

# RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)  
autor(a), o texto completo desta tese  
será disponibilizado somente a partir  
de 24/11/2019.

**Universidade Estadual Paulista  
"Júlio de Mesquita Filho"**

**Faculdade de Ciências Farmacêuticas**

**Perfil de compostos fenólicos do suco de  
laranja Pêra Rio orgânica**

**Estela Mesquita Diegues de Oliveira**

Dissertação apresentada ao  
Programa de Pós-graduação em  
Alimentos e Nutrição para obtenção  
o título de Mestre em Alimentos e  
Nutrição.

Área de concentração: Ciência dos  
Alimentos

Orientadora: Profa. Dra. Magali  
Monteiro da Silva

**Araraquara  
2017**

# **Perfil de compostos fenólicos do suco de laranja Pêra Rio orgânica**

**Estela Mesquita Diegues de Oliveira**

Dissertação apresentada ao  
Programa de Pós-graduação em  
Alimentos e Nutrição para obtenção  
o título de Mestre em Alimentos e  
Nutrição.

Área de concentração: Ciência dos  
Alimentos

Orientadora: Profa. Dra. Magali  
Monteiro da Silva

**Araraquara  
2017**

**Ficha Catalográfica**

Elaborada Por Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas  
UNESP – Campus de Araraquara

**O148p**

Oliveira, Estela Mesquita Diegues de  
Perfil de compostos fenólicos do suco de laranja Pêra Rio orgânica / Estela  
Mesquita Diegues de Oliveira. – Araraquara, 2017.  
34 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista. “Júlio de Mesquita  
Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em  
Alimentos e Nutrição. Área de Concentração: Ciências dos Alimentos.

Orientadora: Magali Monteiro da Silva.

1. Compostos fenólicos. 2. CLAE-DAD. 3. Validação. 4. Suco de laranja orgânica.  
5. Flavonoides. 6. Ácidos fenólicos. I. Silva, Magali Monteiro da, orient. II. Título.

Ficha catalográfica elaborada por Maria Irani Coito CRB-8/4.440

**CAPES: 50700006**



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Araraquara



**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: PERFIL DE COMPOSTOS FENÓLICOS DO SUCO DE LARANJA  
PÊRA RIO ORGÂNICA

**AUTORA: ESTELA MESQUITA DIEGUES DE OLIVEIRA**

**ORIENTADORA: MAGALI CONCEIÇÃO MONTEIRO DA SILVA**

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em ALIMENTOS E  
NUTRIÇÃO, área: CIÊNCIA DOS ALIMENTOS pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. MAGALI CONCEIÇÃO MONTEIRO DA SILVA  
Departamento de Alimentos e Nutrição / Faculdade de Ciências Farmacêuticas do Câmpus de Araraquara da  
UNESP

Profa. Dra. ADRIANA ZERLOTTI MERCADANTE  
Departamento de Ciências de Alimentos / Faculdade de Engenharia de Alimentos / UNICAMP / Campinas

Prof. Dr. ÁLVARO JOSÉ DOS SANTOS NETO  
Departamento de Química e Física Molecular, Instituto de Química do Câmpus de São Carlos da USP

Araraquara, 24 de novembro de 2017

## **AGRADECIMENTOS**

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

À Profa. Dra. Magali Monteiro pela orientação e dedicação a este trabalho, além de todos os ensinamentos e toda a contribuição à minha formação.

Ao Dr. Fábio Nascimento, da Waters Technologies, pela disponibilização do LC-MS e por todo o suporte oferecido, sem os quais não teria sido possível concluir este trabalho; à Dra. Marina Ansolin e ao Dr. Alexandre Gomes pelas análises.

Ao Prof. Dr. Rubens Monti e à Dra. Juliana Bassan pela disponibilização e colaboração na utilização do liofilizador para o preparo das amostras empregadas neste trabalho.

À pesquisadora Daniela Kharfan, da JBT Food Tech, pela ponte para o contato com os produtores de laranja orgânica.

Aos srs. Juca e Gabriel Bueno, da Fazenda da Toca, e ao sr. Luiz Fernando, da Delta Citrus, pelo fornecimento do suco de laranja Pêra-Rio orgânica.

À Profa. Dra. Thaís Borges Cesar pelo fornecimento de alguns dos padrões analíticos empregados no desenvolvimento deste trabalho.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo auxílio concedido (Processos nº 2013/10138-0 e 2014/23303-1).

À Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara - UNESP.

## **AGRADECIMENTOS PESSOAIS**

À equipe do Laboratório de Análise de Alimentos, em especial à Rafaela, Luiz e Maria Rita pelo apoio, pelo companheirismo, pela ajuda, e pela oportunidade de aprender ainda mais ensinando vocês.

À Lica, técnica de laboratório, professora e amiga, por todos os conhecimentos transmitidos, pela paciência, pelos conselhos e por ter me acolhido como um membro da família.

Aos amigos e colegas de profissão Fernanda, Jhohann, Flávia e José Fernando por todo o apoio, pelas discussões e contribuições, e pela força em todos os momentos.

Aos meus pais e irmãos por todo o apoio incondicional, pela confiança e por sempre acreditarem em mim.

Muito obrigada!

## RESUMO

**Objetivo:** O objetivo deste trabalho foi reunir informações sobre compostos fenólicos em citros, visando compreender suas características e propriedades, a fim de dar suporte ao desenvolvimento de método analítico para avaliar o perfil de compostos fenólicos do suco de laranja Pêra-Rio orgânica e convencional durante a safra de 2016. **Métodos:** As informações sobre os compostos fenólicos foram reunidas considerando sua biossíntese, características químicas e bioatividade, a técnica analítica mais utilizada para a sua determinação em alimentos, e os níveis dos principais compostos presentes em citros. O método analítico foi desenvolvido empregando a cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjo de diodos (CLAE-DAD). Para a validação foram avaliados os parâmetros curva de calibração, linearidade, precisão, exatidão, limite de detecção, limite de quantificação e robustez. O método validado foi utilizado para avaliar o perfil de compostos fenólicos do suco de laranja Pêra-Rio orgânica e convencional do início, meio e fim da safra de 2016. **Resultados:** Os compostos fenólicos mais importantes em citros são os flavonoides, com destaque para as flavanonas. As principais flavanonas de citros são a hesperidina, narirutina, naringina e neohesperidina, presentes em quantidades variadas no suco, na fruta e na casca. A determinação de compostos fenólicos é realizada empregando CLAE em fase reversa e modo gradiente, com o uso de detectores de arranjo de diodos (DAD) e espectrometria de massas (EM). Os estudos disponíveis na literatura avaliam apenas as flavanonas mais expressivas, sem considerar outros compostos fenólicos, o que torna necessária a realização de estudos que avaliem o perfil e os níveis destes compostos. A melhor condição de separação foi obtida utilizando coluna de fase reversa, fase móvel composta de água:ácido fórmico (99,9:0,1, v/v) e acetonitrila em modo gradiente. Os cromatogramas foram adquiridos em 255, 270 e 280 nm. O método apresentou linearidade, ampla faixa linear, boa precisão e exatidão, baixos limites de detecção e quantificação, e robustez, considerando 10 flavonoides e 6 ácidos fenólicos. As flavonas rutina, nobiletina e tangeretina, e as flavanonas hesperidina, narirutina e eriocitrina foram identificadas em todos os sucos orgânicos e convencionais, com sua identidade confirmada por espectrometria de massas, e quantificadas. Derivados de ácido cinâmico (7), flavanonas (6) e flavonas (6) foram tentativamente identificadas e quantificadas com base nos espectros DAD característicos da classe química. **Conclusão:** O perfil dos compostos fenólicos dos sucos de laranja Pêra-Rio mudou durante a safra; os níveis aumentaram nos sucos de laranja orgânica e diminuíram ou foram mantidos aproximadamente os mesmos em sucos de laranja convencional. Os níveis de compostos fenólicos foram mais elevados nos sucos orgânicos do que nos sucos convencionais. A análise de componentes principais mostrou que os sucos orgânicos foram caracterizados principalmente por níveis mais elevados de flavanonas e flavonas na safra de 2016.

**Palavras-chave:** Compostos fenólicos; CLAE-DAD; validação; suco de laranja orgânica; flavonoides; ácidos fenólicos.



## ABSTRACT

**Objective:** The aim of this work was to gather information about phenolic compounds in citrus, in order to understand their characteristics and properties, and to support the development of an analytical method to evaluate the phenolic compounds profile of organic and conventional Pêra-Rio orange juice from the 2016 harvest. **Methods:** Information on phenolic compounds was gathered considering their biosynthesis, chemical characteristics and bioactivity, the most used analytical technique for their determination in foods, and the levels of the main compounds present in citrus. The analytical method was developed using high performance liquid chromatography with a diode array detector (HPLC-DAD). For the validation, calibration curves, linearity, precision, accuracy, detection limit, quantification limit and ruggedness were evaluated. The validated method was used to evaluate the phenolic compounds profile of organic and conventional Pêra-Rio orange juice at the beginning, middle and end of the 2016 harvest. **Results:** The most important phenolic compounds in citrus are flavonoids from the flavanone class. The major citrus flavanones are hesperidin, narirutin, naringin and neohesperidin, present in varying amounts in juice, pulp and peel. The determination of phenolic compounds is performed employing HPLC in reversed phase and gradient mode, using diode array detectors (DAD) and mass spectrometry (MS). The studies available in the literature only evaluate the most expressive flavanones without considering other phenolic compounds, which makes it necessary to carry out studies that evaluate the profile and levels of these compounds. The best separation condition was obtained using a reversed phase column, mobile phase composed of water:formic acid (99.9:0.1, v/v) and acetonitrile in gradient mode. Chromatograms were acquired at 255, 270 and 280 nm. The method showed linearity, a wide linear range, good precision and accuracy, low limits of detection and quantification, and ruggedness for 10 flavonoids and 6 phenolic acids. Flavones rutin, nobiletin and tangeretin, and flavanones hesperidin, narirutin and eriocitrin were identified in all organic and conventional juices, with their identity confirmed by mass spectrometry, and quantified. Cinnamic acid derivatives (7), flavanones (6) and flavones (6) were tentatively identified and quantified based on the characteristic DAD spectra of the chemical class. **Conclusion:** The phenolic compounds profile of Pêra-Rio orange juice changed during the harvest; the levels increased in organic juices and decreased or were maintained approximately the same in conventional juices. The levels of phenolic compounds were higher in organic juices than in conventional juices. Principal component analysis showed that organic juices were characterized mainly by higher levels of flavanones and flavones in the 2016 harvest.

**Keywords:** Phenolic compounds; HPLC-DAD; validation; organic orange juice; flavonoids; phenolic acids.

## LISTA DE FIGURAS

### Capítulo 1. Compostos fenólicos em citros

<b>Figura 1.</b> Unidades básicas formadoras dos metabólitos secundários (18).	16
<b>Figura 2.</b> Estrutura básica dos ácidos fenólicos.	17
<b>Figura 3.</b> Estrutura básica dos flavonoides.	18
<b>Figura 4.</b> Classes dos flavonoides (22).	19
<b>Figura 5.</b> Principais agliconas e glicosídeos de citros (23).	20

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b>	v
<b>ABSTRACT</b>	vi
<b>LISTA DE FIGURAS</b>	vii
<b>INTRODUÇÃO</b>	9
<b>Capítulo 1. Compostos fenólicos em citros</b>	<b>11</b>
Resumo	12
1. Introdução	13
2. Suco de laranja	13
3. Sistema de cultivo orgânico	14
4. Compostos fenólicos	15
5. Flavonoides em citros	19
6. Propriedades dos compostos fenólicos	21
7. Análise de compostos fenólicos	21
8. Conclusões	23
9. Referências	24
<b>Capítulo 2. Simultaneous HPLC determination of flavonoids and phenolic acids profile in Pêra-Rio orange juice</b>	<b>30</b>
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	<b>32</b>
<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>33</b>

## INTRODUÇÃO

A laranja é a fruta mais produzida no Brasil, com cerca de 450 milhões de caixas (40,8 kg) em 2017. A maior parte da produção de laranja é direcionada ao processamento para a produção de suco NFC (*Not From Concentrate*, ou pasteurizado) e FCOJ (*Frozen Concentrated Orange Juice*, ou suco concentrado congelado), que são destinados à exportação. A produção total de suco de laranja foi de 1,01 milhões de toneladas em 2016; 921 mil toneladas só do estado de São Paulo. Em 2017 foram produzidas cerca de 848 mil toneladas de suco, 771 mil do estado de São Paulo (1,2,3).

A produção orgânica de citros representa 0,9% da produção total mundial; entre os citros, a laranja é a fruta mais cultivada e o suco de laranja é o principal produto (4,5). O Brasil é líder no mercado de produtos orgânicos na América Latina, que detém a maior área de cultivo orgânico do mundo (cerca de 15 mil ha). A agricultura orgânica está baseada nos princípios de sustentabilidade, viabilidade econômica e justiça social, integrando o homem ao meio ambiente (4,6).

Existe uma crescente preocupação do consumidor quanto à contaminação química dos alimentos, o que tem levado ao aumento da demanda de alimentos com apelo pelo saudável e pelo natural, de maior segurança e qualidade, que confirmam benefícios à saúde (6).

O consumo de suco de laranja vem sendo associado a benefícios relacionados à modulação do metabolismo humano e atividade antioxidante e antiinflamatória, que previnem o desenvolvimento de doenças crônico-degenerativas como o diabetes e o câncer, entre outras. O suco de laranja é

fonte de ácido ascórbico na dieta e também contém flavonoides e ácidos fenólicos, que previnem o estresse oxidativo ao nível celular (7,8).

Os compostos fenólicos do suco de laranja são influenciados pela variedade e estágio de maturação da fruta, pelas condições edafoclimáticas, pelo sistema de cultivo, pelo período pós-colheita e pelas condições de processamento (9,10,11). Os principais compostos fenólicos presentes em citros são flavonoides das classes das flavanonas e flavonas. Dentre as flavanonas, podem ser destacadas a hesperidina e a narirutina (12,13,14).

Apesar dos estudos sobre os compostos fenólicos de laranjas de diversas variedades (12,13,14), pouco se conhece sobre o perfil destes compostos. Ainda, não existem estudos disponíveis sobre a variedade Pêra-Rio, que tem grande importância por ser a principal variedade cultivada no Brasil e responsável por grande parte da exportação brasileira de suco de laranja. Laranjas da variedade Pêra-Rio são exclusivamente cultivadas no país e conferem características únicas ao suco de laranja brasileiro.

O objetivo deste trabalho foi reunir informações sobre compostos fenólicos em citros, visando compreender suas características e propriedades, a fim de dar suporte ao desenvolvimento de método analítico para avaliar o perfil de compostos fenólicos do suco de laranja Pêra-Rio orgânica e convencional, durante a safra de 2016.

# **Capítulo 1.**

## **Compostos fenólicos em citros**

## Compostos fenólicos em citros

Estela Mesquita Diegues de Oliveira  
Magali Monteiro

Departamento de Alimentos e Nutrição, Faculdade de Ciências Farmacêuticas  
– UNESP, 14800-903, Araraquara, SP, Brasil

### Resumo

O Brasil é o maior produtor mundial de laranja e de suco de laranja. A qualidade do suco de laranja está estreitamente relacionada à variedade e maturação da fruta, às condições de cultivo e condições edafoclimáticas, e às condições do processamento. O cultivo orgânico vem ganhando espaço no Brasil e no mundo, acompanhando a tendência de consumo de alimentos saudáveis que conferem benefícios à saúde. Dentre os citros, a laranja é a fruta mais produzida, e o suco de laranja orgânica é o principal suco de fruta orgânica produzido no mundo. O consumo de frutas cítricas e sucos vem sendo associado à redução do risco de doenças crônico-degenerativas, devido à presença de compostos fenólicos, que apresentam atividade antioxidante e antiinflamatória. Os ácidos fenólicos e flavonoides, sobretudo as flavanonas naringina, hesperidina, neohesperidina e naringina, são os principais compostos fenólicos de citros, presentes em quantidades variadas no suco, na fruta e na casca. A cromatografia líquida de alta eficiência é a técnica analítica mais largamente utilizada para a determinação de compostos fenólicos, com emprego de colunas de fase reversa e modo gradiente, detectores de arranjo de diodos e de espectrometria de massas. O espectro de absorção UV/Vis dos compostos é característico de cada classe e usualmente apresenta duas bandas de absorção.

**Palavras-chave:** compostos fenólicos; suco de laranja; agricultura orgânica; CLAE

## 1. Introdução

O Brasil é o maior produtor mundial de laranja, fazendo da citricultura um dos mais importantes setores do agronegócio brasileiro. O estado de São Paulo e o Triângulo Mineiro constituem o cinturão citrícola brasileiro, responsável por 113 mil ha de cultivo e mais da metade da produção nacional de laranja. A laranja doce, da espécie *Citrus sinensis* (L.) Osbeck, da variedade Pêra-Rio é a principal cultivada no país, seguida das variedades Valência, Natal, Hamlin, Westin e Rubi (1,2).

A produção de laranja da safra de 2015/2016 foi de 410 milhões de caixas, 351 milhões do estado de São Paulo, e em 2016/2017, foi de 446 milhões de caixas de laranja, 245 milhões do estado de São Paulo. Cerca de 85% da produção de laranja do país são destinados ao processamento, para a produção de suco (1,3).



## **8. Conclusões**

Os flavonoides e os ácidos fenólicos são os principais compostos fenólicos dos citros, com destaque para as flavanonas. As principais flavanonas de citros são hesperidina, narirutina, naringina e neohesperidina, presentes em quantidades variadas no suco, na fruta e na casca.

A cromatografia líquida de alta eficiência, em fase reversa e modo gradiente, é a técnica mais utilizada para a determinação de compostos

fenólicos, com a utilização de detectores de arranjo de diodos e espectrometria de massas. Os estudos disponíveis na literatura avaliam apenas as principais flavanonas de citros, sem considerar outros compostos fenólicos importantes, o que torna necessária a realização de estudos que avaliem o perfil e os níveis destes compostos.

## 9. Referências

- (1) Fundo de Defesa da Citricultura. Revista do citricultor. São Paulo: Fundecitrus; 2017. 15 p.
- (2) Neves MF, Trombin VG, Milan P, Lopes FF, Cressoni F, Kalaki R. O retrato da citricultura brasileira. São Paulo: Markestrat; 2010. 138 p.
- (3) United States Department of Agriculture. Brazil: Citrus annual. Florida: GAIN Report; 2016. 12 p.
- (4) Mastello RB, Janzantti NS, Monteiro M. Volatile and odoriferous compounds changes during frozen concentrated orange juice processing. Food Res Int. 2015; 77: 591-598.
- (5) Janzantti NS, Santos GC, Monteiro M. Shelf life of fresh and pasteurized organic passion fruit (*Passiflora edulis* F. *Flavicarpa* deg.) pulp. J Food Proces Preserv. 2012; 38(2014): 262-270.
- (6) Queiroz CE, Menezes HC. Suco de laranja. In: Bebidas não alcoólicas- Ciência e Tecnologia. São Paulo: Edgard Blücher, 2010. p. 243-265.
- (7) Macoris MS, De Marchi R, Janzantti NS, Monteiro M. The influence of ripening stage and cultivation system on the total antioxidant activity and total phenolic compounds of yellow passion fruit pulp. J Sci Food Agric. 2011; 92: 1886-1891.

- (8) Baldwin EA, Scott JW, Shewmaker CK, Schuch W. Flavor trivia and tomato aroma: biochemistry and possible mechanisms for control of important aroma components. Hort Science. 2000; 35(6): 1013-1022.
- (9) Conselho Brasileiro de Produção Orgânica e Sustentável. Consumo de produtos orgânicos no Brasil [Cited 2017 Sep 21] Available from: [https://www.organicnewsbrasil.com.br/wp-content/uploads/2017/06/Pesquisa-Consumo-de-Produtos-Org\\_\\_nicos-no-Brasil-Palestra-07Jun-1.pdf](https://www.organicnewsbrasil.com.br/wp-content/uploads/2017/06/Pesquisa-Consumo-de-Produtos-Org__nicos-no-Brasil-Palestra-07Jun-1.pdf)
- (10) Brasil Food Trends 2020. [Cited 2017 Sep 18] Available from: <http://www.brasilfoodtrends.com.br/publicacao.html>
- (11) International Federation of Organic Agriculture Movements. Organic Basics [Cited 2017 Sep 22] Available from: <https://www.ifoam.bio/en/our-library/organic-basics>
- (12) Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Orgânicos [Cited 2017 Sep 22] Available from: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/sustentabilidade/organicos>
- (13) Santos GC, Monteiro M. Sistema orgânico de produção de alimentos. Alim Nutr. 2004; 15(1): 73-86.
- (14) International Federation of Organic Agriculture Movements. Annual Report 2016. Cologne: IFOAM; 2016. 24 p.
- (15) International Federation of Organic Agriculture Movements. Annual Report 2015. Cologne: IFOAM; 2015. 24 p.
- (16) Food and Agriculture Organization of the United Nations. World markets for organic citrus and citrus juices. Rome: FAO; 2003. 30 p.
- (17) Simões CMO. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 3a ed. Florianópolis: UFSC; 2010. 883 p.

- (18) Dewick PM. Medicinal natural products: a biosynthetic approach. 2nd ed. West Sussex: John Wiley & Sons, Ltd; 2002. 514 p.
- (19) Shahidi F, Naczki M. Phenolics in foods and nutraceuticals. 3rd ed. Florida: CRC Press; 2006. 575 p.
- (20) Khan MK, Huma ZE, Dangles O. A comprehensive review on flavanones, the major citrus polyphenols. *J Food Compos Anal.* 2014; 33: 85-104.
- (21) Gattuso G, Barreca D, Gargiulli C, Leuzzi U, Caristi C. Flavonoid composition of citrus juices. *Molecules.* 2007; 12: 1641-1673.
- (22) Tripoli E, La Guardia M, Giammanco S, Di Majo D, Giammanco M. *Citrus* flavonoids: molecular structure, biological activity and nutritional properties: a review. *Food Chem.* 2007; 104: 466-479.
- (23) Peterson JJ, Dwyer JT, Beecher GR, Bhagwat AS, Gebhardt SE, Haytowitz DB et al. Flavanones in oranges, tangerines (mandarins), tangors, and tangelos: a compilation and review of the data from the analytical literature. *J Food Compos Anal.* 2006; 19: S66-S73.
- (24) Di Majo D, Giammanco M, La Guardia M, Tripoli E, Giammanco S, Finotti E. Flavanones in *Citrus* fruit: structure-antioxidant activity relationships. *Food Res Int.* 2005; 38: 1161-1166.
- (25) Barreca D, Gattuso G, Bellocco E, Calderaro A, Trombetta D, Smeriglio A et al. Flavanones: citrus phytochemical with health-promoting properties. *BioFactors.* 2017; 43(4): 495-506.
- (26) Zou Z, Xi W, Hu Y, Nie C, Zhou Z. Antioxidant activity of *Citrus* fruits. *Food Chem.* 2016; 196: 885-896.

- (27) Coutinho MAS, Muzitano MF, Costa SS. Flavonoides: potenciais agentes terapêuticos para o processo inflamatório. *Rev Virtual Quim.* 2009; 1(3): 241-256.
- (28) Nijveldt RJ, Van Nood R, Van Hoorn DEC, Boelens PG, Van Norren K, Van Leeuwen PAM. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am J Clin Nutr.* 2001; 74: 418-425.
- (29) Apetekmann NP, Cesar TB. Long-term orange juice consumption is associated with low LDL-cholesterol and apolipoprotein B in normal and moderately hypercholesterolemic subjects. *Lipids Health Dis.* 2013; 12(119): 1-10.
- (30) Medina-Remón A, Estruch R, Tresserra-Rimbau A, Vallverdú-Queralt A, Lamuela-Raventós R. The effect of polyphenol consumption on blood pressure. *Mini Rev Med Chem.* 2013; 13: 1137-1149.
- (31) Lima CG, Basile LG, Silveira JQ, Cesar TB. Ingestão regular de suco de laranja vermelha reduz pressão arterial de adultos. *J Health Sci Inst.* 2012; 30: 50-63.
- (32) Roza JM, Xian-Liu Z, Guthrie N. Effect of citrus flavonoids and tocotrienols on serum cholesterol levels in hypercholesterolemic subjects. *Altern Ther Health Med.* 2007; 13(6):.44-48.
- (33) Barreca D, Bellocco E, Caristi C, Leuzzi U, Gattuso G. Distribution of C- and O-glycosyl flavonoids, (3-hydroxy-3-methylglutaryl)glycosyl flavanones and furocoumarins in *Citrus aurantium* L. juice. *Food Chem.* 2011; 124: 576-582.
- (34) Rapisarda P, Carollo G, Fallico B, Tomaselli F, Maccarone E. Hydroxycinnamic acids as markers of italian blood orange juices. *J Agric Food Chem.* 46: 464-470.

(35) Rapisarda P, Tomaino A, Lo Cascio R, Bonina F, De Pasquale A, Saija A. Antioxidant effectiveness as influenced by phenolic content of fresh orange juices. *J Agric Food Chem.* 1999; 47: 4718-4723.

(36) Gil-Izquierdo A, Gil MI, Ferreres F, Tomás-Barberán FA. In vitro availability of flavonoids and other phenolics in orange. *J Agric Food Chem.* 2001; 49: 1035-1041.