suplementação, ou ainda cosméticos naturais, produtos farmacêuticos e nutracêuticos (RAFIQ *et al.*, 2018; SHARMA *et al.*, 2017).

Figura 3. Fluxograma do processamento de suco de fruta pasteurizado e concentrado congelado



Fonte: Adaptado de ROSENTHAL *et al.*, 2003.

Figura 4. Anatomia de citros



Fonte: Adaptado de CITRÍCOLA LUCATO, 2016.

3.3 COMPOSIÇÃO DA LARANJA E LIMÃO

3.3.1 Açúcares e ácidos orgânicos

A maturação leva ao aumento no teor de sólidos das frutas cítricas, que possuem entre 70 a 80% de carboidratos em sua composição, sendo a sacarose, glicose e frutose os principais açúcares presentes. As laranjas possuem principalmente açúcares em sua composição, enquanto que as limas e limões são ricos em ácidos orgânicos.

O ácido cítrico e málico são os ácidos orgânicos de destaque nos cítricos. No entanto são encontrados também os ácidos succínico, láctico e oxálico em menores quantidades. Sendo que, nos sucos está mais presente o ácido cítrico, enquanto que nas cascas podem ser encontrados málico, malônico, oxálico, dentre outros (MATHEYAMBATH; PADMANABHAN; PALIYATH, 2016).

3.3.2 Minerais

Nas frutas cítricas pode ser encontrado cálcio, fósforo, magnésio, potássio, enxofre, sódio, ferro, manganês, níquel, boro, silício, cobre, zinco, molibdênio, selênio, cobalto, cromo, germânio e arsênio (ZOU *et al.*, 2016).

Enquanto que especificamente nos resíduos pode ser encontrado principalmente cálcio, ferro e magnésio, zinco, potássio, manganês, sódio e cobre (SILVA *et al.*, 2017a; BARROS, FERREIRA, GENOVESE, 2012).

3.3.3 Compostos bioativos

3.3.3.1 Vitamina C

As frutas cítricas estão entre as 10 principais fontes de vitamina C, sendo esta a vitamina predominante nos cítricos (MATHEYAMBATH; PADMANABHAN; PALIYATH, 2016; CRUZ-RUS; AMAYA; VALPUESTA, 2012). O conteúdo de vitamina C varia de acordo com o tecido, a fase de desenvolvimento do fruto e a variedade. A parte mais externa do fruto pode apresentar uma concentração entre 75 e 374 mg/100 g. Já no albedo, que corresponde a parte interna da casca podem ser encontradas concentrações entre 11 e 190 mg/100 g enquanto que na polpa as concentrações de vitamina C variam entre 20 e 70 mg/100 g. Sendo que as laranjas, em geral, apresentam maiores concentrações de vitamina C quando comparadas aos limões (ESCOBEDO-AVELLANEDA *et al.*, 2014; MARTÍ *et al.* 2009).

3.3.3.2 Carotenoides

Os carotenoides estão presentes nas frutas cítricas proporcionando a cor, mas também apresentam benefícios importantes relacionadas à saúde e nutrição (MELENDEZ-MARTINEZ *et al.*, 2010). Podem agir prevenindo a perda óssea e o desenvolvimento de doenças crônicas, além da redução de gordura visceral e atividade provitamina A (YAMAGUCHI, 2012; ABDELAALIA *et al.*, 2018; GRANADO-LORENCIO *et al.*, 2007; TAKAYANAGI *et al.*, 2011) Dentre os carotenoides presentes em frutas cítricas estão o β -caroteno, α -caroteno, β -criptoxantina, e licopeno (RODRIGO *et al.*, 2015).

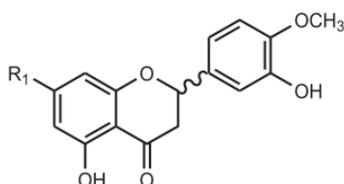
3.3.3.3 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são substâncias que apresentam anel aromático com um ou mais grupos hidroxila, incluindo seus grupos funcionais. São moléculas simples ou de alto grau de polimerização se apresentando nos vegetais na forma livre ou ligados a açúcares (glicosídeos) e proteínas (BRAVO, 1998; LEE *et al.* 2005). Podem ser classificados de acordo com o número de carbonos na molécula e, posteriormente, pelo arranjo desses carbonos na sua estrutura (MALLMANN, 2019).

Dentre com compostos fenólicos abundantes em citros destacam-se as hesperitinas (Figura 5), como a hesperidina e neohesperidina. Além das narigeninas (Figura 6), como a naringina e narirutina (KHAN; ZILL-E-HUMA, 2014).

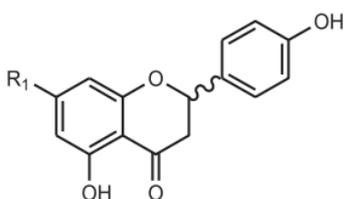
Os compostos com capacidade antioxidante têm se mostrado eficazes no controle e inativação de radicais livres, evitando seus efeitos indesejáveis no organismo. Desta forma os estudos a respeito do potencial antioxidante de extratos fenólicos de vegetais são um dos tópicos altamente pesquisados pela comunidade científica. Dentro deste tópico se encontram em destaque também os estudos *in vitro* destes compostos (MARTINS; BARROS; FERREIRA, 2016).

Figura 5. Estrutura química da hesperitina



Fonte: KHAN; ZILL-E-HUMA, 2014.

Figura 6. Estrutura química da narigenina



Fonte: KHAN; ZILL-E-HUMA, 2014.

3.4 BIOACESSIBILIDADE DE FENÓLICOS E ESTUDOS DE DIGESTÃO *IN VITRO*

Para realizar a avaliação da bioacessibilidade de fenólicos os estudos *in vivo* são dispendiosos e envolvem diversas questões éticas relacionadas o uso de animais ou humanos. Sendo assim tem-se como abordagem alternativa a digestão *in vitro*, que compreende uma metodologia mais barata, rápida e de simples execução e reprodutibilidade. Além disso, permitem um número maior de amostras analisadas e possibilita aplicar condições controladas (STINCO *et al.*, 2012; MINEKUS *et al.*, 2014).

Minekus *et al.* (2014) desenvolveram um método internacional padronizado de digestão *in vitro* adequado para matrizes alimentares. A digestão *in vitro* compreende três fases: oral, gástrica e intestinal. Através desta metodologia se busca reproduzir as condições fisiológicas *in vivo*. Para tanto são utilizadas enzimas digestivas em diferentes concentrações, variações de pH, tempo de digestão específicos para cada fase, diferentes concentrações de sal, dentre outros fatores.

Diversos estudos foram realizados empregando a digestão *in vitro*. Stinco *et al.* (2016) avaliaram os carotenoides, a cor e a capacidade antioxidante *in vitro* de 22 genótipos de laranja. Já Sun *et al.* (2019) utilizaram a digestão *in vitro* e células intestinais humanas para avaliar a bioacessibilidade de fitoquímicos e determinar a capacidade antioxidante de frutas cítricas.

São realizados também estudos quanto à bioacessibilidade de compostos extraídos de resíduos cítricos. Como feito no trabalho de Silva *et al.* (2017b), em que a avaliou-se a bioacessibilidade de cálcio, ferro e magnésio em resíduos de laranja e limão.

3.4.1 Bioatividade de fenólicos de citros

As propriedades benéficas à saúde promovidas pelas frutas cítricas estão atreladas a presença de compostos como os carotenoides, a vitamina C e os compostos fenólicos (SUN *et al.*, 2019).

Estudos relatam que os polifenóis agem como protetores contra a radiação UVA e estresse oxidativo (GOMEZ-MEJIA *et al.*, 2019), reduzem o risco de desenvolvimento de doenças crônicas, como neurodegeneração, câncer e doenças cardiovasculares (KHAN; ZILL-E-HUMA, 2014; RODRIGUEZ-MATEOS *et al.*, 2014), melhoram a qualidade óssea

(MANDADI *et al.*, 2009), apresentam potencial anti-inflamatório (PINHO-RIBEIRO *et al.*, 2016), dentre outros efeitos protetores.

Diversos trabalhos já foram realizados quanto às funções biológicas dos compostos fenólicos em citros, tanto relacionados aos sucos quanto aos resíduos resultantes do processamento das frutas.

Em estudo realizado por Oboh e Ademosun (2012) foram avaliadas diferentes cascas de frutas cítricas para caracterizar sua atividade antioxidante. Enquanto que Takayanagi *et al.* (2011) avaliaram a redução da gordura visceral em animais obesos e diabéticos e, Pinho-Ribeiro *et al.* (2016) avaliaram a ação da naringenina sobre a redução da dor inflamatória.

Quanto aos estudos realizados com resíduos já foram avaliados, capacidade antioxidante e conteúdo mineral de cascas de laranja e limão (BARROS; FERREIRA; GENOVESE, 2012), fitoquímicos e atividade antioxidante de suco, flavedo e albedo de laranja (ESCOBEDO-AVELLANEDA *et al.*, 2014), composição de flavonoides e atividade anti-inflamatória de casca de laranja (CHEN; TAIT; KITTS, 2017), dentre outros.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 REAGENTES

Os reagentes, padrões e enzimas Folin-Ciocalteu, ácido gálico, ABTS, Trolox, α -amilase, pepsina e pancreatina foram adquiridos da Sigma-Aldrich (St. Louis, EUA). Já os reagentes cloreto de cálcio e persulfato de potássio foram adquiridos da Vetec (Rio de Janeiro, Brasil) e o carbonato de sódio anidro foi adquirido da Neon (São Paulo, Brasil).

4.2 AMOSTRAS E PREPARO DE AMOSTRA

As laranjas e limões foram adquiridos em comercio local de Florianópolis. As cascas foram removidas e congeladas enquanto que os sucos foram extraídos utilizando espremedor de frutas (Mondial Turbo Citrus) e congelados para posterior análise.

4.3 ESTUDO DAS CONDIÇÕES DE EXTRAÇÃO E OBTENÇÃO DOS EXTRATOS

Para obter os extratos de casca de laranja e limão foram realizados testes com diferentes tempos de extração em água quente. A escolha dos tempos testados e da temperatura buscou simular a preparação caseira, em pequena escala, sem a utilização de solventes. Para preparar os extratos, as cascas foram cortadas em pedaços e para cada 5g de casca foram adicionados 30mL de água destilada aquecida. Em chapa de aquecimento, a temperatura da mistura foi mantida a $70\pm 2^{\circ}\text{C}$ por 5, 10 e 15 minutos. A seguir foi realizada a determinação de polifenóis totais e atividade antioxidante para observar se havia diferença estatística entre os extratos obtidos em tempos diferentes.

4.4 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

4.4.1 Determinação da acidez titulável em ácido orgânico

Os sucos e extratos de casca de laranja e limão foram caracterizados quanto à acidez titulável por volumetria. As análises foram realizadas em triplicata, conforme os métodos do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008). No procedimento, 2 mL de suco de limão ou 10mL de

suco de laranja, ou ainda 10mL de cada extrato, foram diluídos em 100 mL de água destilada. Adicionou-se fenolftaleína 1% e a titulação foi realizada com solução de NaOH 0,1 M até atingir coloração rosada permanente. A partir dos resultados obtidos de acidez titulável foi calculado o teor de ácidos orgânicos em cada amostra, considerando: 1 mL da solução de NaOH 0,1 mol/ L = 0,0064g de ácido cítrico anidro. Os resultados foram expressos em g ácido cítrico/100g de amostra.

4.4.2 Sólidos solúveis totais e pH

A determinação de sólidos solúveis dos sucos e extratos foi realizada por refratometria. Após a calibração com água destilada, foram transferidas de 2 a 3 gotas de cada amostra para o refratômetro e após a leitura o resultado foi expresso em graus Brix.

Para realizar a determinação de pH foi transferido 10 mL de cada amostra para um béquer onde a medição foi realizada utilizando pHmetro de bancada (Sartorius Docu-pHMeter).

4.4.3 Vitamina C

O teor de vitamina C foi determinado nas amostras de suco e extratos de casca utilizando solução de iodato de potássio 0,1 mol/L como titulante de acordo com a metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008). Inicialmente 25 mL de cada suco foi utilizado na análise, adicionou-se 20 mL de solução de ácido sulfúrico 20%, 1mL de solução de iodeto de potássio 10%, 2mL da solução de amido 1% e a titulação foi realizada com solução de iodato de potássio até atingir coloração pardo permanente. A partir do volume de iodato de potássio gasto durante a titulação foi possível determinar a porcentagem de ácido ascórbico, sendo os resultados expressos em mg ácido ascórbico/100g de amostra.

4.5 DIGESTÃO *IN VITRO*

A digestão *in vitro* foi realizada utilizando a metodologia padronizada desenvolvida por Minekus *et al.* (2014) com modificações. As amostras sólidas – casca de laranja e casca de limão – passaram pelas fases oral, gástrica e intestinal. Enquanto que as amostras líquidas

– suco de laranja, suco de limão, extrato de casca de laranja e extrato de casca de limão – não passaram pela fase oral.

Para realizar a fase oral da digestão *in vitro* as cascas foram trituradas em moinho analítico (IKA A11 Basic) e após a moagem foram transferidos 5g para cada tubo Falcon onde foram adicionados 2,5mL de fluido salivar simulado (487,5µL de água destilada, 12,5µL de CaCl₂, 2mL de enzima α-amilase). Esta etapa da digestão ocorreu em pH 7 (ajustado com NaOH 1M), por 2 minutos a 37°C.

A fração digerida da fase oral e as amostras líquidas ainda não digeridas (5mL de cada suco e extrato de casca) passaram pela fase gástrica onde foi adicionado 5mL de fluido gástrico simulado (1,9mL de água destilada, 2,5µL de CaCl₂, 3mL de pepsina). Nesta etapa o processo de digestão ocorreu em pH 3 (ajustado com HCl 1M), por 2 horas a 37°C sob agitação em shaker (IKA KS 4000 i control) e por fim a fração digerida foi centrifugada a 2480xg por 10 minutos em centrífuga Eppendorf (Centrifuge 5804 R).

As frações digeridas da fase gástrica foram submetidas na sequência à fase intestinal sendo adicionado 10mL de fluido intestinal simulado (6,9mL de água destilada, 20 µL de CaCl₂, 3mL de pancreatina) e a digestão ocorreu a pH 7,0 (ajustado com NaOH 1M), por 2 horas a 37°C sob agitação em shaker (IKA KS 4000 i control) e ao final desta fase a fração digerida foi centrifugada a 2480xg por 10 minutos em centrífuga Eppendorf (Centrifuge 5804 R).

As frações digeridas foram analisadas quanto ao teor de polifenóis totais e atividade antioxidante. Por fim foi determinado o índice de bioacessibilidade de polifenóis totais para todas as amostras:

$$IB (\%) = \frac{\text{concentração de polifenóis totais no fluido intestinal após digestão}}{\text{concentração de polifenóis totais na amostra inicial}} \times 100$$

4.6 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A determinação da atividade antioxidante foi realizada para todas as amostras através do método de captura do radical ABTS conforme descrito por Re *et al.* (1999). No procedimento, 200µL do radical ABTS foi diluído em 10mL de etanol 96° P.A. Após esta diluição 2,94mL do radical diluído foi transferido para cubeta e a leitura foi feita a 754nm, sendo esta a absorbância inicial (A₀). Após esta leitura foi adicionado ao A₀ 60 µL da amostra, agitou-se por alguns segundos e após 3 minutos no escuro foi feita a leitura

novamente, sendo esta a absorbância final (A_f). A partir dos resultados de A_0 e A_f foi possível calcular a porcentagem de inibição do radical ABTS utilizando a curva padrão de Trolox previamente preparada e, a partir da porcentagem de inibição foi calculada a concentração em mmol Trolox/L.

4.7 POLIFENÓIS TOTAIS

A determinação do teor de polifenóis totais foi realizada para todas as amostras a partir do método espectrofotométrico empregando o reagente Folin-Ciocalteu conforme a metodologia descrita por Singleton e Rossi (1965). Em tubo de ensaio foi adicionado 7,9mL de água destilada, 100 μ L de cada amostra, 0,5mL do reagente Folin-Ciocalteu. Após agitar e aguardar 3 minutos no escuro foi adicionado 1,5mL de solução de carbonato de sódio 20% e a mistura foi mantida no escuro por 2 horas. Após este período foi realizada a leitura da absorbância em espectrofotômetro (Hitachi U2910) no comprimento de onda de 760nm. A partir da absorbância final e utilizando a curva padrão de ácido gálico previamente preparada, foi possível calcular a concentração de polifenóis totais, expressa em mg de equivalente de ácido gálico/L de amostra.

4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) e teste de Tukey empregando o software STATISTICA versão 10.0 (StatSoft. Inc., Tulsa, USA). Todos os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão com nível de significância de 95%.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ESTUDO DAS CONDIÇÕES DE EXTRAÇÃO

Na Tabela 3 estão apresentados os resultados obtidos para polifenóis totais e atividade antioxidante dos extratos de casca preparados com diferentes tempos de extração em água quente. O tempo de extração de 15 minutos foi escolhido, pois se diferenciou estatisticamente dos demais tempos ($p < 0,05$), resultando em um maior teor de polifenóis extraídos e maior atividade antioxidante, tanto para o extrato de casca de laranja quanto de limão.

Dentre os solventes comumente utilizados para extração de polifenóis estão o etanol, propanol, metanol e acetona. Sendo amplamente utilizados devido a fácil dissolução dos compostos em solventes de maior polaridade. No entanto alguns deles apresentam toxicidade, como o metanol (LIEW *et al.*, 2018). Sendo assim, a água quente pode ser uma opção de solvente mais seguro e de simples uso para preparo de extratos de casca em pequena escala, de forma caseira, por exemplo.

A água quente já foi estudada como um solvente de interesse para extração de compostos de casca de frutas. Como no trabalho de Xu *et al.* (2008b) que estudaram a extração de compostos fenólicos e minerais de casca cítrica. Os autores relataram que a extração com água quente foi eficiente, sendo que o extrato apresentou capacidade antioxidante similar a do extrato obtido com metanol. Neste mesmo estudo, os autores também observaram que o aumento da temperatura ou tempo de extração não representou aumento expressivo do conteúdo de compostos fenólicos e capacidade antioxidante.

Tabela 3. Polifenóis totais e atividade antioxidantes dos extratos de casca de laranja e limão após 5, 10 e 15 minutos de extração em água quente

	Polifenóis totais			Atividade antioxidante		
	5 min.	10 min.	15 min.	5 min.	10 min.	15 min.
Extrato de laranja	184,1±0,0 ^c	212,1±0,0 ^b	271,1±2,0 ^a	6877,9±103,3 ^b	8293,8±814,7 ^a	9161,2±60,9 ^a
Extrato de limão	267,7±0,5 ^c	276,7±0,0 ^b	398,7±0,5 ^a	10351,9±64,9 ^b	9906,4±630,9 ^b	11566,1±54,6 ^a

Valores expressos como média ± desvio padrão (n=3). Letras minúsculas diferentes representam diferença significativa entre as amostras ($p < 0,05$). Polifenóis totais expressos em mg GAE/L. Atividade antioxidante expressa em mmol Trolox/L.

5.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DOS SUCOS E EXTRATOS DE CASCA

Na Tabela 4 estão apresentados os resultados referentes à caracterização físico-química das amostras de sucos e extratos de casca de laranja e limão.

Na determinação de vitamina C, não houve diferença estatística entre as amostras ($p > 0,05$). O suco de laranja apresentou 35,3mg ácido ascórbico/100g e portanto está dentro dos padrões de identidade e qualidade que determina o mínimo de 25mg ácido ascórbico/100g (BRASIL, 2000).

Para o extrato de casca de laranja foram encontrados 28,0mg ácido ascórbico/100g estando próximo ao resultado apresentado por Barros, Ferreira e Genovese (2012) que encontraram 24,3mg ácido ascórbico/100g em casca de laranja pera.

Segundo o Regulamento Técnico que dispõe sobre a ingestão diária recomendada de proteína, vitaminas e minerais, a IDR de vitamina C para adultos é de 45mg (ANVISA, 2005). Sendo assim, 100g do suco de laranja apresentou 78,4% da IDR e 100g da casca de laranja apresentou 62,2% da quantidade de vitamina C diária recomendada.

O suco de limão também se encontra dentro dos padrões de identidade e qualidade quanto à concentração de vitamina C e ácidos orgânicos, que devem ser de no mínimo 20mg/100g e 5g/100g, respectivamente (MAPA, 2000; MAPA, 2018).

Em um trabalho realizado por Sir Elkhatim, Elagib e Hassan (2018), que estudaram polpas e cascas de frutas cítricas, foram determinadas as concentrações de vitamina C na casca de laranja (110,4mg/100g) e de limão (58,5mg/100mL). Observa-se que os valores encontrados no trabalho citado são superiores aos encontrados neste trabalho, possivelmente devido ao uso de etanol para obtenção do extrato e também ao maior tempo de extração utilizado pelos autores (24 horas).

Todas as amostras diferiram estatisticamente entre si quanto ao pH ($p < 0,05$), sendo o suco de limão a amostra que apresentou o menor valor de pH. O resultado obtido de acidez para o suco de limão foi de 6,35g/100g, sendo semelhante ao valor apresentado por Marmitt, Betti e Oliveira (2016) que encontraram 6,64g ácido cítrico/100g em lima ácida Tahiti.

Tabela 4. Caracterização físico-química dos sucos e extratos de casca de laranja e limão

Amostras	Vitamina C	Acidez	Sólidos solúveis totais	pH
Suco de laranja	35,22±7,04 ^a	0,68±0,06 ^b	9,83±0,29 ^a	4,08±0,01 ^c
Extrato de laranja	28,08±12,14 ^a	0,06±0,00 ^d	1,00±0,00 ^c	5,28±0,01 ^a
Suco de limão	27,00±11,32 ^a	6,35±0,02 ^a	9,00±0,00 ^b	2,42±0,01 ^d
Extrato de limão	21,07±0,00 ^a	0,09±0,00 ^c	1,00±0,00 ^c	4,84±0,01 ^b

Valores expressos como média ± desvio padrão (n=3). Letras minúsculas diferentes representam diferença significativa entre as amostras (p<0,05). Vitamina C expressa em mg de ácido ascórbico/100g. Acidez expressa em g de ácido cítrico/100g. Sólidos solúveis totais expressos em °Brix.

5.3 TEOR DE POLIFENÓIS TOTAIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS SUCOS E EXTRATOS DE CASCA

Na Figura 7 estão apresentados os teores de polifenóis totais dos sucos e extratos de casca, sendo que todas as amostras diferiram estatisticamente (p<0,05).

O suco de laranja apresentou um teor de polifenóis totais (615,5mg GAE/L) próximo ao encontrado por outros autores. Como o descrito por Alegre (2015) que encontrou para laranja pera 79,0mg GAE/100mL. Assim como Mennah-Govela e Bornhorst (2017) que ao estudarem diferentes variedades de laranja (*Citrus sinensis*) encontraram teores de polifenóis totais entre 551 e 800mg GAE/L.

Em estudo realizado por Quan *et al.* (2018) os principais polifenóis individuais de cinco sucos de frutas foram identificados e quantificados antes e depois da digestão *in vitro*. O suco de laranja foi o que apresentou o maior teor de polifenóis, seguido do suco de maçã e de kiwi.

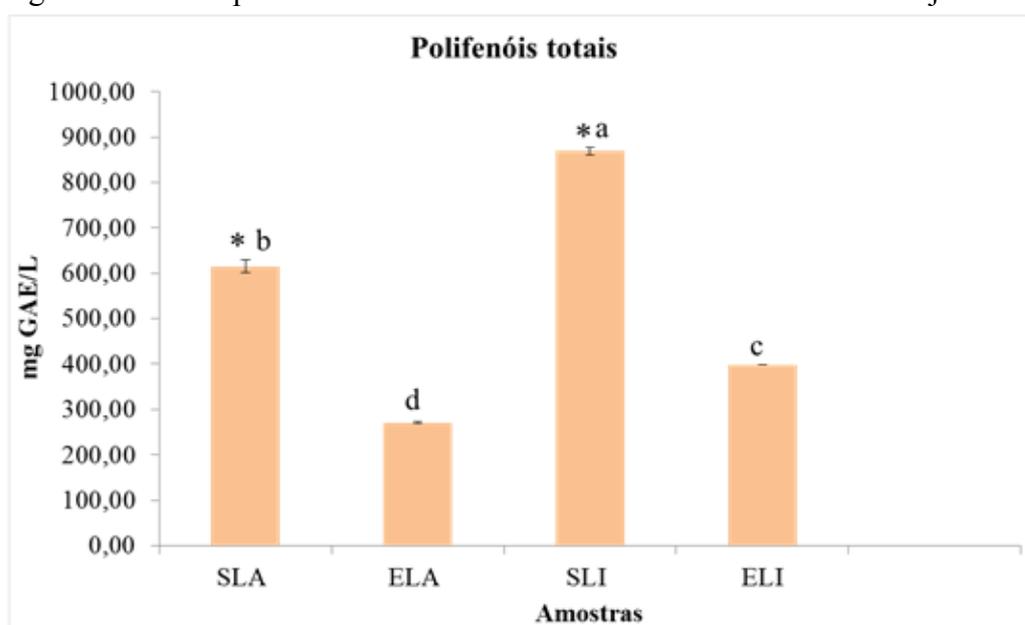
O extrato de casca (ELA) por sua vez apresentou menor teor de polifenóis quando comparado ao suco de laranja e demais amostras. Dentre os polifenóis encontrados em casca de laranja estão a hesperidina e hesperetina, e naringina, além de ácidos hidroxibenzoicos, como o ácido elágico (MADEIRA JR; MACEDO, 2015).

Suco e extrato de casca de limão foram as amostras que apresentaram os maiores teores de polifenóis totais, 868,83mg GAE/L e 398,77mg GAE/L, respectivamente. Diversas espécies de limão já foram avaliadas quanto ao teor de polifenóis sendo encontrado, por exemplo, para *Citrus limetta* 786mg GAE/L, para *Citrus hystrix* 836,9mg GAE/L, *Citrus*

limon 3700mg GAE/L e *Citrus aurantifolia* 455,2mg GAE/L (ABIRAMI; NAGARANI; SIDDHURAJU, 2014; KONAN; KONAN; KONE, 2015; DAMIAN-REYNA *et al.*, 2017; DUZZIONI *et al.*, 2010).

O extrato de casca de limão (ELI) apresentou um teor de polifenóis totais de 398,7mg GAE/L e, portanto, seu teor foi 54% menor quando comparado ao seu respectivo suco (SLI). Valores semelhantes ao encontrado para o extrato de limão foram obtidos por Diankov, Karsheva e Hinkov (2011) que ao estudarem antioxidantes da casca de limão encontraram valores de polifenóis totais entre 202,7 e 928,1mg GAE/L.

Figura 7. Teor de polifenóis totais dos sucos e extratos de casca de laranja e limão



Valores expressos como média \pm desvio padrão (n=3). Letras minúsculas diferentes representam diferença significativa entre as amostras ($p < 0,05$). (*) Representa diferença estatística em relação ao respectivo extrato. Polifenóis totais expressos em mg GAE/L. Suco de laranja (SLA). Suco de limão (SLI). Extrato de casca de laranja (ELA). Extrato de casca de limão (ELI).

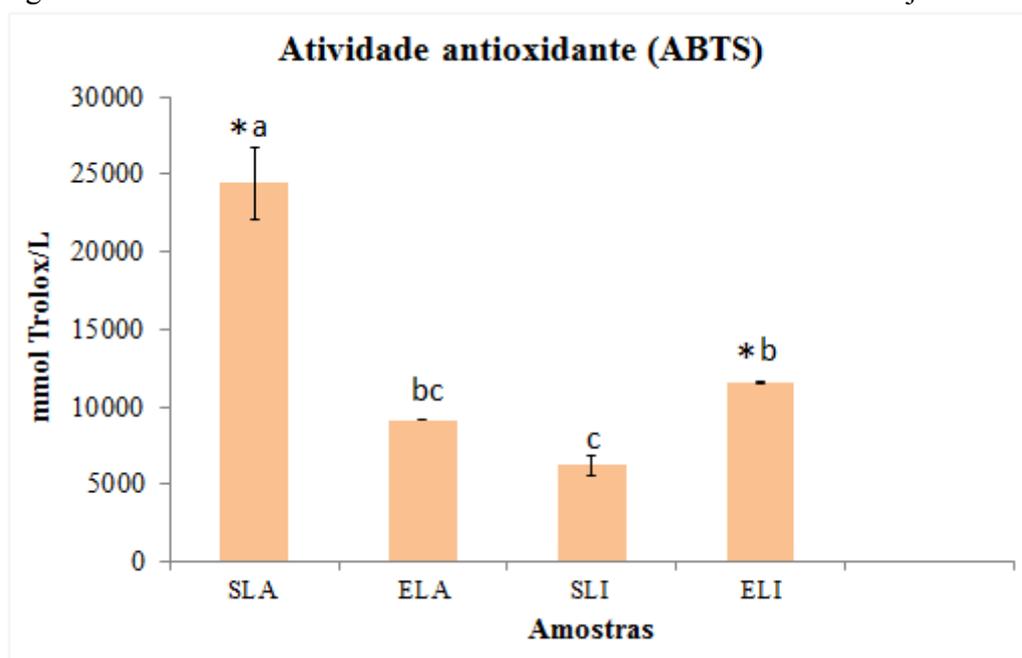
Na Figura 8 estão apresentadas as atividades antioxidantes dos sucos e extratos de casca. O suco de laranja apresentou atividade antioxidante maior que o extrato de casca (ELA). Enquanto que para o limão, o extrato de casca (ELI) apresentou maior atividade antioxidante quando comparado ao suco (SLI).

Dentre as diversas espécies e variedades de laranja e limão existentes há uma ampla faixa de valores encontrados para atividade antioxidante. Para laranja podem ser encontrados valores entre 2 e 12 mmol Trolox/L (MENNAH-GOVELA; BORNHORST, 2017; ARENA; FALLICO; MACCARONE, 2001; ESTEVE; FRIGOLA, 2008). Para limão, são encontradas

atividades antioxidantes entre 4 mmol Trolox/L (*Citrus limon*) e 144 mmol Trolox/L (*Citrus limetta*) (GONZÁLEZ-MOLINA *et al.* 2012; BARRECA *et al.*, 2011).

Portanto os valores encontrados para atividade antioxidante dos sucos de laranja e limão (Figura 8) estão acima dos valores encontrados por outros autores. Esta divergência pode ser resultado de diversos fatores, tais como diferentes espécies, variedades, grau de maturação, condições climáticas e local do cultivo (MOURA, 2010; COUTO; CANNIATTI-BRAZACA, 2010), além da variação nas concentrações de vitamina C e teores de composto individuais. Estes estão presentes nas frutas em diferentes quantidades e contribuem para a atividade antioxidante de forma distinta. Laranja, por exemplo, possui principalmente flavonoides, destacando-se a naringenina, hesperidina, luteolina e quercetina (QUAN *et al.*, 2018). Enquanto que no limão os principais compostos encontrados são flavonoides, como naringina e a luteolina e também ácidos fenólicos (WANG *et al.*, 2007).

Figura 8. Atividade antioxidante dos sucos e extratos de casca de laranja e limão



Valores expressos como média \pm desvio padrão (n=3). Letras minúsculas diferentes representam diferença estatística entre as amostras ($p < 0,05$). (*) Representa diferença estatística em relação ao seu respectivo suco ou extrato. Atividade antioxidante expressa em mmol Trolox/L. Suco de laranja (SLA). Suco de limão (SLI). Extrato de casca de laranja (ELA). Extrato de casca de limão (ELI).

Diferentemente do que se observa para as amostras de laranja, no caso do limão foi possível observar que o extrato de casca (ELI) apresentou maior atividade antioxidante quando comparado ao suco (SLI). Este resultado pode ser relacionado com possíveis perdas de compostos do suco de limão durante o processamento da fruta ou ainda durante as análises. Ou então, os valores superiores de atividade antioxidante do extrato de limão pode ser

resultado de uma maior concentração de compostos com atividade antioxidante na casca do que no suco do limão, coincidindo com resultados obtidos em outros trabalhos disponíveis na literatura. Isto é, diversos autores constataram que os compostos que possuem atividade antioxidante são mais abundantes nas cascas do que nos sucos e polpas para frutas como: toranja (*Citrus paradisi*), limão (*Citrus limon*), lima (*Citrus aurantiifolia*), laranja (*Citrus sinensis*) (GUIMARÃES *et al.*, 2010; OMOBA *et al.*, 2015; PEREIRA *et al.*, 2017;), maçã (VIEIRA *et al.*, 2009) e caju (CONTRERAS-CALDERÓN *et al.*, 2011).

5.4 ESTUDOS DE BIOACESSIBILIDADE

Como apresentado na Tabela 5, a digestão *in vitro* influenciou no teor de polifenóis totais das amostras. Sendo que os resultados de polifenóis totais das amostras diferiram estatisticamente entre si ($p < 0,05$), tanto para os sucos, quanto para os extratos de casca e cascas.

Ao final da digestão os extratos de laranja e limão apresentaram maior índice de bioacessibilidade quando comparados aos seus respectivos sucos. Isto é, o suco de laranja perdeu 82,7% do seu conteúdo inicial de polifenóis e o suco de limão foi a amostra que sofreu maior redução, 90,2% do conteúdo inicial de polifenóis foi perdido durante a digestão *in vitro*.

No trabalho desenvolvido por Mennah-Govela e Bornhorst (2017) que avaliaram as propriedades do suco de laranja fresco após a digestão *in vitro*, também foi observada redução no teor de polifenóis do suco de laranja da variedade Valencia (*Citrus sinensis* L. Osbeck). Assim como no trabalho de Tagliazucchi *et al.* (2010) que ao final da digestão *in vitro* de uvas obtiveram um total de polifenóis bioacessíveis correspondente a somente 62% do total extraído inicialmente.

Estas reduções no teor de polifenóis podem ser causadas pela instabilidade que estes compostos apresentam quando expostos ao pH alcalino da fase intestinal, de modo que podem sofrer reações químicas de oxidação ou polimerização (RODRIGUEZ-ROQUE *et al.*, 2014). Além da perda por exposição à luz durante as análises e possíveis interações com outros compostos presentes, como as enzimas digestivas e macronutrientes, podendo causar mudanças estruturais e perdas (QUAN *et al.*, 2018; MANACH *et al.*, 2004; OLIVEIRA; PINTADO, 2015).

Já as amostras de casca não sofreram perdas no teor de polifenóis totais, mas sim, aumento da concentração ao longo das fases da digestão. O índice de bioacessibilidade

encontrado para as frações digeridas foram de 188,7% para a casca de laranja e 143,6% para casca de limão.

Na Tabela 5 também estão apresentados os valores de atividade antioxidante das frações digeridas. De acordo com a metodologia de Minekus *et al.* (2014) as amostras líquidas não precisam obrigatoriamente passar pela fase oral, portanto os sucos e extratos de casca passaram somente pelas fases gástrica e intestinal.

Com exceção da casca de laranja, todas as demais amostras analisadas apresentaram redução na atividade antioxidante ao longo das fases da digestão *in vitro*. Para o suco de laranja houve uma redução de 83,6% da atividade antioxidante inicial, para o extrato laranja 67,5% de redução, suco de limão 52,9%, extrato de limão 62,6% e casca de limão 11,7% de redução.

A perda de atividade antioxidante pode ser relacionada com a instabilidade dos polifenóis às mudanças de pH, principalmente a exposição ao pH alcalino da fase intestinal. Sendo assim, alguns compostos podem ter sua estrutura alterada gerando novos compostos com características diferentes quanto à atividade antioxidante e bioacessibilidade (BERMÚDEZ-SOTO; TOMÁS-BARBERÁN; GARCÍA-CONESA, 2007).

Sabe-se ainda que não somente os polifenóis são responsáveis pela atividade antioxidante das frutas cítricas, mas também os carotenoides e a vitamina C (VIANA *et al.*, 2010). Xu *et al.* (2008a) estudaram 15 variedades de frutas cítricas e foi constatado que a contribuição do ácido ascórbico para a atividade antioxidante total de sucos cítricos foi superior a 50% para todas as variedades e espécies avaliadas, com base nos coeficientes de correlação do ácido ascórbico, fenólicos totais, DPPH, FRAP e ácidos fenólicos totais. Ainda segundos os autores, para o suco de laranja (*Citrus sinensis*) a contribuição do ácido ascórbico foi de 70,47% e para o suco de limão foi de 75,93%.

Sendo assim, a redução da atividade antioxidante observada ao longo da digestão (Tabela 5) pode ser resultado também da perda de vitamina C. Segundo Rodríguez-Roque *et al.* (2013) ao estudar a digestão *in vitro* de um suco misto (laranja, kiwi e abacaxi) foi observado que 39% da concentração de vitamina C presente na fase gástrica foi perdida após a fase intestinal. Constatando que a vitamina C é mais instável às condições intestinais do que às gástricas. Sendo a concentração de ácido ascórbico influenciada não somente pelo pH alcalino da fase intestinal, mas também por condições pelas quais a amostra é submetida ao longo da análise, como temperatura, luz, ação das enzimas presentes e oxigênio, por exemplo.

A casca de laranja foi a única amostra que apresentou comportamento diferente das demais amostras. Após passar da fase gástrica para a intestinal a atividade antioxidante

aumentou significativamente ($p < 0,05$). A fração digerida de casca de laranja após a fase intestinal apresentou atividade antioxidante 6,7% maior em relação à fase gástrica.

Esta diferença pode ser resultado da ação da enzima digestiva liberando mais compostos presentes na casca, aliado ao pH 3,0 da fase gástrica que proporciona um meio mais estável para os polifenóis (OLIVEIRA; PINTADO, 2015).

No Brasil, a estimativa da ingestão de polifenóis está entre 300-377,5mg/dia (MIRANDA *et al.*, 2016), sendo a laranja fonte de aproximadamente 70% do total de flavonoides ingeridos (ARABBI; GENOVESE; LAJOLO, 2004). Pérez-Jiménez *et al.* (2010), através do banco de dados Phenol-Explorer identificaram os 100 alimentos mais ricos em polifenóis e dentre eles estão sucos de laranja de duas variedades. No entanto a partir dos dados disponíveis na literatura e dos resultados obtidos neste trabalho (Tabela 5) observa-se que as cascas se destacam dos sucos. Isto é, os extratos de casca e cascas apresentaram maior índice de bioacessibilidade de polifenóis após passarem pela digestão *in vitro*. Sendo que, do maior índice de bioacessibilidade para o menor estão: casca de laranja, casca de limão, extrato de casca de laranja, extrato de casca de limão, suco de laranja e suco de limão.

Com base nestes resultados se constata que os resíduos do processamento de frutas cítricas apresentam grande potencial, sendo interessante avaliar alternativas de uso para que os resíduos sejam valorizados e possibilitem a extração de compostos que posteriormente podem ser adicionados em produtos e alimentos, agregando compostos bioativos à dieta.

Tabela 5. Polifenóis totais, atividade antioxidante e índice de bioacessibilidade das frações digeridas de suco, extrato de casca e casca de laranja e limão

	Polifenóis totais					Atividade antioxidante			
	Inicial	Oral	Gástrica	Intestinal	IB (%)	Inicial	Oral	Gástrica	Intestinal
Suco de laranja	615,5±13,2 ^a	-	248,8±6,7 ^b	106,8±0,3 ^c	17,3 ^E	24412,6±2315,7 ^a	-	7971,2±316,3 ^b	3990,6±66,6 ^c
Extrato de laranja	271,1±2,0 ^a	-	167,3±5,3 ^b	100,8±0,3 ^c	37,2 ^C	9161,1±60,9 ^a	-	5892,3±193,7 ^b	2974,5±343,9 ^c
Casca de laranja	271,1±2,0 ^d	448,3±8,8 ^c	1208,1±33,9 ^a	511,6±9,9 ^b	188,7 ^A	9161,1±60,9 ^b	9750,5±579,9 ^{ab}	9636,9±129,1 ^b	10333,5±232,1 ^a
Suco de limão	868,8±7,6 ^a	-	160,6±0,0 ^b	85,6±14,8 ^c	9,8 ^F	6205,81±639,8 ^a	-	5736,3±40,1 ^a	2923,0±141,3 ^b
Extrato de limão	398,7±0,5 ^a	-	177,6±0,7 ^b	95,6±4,2 ^c	23,9 ^D	11566,0±54,5 ^a	-	5068,0±615,1 ^b	4321,2±2115,1 ^b
Casca de limão	398,7±0,5 ^c	404,1±83,4 ^c	1310,8±56,9 ^a	572,8±11,6 ^b	143,6 ^B	11566,0±54,5 ^a	8945,9±2032,9 ^b	10436,7±503,8 ^{ab}	10213,3±513,9 ^{ab}

Valores expressos como média ± desvio padrão (n=3). Polifenóis totais expressos em mg GAE/L. Atividade antioxidante expressa em mmol Trolox/L. (IB%) Índice de bioacessibilidade. (-) amostras líquidas não passam pela fase oral (MINEKUS *et al.*, 2014). Letras minúsculas diferentes representam diferença estatística entre a amostra inicial e suas respectivas frações digeridas (p<0,05). Letras maiúsculas diferentes representam diferença estatística entre os índices de bioacessibilidade de todas as amostras (p<0,05).

6 CONCLUSÃO

A caracterização físico-química das amostras permitiu observar semelhanças e diferenças existentes entre extrato de casca e suco. Não houve diferença significativa entre as amostras de suco e extrato de casca quanto à concentração de vitamina C. De modo que os extratos de casca poderiam incrementar a ingestão diária recomendada de vitamina C caso fossem adicionados à dieta. Enquanto que os extratos apresentaram menor acidez e sólidos solúveis quando comparados aos seus respectivos sucos.

Ao determinar o teor de polifenóis totais, os sucos apresentaram maiores teores quando comparados aos seus respectivos extratos de casca. Quanto à determinação da atividade antioxidante o suco de laranja apresentou maior capacidade antioxidante que seu extrato de casca. Enquanto que para as amostras de limão, o extrato de casca se destacou quanto à capacidade antioxidante, coincidindo com trabalhos disponíveis na literatura, que observaram maior concentração de compostos com atividade antioxidante nas cascas do que nos sucos. Portanto, nem todas as amostras que apresentaram maior teor de polifenóis totais apresentaram também maior atividade antioxidante. Isto porque a atividade antioxidante da laranja e limão não está relacionada somente ao teor de polifenóis totais, mas também a presença de compostos individuais, como a naringenina, quercetina e hesperidina, que estão em diferentes quantidades em cada fruta. Porém tem maior destaque a presença da vitamina C, que nestas frutas apresenta grande porcentagem de contribuição para a atividade antioxidante total.

O estudo de bioacessibilidade permitiu concluir que, após a digestão *in vitro*, os extratos de casca e cascas apresentaram maiores índices de bioacessibilidade de polifenóis tanto para laranja quanto limão. As cascas também foram as amostras que sofreram as menores perdas de atividade antioxidante ao longo da digestão *in vitro*. Sendo assim, ao comparar o suco com a casca para as duas frutas, observa-se que as cascas apresentaram melhores resultados quanto à bioacessibilidade de polifenóis totais e também atividade antioxidante. Estes resultados demonstram o potencial existente nos resíduos de casca de frutas cítricas que comumente são destinados à alimentação animal ou até mesmo são descartados, enquanto que poderiam ser transformados em subprodutos de valor, que disponibilizam conteúdos importantes de compostos bioativos. Estes podem ser adicionados a formulações de alimentos, por exemplo, agregando propriedades funcionais e bioativas e atuando na promoção de saúde aos consumidores.

REFERÊNCIAS

- ABDELAALIA, S. B. *et al.* Carotenoids and colour diversity of traditional and emerging Tunisian orange cultivars (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck). **Scientia Horticulturae**, v. 227, p. 296–304, 2018.
- ABIRAMI, A.; NAGARANI, G.; SIDDHURAJU, P. *In vitro* antioxidant, anti-diabetic, cholinesterase and tyrosinase inhibitory potential of fresh juice from *Citrus hystrix* and *C.maxima* fruits. **Food Science and Human Wellness**, v. 3, p. 16–25, 2014.
- AHMAD-QASEM, M. H. *et al.* Influence of olive leaf processing on the bioaccessibility of bioactive polyphenols. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, p. 6190–6198, 2014.
- ALEGRE, G. F. S. **Determinação de compostos bioativos e capacidade antioxidante em sucos frescos e pasteurizados de laranja**. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista. São Paulo, 70 p. 2015.
- ARABBI, P. R.; GENOVESE, FRANCO, M. I.; LAJOLO, F. M. Flavonoids in vegetable foods commonly consumed in Brazil and estimated ingestion by the brazilian population. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 1124–1131, 2004.
- ARENA, E.; FALLICO, B.; MACCARONE, E. Evaluation of the antioxidant capacity of blood orange juices as influenced by constituents, concentration process and storage. **Food Chemistry**, v. 74, p. 423–427, 2001.
- ANVISA. Resolução RDC nº 269, de 22 de setembro de 2005. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil União**, Brasília, 23 set. 2005. Seção 1, p. 372. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/legislacao#/visualizar/27628>. Acesso em: 02 nov. 2019.
- AWAN, A.T.; TSUKAMOTO, J.; TASIC, L. Orange waste as a biomass for 2G-ethanol production using low cost enzymes and co-culture fermentation. **RSC Advances**, v. 3, p. 25071-25078, 2013.
- BARRECA, D. *et al.* Flavonoid profile and radical-scavenging activity of Mediterranean sweet lemon (*Citrus limetta* Risso) juice. **Food Chemistry**, v. 129, n. 2, p. 417–422, 2011.
- BARROS, H. R.; FERREIRA, T. A.; GENOVESE, M. I. Antioxidant capacity and mineral content of pulp and peel from commercial cultivars of *citrus* from Brazil. **Food Chemistry**, v.134, p. 1892–1898, 2012.
- BASTOS, D. C. *et al.* Copa e porta-enxertos para a citricultura brasileira. **Informe Agropecuário**, v.35, n. 281, p. 36-45, 2014.
- BERMÚDEZ-SOTO, M. J.; TOMÁS-BARBERÁN, F.A.; GARCÍA-CONESA, M. T. Stability of polyphenols in chokeberry (*Aronia melanocarpa*) subjected to *in vitro* gastric and pancreatic digestion. **Food Chemistry**, v. 102, n. 3, p. 865-874, 2007.
- BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutrition significance. **Nutrition Reviews**, v. 56, n. 11, p. 317-33, 1998.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº 37, de 1 de outubro de 2018. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil União**, Brasília, 08 out. 2018. Seção 1, p. 23. Disponível em: http://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/44304943/do1-2018-10-08-instrucao-normativa-n-37-de-1-de-outubro-de-2018-44304612. Acesso em: 02 nov. 2019.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 1, de 07 de janeiro de 2000. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil União**, Brasília, de 10 jan. 2000. Seção 1, p. 54. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/vigilancia-agropecuaria/ivegetal/bebidas-arquivos/in-no-1-de-7-de-janeiro-de-2000.doc/view>. Acesso em: 02 nov. 2019.

CHEN, X. M.; TAIT, A. R.; KITTS, D. D. Flavonoid composition of orange peel and its association with antioxidant and anti-inflammatory activities. **Food Chemistry**, v. 218, p. 15-21, 2017.

CILLA, A. *et al.* Availability of polyphenols in fruit beverages subjected to *in vitro* gastrointestinal digestion and their effects on proliferation, cell-cycle and apoptosis in human colon cancer Caco-2 cells. **Food Chemistry**, v. 114, p. 813–820, 2009.

CITRICOLA LUCATO. **Laranjas**. Disponível em: <http://www.citricolalucato.com.br/produtos?dep=101>. Acesso em: 26 ago. 2019.

CONTRERAS-CALDERÓN, J. *et al.* Antioxidant capacity, phenolic content and vitamin C in pulp, peel and seed from 24 exotic fruits from Colombia. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 2047–2053, 2011.

COUTO, M. A. L.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G. Quantificação de vitamina C e capacidade antioxidante de variedades cítricas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, p. 15-19, 2010.

CRUZ-RUS, E.; AMAYA, I.; VALPUESTA, V. The challenge of increasing vitamin C content in plant foods. **Biotechnology Journal**, v. 7, p. 1110-1121, 2012.

CUNHA SOBRINHO, A. P. *et al.* **Cultura do Citros**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2013. v. 1. 399 p.

DAMIAN-REYNA, A. A. *et al.* Polyphenolic content and bactericidal effect of Mexican *Citrus limetta* and *Citrus reticulata*. **Journal of Food Science and Technology**, v. 54, n. 2, p. 531–537, 2017.

DIANKOV, S.; KARSHEVA, M.; HINKOV, I. Extraction of natural antioxidants from lemon peels. Kinetics and antioxidant capacity. **Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy**, v. 46, n. 3, p. 315-319, 2011.

DUZZIONI, A. G. *et al.* Determination of antioxidant activity and antioxidant constituents of *citrus* fruits. **Alimentos e Nutrição**, v. 21, n. 4, p. 643-649, 2010.

ESTEVE, M. J.; FRIGOLA, A. The effects of thermal and non-thermal processing on vitamin C, carotenoids, phenolic compounds and total antioxidant capacity in orange juice. **Tree and foresting science and biotechnology**, v. 2, n. 1, p. 128–134, 2008.

ESCOBEDO-AVELLANEDA, Z. *et al.* Phytochemicals and antioxidant activity of juice, flavedo, albedo and comminuted orange. **Journal of Functional Foods**, v. 6, p. 470–481, 2014.

FNP Consultoria & Comércio. **Agrianual 2017: anuário da agricultura brasileira**. São Paulo: Informa Economics FNP, 2017. p. 233-262.

FRANCO, A. S. M. O suco de laranja brasileiro no mercado global. **Análise Conjuntural**, v.38, n.11-12, 2016.

Fundo de Defesa da Citricultura *et al.* **Inventário de árvores do cinturão citrícola de São Paulo e Triângulo/Sudoeste Mineiro: retrato dos pomares em março de 2017**. São Paulo: Fundecitrus, 2017. 95 p.

GARCIA-CASTELLO, E. M. *et al.* Optimization of conventional and ultrasound assisted extraction of flavonoids from grapefruit (*Citrus paradisi* L.) solid wastes. **LWT - Food Science and Technology**, v. 64, p. 1114-1122, 2015.

GOMEZ-MEJIA, E. *et al.* Citrus peels waste as a source of value-added compounds: Extraction and quantification of bioactive polyphenols. **Food Chemistry**, v. 295, p. 289-299, 2019.

GONZÁLEZ-MOLINA E. *et al.* New beverages of lemon juice with elderberry and grape concentrates as a source of bioactive compounds. **Journal of Food Science**, v. 77, n. 6, 2012.

GOTTEMS, L. **Com mais da metade da produção mundial de suco de laranja, frutas cítricas no Brasil potencializam o PIB nacional**. Disponível em: https://www.agrolink.com.br/noticias/com-mais-da-metade-da-producao-mundial-de-suco-de-laranja--frutas-citricas-no-brasil-potencializam-o-pib-nacional_356376.html. Acesso em: 19 ago. 2019.

GRANADO-LORENCIO, F. *et al.* Comparative *in vitro* bioaccessibility of carotenoids from relevant contributors to carotenoid intake. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 6387– 6394, 2007.

GUERRA, A. *et al.* Relevance and challenges in modeling human gastric and small intestinal digestion. **Trends in Biotechnology**, v. 30, n. 11, p. 591-600, 2012.

GUIMARÃES, R. *et al.* Targeting excessive free radicals with peels and juices of citrus fruits: Grapefruit, lemon, lime and orange. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, p.99-106, 2010.

HEUZÉ, V. *et al.* **Citrus pulp, dried. Feedipedia, a programme by INRA, CIRAD, AFZ and FAO**. Disponível em: <https://www.feedipedia.org/node/680>. Acesso em: 19 ago. 2019.

IAL - INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análises de alimentos**. 4. ed. São Paulo: IAL, 2008. 1020 p.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola: Pesquisa mensal de previsão e acompanhamento das safras agrícolas no ano civil - LSPA**. Rio de Janeiro, v.30, n.1, p.1-81, 2017.

JAYAPRAKASHA, G. K.; PATIL, B. S. In vitro evaluation of the antioxidant activities in fruit extracts from citron and blood orange. **Food Chemistry**, v. 101, n. 1, p. 410-418, 2007.

KHAN, M. K.; ZILL-E-HUMA, D. O. A comprehensive review on flavanones, the major *citrus* polyphenols. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 33, p. 85-104, 2014.

KIST, B. B. *et al.* **Anuário brasileiro da fruticultura**. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2018. 88 p.

KONAN, A. G.; KONAN, Y.; KONE, M. W. Polyphenols content and antioxidant capacity of traditional juices consumed in Côte d'Ivoire. **Journal of Applied Biosciences**, v. 87, p. 8015– 8021, 2015.

LEE, S. J. *et al.* Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. **Food Chemistry**, v. 91, n. 1, p. 131-7, 2005.

LIEW, S. S. *et al.* Phytochemical composition and *in vitro* antioxidant activities of *Citrus sinensis* peel extracts. **PeerJ**, v. 6, p. 1-16, 2018.

LIN, C. S. K. *et al.* Food waste as a valuable resource for the production of chemicals, materials and fuels: current situation and global perspective. **Energy & Environmental Science**, v. 6, p. 426–464, 2013.

LOPES, J.M.S. *et al.* Importância econômica do citros no Brasil. **Revista científica eletrônica de agronomia**, n. 20, 2011.

LORENZI, H. *et al.* **Frutas Brasileiras e Exóticas Cultivadas de consumo in natura**. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2006. 640 p.

MADEIRA JR, J. V.; MACEDO, G. A. Simultaneous extraction and biotransformation process to obtain high bioactivity phenolic compounds from Brazilian *citrus* residues. **Biotechnology Progress**, v. 31, n. 5, p. 1273-1279, 2015.

MALLMANN, L. P. **Estudo dos compostos fenólicos não explorados do araçá amarelo e vermelho por LC-DAD-ESI-MS/MS**. Porto Alegre: UFRGS. 142 p. Tese Mestrado. 2019.

MANACH, C. *et al.* Polyphenols: Food sources and bioavailability. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 79, p. 727–747.

MANDADI, K. *et al.* *Citrus* bioactive compounds improve bone quality and plasma antioxidant activity in orchidectomized rats. **Journal of Phytotherapy & Phytopharmacology**, v.16, n. 6, p. 513-520, 2009.

MARTÍ, N. *et al.* Vitamin C the role of *citrus* juices as functional food. **Natural Product Communications**, v. 4, p. 677–700, 2009.

MATHEYAMBATH, A. C.; PADMANABHAN, P.; PALIYATH, G. *Citrus* Fruits. **Encyclopedia of Food and Health**, p.136-140, 2016.

MARMITTI, L. G.; BETTI, J.; OLIVEIRA, E. C. Determinação de ácido cítrico e pH em diferentes cultivares de limão e marcas de sucos artificiais de limão em pó. **Destaques Acadêmicos**, v. 8, n. 4, p. 245-252, 2016.

- MARTINS, N.; BARROS, L.; FERREIRA, I. C.F.R. *In vivo* antioxidant activity of phenolic compounds: Facts and gaps. **Trends in Food Science & Technology**, v. 48, p. 1-12, 2016.
- MELLENDEZ-MARTINEZ, A. J. *et al.* Study of the influence of carotenoid structure and individual carotenoids in the qualitative and quantitative attributes of orange juice color. **Food Research International**, v. 43, p. 1289–1296, 2010.
- MINEKUS, M. *et al.* A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food-an international consensus. **Food & Function**, v. 5, p. 1113–1124, 2014.
- MIRANDA, A. M. *et al.* Dietary intake and food contributors of polyphenols in adults and elderly adults of Sao Paulo: a population-based study. **British Journal of Nutrition**, v. 115, p. 1061–1070, 2016.
- MENNAH-GOVELA, Y. A.; BORNHORST, G. M. Fresh-squeezed orange juice properties before and during *in vitro* digestion as influenced by orange variety and processing method. **Journal of Food Science**, v. 82, n. 10, p. 2438-2447, 2017.
- MOURA, L. M. **Compostos bioativos em frutas cítricas: quantificação, avaliação da atividade antioxidante, parâmetros de cor e efeito da pasteurização.** Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. São Paulo, 153 p. 2010.
- NEVES, M. F. *et al.* **O retrato da citricultura brasileira.** Ribeirão Preto: CitrusBr-MarkEstrat, 2011. 138 p.
- OBOH, G.; ADEMOSUN, A. O. Characterization of the antioxidant properties of phenolic extracts from some *citrus* peels. **Journal of Food Science and Technology**, v. 49, n. 6, p. 729-736, 2012.
- OLIVA, F. A. *et al.* Cultura do limão no Brasil: Custo de produção e lucratividade. **Colloquium Agrariae**, v. 13, p. 65-70, 2017.
- OLIVEIRA, A.; PINTADO, M. Stability of polyphenols and carotenoids in strawberry and peach yoghurt throughout *in vitro* gastrointestinal digestion. **Food & Function**, v. 6, p. 1611-1619, 2015.
- OMOBA, O. S. *et al.* HPLC-DAD phenolic characterization and antioxidant activities of ripe and unripe sweet orange peels. **Antioxidants**, v. 4, p. 498-512, 2015.
- PASSOS, O. S. *et al.* **Banco ativo de germoplasma de citros da Embrapa Mandioca e Fruticultura.** Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2016. 6p.
- PEREIRA, R. M. S. *et al.* Quantification of flavonoids in brazilian orange peels and industrial orange juice processing wastes. **Agricultural Sciences**, v. 8, p. 631-644, 2017.
- PÉREZ-JIMÉNEZ, J. *et al.* Identification of the 100 richest dietary sources of polyphenols: an application of the Phenol-Explorer database. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 64, p. 112-120, 2010.
- PINHO-RIBEIRO, F. A. *et al.* The *citrus* flavonone naringenin reduces lipopolysaccharide-induced inflammatory pain and leukocyte recruitment by inhibiting NFκB activation. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 33, p. 8–14, 2016.

- PODSEDEK, A. *et al.* Matrix effects on the stability and antioxidant activity of red cabbage anthocyanins under simulated gastrointestinal digestion. **Biomed Research International**, p. 1–11, 2014.
- QUAN, W. *et al.* Stability of the phenolic compounds and antioxidant capacity of five fruit (apple, orange, grape, pomelo and kiwi) juices during *in vitro*-simulated gastrointestinal digestion. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 53, p. 1131–1139, 2018.
- RAFIQ, S. *et al.* Citrus peel as a source of functional ingredient: A review. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, v. 17, p. 351–358, 2018.
- RE, R. *et al.* Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, p. 1231–1237, 1999.
- REZZADORI, K.; BENEDETTI, S. Proposições para valorização de resíduos do processamento do suco de laranja. 2nd international workshop. Advances in cleaner production, p. 1–11, 2009.
- RODRIGO, M. J. *et al.* Carotenoid bioaccessibility in pulp and fresh juice from carotenoid-rich sweet oranges and mandarins. **Food Functional**, v. 6, p. 1950–1959, 2015.
- RODRIGUEZ-MATEOS, A. *et al.* Bioavailability, bioactivity and impact on health of dietary flavonoids and related compounds: an update. **Archives of Toxicology**, v.3, p. 1803–1853, 2014.
- RODRÍGUEZ-ROQUE, M. J. *et al.* *In vitro* bioaccessibility of health-related compounds as affected by the formulation of fruit juice- and milk-based beverages. **Food Research International**, v. 62, p. 771–778, 2014.
- RODRÍGUEZ-ROQUE, M. J. *et al.* Changes in vitamin C, phenolic, and carotenoid profiles throughout *in vitro* gastrointestinal digestion of a blended fruit juice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, p. 1859–1867, 2013.
- ROSENTHAL, A. *et al.* Processo de produção. In: **Iniciando um pequeno grande negócio agroindustrial: polpa e suco de frutas**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2003. 123 p.
- SATARIA, B.; KARIMIA, K. Citrus processing wastes: Environmental impacts, recent advances, and future perspectives in total valorization. **Resources, Conservation & Recycling**, v. 129, p. 153–167, 2018.
- SHARMA, K. *et al.* Converting citrus wastes into valueadded products: Economic and environmently friendly approaches. **Nutrition**, v. 34, p. 29–46, 2017.
- SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, p. 144–168, 1965.
- SILVA, J. G. S. *et al.* Optimization and validation of a simple method for mineral potential evaluation in citrus residue. **Food Analytical Method**, v. 10, p. 1899–1908, 2017a.

SILVA, J. G. S. *et al.* Bioaccessibility of calcium, iron and magnesium in residues of *citrus* and characterization of macronutrients. **Food Research International**, v. 97, p. 162-169, 2017b.

SILVA, C. E. F. *et al.* Use of 'lime' orange and their wastes in the development of new products. **Revista Brasileira de Engenharia de Biosistemas**, v. 10, n. 1, p. 69-96, 2016.

SIR ELKHATIM, K. A.; ELAGIB, R. A. A.; HASSAN, A. B. Content of phenolic compounds and vitamin C and antioxidant activity in wasted parts of Sudanese *citrus* fruits. **Food Science & Nutrition**, v. 6, p. 1214–1219, 2018.

STINCO, C. M. *et al.* Effect of orange juice's processing on the color, particle size, and bioaccessibility of carotenoids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, p.1447-1455, 2012.

STINCO, C. M. *et al.* Multivariate analyses of a wide selection of orange varieties based on carotenoid contents, color and *in vitro* antioxidant capacity. **Food Research International**, v. 90, p. 194–204, 2016.

SUN, Y. *et al.* Flavonoids, phenolic acids, carotenoids and antioxidant activity of fresh eating *citrus* fruits, using the coupled *in vitro* digestion and human intestinal HepG2 cells model. **Food Chemistry**, v. 279, p. 321-327, 2019.

TAGLIAZUCCHI, D. *et al.* *In vitro* bioaccessibility and antioxidant activity of grape polyphenols. **Food Chemistry**, v. 120, p. 599–606, 2010.

TAKAYANAGI, K. *et al.* Mechanism of visceral fat reduction in Tsumura Suzuki obese, diabetes (TSOD) mice orally administered beta-cryptoxanthin from Satsuma mandarin oranges (*Citrus unshiu* Marc). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 12342–12351, 2011.

TRIPODO, M.M. *et al.* *Citrus* waste recovery: a new environmentally friendly procedure to obtain animal feed. **Bioresource Technology**, v. 91, n. 2, p. 111-115, 2004.

USDA. United States Department of Agriculture. **Brazil Citrus Semi-annual - GAIN Reports**. Washington: Foreign Agricultural Service, 2017. 11p.

USDA. United States Department of Agriculture. **Brazil Citrus Semi-annual - GAIN Reports**. Washington: Foreign Agricultural Service, 2018. 16p.

VIANA, D. S. **Lima ácida (*Citrus latifolia*, Tanaka), cv *Tahiti*, de cultivos convencional e orgânico biodinâmico: avaliação da capacidade antioxidante dos sucos *in natura* e clarificados por membranas de microfiltração**. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 100 p. 2010.

VIEIRA, F.G. K. *et al.* Activity and contents of polyphenolic antioxidants in the whole fruit, flesh and peel of three apple cultivars. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 59, p. 101-106, 2009.

VILLA, F. *et al.* Produtividade e fenologia de lima ácida Tahiti e região subtropical de baixa altitude do Paraná. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 16, n. 2, p.171-178, 2017.

XU, G. *et al.* Juice components and antioxidant capacity of *citrus* varieties cultivated in China. **Food Chemistry**, v. 106, p. 545–551, 2008a.

XU, G. H. *et al.* Minerals, phenolic compounds, and antioxidant capacity of *citrus* peel extract by hot water. **Journal of Food Science**, v. 73, n. 1, 2008b.

ZOU, Z. *et al.* Antioxidant activity of citrus fruits. **Food Chemistry**, v. 196, p. 885-896, 2016.

WANG, Y.-C.; CHUANG, Y.-C.; KU, Y.-H. Quantitation of bioactive compounds in *citrus* fruits cultivated in Taiwan. **Food Chemistry**, v. 102, p. 1163-1171, 2007.

WEI, Y. *et al.* Environmental challenges impeding the composting of biodegradable municipal solid waste: a critical review. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 122, p. 51–65, 2017.

WIDMER, W.; ZHOU, W.; GROHMANN, K. Pretreatment effects on orange processing waste for making ethanol by simultaneous saccharification and fermentation. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 14, p. 5242–5249, 2010.

YAMAGUCHI, M. Role of carotenoid β -cryptoxanthin in bone homeostasis. **Journal of Biomedical Science**, v. 19, p. 1-13, 2012.