

FABIANA GONÇALVES TEIXEIRA

DETERMINAÇÃO DE VITAMINA C EM CASCAS DE CITRINOS

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade de Ciências da Saúde

Porto, 2018

FABIANA GONÇALVES TEIXEIRA

DETERMINAÇÃO DE VITAMINA C EM CASCAS DE CITRINOS

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade de Ciências da Saúde

Porto, 2018

Fabiana Gonçalves Teixeira

Determinação de vitamina C em cascas de citrinos

(Fabiana Gonçalves Teixeira)

Trabalho Complementar apresentado à Universidade
Fernando Pessoa como parte dos requisitos para obtenção
do grau de licenciado em Ciências da Nutrição

Orientadora: *Professora Doutora Carla Sousa e Silva*

Co-orientadora: *Professora Doutora Ana F. Vinha*

Determinação de vitamina C em cascas de citrinos

Fabiana Gonçalves Teixeira¹; Carla Sousa e Silva²; Ana F. Vinha³

1. Estudante finalista do 1º ciclo de Ciências da Nutrição da Universidade Fernando Pessoa.
2. Orientadora do trabalho complementar. Docente da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade Fernando Pessoa.
3. Co-orientadora do trabalho complementar. Docente da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade Fernando Pessoa.

Autor para correspondência:

Fabiana Gonçalves Teixeira

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade Fernando Pessoa (Ciências da Nutrição)

Rua Carlos da Maia, 296 | 4200-150, Porto

Tel. +351 936021408; endereço de e-mail: 30008@ufp.edu.pt

Título resumido: Determinação de vitamina C, cascas de citrinos

Contagem de palavras: 2992

Número de tabelas: 1

Número de figuras: 3

Conflito de interesses: Nada a declarar.

Resumo

Introdução: A vitamina C é uma vitamina hidrossolúvel, com importantes características nutricionais, antioxidantes e terapêuticas, encontrada nos citrinos. As cascas resultantes do processamento alimentar transformam-se geralmente em desperdício, o que tem impacto ambiental. Contudo, os resíduos resultantes dos citrinos podem ser utilizados como uma fonte de compostos funcionais.

Objetivo: O objetivo deste trabalho experimental recaiu na quantificação da vitamina C nas cascas de três citrinos selecionados: a laranja (*Citrus sinensis*), o limão (*Citrus limon*) e a tangerina (*Citrus reticulata*), tendo em vista o reaproveitamento destas cascas e a sua possível aplicação nas indústrias alimentar e farmacêutica.

Métodos: O método utilizado foi a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detecção UV. A análise foi realizada à temperatura ambiente e em triplicado.

Resultados: A concentração de vitamina C nos citrinos avaliados mostrou-se superior na tangerina (137,1mg/100g), seguida da laranja (102,0mg/100g) e, por último, do limão (99,5mg/100g).

Conclusão: É necessário garantir a evolução tecnológica da citricultura e a otimização da tecnologia de processamento dos alimentos, de forma a promover o reaproveitamento dos subprodutos alimentares resultantes das cascas dos citrinos.

Palavras-chave: vitamina C, citrinos, HPLC, subprodutos alimentares.

Abstract

Introduction: Vitamin C is a water soluble vitamin found in citrus fruits with important nutritional, antioxidant and therapeutic characteristics. Peels resulting from food processing generally become wasteful, which has environmental impact. However, residues resulting from citrus fruits can be used as a source of functional compounds.

Aim: The objective of this experimental work was to quantify vitamin C in the peels of three selected citrus fruits: citrus (*Citrus sinensis*), lemon (*Citrus limon*) and tangerine (*Citrus reticulata*), in order to reuse these peels and its possible application in the food and pharmaceutical industries.

Methods: The method used was *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) with UV detection. The analysis was performed at room temperature and in triplicate.

Results: The concentration of vitamin C in the evaluated citrus fruits was higher in tangerine (137.1mg/100g), followed by orange (102.0mg/100g) and, finally, lemon (99.5mg/100g).

Conclusion: It is necessary to ensure the technological evolution of the citrus industry and the optimization of food processing technology in order to promote the reuse of food by-products resulting from citrus peel.

Keywords: vitamin C, citrus fruits, HPLC, food by-products.

1. Introdução

1.1. A vitamina C

O ácido L-ascórbico (AA), comumente designado por vitamina C, de fórmula química $C_6H_8O_6$ (Figura 1), é uma vitamina hidrossolúvel envolvida em várias reações de hidroxilação e na biossíntese de catecolaminas, hidroxiprolina e corticosteroides. Esta vitamina é absorvida e distribuída no organismo, apresentando uma maior concentração nas glândulas adrenal e pituitária. A sua excreção ocorre sob a forma de ácido desidroascórbico, podendo verificar-se duas situações distintas associadas ao seu consumo: quando este é excessivo, ocorre um aumento da concentração circulante de ácido oxálico, porém quando é diminuído podem surgir sintomas associados ao escorbuto [1].

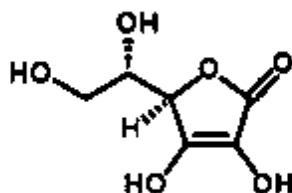


Figura 1 - Estrutura química da vitamina C/ácido L-ascórbico. (Retirado de Silva et al, 2017) [2].

A vitamina C apresenta inúmeras funções, das quais se destacam a estimulação de funções musculares, a contribuição para a absorção de ferro, a formação de colagénio, o aumento da resistência às infeções e a redução da hipercolesterolemia. Além disso, pode participar ainda na conversão do ácido fólico em ácido folínico, a sua forma ativa, apresenta um efeito protetor sobre a vitamina E, intervindo ainda na conversão dos aminoácidos em neurotransmissores (norepinefrina, por exemplo) [3, 4]. Para além do papel fundamental no sistema imunológico, a vitamina C tem um efeito positivo na obesidade infantil [5], demonstra propriedades diuréticas, é benéfica em situações de *stress* e depressões e estimula o sistema linfático, libertando o organismo de toxinas [6]. Perez-Cornago *et al* (2017) [7] salientam ainda as propriedades anticarcinogénicas desta vitamina.

A atividade biológica da vitamina C diminui após a sua oxidação. A oxidação e, conseqüentemente, os produtos de degradação que esta origina, dependem de alguns parâmetros, como a pressão parcial de oxigênio, o pH, a temperatura e a presença de iões e metais pesados, nomeadamente Cu^{2+} e Fe^{3+} . Na presença de aminoácidos, o AA, o ácido desidroascórbico e os seus produtos de degradação podem ser alterados, em virtude de ocorrerem reações de escurecimento do tipo Maillard [1].

A vitamina C pode ser degradada por processos de conservação, refinação, processamento e cozedura dos alimentos. As perdas na conservação devem-se à oxidação enzimática, processo que ocorre após a colheita das frutas, e é acelerado pela manipulação e emurchimento das frutas e dos vegetais. Por isso, a perda é tanto maior quanto maior for o intervalo entre a colheita e o consumo [3]. Assim, a quantificação da vitamina C é utilizada como um indicador da qualidade nutricional e até mesmo de conservação de alimentos [8]. No entanto, através da aplicação de procedimentos de estabilização adequados, a vitamina C pode permanecer estável por longos períodos de tempo [9].

As vitaminas são essenciais à vida, sendo, no entanto, eficientes em quantidades mínimas [10]. A vitamina C deve ser consumida de acordo com as recomendações singulares, em função da faixa etária e do estágio de vida. As recomendações de ingestão para mulheres e homens adultos (>18 anos) são de, respetivamente, 75 e 90 mg [11].

1.2. Os citrinos

Os citrinos são reconhecidos como as principais fontes de vitamina C e apresentam importantes características nutricionais, antioxidantes e terapêuticas associadas à prevenção e promoção da saúde através da nutrição [12-14]. As propriedades antioxidantes dos citrinos devem-se, sobretudo, à presença de vitamina C, que é responsável pelo balanço corporal e proteção dos tecidos face a danos causados pelas espécies reativas de oxigênio (ERO) [15]. Além da atividade antioxidante, os citrinos evidenciam atividade anti-inflamatória, antitumoral, antifúngica, antidiabética e capacidade de inibição de coágulos sanguíneos [16, 17]. Esta vitamina suprime o crescimento tumoral através da inibição da oxidação, protege o ácido

desoxirribonucleico (ADN) e estimula a apoptose celular [18]. Segundo Brito *et al* (2014) [19], existe uma forte correlação entre o consumo elevado de citrinos e a baixa incidência de doenças cardiovasculares e cancro.

A laranja, a tangerina e o limão, todas pertencentes ao género *Citrus* e à família *Rutaceae* [18], são reconhecidas como as três espécies mais importantes de citrinos, devido à presença de importantes compostos bioativos, nos quais se inserem a vitamina C [20].

A laranja (*Citrus sinensis*) é a espécie de citrinos mais cultivada e comercializada no mundo. O principal composto fitoquímico da laranja é a vitamina C [21], demonstrando esta fruta inúmeras propriedades farmacológicas, das quais se destacam as atividades antimicrobiana, antifúngica, antiparasitária, antiproliferativa, antioxidante, relaxante, sedativa e ansiolítica, antiobesidade, entre outras [22].

O limão (*Citrus limon*) é produzido em regiões muito específicas, dado que o limoeiro é muito sensível a baixas temperaturas [23]. As vantagens associadas ao consumo do limão relacionam-se com a prevenção da obesidade, diabetes, doenças cardiovasculares e certos tipos de cancro. Adicionalmente, promove o decréscimo dos níveis séricos de lípidos [24].

A tangerina, por sua vez, para além dos benefícios em comum com o limão, pode ainda ser utilizada no tratamento de doenças neurodegenerativas [25].

1.3. Sustentabilidade e reaproveitamento de subprodutos alimentares dos citrinos

De acordo com o boletim estatístico da *Food and Agriculture Organization* (FAO), a produção mundial anual de citrinos está estimada em cerca de 125 milhões de toneladas [26], sendo que as laranjas são as responsáveis por 60-70% da produção total e consumo [22, 27, 28]. Dados estatísticos de 2016 referem que, no caso específico das tangerinas, a sua colheita ultrapassa as 100 mil toneladas a nível mundial [29]. No Brasil, aproximadamente 90% da produção de citrinos é destinada à indústria de fabrico de sumos [14], gerando assim uma vasta quantidade de resíduos alimentares, fundamentalmente as cascas, que representam cerca de 50-65% do peso total do fruto intacto [15, 27].

As cascas, não sendo processadas, transformam-se num desperdício, originando odores e poluição do solo e, posteriormente, poluição ambiental, constituindo assim um problema para a indústria agroalimentar [15, 27, 30].

Os principais resíduos alimentares resultantes do processamento da fruta são as cascas, as sementes, o caroço e o bagaço [31]. Estima-se que os resíduos industriais dos citrinos correspondam a mais de 40 milhões de toneladas a nível mundial [28]. As cascas e as sementes parecem ser os resíduos que apresentam uma maior composição em vitaminas, minerais, fibras e compostos antioxidantes [31].

Com o objetivo de alcançar um desenvolvimento sustentável, os consumidores devem alterar hábitos alimentares, optando por alimentos sustentáveis e, assim, aproveitar os resíduos alimentares sob a forma de subprodutos [32]. A União Europeia tem incentivado a utilização de resíduos alimentares na produção de subprodutos alimentares, de forma a diminuir os custos da sua eliminação, tendo em consideração que o reaproveitamento dos resíduos poderá ser benéfico [33].

As cascas correspondem ao subproduto alimentar maioritário do processamento dos citrinos [15, 27]. Estas, para além de serem boas fontes de antioxidantes naturais, apresentam atividade antifúngica, anti-inflamatória e, ainda, antimicrobiana [34-37]. Lado *et al* (2015) [38] referem que o flavedo (face externa da casca) é o tecido mais rico em vitamina C comparativamente com o albedo (face interna da casca) e com a polpa/endocarpo.

De acordo com isto, os resíduos resultantes dos citrinos podem ser utilizados como uma fonte de compostos funcionais [28], nomeadamente as cascas que parecem conter compostos benéficos com melhores capacidades antioxidantes que outras frações da fruta [30]. Por exemplo, o óleo de laranja é um subproduto alimentar resultante do processo de extração a partir das cascas [39], que pode ser aplicado como ingrediente em aditivos alimentares, conservante contra a deterioração, podendo também ser utilizado em fármacos e produtos cosméticos. Os óleos resultantes das cascas podem ainda ser utilizados como aromáticos em marmeladas, gelatinas, gelados, produtos lácteos, óleos e bolos. A sua aplicação poderá substituir os antioxidantes sintéticos, que podem causar efeitos nocivos à saúde [40, 41]. O albedo é uma fonte importante de pectina [42], uma fibra solúvel [43], e demonstra ser útil na melhoria do rendimento do

processo de confecção, melhorando a textura dos alimentos [28]. As cascas dos citrinos são também utilizadas na produção de geleias [36].

Na indústria farmacêutica, óleos provenientes da casca da laranja podem ser utilizados para disfarçar o sabor desagradável de alguns fármacos [36], parecendo ainda revelar efeitos antimicóticos e antibióticos [44].

A reutilização dos resíduos dos citrinos leva então à diminuição dos custos das organizações, melhora a eficiência do processamento, ao mesmo tempo que reduz a carga poluente ambiental [28].

O objetivo deste trabalho experimental incidiu na quantificação de vitamina C nas cascas de três diferentes espécies de citrinos – laranja, limão e tangerina –, comparando os resultados obtidos com os da literatura já existente e, tendo como perspectiva futura o reaproveitamento destas mesmas cascas como fonte de AA e a sua potencial inclusão em diversos produtos, nomeadamente, pelas indústrias alimentar e farmacêutica.

2. Materiais e métodos

O período de experimentação laboratorial decorreu entre 14 de março e 23 de maio de 2018. O modelo utilizado por Valente *et al* (2011) [45] foi adaptado ao objeto de estudo, as cascas de citrinos. Desta forma, foram analisadas as cascas frescas de três diferentes citrinos – laranja (*Citrus sinensis*), limão (*Citrus limon*) e tangerina (*Citrus reticulata*). Os três citrinos eram de origem portuguesa e foram adquiridos num hipermercado da região do grande Porto.

2.1. Determinação de vitamina C

O HPLC é um método muito eficiente na análise de AA em frutas e vegetais [9]. Para a realização de análises recorrendo ao HPLC, há a considerar a escolha do tipo de coluna, do detetor, da fase móvel e dos parâmetros instrumentais, devendo estes ser adaptados aos compostos a analisar [46]. Este método apresenta algumas vantagens relativamente a outros, tais como a sensibilidade, a rapidez, a facilidade de manuseio e o baixo risco da ocorrência de interferências, a precisão e a alta produtividade [9, 47]. Este método

permite então minimizar erros e acrescentar informação que poderá ser utilizada na produção de nova informação de elevada qualidade [9, 46].

2.2. Reagentes e soluções-padrão

Os cristais extra puros de AA (99,0%), o ácido metafosfórico (m-HPO₃, 35,0%) e o dihidrogenofosfato de amónio (NH₄H₂PO₄, ≥98,0%) são provenientes dos laboratórios Sigma-Aldrich (St. Louis, Missouri, EUA), enquanto o ácido ortofosfórico (H₃PO₄, 85,0%) e o ácido perclórico (HClO₄, 70,0%) são dos laboratórios Fisher Scientific (Hampton, New Hampshire, EUA). Todas as soluções foram preparadas com água ultrapura obtida através de um sistema de purificação de água ultrapura – Milipore Simplicity 185 (Burlington, Massachussets, EUA).

Para a obtenção da reta de calibração foi preparada uma solução-padrão mãe. As restantes soluções foram obtidas através da diluição apropriada dessa solução, com o intuito de obter concentrações finais de ácido ascórbico de 30, 50, 100, 200, 300 e 500, 1000 e 2500 µg/mL, respetivamente.

A representação gráfica das áreas sob as curvas obtidas pela análise cromatográfica das soluções-padrão em função das concentrações das mesmas resultou na obtenção da seguinte equação da reta de calibração: $y=7,442 \times 10^7 x + 5,43 \times 10^2$ ($r^2=0,9933$).

2.3. Preparação da solução ácida

A solução ácida foi preparada da seguinte forma: 10% (v/v) de ácido perclórico e 1% (m/v) de ácido metafosfórico em água ultrapura. O uso desta solução permite a estabilização e precipitação das proteínas presentes na amostra. A combinação de ambos os ácidos providencia uma melhor extração e minimiza as interferências entre o ácido metafosfórico e a coluna analítica [9].

2.4. Preparação da amostra

Para cada uma das cascas utilizadas, foi pesada rigorosamente uma quantidade de 1,5g de amostra e estabilizada com 6 mL de solução ácida. A mistura foi homogeneizada com recurso ao vórtex durante cerca de 1 min e, posteriormente, diluída a 25,00 mL com fase móvel.

A amostra foi filtrada inicialmente com papel de filtro e depois com um filtro Milipore PVDF de 0,45 μm .

2.5. Fase móvel, instrumentos, condições cromatográficas

A fase móvel foi composta por 20 mM de di-hidrogenofosfato de amónio, pH 3,5 – ajustado com ácido ortofosfórico (85,0%) adicionado gota-a-gota com o auxílio de um potencióstato (Heidolph MR, Hei-Mix L) e de um agitador magnético – e 0,015% (m/v) de ácido metafosfórico. A fase móvel foi filtrada através de um filtro Milipore PVDF de 0,45 μm .

A quantificação de AA foi efetuada através de um Sistema HPLC *Agilent 1100 Series HPLC Value System* (Agilent Technologies, Hewlett-Packard-Strasse 8, Alemanha) com uma coluna analítica Hichrom 5C18 (25,0 cm x 4,6 cm) (The Markham Centre, Station Road Theale, Reading, Berks, RG7 4PE, Reino Unido). A deteção do sinal foi gravada e as áreas foram identificadas e processadas com o sistema informático HP ChemStation System.

Todas as soluções-padrão foram filtradas por um filtro Milipore PVDF de 0,45 μm , e desgaseificadas num banho de ultra-sons antes de um volume de 50 μL ser injetado com uma seringa Hamilton 710 NR de 100 μL no sistema HPLC. A deteção do AA, realizada à temperatura ambiente, foi monitorizada a 254 nm, usando-se um fluxo de 1,0 mL/min. A análise cromatográfica foi efetuada em triplicado.

2.6. Análise estatística

A análise estatística foi efetuada com recurso ao Microsoft Excel® 2016.

2.7. Revisão bibliográfica

De forma a realizar a pesquisa bibliográfica no âmbito deste trabalho de investigação, recorreu-se à Pubmed, B-on, Science Direct e Google Académico. As palavras-chave “*citrus peel*” foram articuladas com o conector AND às seguintes palavras-chave “*vitamin C*”, “HPLC”, “*food by-products*” e “*new food products*”. Visto que o tema deste trabalho é ainda muito pouco explorado nas bases de dados médicas e das ciências da saúde, não foram tidos em consideração critérios de seleção específicos.

3. Resultados

O método de HPLC com deteção UV permitiu a separação nítida e, conseqüentemente, a identificação do pico relativo ao AA, a um tempo de retenção médio de 7,4 minutos (Figuras 2 e 3). A área sob cada uma das curvas obtidas para as soluções amostra aliada à equação da reta de calibração permitiram o cálculo da concentração de AA nas cascas de laranja, limão e tangerina (Tabela 1).

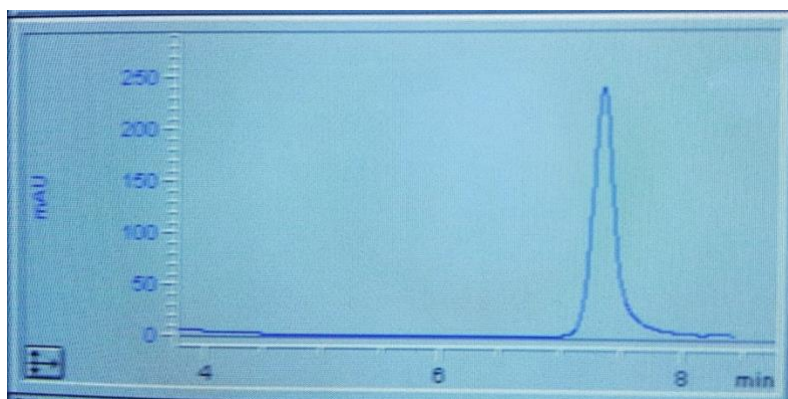


Figura 2 - Perfil cromatográfico de uma das soluções-padrão (500 µg/mL).

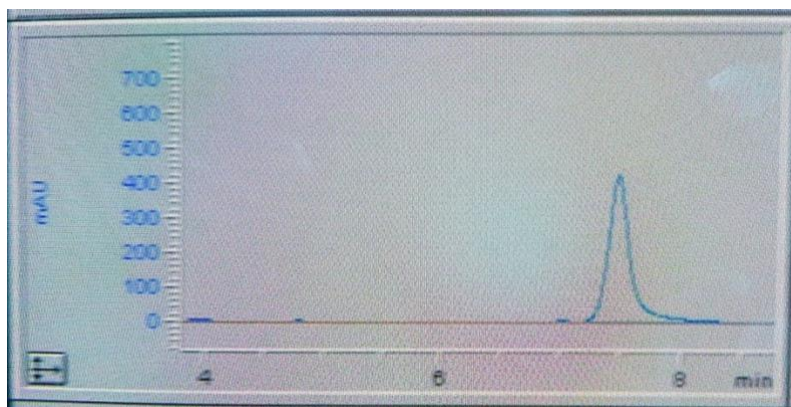


Figura 3 - Perfil cromatográfico da amostra de casca de limão.

Tabela 1 - Teor de AA (mg/100g) nas cascas de laranja, limão e tangerina.

Teor de AA (mg/100g) nas cascas		
Laranja (<i>Citrus sinensis</i>)	Limão (<i>Citrus limon</i>)	Tangerina (<i>Citrus reticulata</i>)
102,0±0,7	99,5±0,9	137,1±0,1

Os resultados obtidos revelaram que a concentração de AA nos citrinos avaliados acompanhou a seguinte ordem decrescente: a tangerina foi o citrino que demonstrou um maior teor de AA (137,1mg/100g), seguida da laranja (102,0mg/100g) e, por último, do limão (99,5mg/100g).

4. Discussão

Tal como neste trabalho, o citrino que obteve uma maior concentração de AA no estudo de Barros *et al* (2012) [15] foi a tangerina (47,6mg/100g). A laranja demonstrou concentrações de 43,2 e 24,3mg/100g de acordo com o cultivar. Os valores referidos, e que refletem os teores de vitamina C nas cascas dos citrinos colhidos numa fazenda num estado brasileiro, foram determinados por um método clássico, nomeadamente, uma volumetria.

Comparando os resultados obtidos neste trabalho com os de Al-Juhaimi (2014) [41], concluiu-se que este obteve concentrações inferiores de vitamina C para as cascas de citrinos provenientes da Arábia Saudita. No entanto, Al-Juhaimi, utilizando um método espectrofotométrico, refere um teor de AA superior para a casca da laranja (62,45

mg/100g), seguida da casca da tangerina (54,87mg/100g) e, por fim, da do limão (25,69mg/100g). Bermejo *et al* (2012) [48], recorreram ao *High Performance Liquid Chromatography with Diode-Array Detection* (HPLC-DAD). Os resultados referidos neste estudo revelam um valor médio de 146,20mg/100g (101,36; 116,72; 181,65 e 185,08 mg/100g) para as tangerinas e um valor médio de 149,93mg/100g (100,24; 159,35 e 190,21 mg/100g) para as laranjas. Os valores diferem conforme o cultivar. As frutas selecionadas pelos autores têm origem em Espanha.

Alguns estudos demonstram que as cascas apresentam maiores teores de vitamina C comparativamente às polpas ou aos respectivos sumos [13, 41]. Alós *et al* (2014) [13] referem que a distribuição de vitamina C nas frutas é de 53% na casca (34% no flavedo e 19% no albedo), 21% na polpa e 26% no sumo. De acordo com um estudo realizado por Guimarães (2010) [49], as cascas de laranja, tangerina e limão evidenciaram concentrações superiores em vitamina C que os respectivos sumos.

As diferenças nos teores de vitamina C dos estudos dependem de diversos fatores, o que justifica as diferenças nos resultados dos estudos anteriormente referidos. Para além dos fatores endógenos, os níveis de AA são também dependentes de fatores externos – procedimentos de colheita/manuseio, condições climáticas e práticas de cultivo. A temperatura e exposição à luz têm influência nestes teores, dado que as frutas expostas à luz solar direta revelam quantidades superiores de vitamina C face àquelas que estão dispostas mais internamente na árvore. Este efeito provavelmente estará apenas restrito ao flavedo [38]. É ainda de salientar que ocorrem alterações nas concentrações de vitamina C de acordo com os diferentes estados de desenvolvimento das frutas, ou seja, durante o amadurecimento das frutas o conteúdo da vitamina aumenta no flavedo, ocorrendo o oposto ao nível da polpa [38, 50].

Estes resultados mostram que as cascas têm quantidades importantes de vitamina C para a nutrição humana, porém, muitas vezes, não são reconhecidas, pois correspondem geralmente a componentes não edíveis [15].

Dadas as concentrações de vitamina C nas cascas da laranja, do limão e da tangerina, percebe-se que o consumo das mesmas seria benéfico na satisfação da ingestão diária recomendada desta vitamina. As cascas apresentam quantidades relevantes de componentes bioativos [51], nomeadamente vitamina C, por isso a sua incorporação em produtos alimentares e farmacêuticos poderá ser vantajosa, pois verifica-se assim a

máxima utilização de produtos naturais, ao mesmo tempo que se promove a proteção do ambiente [37].

5. Conclusão

Este trabalho experimental permitiu confirmar que a vitamina C, para além de estar reconhecidamente presente na polpa dos citrinos, pode ser encontrada em quantidades significativas também nas suas cascas.

Tanto a nível da indústria alimentar, como da indústria farmacêutica, o reaproveitamento das cascas, o resíduo mais significativo dos citrinos, seria uma mais-valia para a promoção da saúde humana. Para além disso, fomentar o uso deste subproduto e, assim, diminuir os custos das empresas associados à gestão de resíduos, contribuiria para um menor impacto ambiental.

Para alcançar este objetivo, é também necessária uma evolução tecnológica a nível da citricultura que permita dar resposta aos requisitos atuais. A tecnologia de processamento dos alimentos deveria ser então otimizada no sentido de desenvolver métodos de reaproveitamento dos resíduos alimentares em indústrias de grande escala. Por isso, é necessária a participação ativa de indústrias com produção sustentável.

6. Referências bibliográficas

1. Belitz HD, Grosch W, Schieberle P. Food Chemistry. 3rd ed. Heidelberg: Springer-Verlag Berlin Heidelberg; 2004.
2. Silva MA, Albuquerque TG, Oliveira MBPP, Costa HS. Teores de vitamina C em alimentos destinados a lactentes e crianças jovens: serão adequados? INSA. Lisboa; 2017 [citado a 25/07/2018]. Disponível em: http://repositorio.insa.pt/bitstream/10400.18/4887/1/Encontros%20DAN_Vit%20C%20infantil_DCC.pdf.
3. Mervyn L. A Vitamina C e a Saúde: Guias da Saúde. Lisboa: Editorial Presença; 1985.
4. Spínola A, Llorent-Martínez EJ, Castilho PC. Determination of vitamin C in foods: Current state of method validation. J Chromatogr A. 2014; 1369: 2-17.
5. Hashemipour M, Kargar M, Ghannadi A, Kelishadi R. The effect of *Citrus Aurantifolia* (Lemon) peels on cardiometabolic risk factors and markers of endothelial function in adolescents with excess weight: A triple-masked randomized controlled trial. Med J Islam Repub Iran. 2016; 30: 429.
6. Faleye FJ, Ogundaini AO, Olugbade AT. Antibacterial and antioxidant activities of *Citrus paradisi* (Grapefruit seed) extracts. J Pharm Sci Innov. 2012; 1(3): 63-66.
7. Perez-Cornago A, Travis RC, Appleby PN, Tsilidis KK, Tjønneland A, Olsen A, *et al.* Fruit and vegetable intake and prostate cancer risk in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). Int J Cancer. 2017; 141: 287-297.
8. Bresolin JD, Hubinger SZ. Metodologia para determinação de ácido ascórbico em sucos de *Citrus* utilizando cromatografia líquida de alta eficiência. Siagro. 2014: 497-499.
9. Valente A, Sanches-Silva A, Albuquerque TG, Costa HS. Development of an orange juice in-house references material and its application to guarantee the quality of vitamin C determination in fruits, juices and fruit pulps. Food Chem. 2014; 154: 71-77.
10. Rosa JS, Godoy RLO, Oiano NJ, Campos RS, Matta VM, Freire CA *et al.* Desenvolvimento de um método de análise de vitamina C em alimentos por cromatografia líquida de alta eficiência e exclusão iônica. Ciênc Tecnol Aliment. 2007; 27(4): 837-846.

11. Padovani RM, Amaya-Farfán J, Colugnati FAB, Domene SMA. Dietary reference intakes: aplicabilidade das tabelas em estudos nutricionais. *Rev Nutr Campinas*. 2006; 19(6): 741-760.
12. Bermejo A, Cano A. Analysis of nutritional constituents in twenty citrus cultivars from the Mediterranean area at different stages of ripening. *Food Nutr Sci*. 2012; 3: 639-650.
13. Alós E, Rodrigo MJ, Zacarías L. Differential transcriptional regulation of L-ascorbic acid content in peel and pulp of citrus fruits during development and maturation. *Planta*. 2014; 239: 1113-1128.
14. Diab KAE. In Vitro Studies on Phytochemical Content, Antioxidant, Anticancer, Immunomodulatory and Antigenotoxic Activities of Lemon, Grapefruit and Mandarin Citrus Peels. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2016; 17(7): 3559-3567.
15. Barros HRM, Ferreira TAPC, Genovese MI. Antioxidant capacity and mineral content of pulp and peel from commercial cultivars of citrus from Brazil. *Food Chem*. 2012; 134: 1892-1898.
16. Abeysinghe DC, Li X, Sun C, Zhang W, Zhou C, Chen K. Bioactive compounds and antioxidant capacities in different edible tissues of citrus fruits of four species. *Food Chem*. 2007; 104: 1338-1344.
17. Wang Y, Qian J, Cao J, Wang D, Liu C, Yang R *et al*. Antioxidant Capacity, Anticancer Ability and Flavonoids Composition of 35 Citrus (*Citrus reticulata* Blanco) Varieties. *Molecules*. 2017; 22(1114): 1-20.
18. Zhao W, Liu L, Xu S. Intakes of citrus fruit and risk of esophageal cancer: A meta-analysis. *Medicine*. 2018; 97: 13.
19. Brito A, Ramirez JE, Areche C, Sepúlveda B, Simirgiotis MJ. HPLC-UV-MS Profiles of Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Fruits from Three Citrus Species Consumed in Northern Chile. *Molecules*. 2014; 19: 17400-17421.
20. Hajimahmoodi M, Moghaddam G, Mousavi SM, Sadeghi N, Oveisi MR, Jannat B. Total Antioxidant Activity, and Hesperidin, Diosmin, Eriocitrin and Quercetin Contents of Various Lemon Juices. *Trop J Pharm Res*. 2014; 13(6): 951-956.
21. Cardeñosa V, Barros L, Barreira JCM, Arenas F, Moreno-Rojas JM, Ferreira ICFR. Different *Citrus* rootstocks present high dissimilarities in their antioxidant activity and vitamins content according to the ripening stage. *J Plant Physiol*. 2015; 174: 124-130.

22. Favela-Hernández JM, González-Santiago O, Ramírez-Cabrera MA, Esquivel-Ferriño PC, Camacho-Corona MR. Chemistry and Pharmacology of *Citrus sinensis*. *Molecules*. 2016; 21(247): 2-24.
23. Lorente J, Vegara S, Martí N, Ibarz A, Coll L, Hernández J, *et al.* Chemical guide parameters for Spanish lemon (*Citrus limon* (L.) Burm.) juices. *Food Chem*. 2014; 162: 186-191.
24. González-Molina E, Domínguez-Perles R, Moreno DA, García-Viguera C. Natural bioactive compounds of *Citrus limon* for food and health. *J Pharm Biomed Anal*. 2010; 51(2): 327-345.
25. Jasim AR. Phytochemical study of some flavonoids present in the fruit peels of *Citrus reticulata* grown in Iraq. *Karbala J Pharm Sci*. 2012; 3: 136-151.
26. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Citrus Fruit – Fresh and Processed Statistical Bulletin 2016. Rome; 2017 [citado a 16/07/2018]. Disponível em: <http://www.fao.org/3/a-i8092e.pdf>.
27. Hegazy AE, Ibrahim MI. Antioxidant Activities of Orange Peels Extracts. *World Appl Sci J*. 2012; 18(5): 684-688.
28. Sharma K, Mahato N, Cho MH, Lee YR. Converting citrus wastes into value-added products: Economic and environmentally friendly approaches. *Nutrition*. 2017; 34: 29-46.
29. Tsitsagi M, Ebralidze K, Chkhaidze M, Rubashvili I, Tsitsishvili V. Sequential extraction of bioactive compounds from tangerine (*Citrus Unshiu*) peel. *Ann Agrar Sci*. 2018; 16: 236-241.
30. Abdullah N, Zulkifli KS, Abdullah A, Aziman N, Kamarudin WSSW. Assessment on the Antioxidant and Antibacterial Activities of Selected Fruit Peels. *Int J ChemTech Res*. 2012; 4(4): 1534-1542.
31. Sousa MSB, Vieira LM, Silva MJM, Lima A. Caracterização nutricional e compostos antioxidantes em resíduos de polpas de frutas tropicais. *Ciênc. Agrotec*. 2011; 35(3): 554-559.
32. Kowalska H, Czajkowska K, Cichowska J, Lenart A. What's new in biopotential of fruit and vegetable by-products applied in the food processing industry. *Trends Food Sci Technol*. 2017; 67: 150-159.
33. Baiano A. Recovery of Biomolecules from Food Wastes. *Molecules*. 2014; 19: 14821-14842.

34. Schieber A, Stintzing FC, Carle R. By-products of plant food processing as a source of functional compounds – recente development. *Trends Food Sci Technol.* 2001; 12: 401-413.
35. Mathew BB, Jatawa SK, Tiwari A. Phytochemical analysis of *Citrus limonum* pulp and peel. *Int J Pharm Pharm Sci.* 2012; 4(2): 269-371
36. Karoui IJ, Marzouk B. Characterization of Bioactive Compounds in Tunisian Bitter Orange (*Citrus aurantium* L.) Peel and Juice and Determination of Their Antioxidant Activities. *BioMed Res Int.* 2013: 1-12.
37. Parashar S, Sharma H, Garg M. Antimicrobial and Antioxidant activities of fruits and vegetable peels: A review. *J Pharmacogn Phytochem.* 2014; 3(1): 160-164.
38. Lado J, Alós E, Rodrigo MJ, Zacarías L. Light avoidance reduces ascorbic acid accumulation in the peel of *Citrus* fruit. *Plant Sci.* 2015; 231: 138-147.
39. Chede PS. Phytochemical analysis of *Citrus sinensis* peel. *Int J Pharm Bio Sci.* 2013; 4(1): 339-343.
40. Egea I, Sánchez-Bel P, Romojaro F. Six Edible Wild Fruits as Potential Antioxidant Additives or Nutritional Supplements. *Plant Foods Hum Nutr.* 2010; 65: 121-129.
41. Al-Juhaimi FY. Citrus fruits by-products as sources of bioactive compounds with antioxidant potential. *Pak J Bot.* 2014; 46(4): 1459-1462.
42. Wang S, Li P, Lu SM, Ling ZQ. Chemoprevention of Low-Molecular-Weight Citrus Pectin (LCP) in Gastrointestinal Cancer Cells. *Int J Biol Sci.* 2016; 12: 746-756.
43. Bernaud FSR, Rodrigues TC. Fibra alimentar – Ingestão adequada e efeitos sobre a saúde do metabolismo. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2013; 57(6): 397-405.
44. Ruiz-Pérez NJ, González-Ávila M, Sánchez-Navarrete J, Toscano-Garibay JD, Moreno-Eutimio MA, Sandoval-Hernández T *et al.* Antimycotic Activity and Genotoxic Evaluation of *Citrus sinensis* and *Citrus latifolia* Essential Oils. *Sci Rep.* 2016; 6(25371): 1-9.
45. Valente A, Albuquerque TG, Sanches-Silva A, Costa HS. Ascorbic acid content in exotic fruits: A contribution to produce quality data for food composition databases. *Food Res Int.* 2011; 44: 2237-2242.
46. James CS. *Analytical Chemistry of Foods.* Gaithersburg: Aspen publishers; 1995.
47. Albuquerque TG, Santos F, Sanches-Silva A, Oliveira MB, Bento AC, Costa HS. Nutritional and phytochemical composition of *Annona cherimola* Mill. fruits and by-products: Potential health benefits. *Food Chem.* 2016; 193: 187-195.

48. Bermejo A, Llosé MJ, Cano A. Analysis of bioactive compounds in seven citrus cultivars. *Food Sci Tech Int.* 2012; 55-62.
49. Guimarães R, Barros L, Barreira JCM, Sousa MJ, Carvalho AM. Targeting excessive free radicals with peels and juices of citrus fruits: Grapefruit, lemon, lime and orange. *Food Chem Toxicol.* 2010; 48: 99-106.
50. Paixão T, Lowinsohn D, Bertotti M. Use of an Electrochemically Etched Platinum Microelectrode for Ascorbic Acid Mapping in Oranges. *J Agric Food Chem.* 2006; 54: 3072-3077.
51. Rafiq S, Kaul R, Sofi SA, Bashir N, Nazir F, Nayik GA. Citrus peel as a source of functional ingredient: A review. *J Saudi Soc Agric Sci.* 2016 Jun;1-8.