

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
FACULDADE DE NUTRIÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO E SAÚDE

HELENA RUDGE DE MORAES BARROS

**COMPOSIÇÃO MINERAL E CAPACIDADE
ANTIOXIDANTE DE CITROS CULTIVADOS EM GOIÁS**

Goiânia
2011

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR AS TESES E DISSERTAÇÕES ELETRÔNICAS (TEDE) NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: **Dissertação** **Tese**

2. Identificação da Tese ou Dissertação

Autor (a):	Helena Rudge de Moraes Barros		
E-mail:	lebarros79@hotmail.com		
Seu e-mail pode ser disponibilizado na página? <input checked="" type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não			
Vínculo empregatício do autor			
Agência de fomento:		Sigla:	
País:		UF:	
		CNPJ:	
Título:	Composição mineral e capacidade antioxidante de citros cultivados em Goiás		
Palavras-chave:	Citros; capacidade antioxidante; compostos fenólicos; minerais		
Título em outra língua:			
Palavras-chave em outra língua:			
Área de concentração:	Qualidade de alimentos e dietas		
Data defesa: (dd/mm/aaaa)	04/04/2011		
Programa de Pós-Graduação:	Nutrição e Saúde		
Orientador (a):	Tânia Aparecida Pinto de Castro Ferreira		
E-mail:	bytania@gmail.com		
Co-orientador (a):			
E-mail:			

3. Informações de acesso ao documento:

Liberação para disponibilização?¹ total parcial

Em caso de disponibilização parcial, assinale as permissões:

Capítulos. Especifique: _____

Outras restrições: _____

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF ou DOC da tese ou dissertação.

O Sistema da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações garante aos autores, que os arquivos contendo eletronicamente as teses e ou dissertações, antes de sua disponibilização, receberão procedimentos de segurança, criptografia (para não permitir cópia e extração de conteúdo, permitindo apenas impressão fraca) usando o padrão do Acrobat.

_____ Data: ____ / ____ / ____
Assinatura do (a) autor (a)

¹ Em caso de restrição, esta poderá ser mantida por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Todo resumo e metadados ficarão sempre disponibilizados.

HELENA RUDGE DE MORAES BARROS

**COMPOSIÇÃO MINERAL E CAPACIDADE
ANTIOXIDANTE DE CITROS CULTIVADOS EM GOIÁS**

Dissertação de Mestrado apresentada
ao Programa de Pós Graduação de
Saúde e Nutrição da Faculdade de
Nutrição da Universidade Federal de
Goiás para obtenção do Título de
Mestre em Nutrição e Saúde.

Orientador: Tânia Aparecida Pinto de
Castro Ferreira

Goiânia
2011

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA CENTRAL DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação na (CIP)
GPT/BC/UFG**

B278c Barros, Helena Rudge de Moraes.
Composição mineral e capacidade antioxidante de citros cultivados em Goiás [manuscrito] / Helena Rudge de Moraes Barros. - 2011.
99 f. : figs, tabs.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Tânia Aparecida Pinto de Castro Ferreira.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Goiás, Faculdade de Nutrição, 2011.

Bibliografia.

Inclui lista de figuras e tabelas.

Apêndices.

1. Citros 2. Capacidade antioxidante 3. Compostos fenólicos 4. Minerais. I. Título.

CDU: 634.31(817.3)

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO E SAÚDE

**BANCA EXAMINADORA DA
DEFESA DE MESTRADO**

Aluno(a): Helena Rudge de Moraes Barros

Orientador(a): Tânia Aparecida Pinto de Castro Ferreira

Membros:

1. Tânia Aparecida Pinto de Castro Ferreira

2. Enayde de Almeida Melo

3. Eduardo Ramirez Asquieri

4. Maria Sebastiana Silva (Suplente)

5. Raquel de Andrade Cardoso Santiago (Suplente)

Data: 04 /04 /2011

Dedico este trabalho

a minha avó Carmen Sylvia e ao meu avô Carlos (in memoriam)

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Luiz Carlos de Moraes Barros e Marina Rudge de Moraes Barros, pelo amor, carinho e por sempre apoiarem todos os caminhos que escolhi.

A minha irmã Marta pela amizade sincera e ao meu irmão, Roberto, pelas dicas, conversas e carinho.

Ao meu marido, Edgard Pinheiro Neto, pela compreensão incondicional e imensa paciência.

À professora Dr^a Tânia Aparecida Pinto de Castro Ferreira pela oportunidade, amizade, compreensão e por fazer parte da minha formação profissional.

À professora Dr^a Maria Inés Genovese e aos seus orientandos Any, Ciça, Gabi, Marcela, Thiago, Wilson pelos ensinamentos, sugestões e cessão de laboratório, equipamentos e reagentes.

Às amigas Patrícia Pinheiro e Virginia Reis, por me acolherem, tornando possível o término de meu trabalho.

À amiga Tcherena Amorim Brasil por me ouvir nos momentos de desânimo e por também compartilhar de momentos alegres, sempre me dando força para continuar.

Às colegas de turma, pela amizade, ótima convivência e solidariedade durante o curso.

Ao companheiro de Laboratório Santiago, pelas risadas e companhia nos dias intermináveis de pesquisa.

Ao professor Dr. Ronaldo Veloso Naves, pela contribuição com sua experiência com frutas, e indicação de produtores da região.

Ao professor Dr. Paulo Sérgio de Souza, do Instituto de Química da UFG, pela cessão de equipamentos para a análise de minerais.

Ao Sr. Raimundo Maia Oliveira da Fazenda Santa Rosa e à Giovana e sua família da Fazenda de Trindade, pelo fornecimento de frutas utilizadas nos primeiros testes da pesquisa.

Ao Sr. José Silvestre Oliveira da Fazenda Córrego Grande, pela colaboração no fornecimento das frutas utilizadas na pesquisa.

Ao Projeto de Reestruturação e Expansão das Universidades Federais (REUNI) pelo auxílio financeiro.

RESUMO

As frutas, além de nutrientes essenciais para o funcionamento dos sistemas vitais humanos, fornecem também compostos bioativos que reduzem o risco de desenvolvimento de doenças crônicas. Este efeito protetor tem sido atribuído a propriedades antioxidantes desempenhadas por tais compostos bioativos, dos quais as frutas cítricas são importantes fontes, como ácido ascórbico, compostos fenólicos e, também de alguns minerais. O Brasil destaca-se na produção de frutas cítricas, e cerca de 90% desta produção é destinada à produção de sucos, havendo uma grande produção de resíduos que poderiam ser reaproveitados. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar e comparar a composição mineral, o teor de compostos fenólicos totais, o teor de ácido ascórbico e a capacidade antioxidante de casca e polpa de 5 variedades de citros cultivados em Goiás. Os resultados foram submetidos à análise de variância e teste de Tukey ($p < 0,05$) para comparação de médias. Em geral, as cascas apresentaram maiores teores de todos os compostos analisados, com exceção do ácido ascórbico, em que a polpa de laranja pera apresentou o maior teor e a casca da lima ácida tahiti apresentou o menor teor. Os citros apresentaram altos teores de potássio, cálcio e magnésio, sendo as cascas consideradas “fontes” destes minerais. Foram também encontrados teores de elementos traço, co-fatores de enzimas antioxidantes. As cascas apresentaram teores de compostos fenólicos de 2,5 a 4 vezes maiores que as polpas, destacando-se a casca de laranja lima. Quanto à capacidade antioxidante, a casca de tangerina ponkã apresentou os melhores resultados. As frutas cítricas provêm uma variedade de compostos bioativos e as cascas podem ser exploradas para a produção de alimentos funcionais ou substituindo o uso de antioxidantes sintéticos.

Palavras chaves: citros, compostos fenólicos, minerais, capacidade antioxidante

ABSTRACT

Fruits provide not only essential nutrients for the functioning of human life systems; but also bioactive compounds that reduce the risk of developing chronic diseases. This protective effect has been attributed to antioxidant properties performed by bioactive compounds, which citrus fruits are important sources, such as ascorbic acid, phenolic compounds and also of some minerals. Brazil is one of the major citrus producers, and about 90% of this production is destined for the juice production, with a large production of waste that could be reused. Thus, aim of this study was to evaluate and compare the mineral composition, content of total phenolics, ascorbic acid content and antioxidant capacity of skin and pulp of five citrus varieties cultivated in Goiás. The results were subjected to analysis of variance and Tukey test ($p < 0.05$) for comparison of means. In general, the peels showed higher levels of all compounds tested, with the exception of ascorbic acid in the orange pera pulp had the highest content of acid lime peel and Tahiti had the lowest content. Citrus showed high levels of potassium, calcium and magnesium, and the peels considered "sources" of these minerals. Concentrations of trace elements also were found, cofactors of antioxidant enzymes. The phenolic compounds of peels were from 2.5 to 4 times higher than the pulps, especially the orange peel lime. As for antioxidant capacity, tangerine peel Ponkã showed the best results. Citrus fruits are from a variety of bioactive compounds and the shells can be exploited to produce functional foods or replacing the use of synthetic antioxidants.

Keywords: citrus, phenolic compounds, minerals, antioxidant capacity

LISTA DE FIGURAS

CAPITULO 1

Figura 1	Secção transversal de citros mostrando partes anatômicas, adaptado de Ladanyia (2008).....	15
Figura 2	Estrutura química das flavanonas encontradas nos citros, adaptado de Stalikas (2007).....	23
Figura 3	Variedades de citros estudadas.....	30
Figura 4	Esquema de amostragem para a caracterização do estágio de maturação e da qualidade das frutas.....	31

CAPITULO 2

Figure 1	Total phenolics and antioxidant capacity determined by DPPH and FRAP of citrus pulps and peels.....	70
-----------------	---	----

LISTA DE QUADROS E TABELAS

CAPITULO 1

Quadro 1	Porcentagem mínima de suco de acordo com a variedade de citros.....	17
-----------------	---	----

CAPITULO 2

Table 1	Standard quality parameters of different varieties of citrus from Brazil.....	68
Table 2	Moisture, ascorbic acid, main minerals and trace elements in citrus pulp and peel.....	69
Table 3	Correlation coefficients between DPPH or FRAP and total phenolic contents or AA for pulps and peels from five Brazilian varieties of citrus.....	71

SUMÁRIO

	CAPITULO 1.....	12
1	INTRODUÇÃO.....	12
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
2.1	MORFOLOGIA, QUALIDADE E VARIEDADES DE CITROS.....	15
2.1.1	Laranjas doces.....	18
2.1.2	Tangerinas.....	18
2.1.3	Limas.....	19
2.2	RADICAIS LIVRES E ANTIOXIDANTES.....	19
2.3	COMPOSTOS BIOATIVOS DOS CITROS.....	22
2.3.1	Compostos fenólicos.....	22
2.1.2	Vitamina C.....	24
2.1.3	Minerais.....	26
3	OBJETIVOS.....	29
3.1	OBJETIVO GERAL.....	29
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	29
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	30
4.1	AMOSTRAGEM.....	30
4.2	MATURAÇÃO DOS FRUTOS.....	31
4.2.1	Peso do fruto.....	32
4.2.2	Relação casca/polpa.....	32
4.2.3	Rendimento do suco.....	32
4.2.4	Determinação do pH.....	32
4.2.5	Acidez total titulável.....	32
4.2.6	Sólidos solúveis totais em °Brix (SST).....	33
4.2.7	Relação Brix°/acidez total.....	33
4.3	ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO DA CASCA E DA POLPA DOS CITROS.....	33
4.3.1	Umidade.....	33
4.3.2	Ácido ascórbico.....	34
4.3.3	Minerais.....	34
4.3.4	Capacidade Antioxidante e Compostos Fenólicos totais.....	35

4.3.4.1	Preparo das amostras para análise de compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante.....	35
4.3.4.2	Teste de obtenção do extrato.....	35
4.3.4.3	Análise da capacidade antioxidante.....	36
4.3.4.4	Compostos fenólicos totais.....	37
4.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	37
	REFERÊNCIAS.....	38
	CAPÍTULO 2.....	46
	CAPÍTULO 3.....	72
	ANEXOS.....	73
	APÊNDICES.....	92

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO

Ensaio clínicos e epidemiológicos têm estabelecido uma correlação inversa entre a ingestão de frutas, legumes e verduras e a ocorrência de doenças crônicas não transmissíveis (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006; WHO, 2004). As frutas, legumes e verduras por suas propriedades decorrentes do seu conteúdo em fibras, minerais e vitaminas, são essenciais para os processos químicos que asseguram a sobrevivência, crescimento e funcionamento dos sistemas vitais humanos (COZZOLINO, 2007; HARDISSON et al., 2001). Além disso, fornecem também compostos bioativos que promovem benefícios à saúde e reduzem o risco de desenvolvimento de doenças relacionadas a danos oxidativos como artrite, aterosclerose, câncer, diabetes, doença de Alzheimer, doença de Parkinson, doença hepática, inflamações e envelhecimento (MOON; SHIBAMOTO, 2009). Este efeito protetor tem sido atribuído a propriedades antioxidantes desempenhadas por tais compostos bioativos, que previnem ou inibem a ação de radicais livres ligados ao stress oxidativo (HUANG; OU; PRIOR, 2005).

As frutas cítricas são importantes fontes de antioxidantes como ácido ascórbico, carotenóides, flavonóides e outros compostos fenólicos (ABEYSINGUE et al., 2007; GHASEMI; GHASEMI; EBRAHIMZADEH, 2009; JAYAPRAKASHA; PATIL, 2007; RAPISARDA et al., 2008) e, também, de alguns minerais, importantes para a nutrição humana (GORINSTEIN et al., 2001; TOPUZ et al., 2005).

A produção de citros é uma das principais culturas de frutas no comércio internacional, em termos de valor econômico (BOCCO et al., 1998;

MOLTÓ; BLASCO, 2008; ABEYSINGHE et al., 2007). Segundo a Food and Agriculture Organization of the United Nations - FAO (2009), há 140 países produtores de citros, entre os quais se destacam Brasil, China, Estados Unidos da América, México e Espanha. O Brasil é um dos maiores produtores, tendo produzido, em 2008, cerca de 20 milhões de toneladas, sendo as laranjas as mais produzidas, seguidas pelas tangerinas e limas ácidas (FAO, 2009; FNP, 2008).

A laranja foi a fruta mais comercializada nas Centrais de Abastecimento do Estado de Goiás (CEASA-GO) no ano de 2009, e o estado de Goiás apresentou índice de participação de 56,20% na oferta da laranja, enquanto que outros estados de 43,80%, destacando-se São Paulo. Os municípios goianos que mais produziram foram: Goianópolis, Inhumas, Hidrolândia, Itaberaí, Anápolis e Piracanjuba (CEASA-GO, 2009). Ainda, dados da Tabela de Aquisição Domiciliar da Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008/2009 (IBGE, 2010) demonstraram que a aquisição de citros no estado de Goiás foi em média 26,9% do total de frutas adquiridas pelas famílias, sendo as laranjas doces responsáveis por 22,0% deste valor, seguida pelas tangerinas, responsáveis por 3,7% e o limão comum, responsável por 1,2%.

Existem dois mercados distintos no setor de citros: a venda de frutas cítricas frescas, com uma predominância de laranjas; e o mercado de produtos transformados em citrinos, consistindo principalmente de suco de laranja. Cerca de 2 milhões de toneladas de laranja são destinadas ao mercado de frutas *in natura*, anualmente no Brasil (FNP, 2008). A porcentagem média de frutos transformada em sucos nos grandes países produtores (Brasil e Estados Unidos) chega a 96% da produção (LADANIYA, 2008; MOLTÓ; BLASCO, 2008). O rendimento em suco de laranjas é cerca de metade do peso dos frutos (ANAGNOSTOPOULOU et al., 2006), portanto grandes quantidades de subprodutos são formadas a cada ano.

A casca (pericarpo), as sementes e o bagaço (segmentos), subprodutos das frutas cítricas, são fontes de melaço, pectina, óleos essenciais e; quando utilizados, geralmente são transformados em farelo peletizado para ração animal. Porém, podem ser também usados como

insumos na indústria de alimentos, bebidas, cosméticos e perfumes, empregados na fabricação de tintas e solventes, produtos que agregam valor comercial e evitam o impacto ambiental causado pelos resíduos (BOCCO et al., 1998; RIVAS et al., 2008).

Sabe-se que a composição química e nutricional de frutas sofre variações em função do clima, da fertilização aplicada, do tipo de solo, das cultivares, grau de maturidade e ainda entre as partes de um mesmo fruto (CHITARRA, 1994; MENDONÇA et al., 2006; TOPUZ et al., 2005). Como existe muita variação, é importante o conhecimento da composição química das frutas e suas partes, oriundos de vários locais, tipos de produção agrícola e estágio de maturação. Estes dados podem contribuir com as autoridades de saúde pública no estabelecimento de metas e guias nutricionais que levam a uma dieta saudável; podem fornecer subsídios aos epidemiologistas e profissionais de saúde que estudam a relação entre dieta e os riscos de doenças e por fim, orientar a prática agrícola e a indústria de alimentos no desenvolvimento de novos produtos (FALLER; FIALHO, 2009; NEPA, 2006; TORRES; CAMPOS; DUARTE, 2000).

Este trabalho foi proposto com o intuito de contribuir com dados da capacidade antioxidante, relacionada aos teores de compostos fenólicos e vitamina C, e também de minerais de cinco variedades de citros cultivadas no estado de Goiás.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 MORFOLOGIA, QUALIDADE E VARIEDADES DOS CITROS

Comercialmente, diversas espécies são consideradas sob o termo de citros, incluindo limões (variedades produzidas a partir da espécie *Citrus limon*), limas ácidas (*Citrus latifolia* e seus híbridos), tangerinas (*Citrus reticulata* Blanco), laranjas doces (*Citrus sinensis* L. Osbeck), grapefruit (*Citrus paradisi* Macfad. e seus híbridos) e toranjas (*Citrus maxima* Burm. Merr. e seus híbridos) (MOLTÓ; BLASCO, 2008). No Brasil os citros mais produzidos são a laranja, a tangerina e a lima ácida (FNP, 2008).

Os citros, como demonstrado na Figura 1, surgem com o crescimento e desenvolvimento de um ovário e, consistem em 8 a 16 carpelos, que agrupados em torno do eixo floral, constituem o núcleo da fruta. Os carpelos formam segmentos, nos quais as sementes e as bolsas de suco (vesículas) crescem. Os segmentos em torno do eixo central formam a polpa comestível de um citro maduro. O pericarpo (casca ou pele) é dividido em exocarpo ou flavedo e, mesocarpo ou albedo. O flavedo é a parte exterior, colorida e, albedo é a interna, incolor, branca, ou às vezes com parte de cor, como ocorre nas laranjas do tipo sanguíneas como as laranjas moro (LADANIYA, 2008).

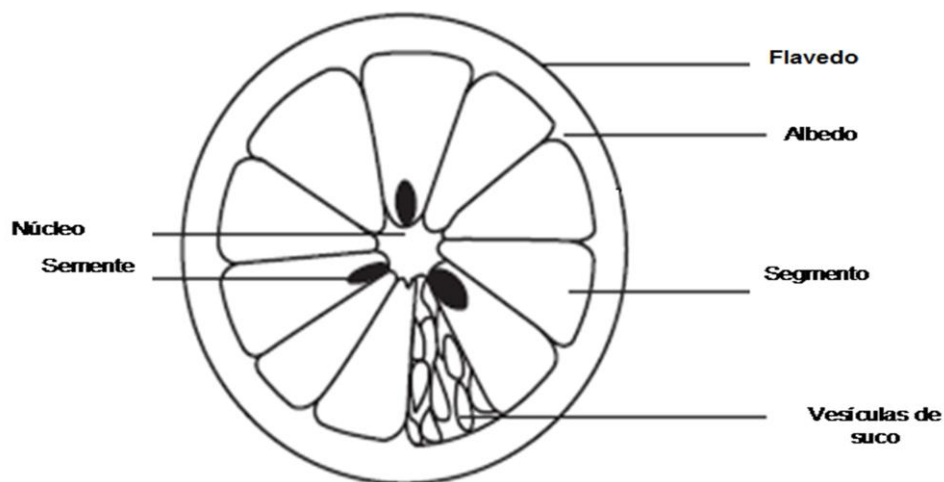


Figura 1. Secção transversal de citros mostrando partes anatômicas, adaptado de Ladaniya (2008).

As frutas cítricas são não-climatérias, ou seja, elas não amadurecem depois da colheita (LADANIYA, 2008). O momento da colheita é determinado por índices de maturação, compreendendo medidas físico-químicas que sofrem mudanças perceptíveis ao longo da maturação da fruta, obtendo-se desta forma frutas saborosas e de boa qualidade (KLUGE et al., 2002). A melhor época para colheita, geralmente é determinada com base nas observações práticas do próprio agricultor; porém pode também ser determinada por parâmetros de qualidade, que incluem métodos físicos (medição do tamanho, do diâmetro ou rendimento do suco) ou métodos químicos (determinação de acidez, pH, teor de sólidos solúveis e seu respectivo balanço com a porcentagem de ácidos totais (GOMES, 1996; SIMÕES JÚNIOR et al., 1999).

O teor de sólidos solúveis indica quantidade de açúcares, ácidos, vitaminas, aminoácidos e pectina existentes na laranja e que aumentam no processo de maturação, seja por biossíntese ou pela degradação de polissacarídeos (KLUGE et al., 2002). Ainda, durante a maturação dos citros há uma diminuição da acidez, proveniente principalmente do ácido cítrico (ALBERTINI et al., 2006). A relação entre o teor de sólidos solúveis (°Brix) e o teor de ácidos totais, chamado de *ratio*, é o índice utilizado para determinar o estágio de maturação, determinando o balanço entre o sabor doce e ácido. Os citros são considerados maduros quando o seu *ratio* tiver atingido limites mínimos para a palatabilidade (LADANIYA, 2008).

Quanto aos valores mínimos de *ratio* existem divergências na literatura. Segundo Viégas (1991) faixa de *ratio* para citros pode variar entre 6 e 20, sendo o intervalo de 15 a 18 o preferido pelos consumidores. Já Sartori et al. (2002), considera como maduros e adequados para o consumo, frutos que apresentam *ratio* entre 8,8 e 15,4. Na Califórnia, utiliza-se *ratio* de no mínimo 8 para o consumo do fruto *in natura*, e 10 para frutos destinados à fabricação de suco de laranja concentrado congelado. Na Flórida, geralmente, os consumidores preferem o suco de laranja com *ratio* entre 15 e 18, e a indústria começa a processar os frutos quando estes atingem *ratio* igual a 13 (KIMBALL, 1991). No Brasil, verifica-se a preferência por sucos

com *ratio* acima de 14. Todavia, o processamento pode começar quando alcançar 12 a 13 (COUTO; CANIATTI-BRAZACA, 2010). Porém, segundo a EMBRAPA (2008), o *ratio* considerado adequado para os citros no Brasil pode variar de 8,5-10, dependendo de cada variedade.

No entanto, nem todas as frutas cítricas seguem este comportamento de diminuição da acidez durante a maturação, apresentando valores de *ratio* fora desses limites. Algumas variedades apresentam teor de acidez alto e constante (limões) ou; baixa acidez, como as limas doces e as laranjas doces de baixa acidez (ALBERTINI et al., 2006). Assim, a proporção de sólidos solúveis: ácidos totais não é considerado um índice adequado para a determinação da maturidade de laranjas doces de baixa acidez, limas doces e limões.

Neste caso, outro parâmetro, como o rendimento de suco, pode ser utilizado para verificar o estágio de maturação dessas frutas cítricas. Nos Estados Unidos da América, um rendimento de suco de limão de no mínimo 30% é o único padrão de qualidade interno (LADANIYA, 2008). No Brasil, a EMBRAPA (2008) considera adequado a porcentagem mínima de suco entre 35% a 45% em relação ao peso do fruto inteiro, variando de acordo com cada variedade de citro. Já o Centro de Qualidade em Horticultura (CEAGESP, 2000 a, b, c) e a Portaria Sarc nº 691 (BRASIL, 2002), estabelecem limites mínimos para a porcentagem de suco que variam de acordo com as variedades, descritos no Quadro 1.

Quadro 1. Porcentagem mínima de suco de acordo com a variedade de citros.

Citros	Variedade	Nome científico	% de suco
Laranja	lima	<i>Citrus sinensis</i> , Osbeck	35
	pêra	<i>Citrus sinensis</i> , Osbeck	45
Lima	ácida tahiti	<i>Citrus latifolia</i> Tanaka	40
Tangerina	ponkan	<i>Citrus reticulata</i> Blanco	35

Fonte: adaptado de Ceagesp (2000 a, b, c) e Brasil (2002).

2.1.1 Laranjas doces

Tanto a laranja variedade pêra como a laranja bahia (sem sementes), a laranja moro (sangüínea) e a laranja lima (sem acidez) têm o nome científico *Citrus sinensis* (L) Osbeck (EMBRAPA, 2008).

A laranja pêra é a mais cultivada no Brasil, e destaca-se por ter o sabor suave e ser produzida o ano inteiro. Os frutos têm forma ovalada e peso médio de 145g, a casca de cor alaranjada, com suco abundante, correspondente a 50 a 55% de peso do fruto, apresentando de 8 a 12 °Brix de sólidos solúveis, 0,95% de ácido cítrico e valores de *ratio* de 12,5 (FIGUEIREDO, 1991; LANDANIYA, 2008).

A laranja lima tem casca fina, amarela esverdeada. De todas as variedades, é considerada a de mais baixa acidez, sendo por isso indicada para bebês, crianças e idosos. As laranjas doces com baixa acidez têm quase totalidade da produção destinada ao consumo *in natura* e, parte é utilizada pela indústria visando à diminuição da acidez e melhora da qualidade dos sucos no início da safra, quando os teores de acidez para os cultivares utilizados são elevados. Os frutos são esféricos com peso médio variando de 75 a 130 g, com polpa de textura firme e apresentam 35 % a 50% de suco, sólidos solúveis variando de 9,3 a 10 °Brix e, acidez de 0,05 a 0,1% (FIGUEIREDO, 1991; ROSSI; MENDEZ, 2001; TAZIMA et al., 2009).

2.1.2 Tangerinas

Nesse grupo, os nomes científicos variam de acordo com as variedades: Tangerinas Ponkan, Cravo, Swatow (*C. reticulata* Blanco.), Mexerica do Rio (*C. deliciosa* Tenore.), Tangerina Satsuma (*C. unshiu* Marc.), Tangerina Clementina (*C. clementina* Hort. ex Tan.) (EMBRAPA, 2008).

A Ponkan (*Citrus reticulata* Blanco) é uma das tangerinas mais populares e apreciadas pelos brasileiros para consumo *in natura*. Ela é descrita como uma cultivar de frutos grandes, de forma globulosa e moderadamente achatada, casca meio fina e pouco aderente, sabor e odor

suaves, casca e polpa de coloração alaranjada (PIO; MINAMI; FIGUEIREDO, 2001). O peso dos frutos varia em média de 138 g a 198,9 g e o suco corresponde a 43% da massa do fruto, com teores médios de sólidos solúveis de 10,8%, acidez de 0,85% e *ratio* de 12,7 (DETONI et al., 2009; LANDANIYA, 2008).

2.1.3 Limas

Apesar de ser usualmente denominada de limão tahiti, a expressão correta é lima ácida tahiti, cujo nome científico é *C. latifolia* Tanaka (EMBRAPA, 2008). O peso médio do fruto é de 70 a 135 g, dependendo da época e volume da colheita, sendo a casca geralmente fina, com superfície lisa e cor amarelo pálido na etapa de maturação. O suco representa cerca de 50% do peso do fruto, acidez de 5 a 6 % e sólidos solúveis (açúcares) de 9°Brix (FIGUEIREDO, 1991; MENDONÇA et al., 2006).

A lima comum ou doce é também chamada de lima da pérsia (*C. limettioides* Tanaka). É a variedade mais representativa das limeiras-doces. Os frutos são de tamanho médio, subglobosos a oblongos, às vezes oblíquos ou elípticos, com base e ápice arredondados. O peso varia de 130 a 150 g. A casca é de superfície lisa, espessura fina, aderente e com glândulas de óleo médias. A polpa é amarelo-pálida, com textura macia a firme, com eixo sólido. Os frutos são suculentos, com mais de 50% de seu peso em suco, com sólidos solúveis ao redor de 7-8 °Brix e acidez baixa, usualmente menor que 0,10%, *ratio* de 70-80 (DONADIO; FIGUEIREDO; PIO, 1995).

2.2 RADICAIS LIVRES E ANTIOXIDANTES

O termo radical livre é freqüentemente usado para designar qualquer átomo ou molécula contendo um ou mais elétrons não pareados, nos orbitais externos. Isto o torna altamente reativo e capaz de reagir com qualquer composto situado próximo à sua órbita externa, passando a ter uma função oxidante ou redutora de elétrons. São produzidos continuamente durante os

processos metabólicos e atuam como mediadores para a transferência de elétrons em várias reações bioquímicas. As principais fontes de radicais livres são as organelas citoplasmáticas que metabolizam o oxigênio, o nitrogênio e o cloro, gerando grande quantidade de metabólitos. Ainda, as espécies reativas de oxigênio podem ser geradas além da forma endógena durante o metabolismo celular, como também de forma exógena, como por exposição ao álcool, fumo, drogas, raios ultravioleta e estilo de vida (FANG YANG; WU, 2002; VALKO et al., 2007).

Segundo Oliveira; Shoffen (2010) e Cotran et al. (2000a), os efeitos da espécies reativas são abrangentes. No entanto, três reações são relevantes para o dano celular. A primeira é a peroxidação lipídica das membranas plasmáticas, que ocorre quando as ligações duplas de ácidos graxos insaturados das membranas lipídicas são atacados por radicais livres derivados do oxigênio. As interações radicais-lipídios geram peróxidos, que também são instáveis e reativos, iniciando uma reação autocatalítica em cadeia (chamada também de propagação), que pode resultar em danos de as organelas e membranas celulares.

A segunda reação é a modificação oxidativa de proteínas, que ocorre devido à ação dos radicais livres, que promovem a oxidação das cadeias laterais de aminoácidos, formando ligações cruzadas proteína-proteína e oxidação da estrutura principal das proteínas, resultando em fragmentação da biomolécula. A modificação oxidativa aumenta a degradação de proteínas críticas pela multiplicação de complexos multicatalíticos de proteassomos, causando estragos por toda a célula.

Finalmente, as lesões ocorrem no DNA através da reação com a timina no DNA nuclear e mitocondrial, produzindo rupturas em um dos filamentos do DNA. Essa lesão foi relacionada com o envelhecimento celular e com a transformação maligna das células

Portanto, a produção excessiva de radicais livres, chamado de estresse oxidativo, pode conduzir a diversas formas de dano celular (danos à estrutura das biomoléculas de DNA, lipídios, carboidratos e proteínas, além de outros componentes celulares, e sua cronicidade pode estar envolvida com a etiogênese ou com o desenvolvimento de numerosas

doenças. Estudos comprovam que o estresse oxidativo está relacionado com o envelhecimento, atividade física intensa, apoptose, câncer, diabetes *mellitus* e arteriosclerose (OLIVEIRA et al., 2009).

O excesso de radicais livres no organismo é combatido por antioxidantes produzidos pelo corpo (enzimas) ou absorvidos da dieta (vitamina C, vitamina E, compostos fenólicos). As lesões causadas nas células podem ser prevenidas ou reduzidas por meio da atividade de antioxidantes. Os antioxidantes podem agir diretamente na neutralização da ação dos radicais livres ou participar indiretamente de sistemas enzimáticos com essa função (EVANS; HALLIWELL, 2001).

Segundo Moure et al. (2001), antioxidante é definido como uma molécula capaz de abrandar ou prevenir a oxidação de outras moléculas, ou ainda, um antioxidante biológico é definido como "qualquer substância que, quando presente em baixa concentração, em comparação com a de um substrato oxidável, retarda ou inibe significativamente a oxidação desse substrato". Para a bioquímica e a medicina, antioxidantes são "enzimas ou outras substâncias orgânicas, tais como Vitamina E ou β -caroteno, que são capazes de neutralizar os efeitos prejudiciais da oxidação em tecidos de animais". Já na ciência de alimentos, os antioxidantes têm um âmbito mais amplo, na medida em que "incluem componentes que evitam a oxidação de lipídios, preservando sabor e odor, além de evitar destruição de vitaminas", bem como, "uma substância presente em alimentos que diminui significativamente os efeitos adversos de espécies reativas, desencadeando uma função fisiológica normal em seres humanos" (HUANG; OU; PRIOR, 2005).

As frutas cítricas são uma importante fonte de antioxidantes (ABEYSINGUE et al., 2007; GHASEMI; GHASEMI; EBRAHIMZADEH, 2009; JAYAPRAKASHA; PATIL, 2007; RAPISARDA et al., 2008) e estudos relacionados ao seu consumo mostraram a redução no risco de doença cardíaca coronária, redução no risco e desenvolvimento de câncer gastrontestinais, melhora do perfil lipídico do sangue, melhora da pressão arterial e melhora na absorção do cálcio (DI MAJO et al., 2005; PETERSON et al., 2006). Além disso, atraem cada vez mais a atenção como agentes

anticarcinogênicos e antiinflamatórios por causa de seus efeitos de anti-peroxidação lipídica (BENAVENTE-GARCIA; CASTILLO, 2008; GHASEMI; GHASEMI; EBRAHIMZADEH, 2009; JAYAPRAKASHA, 2007; JAYAPRAKASHA et al., 2010).

A seguir serão descritos os principais antioxidantes do citros, tais como os compostos fenólicos, ácido ascórbico e alguns minerais.

2.3 COMPOSTOS BIOATIVOS DOS CITROS

2.3.1 Compostos fenólicos

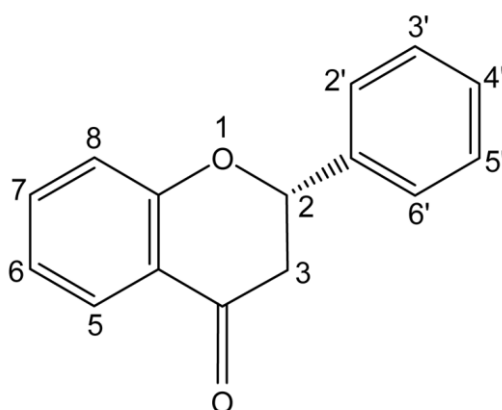
Entre os antioxidantes presentes nos vegetais, os mais ativos e freqüentemente encontrados são os compostos fenólicos. Estes podem ser definidos como substâncias que possuem um anel aromático com um ou mais grupos hidroxila, normalmente conjugados com mono e polissacarídeos e, complementam as funções das vitaminas e enzimas antioxidantes como defesas contra o estresse oxidativo (STALIKAS, 2007; TSAO, 2010).

Os compostos fenólicos são formados no metabolismo secundário dos vegetais e lhes conferem sabor e cor, assim como possuem funções de defesa contra o ataque de pragas e doenças, contra as radiações ultravioletas do sol e podem atuar com um atrativo p/ insetos polinizadores (BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006; IGNAT; VOLF; POPA, 2011; NACZK; SHAIDI, 2006). Já em animais e humanos tem-se observado que são capazes de reagir com radicais livres formando radicais estáveis. As propriedades benéficas desses compostos podem ser atribuídas à sua capacidade de sequestrar os radicais livres, assegurando a homeostase e crescimento normais e, prevenindo o aparecimento de doenças crônicas não transmissíveis (BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006; OLIVEIRA et al., 2009).

Em alimentos, os compostos fenólicos podem ser aplicados como substitutos de conservantes sintéticos ou como ingredientes ativos, apresentando vantagens devido a implicações na área de saúde e na funcionalidade (PESCHEL et al., 2006; OKONOJI et al., 2007; WIJNGAARD;

ROBLE; BRUNTON, 2009). Nota-se, por exemplo, que a maior solubilidade dos antioxidantes naturais tanto em água como em óleo é útil na preparação de emulsões e outras formulações, como os hidrogéis (OLIVEIRA et al., 2009).

Entre os compostos fenólicos encontrados nos citros, destacam-se os classificados quimicamente como flavonóides, que apresentam estruturalmente três anéis aromáticos (C₆-C₃-C₆), com 15 átomos de carbono. Dentre eles, 95% correspondem ao subgrupo das flavanonas (Figura 2). Os outros 5% correspondem a flavonóides como flavonols, flavonas e antocianinas e são pouco relatados em estudos. Todas as variedades de citros contêm flavanonas agliconas como hesperetina e naringenina. As principais flavanonas glicosídeas em laranjas doces (*C. sinensis*) são a hesperidina e a narirutina, enquanto que em laranjas azedas (*C. aurantium*) predominam a neohesperidina e a naringina (PETERSON et al., 2006).



Flavanonas	Posição do Composto			
	5	7	3'	4'
Naringenina	OH	OH	-	OH
Naringina	OH	O-Rha-Glu	-	OH
Hesperetina	OH	OH	OH	OCH
Hesperidina	OH	O-Rha-Glu	OH	OCH

Figura 2. Estrutura química das flavanonas encontradas nos citros, adaptado de Stalikas (2007).

No Brasil, um estudo realizado para a determinação de compostos fenólicos em partes comestíveis de frutas do Rio de Janeiro (FALLER; FIALHO, 2009), incluindo frutas cítricas, verificou diferenças nos valores de polifenóis encontrados comparados ao teor encontrado em estudos de outros países e dentro do próprio país, como o estudo de Melo et al. (2006) realizado em Recife. Isso acontece porque o conteúdo de polifenóis em alimentos, assim como de outros compostos químicos, pode variar conforme fatores, como: região geográfica de plantio, variação à exposição solar, método de cultivo e fertilização aplicados, cultivar analisado, dentre outros (NACZK; SHAIDI, 2006; STALIKAS, 2007). Contudo, existe também uma grande dificuldade de comparação entre dados referentes à atividade antioxidante devido à especificidade de cada metodologia utilizada, as diferentes condições de análise empregadas e a forma de expressão dos resultados, que muitas vezes não permitem uma comparação direta (HUANG; OU; PRIOR, 2005).

A busca por antioxidantes naturais para produtos alimentícios, cosméticos e farmacêuticos vem representando um importante desafio para a pesquisa industrial nos últimos 20 anos (LAGUERRE; LECOMTE; VILLENEUVE, 2007, OLIVEIRA et al., 2009) e estudos com frutas cítricas têm demonstrado maior concentração de compostos nas cascas de frutas que em seus segmentos (ABEYSINGHE et al., 2007; ANAGNOSTOPOULOU et al., 2006). Visto que na citricultura, grande parte da produção é destinada à fabricação de sucos concentrados e há grande formação de resíduos (cerca de 50% dos frutos), as cascas poderiam ser utilizadas como fontes naturais de antioxidantes, além de sua utilização para a ração animal. Porém, no Brasil, ainda há pouca informação da atividade antioxidante em cascas de frutas, e assim muito do potencial existente permanece ainda inexplorado.

2.3.2 Vitamina C

Além dos compostos fenólicos, as frutas cítricas apresentam outros

compostos bioativos como o ácido ascórbico. O ácido ascórbico é sintetizado por plantas e alguma espécies de animais, exceto pelo homem e algumas aves, e por isso deve ser adquirido a partir da dieta. É facilmente oxidado pelo calor, pela presença de cobre e pH alcalino. Pode ser oxidado reversivelmente a ácido dehidroascórbico que, por sua vez, pode ser oxidado também irreversivelmente ao 2,3 ácido dicetogulônico (PELÚZIO; OLIVEIRA, 2006; RIBEIRO; SERAVALLI, 2004).

Por ser solúvel em água, acredita-se que o ácido ascórbico faça parte da primeira linha de defesa do organismo, sendo considerado um potente agente redutor capaz de reduzir a maioria das espécies reativas de oxigênio e nitrogênio. Em meio fisiológico encontra-se predominantemente na forma de ascorbato, podendo atuar como co-fator ou co-substrato de diferentes enzimas ou atuar no metabolismo iônico dos minerais, reduzindo metais de transição (Fe^{3+} e Cu^{2+}) e, aumentando sua biodisponibilidade (HALLIWELL, 1999). Além disso, regenera o α -tocoferol e, portanto, participa do mecanismo protetor contra a lipoperoxidação (EVANS; HALLIWELL, 2001).

Ainda, o ácido ascórbico é conhecido por uma série de atividades biológicas vitais, incluindo a síntese de colágeno, neurotransmissores, hormônios esteróides e carnitina; a conversão de colesterol para ácidos biliares; a promoção da absorção de cálcio; o auxílio na cicatrização de feridas e queimaduras; sendo essencial para a saúde das gengivas e prevenção da coagulação sanguínea (PATIL et al., 2009).

Apesar da grande eficiência antioxidante, o ácido ascórbico também age paradoxalmente como pró-oxidante *in vitro*. No organismo (*in vivo*), o ascorbato pode apresentar propriedades pró-oxidantes, pois ao reduzir os íons Fe^{3+} e Cu^{2+} a Fe^{2+} e Cu^{1+} , estes reagem com o peróxido de hidrogênio e geram o radical hidroxila, induzindo assim, a produção de radicais livres. Porém, em função do ferro encontrar-se, na maior parte do tempo, ligado a proteínas de transporte ou armazenamento, em situação normal, as propriedades antioxidantes do ascorbato suplantam suas propriedades pró-oxidantes (HALLIWELL, 1999; CERQUEIRA; MEDEIROS; AUGUSTO, 2007).

As frutas cítricas são caracterizadas como frutas que contêm bom teor de ácido ascórbico, sendo este considerado um fator fundamental no valor e qualidade destas frutas (PETERSON et al., 2006). Alguns estudos sugerem inclusive que o ácido ascórbico é o principal contribuinte para a capacidade antioxidante dos citros (ARENA; FALLICO; MACARRONE, 2001; CARO; PIGA; AGABBIO, 2004; XU et al., 2008). Porém, o teor de ácido ascórbico em frutas varia segundo o tipo de cultivar, estágio de maturação, condições de cultivo, disponibilidade de luz, teores de nitrogênio, potássio ou fósforo no solo. Podem diferir em seu teor, de 2 a 3 vezes, ou ainda mais, dependendo das cultivares (NAGY, 1980; WALL, 2006).

2.3.3 Minerais

Além dos compostos fenólicos e vitaminas que atuam diretamente como antioxidantes, os minerais também são essenciais como componentes das enzimas que participam da defesa antioxidante. Entre elas, a superóxido dismutase, que é dependente do cobre, do zinco e do manganês, a glutathione peroxidase, que é dependente do selênio e a catalase, do ferro (EVANS; HALLIWELL, 2001). Ainda, segundo Oliveira et al. (2009), os íons divalentes (Mg^{2+} e Ca^{2+}) são também co-fatores de proteínas e enzimas envolvidas na maquinaria redox celular e podem também afetar o balanço oxidativo.

Sendo assim, o estresse oxidativo pode ocorrer em circunstâncias como em vários tipos de doença e desnutrição, onde há micronutrientes insuficientes para satisfazer as necessidades das defesas antioxidantes endógena (EVANS; HALLIWELL, 2001). Sabe-se que existe ainda uma elevada prevalência de deficiências de micronutrientes em muitas partes do mundo. No Brasil, o maior problema ainda é a anemia por deficiência de ferro e dados da avaliação nutricional de grupos específicos de nossa população mostraram também deficiência em zinco e cálcio (COZZOLINO, 2007). Nesta situação, o estresse oxidativo pode ser significativo, especialmente se o indivíduo é exposto a fatores ambientais que aumentam a produção de espécies reativas acima dos níveis normais, como por exemplo, na infecção.

Existem poucos estudos sobre a relação entre deficiências de micronutrientes e estresse oxidativo. Geralmente, o estresse oxidativo deve ser avaliado por biomarcadores de dano oxidativo e ser correlacionado com os níveis de cada micronutriente. Perante estas e outras dificuldades, os estudos relativos à deficiência de micronutrientes e ao estresse oxidativo, são normalmente realizados em animais de laboratório, com a exclusão de um ou dois micronutrientes da dieta e verificando os efeitos sobre os diversos aspectos das defesas antioxidantes endógenas ou nos níveis de um biomarcador (EVANS; HALLIWELL, 2001) .

Em relação ao citros, alguns estudos (TOPUZ et al., 2005; GORINSTEIN et al., 2001; XU et al., 2008) descreveram como sendo fontes de alguns macrominerais como potássio, magnésio, cálcio e fósforo. Também encontraram altos teores de elementos traço (ferro, cobre e manganês), importantes na prevenção e tratamento da aterosclerose e na produção de enzimas antioxidantes.

Estudos de Bataglia et al. (1977), Gorinstein et al. (2001) e Gondim et al. (2005), mostraram que as cascas de frutas cítricas apresentam, em geral, teores de nutrientes maiores do que suas partes comestíveis. A casca de tangerina apresentou os maiores percentuais em conteúdo de minerais quando comparada às cascas de abacate, banana, abacaxi, mamão e melão (GONDIM et al., 2005). Entretanto, nas análises nutricionais das frutas destes artigos, não é mencionada a espécie, cultivar, estado de maturação, formas de cultivo, local de produção etc., fatores estes que afetam o conteúdo de vitaminas e minerais (TOPUZ et al., 2005).

Dados nacionais da composição mineral da parte comestível dos citros podem ser encontrados na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos - TACO (NEPA, 2006) para as variedades pêra, lima, tahiti e ponkan. Dados sobre a composição mineral da casca de citros podem ser encontrados na publicação do SESI (2008), que não considera as cultivares; no estudo de Bataglia et al. (1977), variedades pêra e tahiti e; em estudo de Gondim et al. (2005), que apresenta dados da variedade ponkan (Apêndice A). Em nenhum estudo foram encontrados dados para a composição mineral da lima da pérsia.

A valorização de frutas, de seus produtos e de seus resíduos industriais depende do conhecimento da composição química e nutricional destes. Sabendo-se do potencial dos citros no Brasil e havendo poucos estudos relacionados aos compostos bioativos e da capacidade antioxidante de frutas cítricas, a pesquisa teve por objetivo quantificar os componentes químicos das polpas e cascas de 5 variedades citros comercializadas no estado de Goiás.

3.OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a composição mineral, o teor de compostos fenólicos totais e a capacidade antioxidante de citros cultivados em Goiás.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar as frutas quanto ao estágio de maturação;
- Determinar a composição mineral da polpa e da casca dos citros;
- Avaliar a capacidade antioxidante da polpa e da casca dos citros;
- Determinar os compostos fenólicos totais na polpa e casca dos citros;
- Comparar a composição mineral e de antioxidantes na polpa e na casca de diferentes variedades de citros cultivados em Goiás;
- Correlacionar os resultados de capacidade antioxidante com o teor de compostos fenólicos totais e com o teor de ácido ascórbico.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 AMOSTRAGEM

Cinco tipos de citros (Figura 3): duas variedades de laranjas doces (*Citrus sinensis*), pêra e lima; duas variedades de limas, a tahiti (*C. latifolia* Tanaka) e a lima da pérsia (*C. limettioides* Tanaka); e uma variedade de tangerina, a ponkan (*Citrus reticulata* Blanco) foram coletadas na fazenda “Córrego Grande”, localizada em Hidrolândia, município do estado de Goiás, no mês de junho de 2010, em que todas estavam disponíveis ao mesmo tempo para a coleta. As frutas foram colhidas nos quatro quadrantes das árvores (norte, sul, leste e oeste), em média de 100 frutas de cada variedade, utilizando delineamento inteiramente casualizado. Hidrolândia foi uma dos municípios goianos que mais produziram citros, em 2009 (CEASA-GO, 2009).



Citrus sinensis cv Pêra



Citrus sinensis cv Lima



Citrus reticulata
Blanco cv Ponkan



Citrus latifolia Tanaka
cv Tahiti



Citrus limettioides Tanaka
cv Lima da Pérsia

Figura 3. Variedades de citros estudadas.

4.2 MATURAÇÃO DOS FRUTOS

Três amostras de 10 frutas de cada variedade, separadas pelo sistema de quarteamento segundo Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008), foram higienizadas em água corrente e secas. Para a caracterização do estágio de maturação e da qualidade das frutas, foram obtidos os seguintes parâmetros físico-químicos: o peso médio dos frutos, o rendimento do suco, a relação casca/fruta, a acidez total titulável, o pH e os sólidos solúveis totais de acordo (Figura 4). Essas análises foram realizadas Laboratório de Nutrição e Análise de Alimentos (LANAL-FANUT).

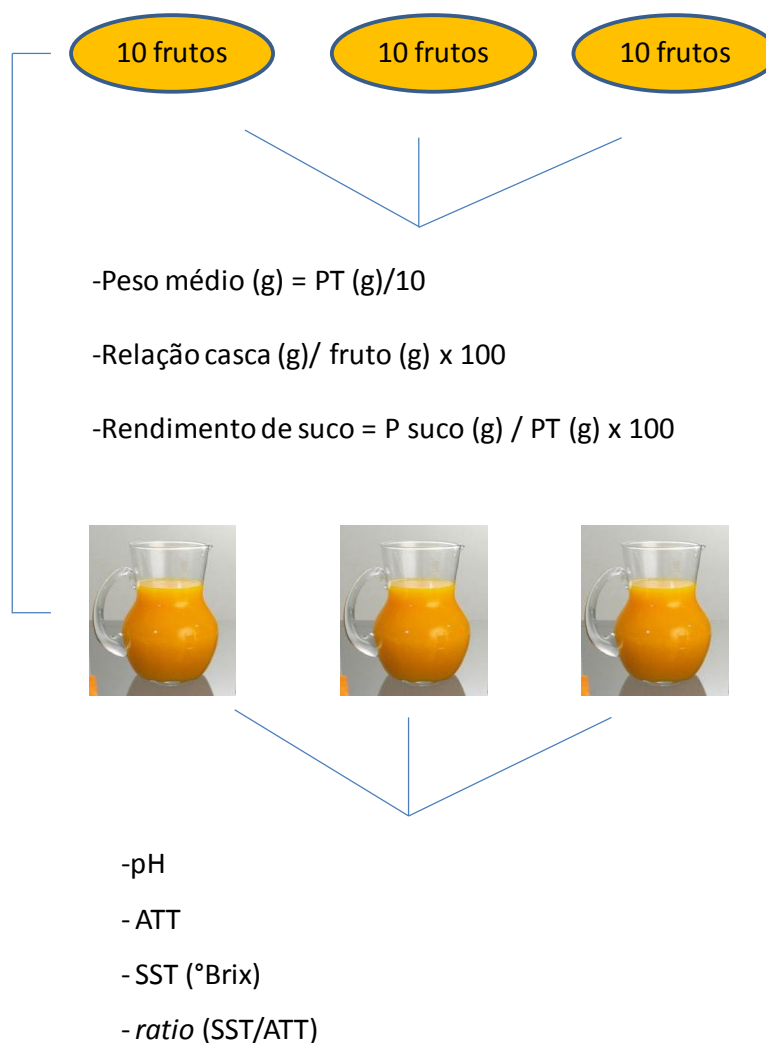


Figura 4. Esquema de amostragem para a caracterização do estágio de maturação e da qualidade das frutas.

4.2.1 Peso do fruto (PF)

A pesagem dos frutos deu-se em balança semi-analítica, com capacidade de até 15 kg e sensibilidade de 5 g, devidamente tarada e calibrada, de acordo com Landanya (2008). O peso médio foi expresso em gramas (g).

4.2.2 Relação casca/ fruta

Os frutos foram descascados manualmente. Foi calculada a proporção do peso da casca (g) em relação ao peso da respectiva fruta inteira (g) de cada variedade, através de pesagem das partes em balança semi-analítica, multiplicado por 100 e expressos em percentagem.

4.2.3 Rendimento de suco

Os frutos foram pesados e o suco extraído em extratora doméstica e reservado em recipiente adequado para a pesagem e homogeneização. A pesagem foi feita em balança semi-analítica. O rendimento do suco foi calculado através da relação peso do suco (g)/ peso do fruto(g), multiplicado por 100 e expresso em percentagem (LANDANYA, 2008).

O suco de cada variedade obtido nesta análise foi utilizado para posterior avaliação de pH, acidez total titulável, sólidos solúveis totais e vitamina C.

4.2.4 Determinação do pH

A avaliação do pH foi eletrométrica segundo IAL (2008), utilizando-se pHmetro de bancada (marca Bel Engineering, Monza, Itália) que permite uma determinação direta, simples e precisa do pH.

4.2.5 Acidez total titulável

A acidez foi determinada por método volumétrico (AOAC, 1995). O suco de cada fruta foi neutralizado por uma solução de NaOH (0,1N), devidamente fatorada, adicionado de algumas gotas de fenolftaleína como

solução indicadora. Em condições de neutralidade, a solução de NaOH torna o suco rosa. A acidez do suco foi expressa em % de ácido cítrico.

4.2.6 Sólidos solúveis totais em °Brix (SST)

Os teores de sólidos solúveis (°Brix) foram obtidos por refratômetro portátil (modelo rt-30atc – faixa 0-32% brix, marca Instrutherm, com resolução 0,2%), segundo metodologia descrita por IAL (2008). Calibrou-se o equipamento com água destilada, e depois pingou-se uma a duas gotas da amostra no prisma ótico e procedeu-se a leitura.

4.2.7 Relação °Brix/Acidez total (*ratio*)

Conhecendo-se o teor de sólidos solúveis totais (SST) e de acidez titulável total (ATT) pode-se estabelecer para as frutas a relação SST/ATT ou *ratio* (°Brix / %). Esta relação é utilizada como uma indicação do grau de maturação da matéria prima (IAL, 2008).

4.3 ANÁLISE QUÍMICA DA POLPA E DA CASCA DOS CITROS

4.3.1 Umidade

A análise de umidade foi realizada no Laboratório de Nutrição e Análise de Alimentos (LANAL-FANUT), imediatamente após serem higienizadas com água e separadas em casca (flavedo e albedo) e polpa (vesículas de suco e segmentos) e homogeneizadas em liquidificador de alimentos semi-industrial (marca Walita, modelo Alumínio - RI2094/01, São Paulo, SP). Foi utilizada a técnica de dessecação a 105°C até peso constante, utilizando-se balança analítica, com precisão de 0,0001g (Marca Scientech, modelo AS 210, Boulder, Colorado - EUA), estufa de secagem e esterilização (Marca Fanem, modelo 315 SE, São Paulo, SP) e dessecador, segundo métodos descritos pelo Instituto Adolfo Lutz (2008).

$$\% \text{ UMIDADE} = \frac{\text{amostra (g)} - \text{amostra seca (g)}}{\text{amostra (g)}} \times 100$$

As análises foram realizadas em triplicata e os resultados foram expressos como média e desvio padrão em g/100g (%).

4.3.2 Ácido Ascórbico

O teor de vitamina C foi determinado pela oxidação do ácido ascórbico pelo iodato de potássio, segundo metodologia descrita por IAL (2008). As análises foram realizadas em triplicata e os resultados foram expressos como média e desvio padrão em mg de ácido ascórbico/100 mL de suco ou 100g de casca. Para a análise de ácido ascórbico nas cascas, estas foram homogêneas em liquidificador, com os reagentes.

4.3.3 Determinação de minerais

As amostras foram higienizadas com água e separadas em casca (flavedo e albedo) e polpa (vesículas de suco e segmentos). As cascas foram homogêneas em liquidificador de alimentos semi-industrial (marca Walita, modelo Alumínio - RI2094/01, São Paulo, SP) e as polpas cortadas em pedaços menores e, posteriormente, foram secas em estufa com circulação e renovação de ar (marca Tecnal, modelo 394/1, Piracicaba, SP) à 60°C. As amostras, quando secas, foram novamente trituradas em liquidificador e armazenadas em freezer a -22°C até o momento da análise de minerais.

Foram determinados cálcio (Ca), cobre (Cu), ferro (Fe), magnésio (Mg), manganês (Mn), potássio (K), sódio (Na) e zinco (Zn), segundo normas do Instituto Adolfo Lutz (2008). Os minerais foram determinados por via seca, com incineração da matéria orgânica e calcinação em mufla (Nova Técnica, modelo NT 380, Piracicaba, SP) à 550°C. Após a calcinação da amostra, as amostras foram diluídas com ácido clorídrico de maneira que a concentração final de minerais estivesse no ponto médio da curva padrão. A curva padrão foi realizada por solução mãe de cada elemento.

A determinação de Ca, Cu, Fe, Mg, Mn e Zn nas amostras diluídas foram feitas em espectrofotômetro de absorção atômica (Perki-Elmer modelo AAnalyst 400, Waltham, MA, USA), do Instituto de Química - IQ/UFG. O aparelho foi calibrado na região ultravioleta, utilizando-se os comprimentos

de onda: 422,67 nm (para Ca), 324,75 nm (para Cu), 248,33 nm (para Fe), 285,21 nm (para Mg), 279,48 nm (para Mn) e 213,86 nm (para Zn). Para a determinação de Na e K foi utilizado fotômetro de chama (Corning Inc., modelo 400, NY, USA), do Instituto de Química - IQ/UFG.

As análises foram realizadas em triplicata e os resultados foram expressos como média e desvio padrão

4.3.4 Determinação de capacidade antioxidante e compostos fenólicos totais

Cerca de 3 Kg de cada variedade *in natura* foi separado e transportado em isopor para análise de compostos fenólicos e capacidade antioxidante no Laboratório de Química, Bioquímica e Biologia Molecular de Alimentos da Universidade de São Paulo (USP), dois dias após a coleta..

4.3.4.1 Preparo das amostras para análise de compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante

Os frutos foram lavados em água corrente, separados em suas partes (casca e polpa), cortados em pedaços menores e imediatamente homogeneizados sob nitrogênio líquido em graal com pistilo, e armazenados em potes de polietileno de alta densidade em freezer a -20°C até o momento das análises.

4.3.4.2 Teste e obtenção do extrato

Para a extração de compostos fenólicos e capacidade antioxidante dos citros, uma das variedades (laranja pêra) foi separada em suas partes (casca e polpa) e homogeneizada, posteriormente extraída com três solventes (água destilada, etanol 5% e metanol em diferentes concentrações - metanol 70% e metanol 80%, metanol puro) por dois métodos diferentes. Um consistiu em agitação com barra magnética por duas horas a 4°C em triplicata, sendo utilizado 1g de amostra homogeneizada para cada 20 mL de solvente. Os extratos obtidos foram filtrados e utilizados nas análises posteriores. O outro, consistiu em extração com Ultra Turrax (Polytron®-Kinematica GnbH, Kriens-Luzern, Suíça) por um minuto por 3 vezes

consecutivas, sendo utilizado 5g de amostra homogeneizada para cada 50 ml de solvente, filtrado a vácuo e re-extração com 50 mL de solvente e nova filtração em duplicata.

Foram comparadas as duas metodologias de extração, bem como a eficiência de cada solvente e determinado qual será utilizado (Apêndice B).

4.3.4.3 Análise da Capacidade Antioxidante

Foi utilizado o método do DPPH (diphenyl-2-picrylhydrazyl) (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995) que é baseado na redução do radical DPPH na presença de antioxidante doador de hidrogênio com modificações realizadas por Duarte-Almeida et al. (2006).

Ao extrato das amostras preparado (40 µL) foi adicionada 200 µL de solução de DPPH (0,5 mM). Após o tempo de reação de 20 minutos, a absorbância foi lida em 517 nm em espectrofotômetro de microplaca (Benchmark Plus, Bio Rad Laboratories, Hercules, CA) e convertida em porcentagem de atividade antioxidante. As análises foram realizadas em triplicatas. Uma curva de calibração foi preparada com 20, 30, 40, 50, 60, 70 e 80 µmoles de trolox (Sigma Chemical Co., St. Louis, EUA) e os resultados foram expressos em µmoles equivalentes de trolox/g amostra.

O decaimento da absorbância das amostras correlacionado ao decaimento da absorbância do padrão resulta na porcentagem de seqüestro de radicais livres (% AA), que pode ser expressa através da equação:

$$AA (\%) = \frac{[(\text{Absorbância do controle} - \text{Absorbância da amostra}) \times 100]}{\text{Absorbância do controle}}$$

O ensaio FRAP (*ferric reducing antioxidant power*) (BENZIE; STRAIN, 1996) está baseado na capacidade dos fenóis em reduzir o Fe^{3+} à Fe^{2+} . Este método utiliza um sal férrico, o TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazina férrica), como oxidante gerando um composto colorido, cujo comprimento de onda é aferido em espectrofotômetro. Para preparar o reagente FRAP, foi feita uma mistura de 0,1 M de tampão acetato (pH 3,6), 10 mM TPTZ, e 20 mM cloreto férrico (10:01:01,v/v/v). Para 150 µL de reagente foi adicionado

20 µl do extrato. A leitura ocorreu na absorvância máxima de 593 nm em espectrofotômetro de microplaca (Benchmark Plus, Bio Rad Laboratories, Hercules, CA). A análise foi realizada em triplicata e uma solução de trolox foi utilizada para fazer a curva padrão. Os resultados foram expressos em µmoles equivalentes de trolox/100g amostra em base úmida.

4.3.4.4 Compostos fenólicos totais

A quantificação de compostos fenólicos totais foi determinada por espectrofotometria, por meio do reagente de Folin-Ciocalteu, segundo a metodologia descrita por Singleton; Rossi (1965). Neste procedimento, pipeta-se 0,25 ml da solução de extrato em tubos de ensaio, adiciona-se 0,25 mL do reagente de Folin-Ciocalteu e 2 mL de água deionizada

Em seguida, adicionou-se 0,25 mL de solução saturada de carbonato de sódio e a mistura foi colocada em banho-maria a 37⁰C por 30 minutos. A absorvância foi determinada a 750 nm em espectrofotômetro (Ultrospec 2000, Pharmacia Biotec, Cambridge, Inglaterra). A catequina (Sigma Chemical Co., St. Louis, EUA) foi utilizada para fazer a curva padrão. O resultado foi expresso em miligramas de equivalente de catequina por 100 gramas de amostra em base úmida. Essa análise foi realizada em triplicata.

1.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As análises físicas e químicas foram efetuadas em triplicata e os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro para a comparação entre as médias. O coeficiente de correlação de Pearson foi utilizado para determinar a relação entre as variáveis vitaminas C, teor de compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante.

Os cálculos estatísticos foram feitos utilizando-se o programa SPSS Statistics 17.0

REFERÊNCIAS

ABEYSINGHE, D.C.; LI, X.; SUN, C.; ZHANG, W.; ZHOU, C.; CHEN, K. Bioactive compounds and antioxidant capacities in different edible tissues of citrus fruit of four species. **Food Chemistry**, London, v. 104, n.4, p.1338-1344, 2007.

ALBERTINI, E. CARCOUET, E.; PAILLY, O.; GAMBOTTI, C.; LURO, F.; BERTI, L. Changes in organic acids and sugars during early stages of development of acidic and acid less citrus fruit. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, Easton, v. 54, n. 21, p. 8335-8339, 2006.

ANAGNOSTOPOULOU, M. A.; KEFALAS, P.; PAPAGEORGIOU, V. P.; ASSIMOPOULOU, A.; BOSKOU, D. Radical scavenging activity of various extracts and fractions of sweet orange peel (*Citrus sinensis*). **Food Chemistry**, London, v. 94, n.1, p.19-25, 2006.

ARENA, E.; FALLICO, B.; MACCARONE, E. Evaluation of antioxidant capacity of blood orange juices as influenced by constituents, concentration process and storage. **Food chemistry**, London, v. 74, n. 4, p. 423-427, 2001.

A.O.A.C. - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 16. ed. Arlington: A.O.A.C. International, 1995. 1025p.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, London, v. 99, n. 1, p. 191-203, 2006.

BATAGLIA, O. C.; RODRIGUEZ, O.; HIROCE, R.; GALLO, J. R.; FURLANI, P. R.; FURLANI, A. M. C. Composição mineral de frutos cítricos na colheita. **Bragantia**, Campinas, v. 36, n. 21, p. 215-221, 1977.

BENAVENTE-GARCÍA, O.; CASTILLO, J. Update on uses and properties of *Citrus* flavonoids: new findings in anticancer, cardiovascular, and anti-inflammatory activity. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, Easton, v. 56, n. 15, p. 6185–6205, 2008.

BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, Bethesda, v. 239, n.1, p. 70-76, 1996.

BOCCO, A.; CUVELIER, M. E.; RICHARD, H.; BERSET C. Antioxidant activity and phenolic composition of citrus peel and seed extracts. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, Easton, v.46, n. 6, p. 2123-2129, 1998.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel-Wissenschaft Technologie**, London, v. 28, p. 25-30, 1995.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Apoio Rural e Cooperativismo. **Portaria nº 691, de 21 de novembro de 2002**. Aprova o regulamento técnico de identidade e de qualidade para a classificação da laranja. Diário Oficial da República Federativa do Brasil: Brasília, 2001.

CARO, A. D.; PIGA, A.; AGABBIO, M. Changes of flavonoids, vitamin C and antioxidant capacity in minimally processed citrus segments and juices during storage. **Food Chemistry**, London, v. 84, n. 1, p. 99-105, 2004.

CEAGESP - COMPANHIA DE ENTREPOSTOS E ARMAZÉNS GERAIS DE SÃO PAULO. Centro de Qualidade em Horticultura. **Classificação da laranja (*Citrus sinensis*, Osbeck)**. São Paulo: CEAGESP, 2000 a. (Folder). p. 2 (Programa Brasileiro para a Melhoria dos Padrões Comerciais e Embalagens de Hortigranjeiros).

CEAGESP - COMPANHIA DE ENTREPOSTOS E ARMAZÉNS GERAIS DE SÃO PAULO. Centro de Qualidade em Horticultura. **Classificação das tangerinas**. São Paulo: CEAGESP, 2000 b. (Folder). p. 2 (Programa Brasileiro para a Melhoria dos Padrões Comerciais e Embalagens de Hortigranjeiros).

CEAGESP - COMPANHIA DE ENTREPOSTOS E ARMAZÉNS GERAIS DE SÃO PAULO. Centro de Qualidade em Horticultura. **Classificação do limão (Lima ácida) tahiti (*Citrus latifolia* Tanaka)**. São Paulo: CEAGESP, 2000 c. (Folder). p. 2 (Programa Brasileiro para a Melhoria dos Padrões Comerciais e Embalagens de Hortigranjeiros).

CEASAGO - CENTRAIS DE ABASTECIMENTO DE GOIÁS S/A. **Análise conjuntural 2009**. Goiânia: CEASA-GO, n. 34, 2009. p. 347

CERQUEIRA, F. M.; MEDEIROS, M. H. G.; AUGUSTO, O. Antioxidantes dietéticos: controvérsias e perspectivas. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 441-449, 2007.

CHITARRA, M. I. F. Colheita e qualidade pós-colheita de frutos. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.17, n.189, p. 8-18, 1994.

COUTO; M. A. L.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G. Quantificação de vitamina C e capacidade antioxidante de variedades cítricas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 30, S.1, p. 15-19, 2010.

COZZOLINO S. M. F. Deficiências de minerais. **Estudos Avançados**, São Paulo, v. 21, n. 60, p. 119-126, 2007.

DETONI, A. M.; HERZOG, N. F. M.; OHLAND, T.; KOTZ, T.; CLEMENTE, E. Influência do sol nas características físicas e químicas da tangerina 'ponkan' cultivada no oeste do Paraná, **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, n. 2, p. 624-628, mar./abr., 2009.

DI MAJO, D.; GIAMMANCO, M.; LA GUARDIA, M.; TRIPOLI, E.; GIAMMANCO, S.; FINOTTI, E. Flavanones in citrus fruit: structure-antioxidant activity relationships. **Food Research International**, Toronto, v.38, n.10, p. 1161-1166, 2005.

DONADIO, L. C.; FIGUEIREDO, J. O.; PIO, R. M. **Variedades cítricas Brasileiras**. Jaboticabal: FUNEP, 1995. 228 p.

DUARTE-ALMEIDA, J. M.; SANTOS, R. J.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema β -caroteno/ácido linoléico e método de seqüestro de radicais DPPH. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 2, p. 446-452, 2006.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Coleção 500 Perguntas – 500 respostas**: Citros. Ed. Embrapa, 2008. 219 p. Disponível em: <<http://www.sct.embrapa.br/500p500r/default.asp>>. Acesso em: 20 abr. 2010.

EVANS, P.; HALLIWELL, B. Micronutrients: oxidant/antioxidant status. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 85, s. 2, p. S67-S74, 2001.

FALLER, A. L. K.; FIALHO, E. Disponibilidade de polifenóis em frutas e hortaliças consumidas no Brasil. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 43, n. 2, p. 211-218, 2009.

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. Roma: **FAOSTAT** (Database Gateway – FAO). Disponível em: <<http://faostat.fao.org/>>. Acesso em: 20 abr 2009.

FANG, Y.; YANG, S.; WU, G. Free Radicals, Antioxidants, and Nutrition. **Nutrition**, Los Angeles, v. 18, p. 872-879, 2002.

FIGUEIREDO, J. O. Variedades copa de valor comercial. In: RODRIGUEZ, O.; VIEGAS, F. C. P.; POMPEU JÚNIOR, J.; AMARO, A. A. (Eds.). **Citricultura brasileira**. 2. ed. Campinas: Fundação Cargill, v. 1, p. 228-264, 1991.

FNP. **Agrianual 2008** - Anuário da Agricultura Brasileira. São Paulo: Instituto FNP. 2008.

GENOVESE, M. I.; DA SILVA M. P.; DE SOUZA, A. E. S. G.; LAJOLO, F. M. Bioactive compounds and antioxidant capacity of exotic fruits commercial frozen pulps from Brazil. **Food Science and Technology International**, London, v. 14, n. 3, p. 207-214, 2008.

GHASEMI, K.; GHASEMI, Y.; EBRAHIMZADEH, M. A. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of 13 citrus species peels and tissues. **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences**, Karachi, v.22, n.3, p.277-281, 2009.

GOMES, M.S. **Conservação pós-colheita: frutas e hortaliças**. Brasília: Embrapa, 1996. p. 134.

GONDIM, J. A. M.; MOURA, M. F. V.; DANTAS, A. S.; MEDEIROS, R. L. S.; SANTOS, K. M. Composição centesimal e de minerais em cascas de frutas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 4, p. 825-827, 2005.

GORINSTEIN, S.; BELLOSO, O. M.; PARK, Y.; HARUENKIT, R.; LOJEK, A.; CIZ, M.; CASPI, A.; LIBMAN, I.; TRAKHTENBERG, S. Comparison of some biochemical characteristics of different citrus Fruits. **Food Chemistry**, London, v. 74, n. 3, p. 309–315, 2001.

GORISTEIN, S.; CVIKROVA, M.; MACHACKOVA, I.; HARUENKIT, R.; PARK, Y.; JUNG, S.; AYALA, A. L. M.; KATRICH, E.; TRAKHTENBERG, S. Characterization of antioxidant compounds in Jaffa sweeties and white grapefruits. **Food Chemistry**, London, v. 84, n. 4, p. 503-510, 2004.

HALLIWELL, B. Vitamin C. poison, prophylactic or panacea? **Trends in Biochemical Sciences**, Amsterdam, v. 24, n. 7, p. 255–259, 1999.

HARDISSON, A. et al. Mineral composition of the banana (*Musa acuminata*) from the island of Tenerife. **Food Chemistry**, London, v.73, n.2, p.153-161, 2001.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R. L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, Easton, v. 53, n. 6, p. 1841-1856, 2005.

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

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa de orçamentos familiares 2008-2009: despesas, rendimentos e condições de vida**. Rio de Janeiro: IBGE, 2010. 220 p.

IGNAT, I.; VOLFF, I.; POPA, V. I. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. **Food Chemistry**, London, v. 126, n. 4, p. 1821–1835, 2011.

JAYAPRAKASHA, G. K.; JADEGOUD, Y.; NAGANA GOWDA, G. A.; PATIL, B. S. Bioactive compounds from Sour Orange inhibit colon cancer cell proliferation and induce cell cycle arrest. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, Easton, V. 58, n. 1, 180–186, 2010.

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

KIMBALL, D. **Citrus processing quality control and technology**. Nova York : Van Nostrand Reinhold, 1991. 473p.

KLUGE, R. A.; NACHTIGAL, J. C.; FACHINELLO, J. C.; BILHALVA, A. B. **Fisiologia e manejo pós-colheita de frutas de clima temperado**. 2.ed. Campinas: Livraria e Editora Rural, 2002. 214p.

LADANIYA, M. S. **Citrus fruit: biology, technology and evaluation**. San Diego: Elsevier Science & Technology, 2008. 576 p.

LAGUERRE, M.; LECOMTE, J., VILLENEUVE, P. Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. Review. **Progress in Lipid Research**, Oxford, v. 46, n. 5, p. 244-282, 2007.

MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; LIMA, V. L. A. G; CAETANO, A. C. S.; LEAL, F. L. L. Teores de polifenóis, ácido ascórbico e carotenóides totais em frutas e hortaliças usualmente consumidas. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v.9, n. 2, p. 89-94, 2006.

MENDONÇA L. M. V. L.; CONCEIÇÃO A.; PIEDADE, J.; CARVALHO, V. D.; THEODORO. V. C. A. Caracterização da composição química e do rendimento dos resíduos industriais do limão Tahiti (*Citrus latifolia* Tanaka). **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 4, p. 870-874, 2006.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (Brasil). **Guia alimentar para a população brasileira: promovendo a alimentação saudável**. Brasília, DF, 2006. 210p. (Séria A. Normas e Manuais Técnicos).

MOLTÓ, E.; BLASCO, J. Quality evaluation of citrus fruits. In: SUN, D. W. **Computer vision technology for food quality evaluation**. Dublin: Academic Press, 2008. 600 p.

MOON, J. K.; SHIBAMOTO, T. Antioxidant assays for plant and food components. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 57, n. 5, p. 1655-1666, 2009.

MOURE, A.; CRUZ, J. M.; FRANCO, D.; DOMINGUEZ, J.M.; SINEIRO, J., DOMINGUEZ, H.; NÚÑEZ, M. J.; PARAJÓ, J. C. Natural antioxidants from residual sources. **Food Chemistry**, London, v. 72, n. 2, p. 145-171, 2001.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: occurrence, extraction and analysis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, Amsterdam, v. 41, n.1, p. 1523-1542, 2006.

NEPA - NÚCLEO DE ESTUDOS E PESQUISAS EM ALIMENTAÇÃO. **TACO**: tabela brasileira de composição de alimentos. Campinas: Editora da Universidade de Campinas, 2006. 105 p.

OKONOJI, S.; DUANGRAT, C.; ANUCHPREEDA, S.; TACHAKITTIRUNGROS, S.; CHOWWANAPOONPOHN, S. Comparison of antioxidant capacities and cytotoxicities of certain fruit peels. **Food Chemistry**, London, v. 103, n. 1, p. 839-846, 2007.

OLIVEIRA, A. C.; VALENTIM, I. B.; GOULART, M. O. F.; SILVA, C. A.; BECHARA, J. H.; TREVISAN, M. T. S. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 3, p. 689-702, 2009.

OLIVEIRA, M. C.; SCHOFFEN, J. P. F. Oxidative stress action in cellular aging. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 53, n. 6, p. 1333-1342, 2010.

PELÚZIOM. C. G.; OLIVEIRA, V. P. In : COSTA, N. M. B.; ROSA, C. O. B. **Alimentos funcionais**. 22. ed. Viçosa: Editora folha de Viçosa, 2006. 202p.

PESCHEL, W.; SANCHEZ-RABANEDA, F; DIEKMANN, W.; PLESCHER, A.; GARTZÍA, I.; JIMENEZ, D.; LAMUELA-RAVENTÓS, R.; BUXADERAS, S.; CODINA, C. An industrial approach in the search of natural antioxidants from vegetable and fruit wastes. **Food Chemistry**, London, v. 97, n.1, p. 137-150, 2006.

PETERSON, J. J.; DWYER, J. T.; BEECHER, G. R.; BHAGWAT, S. A.; GEBHARDT, S. E.; HAITIWITZ, D. B.; HOLDEN, J. M. Flavanones in oranges, tangerines (mandarins), tangors and tangelos: a compilation a review of the data from the analytical literature. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 19, p. S66-S73, 2006.

PIO, R. M.; MINAMI, K.; FIGUEIREDO, J. O. Características do fruto da variedade Span americana (*Citrus reticulata* Blanco): uma tangerina do tipo 'poncã' de maturação precoce. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 23, n. 2, p. 325-329, 2001.

RAPISARDA, P.; BIANCO, M.; PANNUZZO, P.; TIMPANARO, N. Effect of cold storage on vitamin C, phenolics and antioxidant activity of five orange genotypes (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck). **Postharvest Biology and Technology**, Pullman, v.49, n. 3, p. 348–354, 2008.

RIBEIRO, E. A.; SERAVALLI, E. A. G. **Química de Alimentos**. São Paulo: Edgard Blücher Ltda, 2004. 184p.

RIVAS, B.; TORRADO, A.; TORRES, P.; CONVERTI, A.; DOMINGUÉX, J.M. Submerged citric acid fermentation on orange peel autohydrolysate. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 56, n. 7, 2008.

ROSSI, A.; MENDEZ, M. E. G. Determinação da época de colheita da laranja-‘Piralima’ na região de Pelotas, Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.23, n. 1, p. 40-44, 2001.

SARTORI, I.A.; KOLLER, O.C.; SCHWARZ, S.F.; BENDER, R.J., SCHÄFER, G. Maturação de frutos de seis cultivares de laranjas-doces na depressão central do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.24, n.2, p. 364-369, 2002.

SESI – Serviço Social da Indústria. **Programa alimente-se bem**: tabela de composição química das partes não convencionais dos alimentos. São Paulo: SESI-SP, 2008. 33 p.

SIMÕES JÚNIOR, A. R.; MOURÃO FILHO, F. A. A.; ARAÚJO, P. S. R.; PIEDADE, S. M. S.; JACOMINO, A. P. Avaliação de frutos de laranja 'Pera' em função dos anelamentos de ramos em diferentes épocas. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.56, n.3, p. 529-535, Jul. 1999.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Jr. Colorimetry of total phenolic with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v.16, n. 3, p.144-158, 1965.

STALIKAS, C. D. Extraction, separation and detection methods for phenolic acids and flavonoids. **Journal of Separation Science**, Weinheim, v. 30, n. 18, p. 3268-3295, 2007.

TAZIMA, Z. H.; NEVES C. S. V. J.; STENZEL, N. M. C.; YADA, I. F. U.; LEITE JUNIOR, R. P. Produção e qualidade de frutos de cultivares de laranja-doce no norte do Paraná. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 31, n. 2, p. 474-479, 2009.

TOPUZ, A, M.; TOPAKCI, B, M. CANAKCI B, I. AKINCI B, F. OZDEMIR Physical and nutritional properties of four orange varieties. **Journal of Food Engineering**, Oxford, v. 66, n.3, p.519–523, 2005.

TORRES, E.A.F.S; CAMPOS, N.C.; DUARTE, M. Composição centesimal e valor calórico de alimentos de origem animal. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, Campinas, v.20, n. 2, p. 145-150, 2000.

TSAO, R. Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. **Nutrients**, Basel, v. 2, n. 12, p. 1231-1246, 2010.

TURKMEN, N.; VELIOGLU, Y. S.; SARI, F.; POLAT, G. Effect of extraction conditions on measured total polyphenol contents and antioxidant and antibacterial activities of black tea. **Molecules**, Basel, v. 12, n. 3, p. 484-496, 2007.

VALKO, M.; LEIBFRITZ, D.; MONCOL, J.; CRONIN; M. T.D. MAZURA, M.; TELSER, J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions

and human disease. **The International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, Exeter, v. 39, n. 1, p. 44–84, 2007.

VIÉGAS, F. C. P. **A Citricultura brasileira**, 2.ed. Campinas: Cargill, 1991. 252 p.

WALL, M. M. Ascorbic acid and mineral composition of longan (*Dimocarpus longan*), lychee (*Litchi chinensis*) and rambutan (*Nephelium lappaceum*) cultivars grown in Hawaii. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 19, n. 6-7, p. 655–663, 2006.

WIJNGAARD, H. H.; ROBLE, C.; BRUNTON, N. A survey of irish fruit and vegetable waste and by-products as a source of poliphenolic antioxidants. **Food chemistry**, London, v. 116, n. 1, p. 202-207, 2009.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Global strategy on diet, physical activity and health**. Fifty-seventh world health assembly. (WHA57.17). Maio 22, 2004. Disponível em: http://www.who.int/dietphysicalactivity/strategy/eb11344/strategy_english_web.pdf. Acesso em: 15 abr. 2009.

XU, G.; LIU, D.; CHEN, J.; YE, X.; MAA, Y.; SHI, J. Juice components and antioxidant capacity of citrus varieties cultivated in China. **Food Chemistry**, London, v. 106, n. 2, p. 545–551, 2008.

CAPÍTULO 2 (ARTIGO CIENTÍFICO)

(Artigo a ser submetido ao Journal of Agricultural and Food Chemistry, revista extrato A2 do webqualis da área de Medicina II, normas no Anexo A)

**Antioxidant capacity and health properties of pulp and peel from
commercial varieties of citrus from Brazil**

Barros, Helena Rudge de Moraes¹; Ferreira, Tânia Aparecida Pinto de Castro^{1*};
Genovese, Maria Inés²

¹ Programa de Pós Graduação em Nutrição e Saúde, Faculdade de Nutrição,
Universidade Federal de Goiás, Rua 227 Qd. 68 s/nº - Setor Leste
Universitário, CEP: 74.605-08, Goiânia, GO, Brazil.

² Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental, Faculdade de Ciências
Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, Av. Prof. Lineu Prestes, 580 -
Bloco 14, Butantã, CEP: 05508-900, São Paulo, SP, Brazil.

*Corresponding author. Tel: 55 62 3209-6270 ramal 211

E-mail address: taniaferreira@fanut.ufg.br

Corresponding author:

Name: Ferreira, Tânia Aparecida Pinto de Castro

Department of Faculdade de Nutrição (FANUT)- Universidade Federal de Goiás

Address: Rua 227 Qd. 68 s/nº - Setor Leste Universitário - Goiânia - Goiás -
Brasil - CEP: 74.605-08

Phone: 55 62 3209-6270 ramal 211

Fax: 55 62 3209-6273

E-mail: taniaferreira@fanut.ufg.br

26

27 INTRODUCTION

28 In recent years, clinical trials and epidemiological studies have
29 established an inverse correlation between intake of fruits and vegetables and
30 the occurrence of chronic diseases, the most prevalent causes of death in the
31 world. This protective effect has been attributed to antioxidant properties; which
32 coordinated and balanced the body system to protect tissues and fluids from
33 damage by reactive species or free radicals (1, 2).

34 *Citrus* fruits (Rutaceae family) are an important source of antioxidants
35 such as ascorbic acid, carotenoids, flavonoids, other phenolic compounds (3, 4,
36 5) and also some essential minerals for human nutrition (6, 7). Between the
37 phenolic compounds, the flavanones are the major group found in citrus.
38 Studies have shown that their intake is associated with reduced risk of
39 developing coronary heart disease, degenerative diseases and increasingly
40 attention as anti-carcinogenic because of its anti-lipid peroxidation (8).

41 Brazil is one of the major citrus producers, responsible for 20.5 million
42 tons (MT) of citrus annually. Oranges (18.5 MT), mandarins (1 MT) and acid
43 limes (1MT) are the most produced (9). Approximately 2 MT are destined to the
44 fresh fruits market, and according to data from IBGE – Institute of Statistics
45 Family Budget Surveys (10), citrus acquisition accounted for 25% of total fruits
46 acquired by households in the country. The remaining production, about 90%, is
47 destined to the juice industry (11) generating a large amount of byproducts that
48 account for 50% of the original whole fruit weight (12, 13).

49 During the citrus fruit processing to make juice, peels are the primary
50 byproduct formed. If unused, it becomes waste and a possible source of

51 environmental pollution. These byproducts have been traditionally used as
52 molasses for animal feed, fiber (pectin) and fuel production (14). However,
53 studies conducted on several fruits (citrus, apples, grapes and berries) have
54 showed that peels are the major source of natural antioxidants. Therefore,
55 phenolic compounds present in peels and fruit byproducts can be applied in
56 food products as active ingredients or as substitutes for synthetic preservatives
57 (15, 16), which has been associated to health problems.

58 Citrus species of various origins have been studied due to their phenolic
59 compounds and antioxidant capacity (3, 4, 5, 6). However, it is known that the
60 chemical composition of fruits suffer variations according to climate, fertilization
61 applied, soil type, cultivar, fruit maturity, and even between parts of the same
62 fruit. There are no studies comparing the potential health properties of pulp and
63 peel of citrus from Brazil. Therefore, the aim of this work was to determine the
64 antioxidant capacity, phenolic compounds, vitamin C and minerals of five
65 commercial varieties of citrus from a Brazilian central region.

66

67 **MATERIALS AND METHODS**

68 **Plant materials.** Five varieties of citrus: two sweet oranges (*Citrus sinensis* cv.
69 Pera and cv. Lima); two limes (*C. latifolia* Tanaka cv. Tahiti and *C. limettioides*
70 Tanaka cv. Sweet lime) and one mandarin (*Citrus reticulata* Blanco cv. Ponkan)
71 were harvested at a local farm in Goiás state, Center-West of Brazil. For each
72 variety, 100 fruits were picked from trees in the four quadrants (North, South,
73 East and West), using a randomized design on June 2010.

74 **Reagents.** The 2,4,6-tripyridyl-s-triazine (TPTZ), 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
75 (DPPH), catechin, 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid

76 (trolox) and the Folin-Ciocalteu reagents were obtained from Sigma Chemical
77 Co. (St. Louis, MO). The mineral standards were obtained from Merck
78 (Darmstadt, Germany). All other chemicals and solvents were of analytical
79 grade.

80

81 **Titrateable acidity, pH and total soluble solids.** To characterize the maturity
82 and quality of fruit, the average weight, the juice yield, the ratio peel / whole
83 fruit, pH, total soluble solids (TSS), titrateable acidity (TA) and *ratio* (TSS/TA)
84 were determined. The pH values for the sample juice were measured with a
85 digital pH meter (17). TSS, expressed as °Brix, was measured with a portable
86 refractometer (Instrutherm, model RT-30 ATC) (17). TA was measured
87 according to AOAC (17) and expressed as a % of citric acid.

88

89 **Moisture, Ascorbic acid and Mineral contents.** The fruits were washed in tap
90 water, separated into parts, pulp (juice vesicles and segments) and peel
91 (flavedo and albedo), and homogenized. The moisture content of the samples
92 was determined by drying 5 g sample at 105°C until constant weight (17).
93 Ascorbic acid (AA) was determined by titration with iodate potassium solution,
94 after the samples were homogenized and acidified with sulfuric acid (20%),
95 using starch as an indicator . The end point of the reaction was the appearance
96 of blue color (18). AA content was expressed as mg ascorbic acid per 100 g
97 sample fresh weight (FW).

98 The mineral content was determined in dry ashed samples at 550 °C and
99 dissolved in HCl according to AOAC (17). Calcium (Ca), copper (Cu),
100 magnesium (Mg), zinc (Zn), iron (Fe), and manganese (Mn) contents in the

101 extract were measured using an atomic absorption spectrophotometer (Perkin-
102 Elmer, model AAnalyst 400, Waltham, MA, USA). For the determination of Ca
103 and Mg, a LaCl_3 solution was added. Potassium and sodium contents were
104 determined by using a flame photometer (Corning, 410, NY, USA) with an air-
105 propane flame. The minerals and trace elements were determined using the
106 instrumental conditions recommended for each mineral and were calculated
107 with the respective standard curve.

108

109 **Sample extraction for determination of total phenolics, DPPH scavenging**
110 **capacity assay and FRAP assay.** The fruits were washed in tap water,
111 separated into pulp and peel, cut into small pieces, immediately homogenized
112 by powdering in liquid nitrogen, and finally stored at -20°C until analysis.
113 Powdered citrus tissues were extracted with 70% aqueous methanol (1 g of
114 sample for each 20 mL of solvent) by stirring with a magnetic bar for two hours,
115 at 4°C in triplicate. The extracts obtained were filtered through filter paper and
116 used for the following determinations.

117

118 **Total phenolic content.** The determination was performed according to the
119 Singleton and Rossi (19) method. A 0.25 mL aliquot of extract was mixed with
120 0.25 mL of the Folin-Ciocalteu reagent and 2 mL of distilled water. After 3 min
121 at room temperature, 0.25 mL of a saturated sodium carbonate (Na_2CO_3)
122 solution was added and the mixture placed at 37°C in a water bath for 30 min.
123 The absorbance was measured at 750 nm using a model Ultrospec 2000 UV -
124 Visible spectrophotometer (Amersham Biosciences, Cambridge, UK). The
125 control consisted of a methanolic solution of catechin at different

126 concentrations. Results were expressed as mg of catechin equivalents/100 g of
127 FW sample.

128

129 **DPPH free radical scavenging activity.** The extracts obtained above were
130 used to assess the antioxidant capacity by the DPPH (2,2-diphenyl-1-
131 picrylhydrazyl) radical-scavenging method according to Brand-Williams,
132 Cuvelier, and Berset (20), with some modifications (21). A 50 μ L aliquot of the
133 previously diluted extract and 250 μ L of DPPH (0.5 mM) were mixed, and after
134 25 min, the absorbance was measured at 517 nm using a Microplate
135 Spectrophotometer (Benchmark Plus, Biorad, Hercules, CA). The control
136 consisted of a methanolic solution of Trolox at different concentrations. The
137 antioxidant capacity was expressed as μ moles Trolox equivalents/100 g of FW
138 sample.

139

140 **Ferric reducing power (FRAP) assay.** The FRAP assay (22) is based on the
141 ability of phenolics to reduce Fe^{3+} to Fe^{2+} . To prepare the FRAP reagent, 0.1 M
142 acetate buffer (pH 3.6), 10 mM TPTZ, and 20 mM ferric chloride (10:01:01, v / v
143 / v) were mixed. To 150 μ L of reagent was added 20 μ L of the extract previously
144 diluted. The absorbance was measured at 593nm using a Microplate
145 Spectrophotometer (Benchmark Plus, Biorad, Hercules, CA). The analysis was
146 performed in triplicate, using a Trolox solution as standard and the results were
147 expressed as μ moles Trolox equivalents /100 g of FW sample.

148

149 **Statistical analysis.** Data were expressed as means \pm standard deviations
150 (SD) of three replicate determinations and then analyzed by SPSS 17.0

151 (Statistical Program for Social Sciences, SPSS Corporation, Chicago, IL). One
152 way analysis of variance (ANOVA) and the Tukey's test were used to determine
153 the differences among the means. *P* values < 0.05 were regarded to be
154 significant. Pearson's correlation analysis was performed between antioxidant
155 activity and total phenolic or ascorbic acid contents.

156

157 **RESULTS AND DISCUSSION**

158 **Physical Characteristics.** Quality parameters, including average weight, juice
159 yield, the ratio peel / whole fruit, pH, TSS, TA and TSS/TA ratio of citrus juices
160 are shown in **Table 1**. The average weight of the fruits ranged from 109 ± 3 to
161 218 ± 13 g, with Pera and Lima varieties being the largest ones and Tahiti the
162 smallest. Lima orange had the highest juice yield (47.3%), and Tahiti had the
163 lowest (35.5%). Ponkan mandarin and Pera orange had the highest ratio peel /
164 whole fruit (29.1 ± 2.0 and 27.8 ± 0.8, respectively) and the highest TSS value
165 (11.0 ± 0.2 and 10.5 ± 0.3, respectively), whereas Lima orange had the lowest
166 TSS value (7.7 ± 0.1). The consumption of oranges and tangerines depends on
167 the reduction of acidity to a point where the juice becomes pleasing to the
168 palate, with citric acid being the main organic acid present (23). TA value of
169 Tahiti lime presented the highest value (4.37%), while Sweet lime had the
170 lowest (0.10%), followed by Lima orange (0.23%). The TSS/TA ratio is also an
171 important parameter related with quality characteristics of citrus fruits, and
172 among the citrus varieties evaluated, Sweet lime had the highest value (85.9),
173 and Tahiti lime had the lowest (2.2).

174 As in most of the fruits, the maturity of citrus involves the accumulation of
175 sugars and the loss of acidity (11). Sweet oranges, mandarins, grapefruits, and

176 pummelos are considered mature when their juice content and TSS/TA ratio
177 have attained certain minimum limits for palatability (23). In almost all citrus
178 varieties that are used for table purposes (such as fresh fruits) and that are
179 processed into juices, maturity is determined mainly on the basis of the ratio of
180 total soluble solids to titratable acidity. For mandarins and oranges, the TSS/TA
181 ratio of 8 to 14, according to the variety and local production, was considered
182 necessary for good eating quality (11). But TSS/TA ratio is not considered a
183 suitable index for determining the maturity of acid limes and lemons, whereas
184 acidity increases early in fruit development in these varieties, mainly by the
185 increase in citric acid contents. In addition, some acid less varieties, like Sweet
186 lime and Lima orange, are characterized by a very low acidity and a lack of citric
187 acid, independent of the ripening stage (23). A juice volume of 30 percent (v/v)
188 is the sole internal quality standard for North American lemons and limes, and
189 lemons for processing should have higher juice (11). In this study, significant
190 differences between citrus cultivated in Central-West of Brazil were observed
191 and were consistent with characteristics of each variety as described.
192 Therefore, the studied fruits were at maturity state.

193

194 **Moisture, ascorbic acid and minerals contents.** Moisture contents of citrus
195 varieties ranged from 87.3 ± 0.0 to $91.7 \pm 0.4\%$ for pulps and from 66.6 ± 0.2 to
196 $79.3 \pm 0.1\%$ for peels (**Table 2**). Since citrus fruits are characterized by a good
197 content of ascorbic acid, the content of this vitamin is considered a fundamental
198 marker of the quality and value of these fruits, and their derivative products (24).
199 Among the pulps, Pera orange showed higher ascorbic acid content (68 mg/100
200 mL). Tahiti lime and Ponkan mandarin pulps showed the lowest levels ($41.4 \pm$

201 0.9 and 41.1 ± 2.5 mg/100 mL, respectively), with no significant difference
202 between them. All ascorbic acid values are in agreement with a previously
203 survey (24) of vitamin C contents for principal citrus fruit from several countries
204 (14-88 mg/100 mL of juice for sweet oranges, 15-45 mg/100 mL of juice for
205 limes and about 15-55 mg/100 mL of juice for mandarins, respectively), except
206 for Sweet lime, which showed a higher content (60.2 ± 2.2 mg/100 mL). The
207 lower contents of ascorbic acid in mandarins compared to orange contents were
208 previously reported by Nagy (24) and Dhuique Mayer et al. (25). Due to many
209 horticultural and climatic variables involved in citrus growing, it is not surprising
210 that most investigators report wide ranges in the vitamin C levels of different
211 citrus fruit (24).

212 Although the citrus juices and pulp are recognized as providing an
213 important source of vitamin C for human nutrition, there are other parts of the
214 fruit which also contain this vitamin. These other parts of the fruit are not
215 recognized in nutrition because they are generally the non edible components,
216 like peels. A wide variation in levels of ascorbic acid was observed in peels
217 analysis. The lowest level was observed in the Tahiti lime (6.84 ± 0.3 mg/ 100g)
218 and the highest in the Ponkan mandarin (47.6 ± 0.9 mg/ 100g). Ponkan
219 mandarin and Lima orange acid ascorbic contents were near to those presented
220 by their respective pulps (**Table 2**).

221 The identification of new sources of vitamin C is of great interest for
222 public health. Ascorbic acid is known for a number of vital biological activities
223 including synthesis of collagen, neurotransmitters, steroid hormones and
224 carnitine, responsible for the conversion of cholesterol to bile acid. In terms of
225 antioxidant activity, its reactivity with oxygen and nitrogen reactive species, and

226 concentrations in human fluids and tissues, make it a likely scavenger of these
227 species. It is also thought to be involved in regeneration of tocoferol and prevent
228 lipid peroxidation. Its intake has been demonstrated to reverse vascular
229 endothelial vasomotor dysfunction in bronchial circulation of patients with
230 coronary heart disease and seems to protect against gastric cancer (1, 26).

231 The Dietary Reference Intake (DRI) is the daily intake level of a nutrient
232 that is considered to be sufficient to meet the requirements of 97–98% of
233 healthy individuals and prevent the emergence of diseases. The DRI (27) of
234 vitamin C is 45 mg for a Brazilian adult/ a day. In Brazil, the fruits are classified
235 as “rich in” or a “source of” a vitamin or a mineral when it provides 30% or 15%
236 of the element’s Dietary Reference Intake specific for age and gender, per 100
237 g of fruit (28). In this sense, citrus juices and pulps can be considered “rich in”
238 vitamin C. The contents found in the present research confirm that 100 mL of
239 juice of all citrus pulp varieties studied provide 100% of DRI. Ponkan mandarin
240 and Lima orange peels also provide 100%, while the other peels varieties
241 studied provide 50% or less of dietary intake per 100 g.

242 Eight minerals were determined, including 4 major elements (K, Ca, Na
243 and Mg) and 4 trace elements (Cu, Fe, Mn and Zn), as shown in **Table 2**. All
244 main minerals and trace elements were higher in peels than in pulps, except for
245 Tahiti pulp which presented the second highest contents of Cu and K.
246 Potassium was the most abundant element presented in citrus peels and pulps,
247 followed by Ca and Mg.

248 Citrus fruits showed high potassium content (140 mg in 100 g of orange
249 pulp), while sodium content is relatively low (2 mg /100 g orange pulp). The ratio
250 of K and Na in oranges plays an important role in maintaining electrolyte

251 balance of cells in the human body (11). However, the peels showed 40 times
252 more sodium than the pulps. The lowest K content was observed in Sweet lime
253 pulp (101.2 ± 4.9 mg/100 g FW) and the highest value in Pera and Lima
254 oranges peels (266.0 ± 12.2 and 258.7 ± 11.0 mg/100 g FW, respectively).

255 The highest Ca content was found in the Tahiti lime peel (214.2 ± 1.8
256 mg/100 g FW), which can be classified as “source of” calcium for adults. On the
257 other hand, calcium contents of Tahiti and Sweet lime pulps could not be
258 detected. Therefore, the citric acid in citrus may act as a chelating agent and
259 thus increase Ca absorption by preventing the formation of insoluble salts (11).

260 In addition, many antioxidant defenses depend on micronutrients. Some
261 minerals are components of antioxidant enzymes: superoxide dismutase
262 depends on Mn, Cu and Zn, catalase depends on Fe and glutathione
263 peroxidase on Se (26). Magnesium also is present in mitochondria and other
264 enzymes important in energy transfer (11). Analysis of Mg in the fruits revealed
265 that Tahiti lime peel has the highest content (41.2 ± 1.2 mg/100 g FW) among
266 the other peels and pulps. A portion of 100 g of this peel may provide more than
267 15% of the Mg dietary recommendation intake for people of any age or gender.
268 Thus, it was classified as a “source of” Mg.

269 Of all microelements evaluated, Fe was detected in higher concentration
270 than Cu, Mn and Zn for both citrus pulps and peels. Peels showed 2 to 8 more
271 times Fe contents than pulps, but cannot be classified as “rich in” or “source of”
272 Fe. Apart from this, it is also known that ascorbic acid present in citrus improve
273 the bioavailability of Fe (11). The Lima orange peel showed the highest Mn
274 content (339.5 ± 14.0 μ g/100 g FW), which is approximately seven times higher

275 than those of pulps. According to the Mn dietary recommendations, it can be
276 classified as “source of” Mn.

277 Besides Mn, Zn and Cu are also important for the body and supplied by
278 citrus fruits (6, 7). The DRI for Zn and Cu are 7 mg/day and 0.9 mg/day for an
279 adult, respectively (28). Hence, pulps and peels (100 g) could not be considered
280 “rich” or “source of” these minerals. Secondly, according to Gorinstein et al.
281 (29), it is known that the contents of most minerals and especially trace
282 elements in plants are very low. However, in terms of biological activity they are
283 strikingly strong. When they are incorporated into organomineral complexes,
284 their ability is enhanced a thousand fold and sometimes a million fold over the
285 activity of a simple ionic state.

286

287 **Total Phenolics contents and *in vitro* Antioxidant Capacity.** The antioxidant
288 capacity of fruits and vegetables is an important indicator of their *in vitro*
289 potential as health promoters. Several methods have been developed to
290 evaluate the antioxidant capacity of fruits or other plants and animal tissues, for
291 instance, phenolics in fruits have been monitored by colorimetrically using the
292 Folin-Ciocalteu reagent. The antioxidant capacity by DPPH and FRAP assays
293 were selected to determine the total antioxidant capacities of citrus pulps and
294 peels. The results are shown in **Figure 1**.

295 Total phenolic contents were similar for the five citrus pulps, ranging from
296 109.16 ± 4.21 to 118.94 ± 2.03 mg catechin equivalent /100 g of FW, and those
297 with lower and higher content of phenolic compounds were Ponkan mandarin
298 and Sweet lime, respectively, but no significant difference between the varieties
299 was observed. All the citrus peels evaluated presented very high phenolic

300 contents, ranging from 310.18 ± 10.91 (Sweet lime) to 575.06 ± 8.51 (Lima
301 orange) mg catechin equivalent/100 g of FW, with significant differences
302 between almost all varieties. This variation was 2.5 to 4 times more than in the
303 pulps.

304 Previous studies had already shown higher levels of phenolic compounds
305 in citrus peel compared to their segments (3, 6, 30). A research with 21 citrus
306 varieties (31) found that the amount of total phenolics in peels ranged from
307 188.2 ± 6.5 to 766.7 ± 5.7 mg gallic acid equivalent/100 g of FW. According to
308 Ignat et al. (15), phenolic compounds may act as protective agents against uv
309 lights, pathogens and predators in fruits and vegetables. Peels may contain
310 higher concentrations of these compounds because they are in the outer part of
311 the fruit, so they are more predisposed to the synthesis of phenolic compounds.

312 The *in vitro* antioxidant capacity of all the peels was higher than those of
313 the pulps, both for DPPH radical scavenging capacity and FRAP assay. For
314 pulps, the highest value of antioxidant capacity measured using the DPPH
315 assay was presented by Sweet lime and using the FRAP assay was Pera
316 orange, but with no significant differences with Pera and Lima oranges. Ponkan
317 mandarin showed the lowest values of antioxidant capacity in both assays.
318 However, in relation to peels, Ponkan mandarin showed the highest antioxidant
319 capacity in both assays. In the FRAP assay, no significant difference was found
320 with Pera orange peel value. Tahiti lime peel showed the lower antioxidant
321 capacity in both assays, and in the FRAP assay, no significant difference was
322 found with Sweet lime peel value. These results are probably associated with
323 phenolics and AA contents.

324 Similar to the results, Ghasemi et al. (4) evaluated the DPPH radical
325 scavenging capacity of 13 most commonly available citrus in Iran and Ponkan
326 mandarin peels showed highest activity compared with other peels and tissues.
327 This result was associated to the high phenolic and flavonoid contents of this
328 plant. While flavonoids are abundant elsewhere in the plant kingdom, there are
329 several compounds (e.g., flavanones, flavanone glycosides and
330 polymethoxylated flavones) unique to citrus, which are relatively rare in other
331 plants (14). Flavanones in orange were previously used as markers to
332 differentiate citrus varieties. The main flavanone glycosides in oranges and
333 mandarin species are hesperidin and narirutin (23).

334

335 **Correlations coefficients of AA, total phenolics content, DPPH and FRAP.**

336 Recent studies with citrus demonstrated that the antioxidant efficiency may be
337 attributed, in a significant part, to their phenolic content (5, 6). Other studies (3,
338 32) have shown that ascorbic acid played a major role in the antioxidant
339 capacity of citrus fruits. As the results are divergent, a direct correlation
340 between antioxidant capacity and total phenolic or ascorbic acid contents of the
341 samples was demonstrated by Pearson's coefficient $p < 0.01$ or $p < 0.05$ (**Table**
342 **3**).

343 For pulps, good correlation coefficients of total phenolic compounds and
344 DPPH or FRAP assay were found, supporting similar results reported by
345 Rapisarda et al. (5) and Xu et al. (32), but significant correlation could not be
346 found among them. However, considering results for peels, the correlations
347 between phenolics compounds and antioxidant capacity by both assays were
348 weak. These results are in agreement with other studies with citrus peel (4, 12).

349 For pulps and peels together, the correlations between phenolic compounds
350 and antioxidant capacity by DPPH and FRAP were significantly higher ($P<0.01$).
351 In general, extracts with a high phenolic content showed a high antioxidant
352 capacity.

353 Reporting to Huang et al. (2), Folin-Ciocalteu reagent is nonspecific for
354 phenolic compounds since it measures sample reducing capacity through
355 electronic transfer-based antioxidant capacity, and thus it can be reduced by
356 many non-phenolic compounds such as vitamin C .The low antioxidant activity
357 of Ponkan mandarin (DPPH assay) and Tahiti lime (FRAP assay) pulps may be
358 linked to lower levels of ascorbic acid when compared with other pulps
359 evaluated, since the varieties showed similar phenolic contents. The same was
360 observed with peels, where Ponkan mandarin had highest AA contents and
361 antioxidant capacity, while Tahiti lime had the lowest AA content and antioxidant
362 capacity.

363 The AA contents correlated highly with two *in vitro* antioxidant capacities
364 assays, for pulps and peels separately. Studies with citrus (5, 32) also showed
365 good correlations between ascorbic acid and DPPH or FRAP assay. According
366 to Abeysinghe et al. (3), based on the FRAP assay, the antioxidant capacity
367 caused by the vitamin C was higher than those caused by flavonoids (naringin
368 and hesperidin) in four varieties of citrus from China (3). However, negative
369 correlations were observed between AA contents and both antioxidant assays
370 for peels and pulps together, showing that peels showed lowest acid ascorbic
371 contents than pulps, but highest antioxidant capacity than pulps.

372 A direct correlation between the two methods of antioxidant activity
373 demonstrate a high correlation coefficients at $p<0.01$ (0.939 for pulps and peels

374 together). Some studies suggest this may occur by chemistry similarity between
375 the two assays; both are based on the electron transfer reaction. But, there are
376 divergences in literature about DPPH (2). Other studies suggest that the
377 interaction of antioxidant compounds with DPPH radical depends on its
378 structural conformation(5), and so, the DPPH assay is less sensitive as
379 compared to FRAP. In fact, the relationship between the antioxidant activity by
380 both assays and phenolic compounds or vitamin C depends on several factors,
381 such as chemical structure of individual component, synergistic interaction
382 among them, and specific conditions applied in different assays (2).

383 In conclusion, the antioxidant capacity of citrus seems not to be a
384 property of a single phytochemical compound, but is correlated both to vitamin
385 C and phenolic constituents. Citrus fruits cultivated in Brazil provide a variety of
386 bioactive compounds that are vital in health promotion and disease prevention.
387 In addition to citrus pulp and juices, peels are also promising sources of
388 compounds which can be exploited by its health properties in food products. It
389 can be applied as a source of functional compounds, or as natural
390 preservatives, improving the lipid oxidation of meals and fat products.
391 Therefore, this work provided very important information to guide the practice of
392 agriculture and food industry in the development of new products, which are
393 expected to be safe and health-promoting.

394

395 **ABBREVIATIONS USED**

396 AA = ascorbic acid; Ca = calcium; Cu = copper; DPPH = 2, 2-diphenyl-1-
397 picrylhydrazyl; DRI = Dietary Reference Intake; Fe = iron; FRAP = Ferric
398 reducing power; FW = fresh weight; K = potassium; Mg = magnesium; Mn =

399 manganese; MT = million tons; SST = total soluble solids; Na = sodium; TA =
400 titratable acidity; TPTZ = 2,4,6-tripyridyl-s-triazine; Trolox = 6-hydroxy-2,5,7,8-
401 tetramethylchromane-2-carboxylic acid; Zn = zinc

402

403 **ACKNOWLEDGMENTS**

404 Thanks to Fazenda Córrego Grande producer, which provided the samples.

LITERATURE CITED

- (1) Patil, B. S.; Jayaprakasha, G. K.; Chidambara Murthy, K.N. ; Vikram, A. Bioactive compounds: historical perspectives, opportunities, and challenges. *J. Agric. Food Chem.* **2009**, *57*, 8142–8160.
- (2) Huang, D.; Ou, B.; Prior, R. L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J. Agric. Food Chem.* **2005**, *53*, 1841–1856.
- (3) Abeysinghe, D.C.; Li, X.; Sun, C.D.; Zhang, W.; Zhou, C.; Chen, K. Bioactive compounds and antioxidant capacities in different edible tissues of citrus fruit of four species. *Food Chem.* **2007**, *104*, 1338–1344.
- (4) Ghasemi, K.; Ghasemi, Y.; Ebrahimzadeh, M. A. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of 13 citrus species peels and tissues. *Pak. J. Pharm. Sci.* **2009**, *22*, 277-281.
- (5) Rapisarda, P.; Lo Bianco, M.; Pannuzzo, P.; Timpanaro, N. Effect of cold storage on vitamin C, phenolics and antioxidant activity of five orange genotypes [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck]. *Postharvest Biol. Technol.* **2008**, *49*, 348-354.
- (6) Gorinstein, S.; Belloso, O. M.; Park, Y.; Haruenkit, R.; Lojek, A.; Ciz, M.; Caspi, A.; Libman, I.; Trakhtenberg, S. Comparison of some biochemical characteristics of different citrus fruits. *Food Chem.* **2001**, *74*, 309–315.
- (7) Topuz, A.; Topakci, M.; Canakci M.; Akinci, I.; Ozdemir, F. Physical and nutritional properties of four orange varieties. *J. Food Eng.* **2005**, *66*, 519–523.
- (8) Benavente-Garcia, O.; Castillo, J. Update on uses and properties of *citrus* flavonoids: new findings in anticancer, cardiovascular, and anti-inflammatory activity. *J. Agric. Food Chem.* **2008**, *56*, 6185–6205.
- (9) FAOSTAT. Production, available at <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>, accessed April 28, 2010.
- (10) Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). *Pesquisa de orçamentos familiares 2008-2009: despesas, rendimentos e condições de vida*. IBGE: Rio de Janeiro, RJ, Brazil, **2010**.
- (11) Ladaniya, M. S. *Citrus Fruit: Biology, Technology and Evaluation*. Academic Press (Elsevier): San Diego, CA, **2008**.

- (12) Anagnostopoulou, M. A.; Kefalas, P.; Papageorgiou, V. P.; Assimopoulou, A.; Boskou, D. Radical scavenging activity of various extracts and fractions of sweet orange peel (*Citrus sinensis*). *Food Chem.* **2006**, 94 (1), 19-25.
- (13) Marín, F. R.; Soler-Rivas, C.; Benavente-Garcia, J. C.; Pérez-Alvarez, J. A. By-products from different citrus processes as a source of customized functional fibres. *Food Chem.* **2007**, 100, 736-741.
- (14) Li, B.B.; Smith, B.; Hossain, M. M. Extraction of phenolics from citrus peels I. Solvent extraction method. *Sep. Purif. Technol.*, **2006**, 48, 182–188.
- (15) Goristein, S.; Cvikrova, M.; Machackova, I.; Haruenkit, R.; Park, Y.; Jung, S.; Ayala, A. L. M.; Katrich, E.; Trakhtenberg, S. Characterization of antioxidant compounds in Jaffa sweeties and white grapefruits. *Food Chem.* **2004**, 84, 503-510.
- (16) Ignat, I.; Volf, I.; Popa, V. I. A critical review of methods for characterization of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chem.* **2011**, 126, 1821–1835.
- (17) AOAC. *Official Methods of Analysis*, 16th ed.; Association of Official Analytical Chemists: Washington, DC, **1995**.
- (18) Ballentine, R. Determination of ascorbic acid in citrus fruit juices. *Ind. Eng. Chem.* **1941**, 13, 89-89.
- (19) Singleton, V. L.; Rossi, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.* **1965**, 16, 144-158.
- (20) Brand-Williams, W.; Cuvelier, M. E.; Berset, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm. Wiss. Technol.* **1995**, 28, 25–30.
- (21) Duarte-Almeida, J. M.; Santos, R. J.; Genovese, M. I.; Lajolo, F. M. Evaluation of in vitro antioxidant capacity using the β -carotene/ linoleic acid method and DPPH• scavenging capacity. *Cienc. Technol. Aliment.* **2006**, 26, 446–452.
- (22) Benzie, I.F.F.; Strain, J.J. The ferric reducing ability of plasma as a measure of “antioxidant power” the FRAP assay. *Anal. Biochem.* **1996**, 239, 70–76.

- (23) Albertini, M. V.; Carcouet, E.; Pailly, O.; Gambotti, C.; Luro, F. O.; Berti, L. Changes in organic acids and sugars during early stages of development of acidic and acidless citrus fruit. *J. Agric. Food Chem.* **2006**, 54, 8335-8339.
- (24) Dhuique-Mayer, C.; Caris-Veyrat, C.; Ollitrault, P.; Curk, F.; Amiot, M. J. Varietal and interspecific influence on micronutrient contents in citrus from the Mediterranean area. *J. Agric. Food Chem.* **2005**, 53, 2140-2145.
- (25) Nagy, S. Vitamin C contents of citrus fruit and their products: a review. *J. Agric. Food Chem.*, **1980**, 28, 8-18.
- (26) Evans, P.; Halliwell, B. Micronutrients: oxidant/antioxidant status. *Br. J. Nutr.* **2001**, 85, S67-S74.
- (27) Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 27, de 13 de janeiro de 1998. Aprova o regulamento técnico sobre a informação nutricional complementar. Brasília, DF: ANVISA, 1998. Available at <http://elegis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=97#>.
- (28) Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 269, de 22 de setembro de 2005. Aprova o regulamento técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais. Brasília, DF: ANVISA, 1998. Available at http://elegis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=18828&mode=PRINT_VERSION.
- (29) Gorinstein, S.; Zachwieja, Z.; Folta, M.; Barton, H.; Piotrowicz, J.; Zemser, M.; Weisz, M.; Trakhtenberg, S.; Màrtín-Belloso, O. Comparative contents of dietary fiber, total phenolics, and minerals in persimmons and apples *J. Agric. Food Chem.*, **2001**, 49, 952–957.
- (30) Guimarães, R.; Barros, L.; Barreira, J. C. M.; Sousa, M. J.; Carvalho, A. M.; Ferreira, I. C.F.R. Targeting excessive free radicals with peels and juices of citrus fruits: grapefruit, lemon, lime and orange. *Food Chem. Toxicol.* **2010**, 48, 99–106.
- (31) Ramful, D.; Bahorun, T. Bourdon, E.; Taarnus, E.; Aruoma, O. I. Bioactive phenolics and antioxidant propensity of flavedo extracts of Mauritian citrus fruits: potential prophylactic ingredients for functional foods application. *Toxicol.* **2010**, 278, 75-87.
- (32) Xu, G.; Liu, D.; Chen, J.; Ye, X.; Maa, Y.; Shi, J. Juice components and antioxidant capacity of citrus varieties cultivated in China. *Food Chem.* **2008**, 106, 545–551.

Table 1. Standard quality parameters of different varieties of citrus from Brazil ^a

	Variety				
	Lima Orange	Pera Orange	Tahiti lime	Sweet lime	Ponkan mandarin
Average weigh (g)	218 ± 13 a	200 ± 11 ab	109 ± 3 d	152 ± 13 c	178 ± 7 bc
Juice yeld (%)	47.3 ± 0.8 a	40.2 ± 3.4 bc	35.5 ± 0.9 c	44.5 ± 1.7 ab	41.4 ± 0.7 b
Ratio peel/whole fruit (%)	16.7 ± 1.2 b	27.8 ± 0.8 a	19.3 ± 1.0 b	18.2 ± 2.7 b	29.1 ± 2.0 a
pH	4.78 ± 0.01 b	3.54 ± 0.01 d	2.32 ± 0.02 e	5.52 ± 0.02 a	3.75 ± 0.01 c
TSS (°Brix)	7.7 ± 0.1 d	10.5 ± 0.3 a	9.8 ± 0.2 b	8.7 ± 0.2 c	11.0 ± 0.2 a
TA (%)	0.23 ± 0.02 d	1.25 ± 0.01 b	4.37 ± 0.10 a	0.10 ± 0.01 e	0.84 ± 0.01 c
Ratio TSS/TA	34	9	2	86	13

^a Results are expressed in means ± standard deviations (n=3). Means with different letters within the same line are statistically different (p< 0.05).

Table 2. Moisture, Ascorbic acid (AA), Main Minerals and Trace Elements in citrus pulp and peel ^a

	Pulps					Peels				
	Lima orange	Pera orange	Tahiti lime	Sweet lime	Ponkan mandarin	Lima orange	Pera orange	Tahiti lime	Sweet lime	Ponkan mandarin
Moisture	91.7±0.4 a	88.3±0.3 b	88.5±0.1 b	91.5±0.7 a	87.3±0.0 c	70.3±0.2 g	66.6±0.2 h	72.6±0.1 e	79.3±0.1 d	77.1±0.3 e
AA	46.1±1.3 cd	68.1±1.0 a	41.4±0.9 e	60.2±2.2 b	41.1±2.5 e	43.2±0.4 de	24.3±0.7 f	6.84±0.3 g	22.6±0.8 f	47.6±0.9 c
Ca	18.7±0.1 f	20.3±0.2 f	nd	nd	16.0±0.6 f	145.2±6.5 c	165.4±7.1 b	214.2±1.8 a	121.2±5.6 d	85.5±3.9 e
K	140.1±2.2 d	139.0±2.9 d	168.8±6.7 bc	101.2±4.9 e	140.5±6.9 d	258.7±11.0 a	266.0±12.2 a	187.1±5.8 b	142.1±6.4 d	151.0±1.3 cd
Na	2.0±0.1 f	2.6±0.1 f	2.8±0.1 f	1.6±0.1 f	2.9±0.1 f	85.1±4.2 a	60.1±3.0 b	54.0±0.4 c	37.7±1.7 d	32.4±1.5 e
Mg	10.3±0.1 f	10.3±0.2 f	8.5±0.3 f	4.8±0.1 g	9.4±0.40 f	23.8±1.2 c	27.8±1.1 b	41.2±1.2 a	19.7±0.8 d	13.4±0.5 e
Fe	171.0±6.6 d	256.4±6.2 c	169.1±7.8 d	106.8±4.0 d	156.5±4.1 d	1008.6±48.4 a	731.0±31.0 b	768.7±18.1 b	943.4±41.2 a	321.5±8.5 c
Cu	46.8±0.6 e	35.6±0.7 f	69.0±0.9 b	25.3±1.3 g	48.9±2.5 de	58.6±2.9 c	88.3±4.0 a	57.6±2.8 c	72.7±3.5 b	55.0±1.2 cd
Mn	45.4±0.4 ef	53.8±2.2 e	36.7±1.2 ef	33.8±1.4 f	46.3±1.5 ef	339.5±14.0 a	212.1±7.4 b	183.7±8.7 c	200.3±9.9 bc	95.3±3.7 d
Zn	91.3±2.9 e	67.2±1.7 f	93.6±1.7 de	61.7±0.7 f	69.5±3.4 f	352.0±13.4 a	214.1±2.7 b	200.3±9.8 b	151.4±7.2 c	111.2±5.4 d

^a Different letters in the same line represents significant differences between samples. Moisture in (%), Ca, K, Na and Mg in mg/100g of fresh weight; AA in mg/100 mL of pulps and in mg/100g of fresh weight for peels; Fe, Cu, Mn and Zn in µg/100g of fresh weight. nd, not detected.

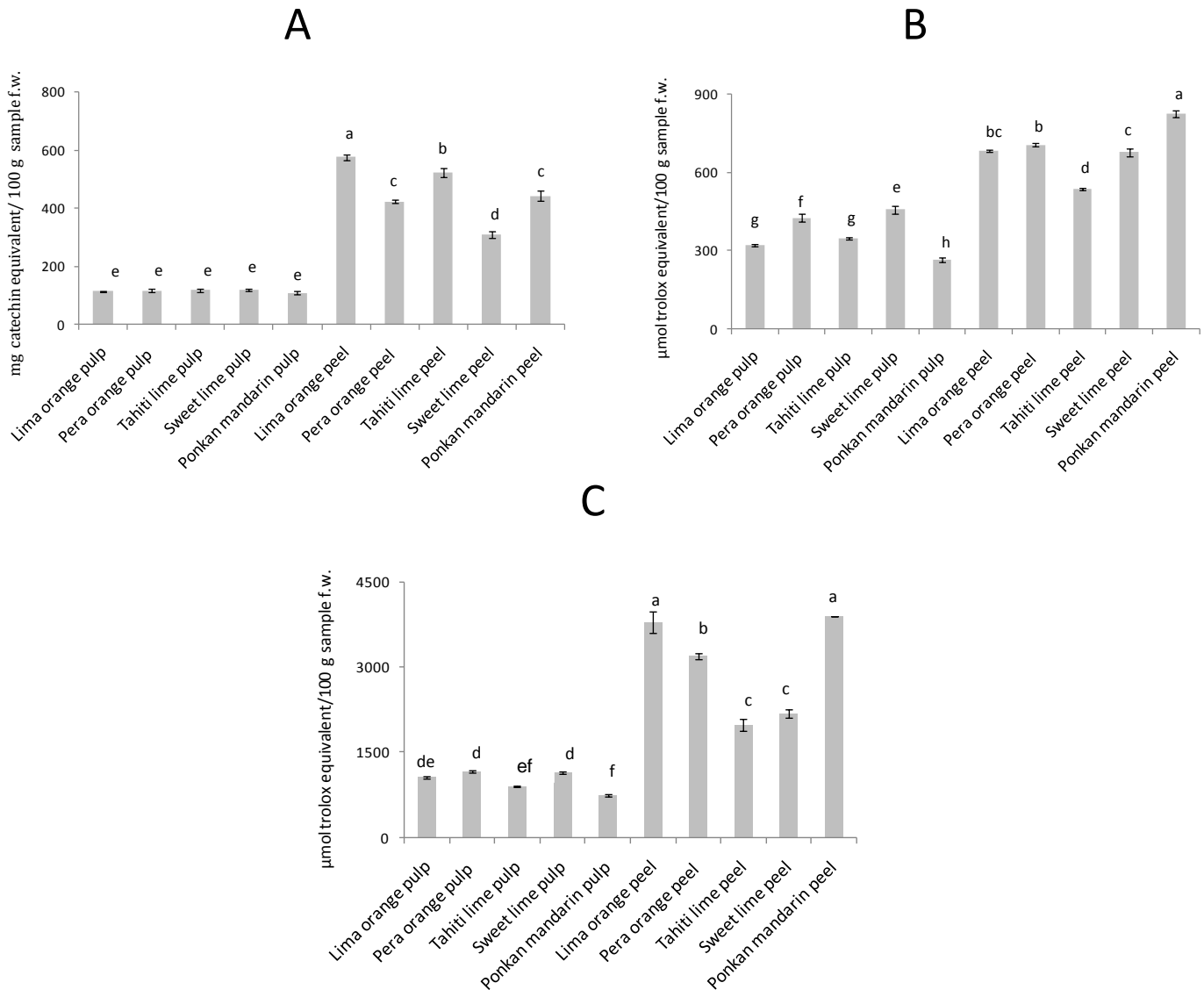


Fig. 1. Total phenolics (A) and antioxidant capacity determined by DPPH (B) and FRAP (C) of citrus pulps and peels. Bars with different letters are significant different ($p < 0.05$)

Table 3. Correlation coefficients between DPPH or FRAP and total phenolic contents or AA for pulps and peels from five Brazilian varieties of citrus.

Correlations	Pulps	Peels	Pulps and peels
Total phenolics X DPPH	0.801	0.108	0.818**
Total phenolics x FRAP	0.615	0.353	0.874**
AA X DPPH	0.863	0.915*	- 0.205
AA x FRAP	0.845	0.926*	- 0.257
Total phenolics + AA x DPPH	0.956*	0.248	0.842**
Total phenolics + AA x FRAP	0.888*	0.486	0.895**
DPPH x FRAP	0.864	0.863	0.946**

*Correlation is significant at $p < 0.05$ and ** Correlation is significant at $p < 0.0$

CAPÍTULO 3

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Das cinco variedades de frutas cítricas analisadas neste estudo, em geral, as cascas apresentaram maiores teores de todos os compostos analisados, com exceção do ácido ascórbico, em que a polpa de laranja pera apresentou o maior teor e a casca da lima ácida tahiti apresentou o menor teor. As frutas apresentaram altos teores de potássio, cálcio e magnésio, sendo as cascas consideradas “fontes” destes minerais. Foram também encontrados teores de elementos traço, importantes para o sistema antioxidante endógeno. As cascas apresentaram teores de compostos fenólicos de 2,5 a 4 vezes maiores que as polpas, destacando-se a casca de laranja lima. Quanto à capacidade antioxidante, a casca de tangerina ponkã apresentou os melhores resultados.

O Brasil destaca-se como um grande produtor e exportador de citros e, portanto deve estimular o consumo destes e agregar valor aos subprodutos da indústria citrícola, uma alternativa para a redução do impacto ambiental e para o crescimento econômico de empresas. As cascas, por seu teor de compostos bioativos, podem ser exploradas pela indústria de alimentos e bebidas para a produção de alimentos funcionais ou substituindo o uso de antioxidantes sintéticos e, também para a indústria farmacêutica e de cosméticos.

A atividade antioxidante dos citros não está relacionada apenas aos teores dos principais constituintes bioativos presentes, mas também com a estrutura química desses constituintes. Para tanto é necessário que se extraia e quantifique o maior número possível de constituintes presentes, além dos apresentados neste trabalho.

ANEXOS

Anexo A – Normas de publicação do respectivo periódico

ANEXO A

Scope, Policy, and Instructions for Authors

(Revised January 2010)

Contents (*click on the topic*)

Submission of Manuscripts | **Journal Scope** | **Manuscript Types** | **Ethics, Conflict of Interest** – Multiple Reporting of Research – Plagiarism – Coauthorship – Conflict of Interest | **Editorial Peer Review Process** |

Manuscript Preparation – Title and Authorship – Abstract and Keywords – Introduction – Materials and Methods – Results and Discussion – Abbreviations and Nomenclature – Safety – Acknowledgment – Literature Cited – Tables and Artwork – Table of Contents Graphics – Supporting Information – Currently Acceptable Word-Processing Packages – Word-Processing Details

Revisions and Resubmissions | **Copyright Status Form** | **Proofs and Reprints** | **Reporting Specific Data**

SUBMISSION OF MANUSCRIPTS

Manuscripts must be submitted via the ACS Paragon Plus environment (<http://paragonplus.acs.org/login>). Complete instructions and an overview of the electronic online (Web) submission process are available through the secure ACS Paragon Plus Web site. Authors must also submit all revisions of manuscripts via the ACS Paragon Plus environment. The Web submission site employs state-of-the-art security mechanisms to ensure that all electronically submitted papers are secure. These same security mechanisms are also utilized throughout the peer-review process, permitting access only to editors and reviewers who are assigned to a particular paper.

E-mailed submissions and hardcopy submissions will not be processed.

All manuscripts **must** be accompanied by a cover letter that includes seven specific points:

1. Manuscript title
2. Corresponding author's name, address, telephone and fax numbers, and e-mail address
3. If manuscript is not submitted by the corresponding author, submitter's name, address, telephone and fax numbers, and e-mail address
4. E-mail addresses of all coauthors
5. **Explanation of the manuscript's significance, including its originality, its contribution to new knowledge in the field, and its relevance to research in agricultural and food chemistry**
6. List of graphics the author would like to have published in color
7. **List of at least four recommended reviewers** for the manuscript; include the address, telephone and fax numbers, and e-mail address for each suggested reviewer; **do not include reviewers who may have a conflict of interest or who are Associate Editors of the *Journal***. The recommended reviewers should not be anyone who is or, in the previous two years, has been a former adviser/advisee, colleague in the same institution, research collaborator, and/or coauthors of papers and patents.

Submissions that do not include a cover letter addressing these seven points will not be processed.

The author's preference for manuscript category is indicated during the submission process. However, the final decision on the category under which the manuscript will be listed lies with the Editor.

Complete instructions for manuscript preparation and a copyright status form are available at the *Journal's* Web site. Please conform to these instructions when submitting manuscripts. Authors whose manuscripts are published in the *Journal* will be expected to review manuscripts submitted by other researchers from time to time.

JOURNAL SCOPE

The *Journal of Agricultural and Food Chemistry* publishes complete or full-length fundamental and applied research papers dealing with the chemistry and biochemistry of agriculture and food. The *Journal* also encourages papers with chemistry and/or biochemistry as a major component combined with biological/sensory/nutritional/toxicological evaluation related to agriculture and/or food.

The *Journal* is organized into the following sections:

Analytical Methods
Bioactive Constituents
Biofuels and Bioproducts Chemistry
Chemical Aspects of Biotechnology/Molecular Biology
Chemical Aspects of Food Safety
Chemical Changes Induced by Processing/Storage
Chemical Composition of Foods/Feeds
Crop and Animal Protection Chemistry
Environmental Chemistry
Flavors and Aromas/Chemosensory Perception
Food Chemistry/Biochemistry
Molecular Nutrition
Toxicology in Agriculture and Food

MANUSCRIPT TYPES

Research articles must report **original research that is expected to have a definable impact on the advancement of science and technology, incorporating a significant component of innovative chemistry.** Originality will be documented by novel experimental results, theoretical treatments, interpretations of data, and absence of prior publications on the same/similar topics.

Expedited Handling. There is no separate Rapid Communications, Notes, or Letters section. However, manuscripts describing results deemed to be highly important and urgent in a field of research will be considered for expedited processing and review. **Only manuscripts reporting complete research, as opposed to preliminary results, will be considered.** A request for expedited handling, along with justification for the request, must be included in the cover letter accompanying the manuscript.

Review articles will be considered that summarize information in a field in which the literature is scattered or treat published data or other information so as to provide a new approach or stimulate further research. Authors considering the preparation of a review

should submit a synopsis to the Editor to establish whether the manuscript will meet these guidelines.

Perspectives, which explore needs and opportunities in agricultural and food chemistry in a less technical format than a review article, will be considered. Authors should **contact the Editor** to outline the area to be covered before submitting a Perspectives manuscript. For an example, see *J. Agric. Food Chem.* **2008**, *56*, 7587–7592.

Comments related to published papers will be considered from readers if the correspondence is **received within six months of the date of publication of the original paper**; the authors of the original paper will be given the **opportunity to reply** to such comments within two months, if they so desire. Both comments and replies should not exceed 1000 words each, including citations, and will be published consecutively in the same issue of the *Journal* after peer review. For examples, see *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55*, 7213–7214 and *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55*, 7215–7216.

Symposia or Topical Collections. The Editor will consider publication of a series of manuscripts reporting or synthesizing original research that are presented in a symposium or otherwise clustered around a single topic. Prospective organizers should **contact the Editor well in advance** to determine whether the subject matter conforms to the *Journal's* goals, criteria, and available space and to obtain specific instructions for submission of the manuscripts. For an example, see *J. Agric. Food Chem.* **2008**, *56*, 5983–6184. Each manuscript will be put through the normal peer-review process.

Additions/Corrections. Corresponding authors wishing to submit a correction to a paper already published in print should submit the item via the Paragon Plus Web site. In your cover letter, include the manuscript number of the paper to be corrected. In the correction document, include the full title of the original publication, all author names, the volume and page numbers of the print publication, the original manuscript number, and a brief description of the correction(s) needed. If a figure is to be corrected, please include the figure in the correction document. Please note that the Editor has final approval as to whether an addition/correction will be published.

ETHICS, CONFLICT OF INTEREST

Authors and coauthors are responsible for the integrity of their manuscripts. The Editor may impose a two year submission moratorium on authors and coauthors that are found to be in violation of the ethical guidelines.

Authors and coauthors should familiarize themselves by reading the entire *Ethical Guidelines to Publication of Chemical Research*, which are available at the *Journal's* Web site.

Some particularly important points from the ACS Ethical Guidelines are the following:

Multiple Reporting of Research. It is improper for an author to submit manuscripts describing essentially the same research to more than one journal. Resubmission of a manuscript rejected or withdrawn from publication is permissible. Authors are expected to use care when submitting reports of research previously presented at meetings so that double publication does not occur. This applies to figures and tables as well as text. Publication of research in non-English journals constitutes prior publication. (For a discussion of copyright issues related to the use of tables, figures, or text that are published elsewhere, see *The ACS Style Guide*, 3rd ed., Chapter 7.)

Plagiarism. The Editors of this journal will not tolerate plagiarism, including self-plagiarism. Authors should refer to a handbook such as the *Modern Language*

Association Handbook for Writers of Research Papers, 6th edition, for a full explanation of plagiarism and how to avoid it. Another good source of information is the Web site <http://www.plagiarism.org>.

Coauthorship. The submitting author must obtain consent to coauthorship from all coauthors listed prior to submitting the manuscript and include as coauthors all individuals who made significant scientific contributions to the work. Any disagreement between the corresponding author and coauthors after the manuscript is submitted will cause review of the manuscript to cease. It is the responsibility of the authors to settle disputes that arise before or after the manuscript is submitted without involving the Editor/Associate Editor or ACS. (For a discussion of coauthorship, see *The ACS Style Guide*, 3rd ed., Chapter 1.)

Conflict of Interest. The authors should disclose at the time of submission any financial arrangement they may have with a company whose product figures prominently in the submitted manuscript or with a company making a competing product. An editorial decision will then be made as to whether the manuscript being submitted should be sent out for review. If the paper is deemed to be suitable for review, information concerning any financial arrangement the authors may have with a given company will be held in confidence and will not influence the evaluation of the research and whether the manuscript can be accepted for publication. As a guiding principle, however, it is expected that the authors of such papers should not have any financial interest in a company (or its competitor) that makes a product discussed in the paper. These guidelines do not generally apply to the use of brand names or to the identification of the producers of products that are used for analytical purposes such as instruments, reagents, or kits. For further information, please read the *ACS Ethical Guidelines to Publications of Chemical Research*, section B12, which is available at the *Journal's* Web site.

EDITORIAL PEER REVIEW PROCESS

Peer review is used to help ensure the **highest possible quality** in published manuscripts. For a discussion of this, see “The Importance of Peer Review” by H. L. Wheeler and W. B. Wheeler, *J. Agric. Food Chem.* (Editorial) **2006**, *54*, 8983–8983. Scientists with expertise in the subject matter being treated will evaluate the manuscript for validity of the experimental design and results, originality, significance, and appropriateness to the *Journal*. **The Editors may exercise their prerogative to decline a manuscript without peer review if that paper is judged to be outside the scope of the *Journal* (lacks significant chemistry/biochemistry), poorly written or formatted, fragmentary and marginally incremental, or lacking in significance.** Manuscripts describing properties of extracts, without detailing the chemical composition of the extracts responsible for the described properties, will generally not be accepted for review.

All manuscripts submitted are reviewed and handled by the Editor-in-Chief or assigned to one of the Associate Editors. The Associate Editor and Editorial Assistant are then responsible for the assigned manuscripts, including acknowledging receipt, evaluating the content and format of the paper, selecting reviewers, monitoring the progress of the review process, evaluating the comments of reviewers and forwarding them to the authors for their response, communicating ultimate acceptance or rejection to the corresponding author, and carrying out a final check of accepted manuscripts for appropriate format and style.

Typically, three reviewers are selected per paper on the basis of the subject matter, available expertise, and the Editor's knowledge of the field. Potential reviewers for each paper are identified by various means, including a computerized search of the subject

area. Authors must submit the names and addresses (including e-mail addresses) of at least four potential reviewers; however, the Editors are under no obligation to use specific individuals. Reviewers are normally asked to provide their assessments within two to three weeks. Anonymous copies of the reviews corresponding author. If the reviewers' evaluations of the manuscript disagree, or if reviewer's and Editor's comments are not satisfactorily addressed by the authors, the Editor may reject the manuscript or select additional reviewers. These additional reviews are used by the Editor to assist in reaching the final decision regarding disposition of the manuscript.

The obligations of the Editors and Reviewers are outlined in the *Ethical Guidelines*. Aids for reviewers titled "A Guide to a Review" and "Components of a Manuscript to be Considered in a Review" are available at the Reviewer Information Web site (<http://pubs.acs.org/4authors>).

ASAP Publication. Accepted manuscripts will be published on the "Articles ASAP" page on the *Journal's* Web site as soon as page proofs are corrected and all author concerns are resolved. Publication on the Web usually occurs within 4 working days of receipt of page proof corrections, and this can be anywhere from 2 to 8 weeks in advance of the cover date of the issue. Manuscripts assigned to a special issue often remain published ASAP for several months. Authors should take this schedule into account when planning intellectual and patent activities related to a manuscript. The date on which an accepted paper is published on the Web is recorded on the Web version of the manuscript and on the first page of the PDF version.

MANUSCRIPT PREPARATION

Manuscript Format. Manuscripts must be prepared using accepted word-processing software, and all parts must be double-spaced. All pages must be numbered consecutively starting with the title page and including tables and figures. **Lines in the abstract and text should be numbered consecutively from beginning to end in a separate column at the left. Do not put line numbers on pages with tables.** A standard font, in a size of 12 points or greater, must be used. The *Journal* requires authors to stay within a **20 typed page limit**, not including references, tables, and figures.

Standard American English usage is required. Authors who are not familiar with standard American English are urged to seek assistance; deficiencies in grammar may be a serious hindrance during the review process.

The ACS Style Guide (3rd ed., 2006; ISBN 0-8412-3999-1), available from Oxford University Press, Order Department, 201 Evans Road, Cary, NC 27513, provides a detailed treatment of the fundamentals of manuscript preparation. Refer to a current issue of the *Journal* for general style.

The various sections of the manuscript should be assembled in the following sequence:

- Title and authorship (single page)
- Abstract and keywords (single page)
- Introduction
- Materials and Methods
- Results
- Discussion
- Abbreviations Used
- Safety
- Acknowledgment
- Supporting Information description
- Literature Cited

Figure captions
Tables
Figures
Graphic for table of contents (optional)

TITLE AND AUTHORSHIP

The title, authorship, and institutional affiliations should be included on a single page.

Title. The title should be specific and informative. Keywords in the title assist in effective literature retrieval. If a plant is referred to in the title or elsewhere in the text by its common or trivial name, it should be identified by its scientific name in parentheses immediately following its first occurrence. This term should also be provided as one of the keywords. If trade names are mentioned, give generic names in parentheses.

Authorship. Be consistent in authorship designation on the manuscript and on all correspondence. **First name, middle initial, and last name** are generally adequate for correct identification, but omit titles. Give the complete mailing address of all institutions where work was conducted and identify the affiliation of each author. If the current address of an author is different, include it in a footnote on the title page. The name of the author to whom inquiries about the paper should be addressed must be marked with an asterisk; provide the telephone and fax numbers and e-mail address of this correspondent.

ABSTRACT AND KEYWORDS

Abstract. Authors' abstracts are used directly for *Chemical Abstracts*. The abstract should be a clear, concise (100–150 words), one-paragraph summary, informative rather than descriptive, giving scope and purpose, experimental approach, significant results, and major conclusions. Write for literature searchers as well as journal readers.

Keywords. Provide significant keywords to aid the reader in literature retrieval. The keywords are published immediately before the text, following the abstract.

INTRODUCTION

Discuss relationships of the study to previously published work, but do not reiterate or attempt to provide a complete literature survey. Use of *Chemical Abstracts* and other appropriate databases is encouraged to ensure that important prior publications or patents are cited and that the manuscript does not duplicate previously published work. **The purpose or reason for the research being reported, and its significance, originality, or contribution to new knowledge in the field, should be clearly and concisely stated.**

Do not include or summarize current findings in this section.

MATERIALS AND METHODS

Apparatus, reagents, and biological materials used in the study should be incorporated into a general section. List devices of a specialized nature or instruments that may vary in performance, such that the model used may affect the quality of the data obtained (e.g., spectroscopic resolution).

List and describe preparation of special reagents only. Reagents normally found in the laboratory and preparations described in standard handbooks or texts should not be listed.

Specify the source, vendor [city and state (or city and country if non-U.S.)], and availability of special equipment, reagents, kits, etc. Do not include catalog numbers. Biological materials should be identified by scientific name (genus, species, authority, and family) and cultivar, if appropriate, together with the site from which the samples were obtained. Specimens obtained from a natural habitat should be preserved by deposit of samples in an herbarium for plants or in a culture collection for microorganisms, with a corresponding collection or strain number listed.

Manuscripts describing studies in which live animals or human subjects are used must include a statement that such experiments were performed in compliance with the appropriate laws and institutional guidelines, and **also name the institutional committee that approved the experiments. Authors are encouraged to note the approval code or number or give the name of the approving office or official.** (See Reporting Specific Data: Animal or Human Studies.) Manuscripts reporting data from inhumane treatment of experimental animals will be rejected.

Specific experimental methods should be sufficiently detailed for others to repeat the experiments unequivocally. Omit details of procedures that are common knowledge to those in the field. Brief highlights of published procedures may be included, but details must be left to the Literature Cited, and verbatim repeat of previously published methods, even if done by the authors, will not be permitted unless a quotation from a published work is included, and placed in quotation marks, with the reference to the source included at the end of the quotation. Describe pertinent and critical factors involved in reactions so the method can be reproduced, but avoid excessive description. For information on the reporting of certain types of data see Reporting Specific Data.

Describe statistical design and methods in this section.

RESULTS/DISCUSSION

Results and discussion may be presented in separate sections or combined into a single section, whichever format conveys the results in the most lucid fashion without redundancy. Be complete but concise in discussing findings, comparing results with previous work and proposing explanations for the results observed.

All data must be accompanied by appropriate statistical analyses, including complete information on sampling, replication, and how the statistical method employed was chosen.

Avoid comparisons or contrasts that are not pertinent, and avoid speculation unsupported by the data obtained.

A separate summary or conclusion section is not to be used; any concluding statements are to be incorporated under Results and Discussion.

ABBREVIATIONS AND NOMENCLATURE

Standard abbreviations, without periods, should be used throughout the manuscript.

Refer to *The ACS Style Guide* for the preferred forms of commonly used abbreviations. Specialized abbreviations may be used provided they are placed in parentheses after the word(s) for which they are to substitute at first point of use and are again defined in this section. Avoid trivial names and “code” abbreviations (e.g., NAR for naringenin) unless such codes are in common usage (e.g., MTBE for methyl *tert*-butyl ether).

If trade names are used, define at point of first use. If nomenclature is specialized, include a “Nomenclature” section at the end of the paper, giving definitions and

dimensions for all terms. Use SI units insofar as possible. Refer to *The ACS Style Guide* for lists of SI units and a discussion of their use.

Write all equations and formulas clearly and number equations consecutively. Place superscripts and subscripts accurately; avoid superscripts that may be confused with exponents. Identify typed letters and numbers that might be misinterpreted, such as “oh” for zero or “ell” for one. Chemistry numbering requiring primes should be identified as such, not by a comma; e.g. 3,3'-hydroxy- .

It is the authors' responsibility to provide correct nomenclature. Structures should be included for uncommon chemicals, particularly when the systematic or common name is too complex or unclear to readily denote the structure. Such structures should be included as a figure or table. All nomenclature must be consistent and unambiguous and should conform with current American usage. Insofar as possible, authors should use systematic names similar to those used by Chemical Abstracts Service, the International Union of Pure and Applied Chemistry, and the International Union of Biochemistry and Molecular Biology. *Chemical Abstracts* (CA) nomenclature rules are described in Appendix IV of the *Chemical Abstracts Index Guide*. For CA nomenclature advice, consult the Manager of Nomenclature Services, Chemical Abstracts Service, P.O. Box 3012, Columbus, OH 43210-0012. A name generation service is available for a fee through CAS Client Services,

2540 Olentangy River Road, P.O. Box 3343, Columbus, OH 43210-0334 [telephone (614) 447-3870; fax (614) 447-3747; e-mail answers@cas.org]. In addition, the ACS Web site has links to nomenclature recommendations at <http://chemistry.org>.

SAFETY

Authors are required to call special attention in their manuscripts to safety considerations such as explosive tendencies, special precautionary handling procedures, and toxicity.

ACKNOWLEDGMENT

Include essential credits but hold to an absolute minimum. Omit academic and social titles. Meeting presentation data and acknowledgment of financial support of the work should not be included here; give these instead in a note following the Literature Cited. It is the responsibility of the corresponding author to notify individuals named in the Acknowledgment section.

LITERATURE CITED

Consult *The ACS Style Guide* and current issues of the *Journal* for examples of reference format.

Authors should cite all prior published work directly pertinent to the manuscript. However, extensive bibliographies that go beyond a direct connection with the manuscript are discouraged. Prior work can often be covered by citation of a few leading references or of review articles. As a general guideline, authors should attempt to limit the literature cited to approximately 30 or fewer citations.

Authors are responsible for the accuracy of their references. References taken from a review or other secondary source should be checked for accuracy with the primary source.

References should be listed on a separate sheet and numbered in the order in which they are cited in the text.

References should be cited in the text by an on-line italic number in parentheses, for example, (1), (2–5), etc.

Give complete information, using the last name and initials of the author, patentee, or equivalent; do not use “Anonymous”.

Follow *Chemical Abstracts Service Source Index* for abbreviations of journal titles.

Because subscribers to the Web edition of the *Journal* are now able to click on the “Chemport” or other tag following each reference to retrieve the corresponding abstract from various Web resources, reference accuracy is critical.

Typical references follow the styles given below.

For journals:

1. Brown, J.; Jones, M.; Green, D. Article title. *J. Agric. Food Chem.* **1980**, 28, 1–4. (Use issue number only if each issue of the periodical begins with page 1.)

For books:

2. Smith, L; Caldwell, A. Chapter title. In *Book Title*, edition no.; Keys, F., Park, G., Eds.; Publisher: City, State (or Country if non-U.S.), Year; Vol. no., pp.

Papers should not depend for their usefulness on unpublished material, and excessive reference to material “in press” is discouraged. Reference to the authors’ own unpublished work is permitted if the subject is of secondary importance to the manuscript in question, but any unpublished results of central importance must be described in sufficient detail within the manuscript. **If pertinent references are “in press” or unpublished for any reason, furnish copies to enable reviewers to evaluate the manuscript. An electronic copy of these materials should be uploaded according to the directions for review-only Supporting Information.**

TABLES AND ARTWORK

The tables and graphics (illustrations) should be inserted after the Literature Cited section.

Tables and figures should be carefully designed to maximize presentation and comprehension of the experimental data with superfluous information excluded.

Useful information not directly relevant to the discussion may be included under Supporting Information.

Tables. Tables may be created using a word processor’s text mode or table format feature. The table format feature is preferred. Ensure each data entry is in its own table cell. If the text mode is used, separate columns with a single tab and use a line feed (return) at the end of each row.

Tables should be numbered consecutively with Arabic numerals and should be grouped after the Literature Cited section. Footnotes in tables should be given letter designations and be cited in the table by italic superscript letters. The sequence of letters should proceed by row rather than by column. Each table should be provided with a descriptive heading, which, together with the individual column headings, should make the table, as nearly as possible, self-explanatory. In setting up tabulations, authors are requested to keep in mind the type area of the journal page (17.8 × 25.4 cm), and the column width (8.5 cm), and to make tables conform to the limitations of these dimensions.

Arrangements that leave many columns partially filled or that contain much blank space should be avoided. Conversely, arrangements that include >20 columns should be

broken into two tables if possible. If *significance of values* is to be indicated, use a lower case letter, on line, one space after the value.

Figures and Artwork. Insert the illustrations into the word-processing file following the Literature Cited. Artwork should be sequentially numbered using Arabic numbers. Schemes and charts may have titles and footnotes; figures should have captions.

For bar charts, bars with hatching patterns generally reproduce well. Bars that range in shading from light to dark gray to black can usually be reproduced successfully, although we do not recommend any more than two shades of gray. A legend needs to be included within the figure itself rather than the patterns or shades included in the caption.

For manuscripts containing gel patterns, use of a high-resolution digital scanner is recommended. Only high-quality digital reproductions will allow reviewers to correctly verify the experimental results. For an example of gel patterns see *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 5717–5723, Figures 2 and 3.

Only readable and accurately represented images are acceptable; the **Editors reserve the option to reject images that do not satisfactorily support points made in the manuscript or that are not of satisfactory quality for publication.**

The quality of the illustrations published in the *Journal* largely depends on the quality of the originals provided. Figures cannot be modified or enhanced by the journal production staff. Contrast is important. Remove all color from graphics, except for those graphics that are to be considered for publication in color (see paragraph below on color reproduction for details). Each figure or photograph should be properly labeled.

Illustrations must fit a one- or two-column format on the journal page. **For efficient use of journal space, single-column illustrations are preferred.**

single (preferred)		double
width		
minimum		10.5 cm (4.13 in.)
maximum	8.25 cm (3.25 in.)	17.78 cm (7 in.)
maximum depth	24 cm (9.5 in.)	24 cm (9.5 in.)

For best results, submit illustrations in the actual size at which they should appear in the journal. Illustrations that do not need to be reduced to fit a single or double column will yield the best quality. Lettering should be no smaller than 4.5 points. (Helvetica or Arial type works well for lettering.) Lines should be no thinner than 0.5 point. Lettering and lines should be of uniform density. Avoid the use of very large and very small lettering within the same figure.

If artwork that must be reduced will be submitted, use larger lettering and thicker lines so that, when reduced, the artwork meets the above-mentioned parameters.

Avoid using complex textures and shading to achieve a three-dimensional effect. To show a pattern, choose a simple crosshatch design.

Color photographs and artwork may be published in the *Journal* if the Editor approves of their use. Color illustrations should be submitted **only** if they are essential for clarity of communication. Reproduction of color illustrations will be provided at no cost to the author; however, a surcharge of \$100 per 100 reprints will be added to the standard cost of reprints. Do not submit color prints to be printed in black and white.

Structural Formulas. Structural formulas are valuable in expressing concisely the precise nature of the compounds under discussion and revealing the essence of the subject to readers unfamiliar with the topic, without their necessary recourse to reference materials. The use of chemical names without accompanying structures may cause readers to overlook the significance of the paper.

Structures should be produced with the use of a drawing program such as ChemDraw. Structure drawing preferences (preset in the ACS Stylesheet in ChemDraw) are as follows:

as drawing settings select...	
chain angle	120°
bond spacing	18% of width
fixed length	14.4 points (0.508 cm, 0.2 in.)
bold width	2.0 points (0.071 cm, 0.0278 in.)
line width	0.6 point (0.021 cm, 0.0084 in.)
margin width	1.6 points (0.056 cm, 0.0222 in.)
hash spacing	2.5 points (0.088 cm, 0.0347 in.)
as text settings select...	
font	Arial or Helvetica
size	10 points
under preferences choose...	
units	points
tolerances	3 pixels
under page setup choose...	
paper	US Letter
scale	100%

Using the ChemDraw ruler or appropriate margin settings, create structure blocks, schemes, and equations having maximum widths of 11.3 cm (one-column format) or 23.6 cm (two-column format). Note: if the foregoing preferences are selected as cm values, the ChemDraw ruler is calibrated in cm. Also note that a standard sheet of paper is only 21.6 cm wide, so all graphics submitted in two-column format must be prepared and printed in landscape mode.

Use boldface type for compound numbers but not for atom labels or captions.

Authors using other drawing packages should, as far as possible, modify their program's parameters to reflect the above guidelines.

TABLE OF CONTENTS GRAPHICS

Authors are encouraged to include a suitable graphic for publication in the table of contents (TOC) in the Web edition of the *Journal*. Submission of this graphic is optional. This graphic should capture the reader's attention and, in conjunction with the manuscript's title, should give the reader a quick visual impression of the type of chemistry described. Structures in the TOC graphic should be constructed as specified under Structural Formulas above. The TOC graphic may be up to 4.7 in. (12.0 cm) wide and 1.8 in. (4.6 cm) tall. (See detailed instructions at the Paragon Plus Web site.) Text

should be limited to labels for compounds, reaction arrows, and figures. The use of color to enhance the scientific value is acceptable. The TOC graphic should be inserted on a separate page at the end of the manuscript file.

SUPPORTING INFORMATION

Extensive tables, graphs, spectra, calculations, and other material beyond a modest content in the published paper may be included in the Web edition of the *Journal*. These will **not** be part of the published article but can be accessed separately on the Web by readers.

Supporting Information must be submitted at the same time as the manuscript and uploaded separately to the ACS Paragon Plus environment. A list of acceptable file types is available on the Web. All Supporting Information files of the same type should be prepared as a single file (rather than submitting a series of files containing individual images or structures). For example, all Supporting Information available as PDF files should be contained in one PDF file.

The material should be described in a paragraph inserted between the Acknowledgment and the Literature Cited sections, using the following format: “Supporting Information Available: Description. This material is available free of charge via the Internet at <http://pubs.acs.org>.” Components of the Supporting Information should be clearly labeled.

DO NOT UPLOAD FIGURES AND TABLES THAT ARE TO BE PUBLISHED IN THE ARTICLE INTO THE SUPPORTING INFORMATION FILE. Figures and tables that will appear in the published article are to be inserted in the manuscript directly after the Literature Cited section.

CURRENTLY ACCEPTABLE WORD-PROCESSING PACKAGES

Refer to the Paragon Plus environment Web site for acceptable software packages.

LaTeX users should follow the guidelines given on the Web.

WORD-PROCESSING DETAILS

When preparing a manuscript, use the document mode or its equivalent in the word-processing program, that is, do not save files in “Text Only” (ASCII) mode. If a non-Western version of the word-processing software is used to prepare the manuscript, save the file in rich-text format (RTF). Do not include any page-layout instructions such as placement information for graphics in the file. The text should be left justified, and automatic end-of-line hyphenation should be turned off. Use a line feed (enter) only to end headings and paragraphs, not to break lines of text. Do not insert spaces before punctuation. To ensure expeditious processing of a manuscript, the references should conform to the format described under Literature Cited. Ensure that all characters are correctly represented throughout the manuscript: for example, 1 (one) and l (ell), 0 (zero) and O or o (oh), x (ex) and × (times sign). Check the final copy carefully for consistent notation and correct spelling. The editorial office conversion program will faithfully translate any errors to the typeset copy.

All of the text (including the title page, abstract, all sections of the body of the paper, figure captions, scheme or chart titles and footnotes, and references) and tabular material should be in one file, with the complete text first followed by the tabular material. It is best to use the fonts “Times” and “Symbol”. Other fonts, particularly those that do not come bundled with the system software, may not translate properly. Ensure that all special characters (Greek characters, math symbols, etc.) are present in the body of the

text as characters and not as graphic representations. Consult the documentation for the specific software package being used on how to detect the presence of graphics in the files and replace them with the appropriate text characters.

As additional features become available, these instructions will be updated at the *Journal's* Web site.

REVISIONS AND RESUBMISSIONS

For all revisions:

Clearly identify the manuscript as a revision; reference the manuscript number.

Include an itemized list of changes, with a response to each comment made by the Editor and by each reviewer.

Be aware that the manuscript may be sent for additional review, to the same or additional reviewers, at the discretion of the Editor.

Please upload the signed copyright status form or fax it to the assigned Editor.

For all resubmissions:

Clearly identify all resubmissions; reference the previous manuscript number.

Include an itemized list of changes, including a response to each comment made by the Editor and by each reviewer.

Please upload the signed copyright status form or fax it to the assigned Editor.

COPYRIGHT STATUS FORM

The ACS Copyright Status Form must be completed and signed for each submitted manuscript. No substitute forms or attachments are acceptable. A copy of this form can be found at <http://pubs.acs.org/copyright>. Authors may upload a PDF or TIF version of the signed form at the time of submission. The Completed and Signed Copyright Form file designation should be selected. The ACS Copyright Status Form is a legal document; therefore, it must be signed as is, in only one place. Alternatively, the signed form may be faxed to the Editor assigned to the manuscript (name, address, and fax number of the Editor will be provided when the manuscript is assigned). **For questions about the form or about signing the form, contact the ACS Copyright Office at (202) 872-4368 or -4367.**

Note: Authors who are not U.S. government employees or bona fide agents should sign the top portion of the form only. If ALL of the authors were employees or bona fide agents of the U.S. government when the paper was prepared, the work is “a Work of the U.S. Government” and only the lower section, “Certification as a Work of the U.S. Government”, should be signed if BOTH of the following circumstances apply:

ALL authors are or were bona fide officers or employees of the U.S. Government when the paper was prepared.

The work is a “Work of the U.S. Government”, prepared by an officer/employee of the U.S. government as part of official duties.

If the work was prepared under a U.S. government contract or is coauthored by a non-U.S. government employee, the work is not a “Work of the U.S. Government”; **DO NOT SIGN THIS LOWER SECTION**. Sign only the top part of the form, on the line marked with the pointing hand. Call the ACS Copyright Office at the above telephone number for assistance.

PROOFS AND REPRINTS

Proofs. The corresponding author of an accepted manuscript will receive e-mail notification and complete instructions when page proofs are available for review via a secure Web site. It is the responsibility of the corresponding author to ascertain that all coauthors agree with the corrections before the corrections are returned. Corrections should be designated by galley proof line number. Galley proof corrections should be returned within 48 h of receipt to ensure timely publication of the manuscript. Routine rephrasing of sentences or additions are not permitted at the page proof stage. Alterations should be restricted to serious changes in interpretation or corrections of data. Extensive or important changes on page proofs, including changes to the title or list of authors, are subject to Editorial review.

ACS Policies for E-prints and Reprints. Under the ACS Articles on Request policy, the Society will provide (free of charge) to all contributing authors a unique URL within the ACS Web site that they may e-mail to colleagues or post on external Web sites. These author-directed links are designed to facilitate distribution of an author's published work to interested colleagues in lieu of direct distribution of the PDF file by the author. For paper reprints, the reprint order form (provided with the proof) and

purchase order or check should be sent prior to the publication date to Cadmus Reprints, P.O. Box 751903, Charlotte, NC, USA 28275-1903. Reprints will be shipped within two weeks after issue publication. Neither the Editors nor the Washington ACS Office keeps a supply of reprints; requests for single copies of papers should be addressed to the corresponding author of the paper concerned.

REPORTING SPECIFIC DATA

Bioactivity. Manuscripts reporting on bioactivity of plant-derived or other extracts must also include identification and characterization of individual chemicals responsible for the observed bioactivity.

Gas Chromatographic Methods. For manuscripts in which gas chromatographic methods are used, see "Reporting of Gas Chromatographic Methods", by Morton Beroza and Irwin Hornstein [*J. Agric. Food Chem.* **1973**, *21*, 7A (located at the back of the January 1973 issue or as a link from the *Journal's* Author Information page)].

Spectroscopic Data. This is a guide only; in certain cases different methods of data presentation may be more suitable. Authors are encouraged to consult examples of data presentation published in recent issues of the *Journal* for appropriate style and format.

Complete infrared, NMR, mass, or other spectra will be published only if novel or necessary to substantiate points made under the Results or Discussion sections.

Such presentations take up valuable space, and essentially the same information can frequently be put into a much more compact form by simply listing the position and intensity of the maxima. It is usually not necessary to list all of the maxima in the spectra to provide an adequate description. Report the type of instrument used (e.g., in mass spectrometry, whether magnetic, quadrupole, etc.) and also the type of cell, the solvent (if any), and the state of the sample (whether liquid, gas, solution, etc.).

Mass Spectra. List the molecular ion and about 10 of the major ions with their intensities in parentheses, or more preferably use the method outlined by H. S. Hertz, R. A. Hites, and K. Biemann (*Anal. Chem.* **1971**, *43*, 681–691). This method involves dividing the spectrum into consecutive regions of 14 mass units starting at m/z 6 (i.e., 6–19, 20–33, 34–47, 48–61, etc.). The two most intense ions in each region are then listed. Intensities, relative to the most intense ion, the intensity of which is taken as 100, are shown in parentheses immediately following the m/z value; for example: hexanal, mass

spectrum found (70 eV, two most intense ions each 14 mass units above m/z 34): 43 (86), 44 (100), 56 (86), 57 (65), 71 (28), 72 (33), 82 (18), 85 (5), 97 (2), 100 (2). If the molecular ion does not appear in this presentation, the author should indicate it separately.

Proton Magnetic Resonance (PMR or ^1H NMR) Spectra. The frequency used, the solvent, and also temperature (if other than ambient) are first specified. The type of unit used (δ or τ) is then stated, followed by the position of the center of gravity of the sharp line, broad line, or spin–spin multiplet in these units. This is then followed by information in parentheses which (1) describes the type of splitting, that is, singlet as s, doublet as d, triplet as t, quadruplet as qd, multiplet as m; (2) gives the value of the number of protons the area represents; (3) gives the coupling constant J ; and (4) gives the part of the molecule connected with the particular absorption with the protons involved underlined.

As an example that would be PMR for ethanol (60 MHz, CCl_4): δ 1.22 (t, 3, $J = 7$ Hz, CH_2CH_3), 2.58 (s, 1, OH), 3.70 (qd, 2, $J = 7$ Hz, OCH_2CH_3).

Other Spectra. In general, list position and intensity of the maxima. In some cases it may be desirable to list points of inflection.

A brief explanation should be given for any abbreviations not in common use.

Examples:

Reporting liquid chromatography (HPLC) and HPLC/MS: “Analysis of Polyphenolic Antioxidants from the Fruits of Three *Pouteria* Species by Selected Ion Monitoring Liquid Chromatography–Mass Spectrometry”, by Jun Ma et al. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 5873–5878.

Reporting data in detail, including UV shifts and IR spectra: “Characterization of Vegetable Oils: Detailed Compositional Fingerprints Derived from Electrospray Ionization Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry”, by Zhigang Wu et al. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 5322–5328.

Novel Compound Characterization. For a discussion of the *Journal's* expectations for compound characterization, please read “Compound Identification: A *Journal of Agricultural and Food Chemistry* Perspective” by R. J. Molyneux and P. Schieberle. *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55*, 4625–4629 (DOI: 10.1021/jf070242j). It is essential that novel compounds, either synthetic or isolated from natural sources, be characterized rigorously and unequivocally. Supporting data normally include physical form, melting point (if solid), UV/IR spectra if appropriate, ^1H and ^{13}C NMR, mass spectrometric data, and optical rotation (when compounds have chiral centers).

Examples:

Reporting X-ray data: “Racemic and Enantiopure Synthesis and Physicochemical Characterization of the Novel Taste Enhancer *N*-(1-Carboxyethyl)-6-(hydroxymethyl)pyridinium-3-ol Inner Salt”, by Renaud Villard et al. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *51*, 4040–4045.

Reporting data in detail, including UV shifts: “Novel Flavonol Glycoside, 7-*O*-Methyl Mearnsitrin, from *Sageretia theezans* and Its Antioxidant Effect”, by Shin-Kyo Chung et al. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 4664–4668.

Reporting data for previously known compounds: “Phenolic Constituents and Antioxidant Activity of *Wendita calysina* Leaves (Burrito), a Folk Paraguayan Tea”, by Anna Lisa Piccinelli et al. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 5863–5868.

Flavor Constituents. Manuscripts reporting on flavor constituents should conform to the recommendations made by the International Organization of the Flavor Industry [for details, see the Editorial in the October 1996 issue of *J. Agric. Food Chem.* (44, 2941–2941)]. In brief, any identification of a flavoring substance must pass scrutiny of the latest forms of available analytical techniques. **In practice, this means that any particular substance must have its identity confirmed by at least two methods, for example, comparison of chromatographic and spectrometric data (which may include GC, MS, IR, and NMR) with those of an authentic sample.** If only one method has been applied (MS data alone or retention index or Kovats index alone), the identification shall be labeled “tentative”. In addition, authors are encouraged to include at least semiquantitative data on the concentration of an identified component in the original source, for example, foodstuff or plant part. Ranges such as <1 µg/kg, 1–10 µg/kg, and 10–100 µg/kg are acceptable.

Flavor is evoked by smell (aroma) and taste. A good example showing the correct characterization of taste compounds is the study by Czepa and Hofmann (*J. Agric. Food Chem.* **2003**, 51, 3865–3873). A good example for aroma compound identification is the study by Milo and Grosch (*J. Agric. Food Chem.* **1996**, 48, 2366–2371).

The use of reference compounds is a must, if data on sensory properties of single compounds are reported. Odor, which is perceived during sniffing of a food extract at a certain retention index, may be indicative of the presence of a given compound, but not conclusive unless substantiated by chromatographic and/or spectrometric data and comparison with an authentic reference compound.

Soil Classification. Soils used in research should be described down to the family level according to the soil classification scheme given in *Soil Taxonomy, A Basic System of Soil Classification for Making and Interpreting Soil Surveys*, 2nd ed. (Agricultural Handbook 436; U.S. Government Printing Office: Washington, DC, 1999) (available online at <http://soils.usda.gov/technical/classification/taxonomy/>). Also give series name if known.

This requirement is to allow comparison and extrapolation to other work giving similar soil classifications, as published in journals such as the *Journal of Soil Science*, *Soil Science Society of America Journal*, *Journal of Environmental Quality*, and *Geoderma*. If information is unavailable to classify the soils at the desired family level, classification should be described or estimated at least to the great group level in the same classification system.

Statistics. Manuscripts reporting analytical, biological activity, composition, and related data must include relevant statistical information to support discussion of differences or similarities in data sets. Refer to a standard statistics reference such as *Statistical Methods*, 8th ed.; Snedecor, G. W., Cochran, W. G., Eds.; University Press: Ames, IA, 1989.

Animal or Human Studies. Manuscripts describing studies in which the use of live animals or human subjects is involved must include under Materials and Methods a statement that such experiments were performed in compliance with the appropriate laws and institutional guidelines, and also name the institutional committee that approved the experiments. For experiments with human subjects, a statement that informed consent was obtained from each individual must be included and the consent forms made available to the *Journal* on request. Reviewers of manuscripts involving animal or human experiments will be asked to comment specifically on the appropriateness and conformity to regulations of such experiments. **Authors are encouraged to note the approval code or number or give the name of the approving office of official.**

Animal Subjects. The use of animals in a study should be employed only when there are no alternative methods for investigating the fundamental questions of the study. In such cases, it is the ethical responsibility of all authors to ensure that the care of animals is of the highest possible order, that pain and/or distress is minimized, and that the numbers involved are strictly limited to those essential to fulfill the experimental design. In the United States the care and use of laboratory animals is regulated by the U.S. Department of Agriculture (USDA) under the Animal Welfare Act. Links to the regulations and other information are available at http://www.aphis.usda.gov/animal_welfare/links.shtml. It is recognized that researchers in other countries may be governed by different laws and regulations. In such cases, experiments should be designed to conform either to the above USDA regulations or to the International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals (1985), available at http://www.cioms.ch/1985_texts_of_guidelines.htm.

Human Subjects. The use of human subjects in experimental studies requires informed consent. Such consent requires that the subjects be informed completely not only about the procedures involved but also about the aims, design, and expected outcomes of the study. Consent must be obtained not only when subjects are involved directly in the study but also when samples (tissue, blood, plasma, etc.) are required for in vitro experiments. In the United States the protection of human research subjects is regulated by the U.S. Department of Health and Human Services (HHS). Regulations are available at <http://www.hhs.gov/ohrp/humansubjects/guidance/45cfr46.htm#46,htm#46.116>. Laws and regulations governing researchers in other countries must be observed, but experiments should be designed to conform to the intent of the HHS regulations as far as possible.

In relation to the subject matter of the *Journal*, experiments involving taste and food quality evaluation and consumer acceptance are exempt from the above regulations [CFR 46.101 (b) (6)]. However, it should be noted that this would not exempt studies in which extracts, isolates, pure compounds, etc., obtained from conventional food sources are subjected to such evaluation.

The *Journal* will reject any manuscript for which there is reason to believe that animals have been subjected to unnecessary pain or distress or when informed consent of human subjects is absent or incomplete.

The *Journal* will reject any manuscript for which there is reason to believe that animals have been subjected to unnecessary pain or distress or when informed consent of human subjects is absent or incomplete. Editor Contact Information:

James N. Seiber, Editor
Journal of Agricultural and Food Chemistry
Department of Environmental Toxicology
University of California
One Shields Avenue
Davis, California 95616
U.S.A.
Telephone (530) 754-7005
Fax (530) 754-7006
E-mail jafc@ucdavis.edu

APÊNDICES

APÊNDICE A

TABELA 1 – Teor de minerais de citros em mg por 100 g de amostra *in natura*.

Cultivar	Parte fruto	Ca (mg)	Mg (mg)	Fe (mg)	Na (mg)	K (mg)	Zn (mg)	Mn (mg)	Cu (mg)
Laranja lima	polpa ⁽¹⁾	31	10	0,1	1	130	0,1	0,05	0,02
	casca								
Laranja pêra	polpa ⁽¹⁾	*	9	0,1	Tr	163	0,1	0,05	0,03
	casca ⁽²⁾	125	16	0,9	4,8	228	0,1	0,2	0,20
Lima da Pérsia	polpa								
	casca								
Limão Tahiti	polpa ⁽¹⁾	51	10	*	1	128	0,2	0,07	0,06
	casca ⁽²⁾	136	26	0,5	3,2	136	0,1	0,1	0,05
Tangerina ponkan	polpa ⁽¹⁾	13	8	0,1	Tr	131	Tr	0,04	0,03
	casca ⁽³⁾	478,98	159,59	4,77	77,76	598,36	2,83		0,58

Fonte: (1) NEPA (2006); (2) Bataglia et al. (1977); (3) Gondim et al. (2005)

APÊNDICE B

TESTE DE METODOLOGIAS E SOLVENTES PARA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE

Os antioxidantes presentes em amostras sólidas se encontram nas formas livre e combinada, e por isso as amostras devem ser submetidas à extração antes da análise. Porém, sob o ponto de vista químico não há como selecionar a metodologia mais eficiente para a extração desses compostos que podem sofrer a influência de diversos fatores. Dentre esses, podem ser citados a natureza do vegetal, o solvente empregado na extração, o tamanho das partículas, o tempo e a temperatura de extração (NACZK; SHAIDI, 2006). Assim, a eficiência da extração é fator determinante para quantificar corretamente a atividade de antioxidantes.

Sistemas de solventes orgânicos vêm sendo comumente utilizados como técnicas para a extração de polifenóis de matérias vegetais, visando determinar a capacidade antioxidante (INAT; VOLF; POPA, 2011; LI; SMITH; HOSSAIN, 2006). O tipo de solvente e a polaridade podem afetar a transferência de elétrons e de átomos de hidrogênio, que é aspecto-chave na medida da capacidade antioxidante. A presença de outras substâncias nas soluções testadas também pode afetar os resultados. Os solventes comumente utilizados para extração de compostos bioativos são metanol, etanol, acetona, água, acetato de etil, éter dietil e suas combinações (PÉREZ-JIMÉNEZ; SAURA-CALIXTO, 2006; NACZK; SHAIDI, 2006).

Para a análise de compostos fenólicos e capacidade antioxidante, foram comparadas as duas metodologias de extração (barra magnética e homogeneizador do tipo ultra turrax), bem como a eficiência de cinco solventes (água, etanol 5%, metanol 70%, metanol 80% e metanol puro) como descrito na metodologia deste trabalho. A quantificação de compostos fenólicos totais foi determinada por espectrofotometria, por meio do reagente de Folin-Ciocalteu, segundo a metodologia descrita por Singleton; Rossi (1965); e a determinação da capacidade antioxidante foi realizada pelo

método de Brand-Willians; Cuvelier, Berset (1995), com modificações do por Duarte-Almeida (2006).

Os resultados estão demonstrados nas Figuras 1, 2, 3 e 4 a seguir:

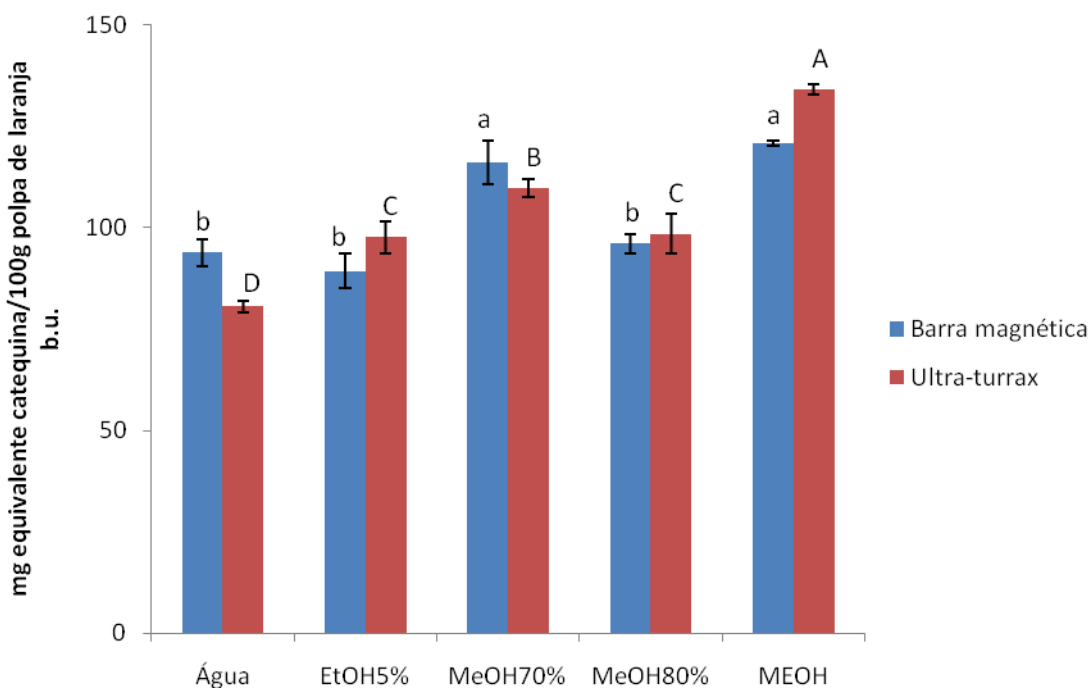


Figura 1 – Comparação da extração de compostos fenólicos da polpa de laranja pêra em base úmida para barra magnética e Ultra turrax em diferentes solventes. Letras diferentes entre colunas da mesma cor representam diferenças significativas entre as amostras ($p < 0,05$).

A figura 1 demonstra os resultados obtidos com os diferentes solventes e métodos utilizados para a extração de compostos fenólicos na polpa de laranja pêra. Nota-se que, para a extração em barra magnética, o teor de compostos fenólicos variou de $89,52 \pm 3,6$ (EtOH 5%) a $120,73 \pm 0,73$ (MeOH) mg equivalente de catequina/100g de polpa de laranja em base úmida. As melhores extrações se deram em metanol e metanol 70%, sem diferença significativa entre estes solventes.

Para a extração com ultra turrax, o teor de compostos fenólicos variou de $80,76 \pm 1,94$ (água) a $136,16 \pm 5,80$ (MeOH) mg equivalente de catequina/100g de polpa de laranja em base úmida. A melhor extração foi em metanol, significativamente diferente dos valores obtidos com os outros

solventes. Os dois métodos apresentaram-se em concordância, apresentando melhores resultados nos extratos que utilizaram MeOH e MeOH 70%

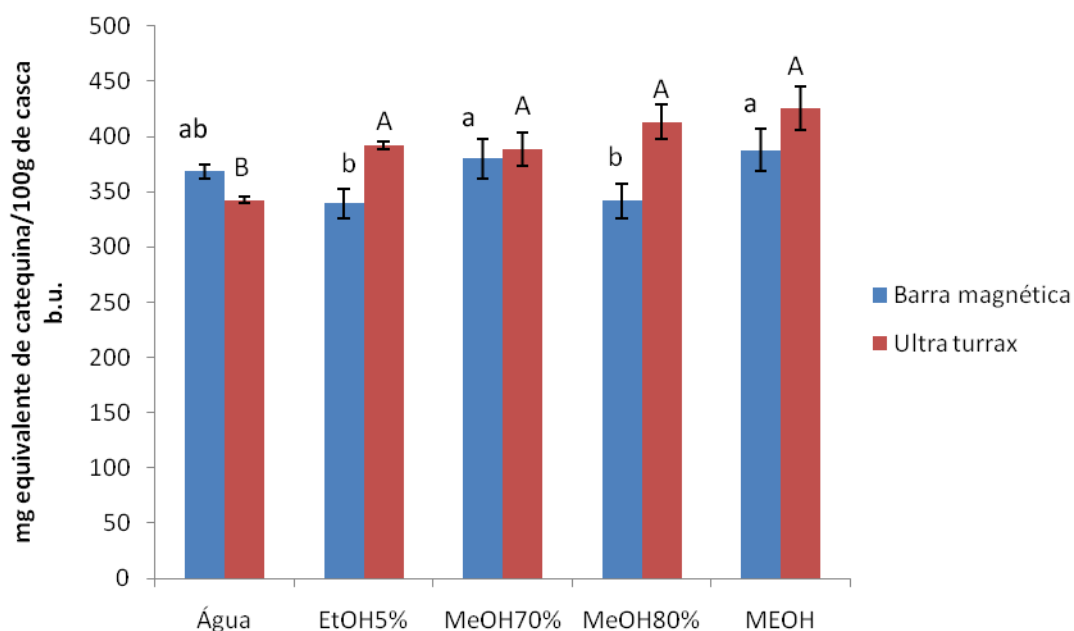


Figura 2 – Comparação da extração de compostos fenólicos da casca de laranja pêra em base úmida para barra magnética e ultra turrax em diferentes solventes. Letras diferentes entre colunas da mesma cor representam diferenças significativas entre as amostras ($p < 0,05$).

Nas extrações de compostos fenólicos da casca da laranja pêra (Figura 2), os valores obtidos por meio da barra magnética variaram de $339,53 \pm 13,56$ (EtOH5%) a $387,45 \pm 19,24$ (MeOH) mg equivalente de catequina/100g de casca de laranja em base úmida. Os maiores teores de compostos fenólicos foram extraídos em MeOH, MeOH70% e água, sem diferenças significativas entre estes solventes. Para a extração com ultra turrax, o teor de compostos fenólicos variou de $337,82 \pm 10,81$ (água) a $410,33 \pm 19,84$ (MeOH) sendo que apenas a água diferiu significativamente dos demais solventes apresentando a mais baixa extração.

Anagnostopolou et al. (2006) testaram a extração de compostos fenólicos de casca de laranja com três solventes (tolueno, diclorometano e metanol) e verificaram que as frações metanólicas apresentaram os maiores

teores de compostos fenólicos. Porém, ácidos fenólicos altamente polarizados não podem ser extraídos completamente com solventes orgânicos puros, e geralmente são recomendadas misturas álcool-água ou acetona-água, liberando os compostos de suas conjugações. Solventes menos polares (diclorometano, clorofórmio, hexano, benzeno) são adequados para a extração de compostos não polares (ceras, óleos, esteróis, clorofila) da matriz vegetal (STALIKAS, 2007). Ainda, segundo Pinelo (2004), a água não é considerada um bom solvente para compostos fenólicos. Os resultados apresentados para a extração de compostos fenólicos em polpa e casca da laranja estão de acordo com o descrito pela literatura.

A atividade antioxidante através do método DPPH também apresentou variações de acordo com cada método de extração e cada solvente utilizado, de acordo com as figuras 3 e 4.

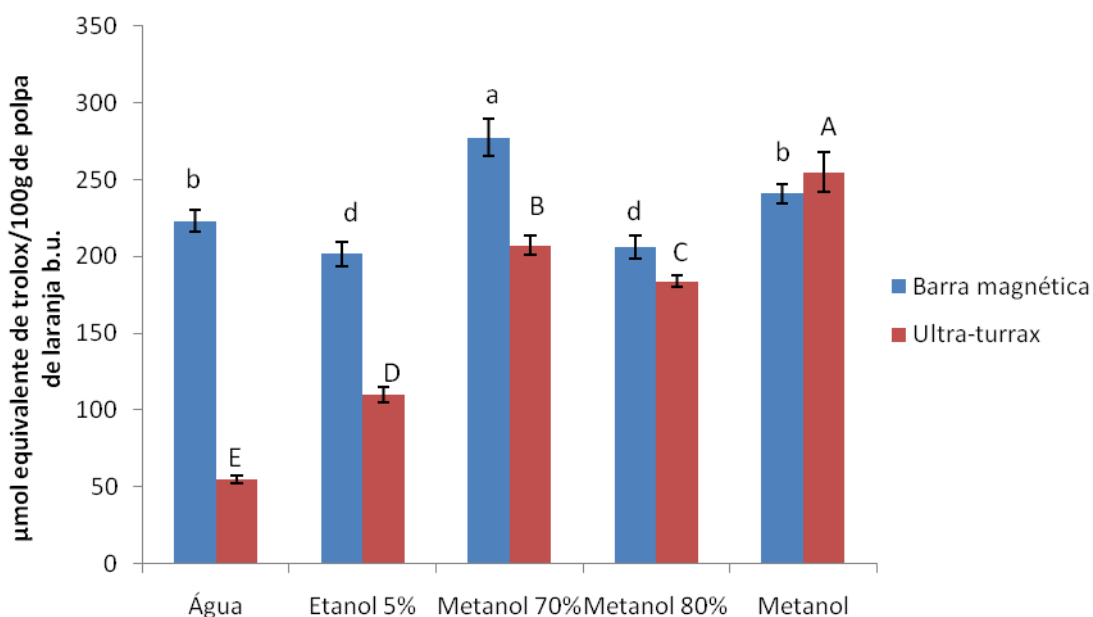


Figura 3 – Comparação da atividade antioxidante da polpa de laranja pêra em base úmida para barra magnética e Ultra turrax em diferentes solventes. Letras diferentes entre colunas da mesma cor representam diferenças significativas entre as amostras ($p < 0,05$).

Para a polpa da laranja pêra, a barra magnética obteve melhor extração que o ultra turrax na maioria dos solventes, e a melhor em MEOH70% ($277,48 \pm 11,92$), diferindo significativamente dos demais

solventes. O ultra turrax apresentou melhor extração em MeOH ($254,84 \pm 12,82$), diferindo significativamente dos demais solventes.

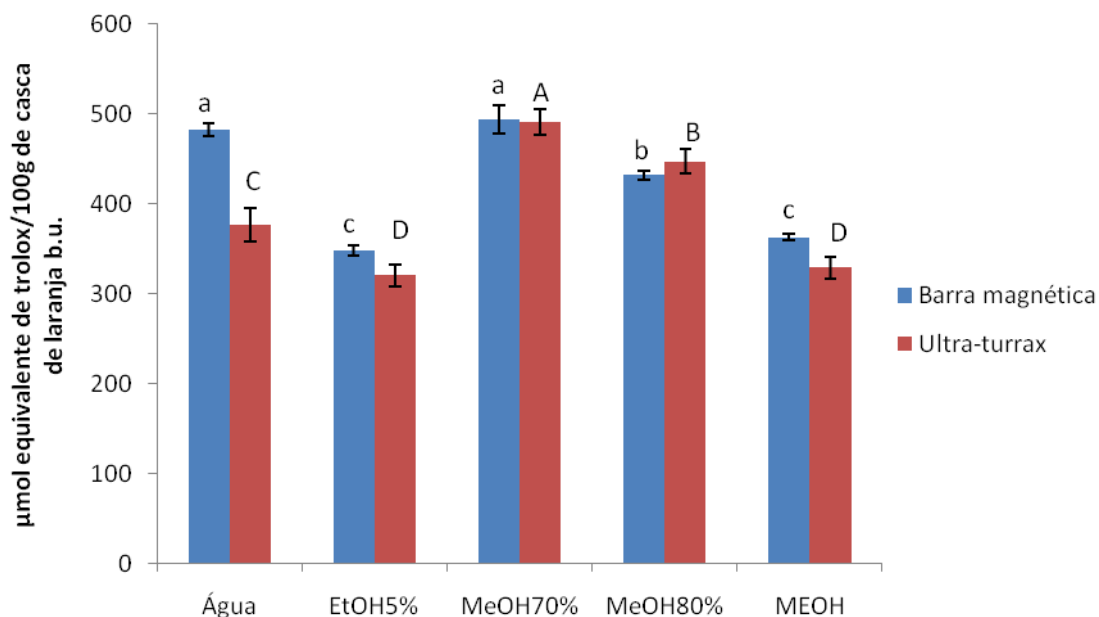


Figura 4 – Comparação da atividade antioxidante da casca de laranja pêra em base úmida para barra magnética e Ultra turrax em diferentes solventes. Letras diferentes entre colunas da mesma cor representam diferenças significativas entre as amostras ($p < 0,05$).

Segundo a figura 4, os melhores valores de atividade antioxidante da casca de laranja pêra através do DPPH, aparecem com os solventes MeOH 70% e água para a barra magnética, e com o MeOH 70% para o ultra turrax. Entretanto, não há diferenças entre as duas metodologias, se compararmos os valores de atividade antioxidante do MeOH 70%, $494,23 \pm 15,16$ e $491,29 \pm 14,78$ μmol equivalente de trolox/100g de casca de laranja b.u., para barra magnética e ultra turrax respectivamente.

De acordo com os gráficos 3 e 4, a metodologia da extração em barra magnética apresentou melhores resultados que o ultra turrax em quase todos os solventes. O solvente que apresentou melhores resultados em todas as análises da barra magnética foi o metanol 70%.

Pérez-Jiménez; Saura-Calixto (2006) ao estudar a influência de solventes em ensaios para apurar a capacidade antioxidante, verificaram que o método DPPH foi o ensaio que menos sofreu influência do solvente quando utilizado para análise um antioxidante conhecido. Portanto, a variação na capacidade antioxidante de extratos com diferentes solventes

pode ser atribuída a diferenças em sua própria composição química. A solubilidade de compostos bioativos é governada por sua natureza química na planta que pode variar de substâncias simples a altamente polimerizadas. Sabe-se que a atividade antioxidante mostrada pelos citros se deve a presença de diferentes compostos bioativos como flavonóides, carotenóides e ácido ascórbico (GORINSTEIN et al., 2004) e existe a possibilidade de interação de compostos fenólicos com outros componentes, tais como carboidratos e proteínas. Estas interações podem levar à formação de complexos que pode ser bastante insolúveis. Portanto, é muito difícil desenvolver um processo de extração adequado para a extração de todos os compostos fenólicos da planta.

Concluindo, o conteúdo de compostos fenólicos totais e da capacidade antioxidante da laranja é afetado pelos métodos aplicados, pelo tipo de solvente e sua concentração utilizada para sua extração. A barra magnética apresentou melhores resultados que o ultra turrax em relação à atividade antioxidante, e pode ser considerado um método mais simples, que possibilita a extração de vários extratos ao mesmo tempo. O ultra turrax é mais complexo, sendo feita uma extração por vez. Para a utilização da metodologia de extração por barra magnética, o solvente que apresentou melhores resultados foi o MeOH 70%. Lembrando que se a finalidade da extração dos compostos fenólicos for para aplicação em alimentos, o metanol é tóxico, devendo ser escolhido outro solvente.