

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 28/01/2021.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”**

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE ARARAQUARA

LIDIANE PATRICIA DE ANDRADE

**EXTRAÇÃO E BIOTRANSFORMAÇÃO DE FLAVONOIDES A PARTIR
DE RESÍDUO DE INDÚSTRIA CÍTRICA**

Araraquara-SP

2019

LIDIANE PATRICIA DE ANDRADE

**EXTRAÇÃO E BIOTRANSFORMAÇÃO DE FLAVONOIDES A PARTIR
DE RESÍDUO DE INDÚSTRIA CÍTRICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas como requisito necessário à obtenção do título de Mestre em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos

Área de Concentração: Biomateriais e Bioprocessos

Orientador: Prof. Dr Guilherme Peixoto
Coorientadora: Profa. Dra. Juliana Cristina Bassan

Araraquara-SP
2019

Ficha Catalográfica

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

A553e Andrade, Lidianie Patricia de.
Extração e biotransformação de flavonoides a partir de resíduo de indústria cítrica / Lidianie Patricia de Andrade. – Araraquara, 2019.
74 f. : il.

Dissertação (Mestrado Profissional) – Universidade Estadual Paulista. “Júlio de Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós- Graduação em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos. Área de Concentração: Biomateriais e Bioprocessos.

Orientador: Guilherme Peixoto.
Coorientadora: Juliana Cristina Bassan.

1. Flavanonas. 2. Hidrólise enzimática. 3. Atividade antioxidante. 4. Resíduos. I. Peixoto, Guilherme, orient. II. Bassan, Juliana Cristina, coorient. III. Título.

CAPES: 33004030170P0

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus que através das minhas crenças me proporcionou paz e serenidade para esta fase tão importante.

Ao meu querido marido João Bolzan Filho, com muita gratidão por todo o companheirismo, apoio e dedicação com que se prontificou a me ajudar por todo esse período.

Ao Prof. Dr. Guilherme Peixoto que foi orientador do meu trabalho, proporcionou verbas para que o mesmo fosse realizado.

A profa. Dra. Juliana Cristina Bassan, que me orientou no desenvolvimento deste trabalho com conhecimentos e informações que me permitiram compreender e desenvolver essa proposta.

Ao Prof. Dr. Rubens Monti pela disponibilização de equipamentos e do laboratório de enzimologia industrial onde foi realizado grande parte da pesquisa experimental.

Ao Prof. Dr. Fernando Masarin pela disponibilização de equipamentos para realização de parte das extrações.

Ao Departamento de Bioprocessos de Biotecnologia UNESP-FCFAR-DBB que me permitiu usar laboratórios e equipamentos para desenvolver a pesquisa.

Ao programa do Mestrado Profissional em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos pela oportunidade de fazer parte do conselho de Pós Graduação.

À Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal do Ensino Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Ao Programa de Apoio ao Desenvolvimento Científico (PADC-Súmula 245- Processo 23/2017).

RESUMO

ANDRADE.P.L. **Extração e biotransformação de flavonoides á partir de resíduo de indústria cítrica.** Dissertação (Mestrado em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Departamento Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos, Universidade Estadual Paulista (Unesp) Araraquara, 2019.

O Brasil foi considerado o maior produtor mundial de laranja, no qual a maior parte desta produção foi destinada para a produção de suco, classificando-o como maior produtor e exportador da bebida. Porém associado a alta produção de suco está o grande volume de resíduos orgânicos gerados que traz à indústria a preocupação com o aproveitamento e/ou descarte desse material. Atualmente grande parte dos resíduos é descartada em aterros e apenas uma parte é reaproveitada para ração animal e extração de pectina. Nesses resíduos descartados podem ser encontrados compostos de alto valor agregado, entre eles uma diversidade de compostos fenólicos, com destaque para os flavonoides. Bioquimicamente, esses fitoquímicos ocupam um papel significativo na dieta humana, pois são reconhecidos por apresentarem atividades biológicas como excelente capacidade antioxidante, atividade anticarcinogênica, anti-inflamatória, etc. Diante do exposto, o projeto teve como objetivo principal a valorização dos resíduos gerados pela indústria citrícola, visando sua biotransformação em produtos com valor agregado. Para que tal mudança de paradigma seja possível, esse projeto propôs a extração de flavonoides de resíduos do processamento de suco de laranja com foco nas flavanonas, naringina, hesperidina e naringenina. Na primeira etapa do projeto, foram realizadas extrações para obter um melhor método de extração de flavonoides e os resultados apresentados demonstram que a extração utilizando o tratamento trituração água apresentou melhor rendimento (0,26g/L) para flavanonas totais considerando o resíduo casca, para o resíduo “frit”, o tratamento alcoólico apresentou maiores rendimentos 26% maior comparado ao tratamento água. Nas análises realizadas em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), considerando a somatória do rendimento dos compostos de interesse para a hidrólise (naringina, narirutina e hesperidina), o tratamento alcoólico apresentou o maior rendimento 1,02 g/L, seguido do tratamento Trituração água com rendimento de 0,25 g/L e o tratamento prensagem que apresentou um rendimento de 0,19 g/L. A partir desse resultado, esses tratamentos foram usados para o processo de biotransformação pela enzima naringinase, onde conseguimos demonstrar que após a hidrólise houve a liberação de flavanonas não glicosiladas, naringenina e heperetina que contribuíram significativamente para o aumento da capacidade antioxidante, com um aumento de 8% para o tratamento trituração água e 19% para a prensagem considerando o resíduo casca e 1% e 16% para o resíduo “frit” respectivamente. Dessa forma podemos concluir que os métodos de extração além de influenciarem na eficiência de extração das flavanonas, também interferem na conversão enzimática das formas glicosiladas para as formas não glicosiladas e que a escolha do método de extração deve levar em consideração o produto pretendido e a viabilidade técnica e econômica.

Palavras- Chave: Flavanonas. Hidrólise enzimática. Atividade antioxidante. Resíduos.

ABSTRACT

ANDRADE.P.L. **Extraction and biotransformation of flavonoids from the chemical of citrus industry.** Dissertation (Master in Biomaterials and Bioprocess Engineering) - School of Pharmaceutical Sciences, Araraquara, Department of Biomaterials and Bioprocesses, São Paulo State University (Unesp), Araraquara, 2019.

Brazil was considered the world's largest orange producer, in which most of this production was destined for juice production, ranking it as the largest producer and exporter of the beverage. However associated to the high production of juice is the large volume of organic waste generated that brings to the industry the concern with the use and / or disposal of this material. Currently much of the waste is discarded in landfills and only part is reused for animal feed and pectin extraction. In these discarded residues can be found compounds of high added value, among them a diversity of phenolic compounds, especially the flavonoids. Biochemically, these phytochemicals play a significant role in the human diet, as they are recognized for their biological activities as excellent antioxidant capacity, anticarcinogenic, anti-inflammatory activity, etc. In view of the above, the main objective of the project was the valorization of the waste generated by the citrus industry, aiming at its biotransformation in products with added value. In order to make such a paradigm shift possible, this project proposed the extraction of flavonoids from processing residues of orange juice with focus on flavanones, naringin, hesperidin and naringenin. In the first stage of the project, extractions were carried out to obtain a better flavonoid extraction method and the results showed that the extraction using the water grinding treatment presented a better yield (0.26 g / L) for total flavanones considering the shell residue, for the "frit" residue (bark fragment) presented higher yields 26% higher compared to the water treatment, however, ethanol acted as an inhibitor of the naringinase enzyme. In the analyzes performed in High Performance Liquid Chromatography (HPLC), considering the sum of the yield of the compounds of interest for the hydrolysis (naringin, narirutine and hesperidin), the alcohol treatment had the highest yield 1.02 g / L, followed by the treatment Water grinding at 0.25 g / L yield and the press treatment yielded a yield of 0.19 g / L. From this result, these treatments were used for the biotransformation process by the enzyme naringinase, where we were able to demonstrate that after the hydrolysis there was the release of non-glycosylated flavanones, naringenin and heperetin that contributed significantly to the increase of the antioxidant capacity, with an increase of 8% for the treatment crushing water and 19% for the pressing considering the residues peel and 1% and 16% for the "frit" residue (shell fragment) respectively. In this way we can conclude that the extraction methods besides influencing the extraction efficiency of flavanones also interfere in the enzymatic conversion of the glycosylated forms to the non-glycosylated forms and that the choice of the extraction method must take into account the desired product and the viability technical and economic.

Key words: Flavanones. Enzymatic hydrolysis. Antioxidant activity. Residues.

Lista de figuras

Figura 1. Morfologia da laranja	14
Figura 2. Distribuição da área plantada por variedade e quantidade de árvores.....	16
Figura 3. Laranjas: Área de pomares em formação e adultos por região (Hectares).16	
Figura 4. Fluxograma simplificado do processo de produção de suco de laranja em indústria cítrica.....	18
Figura 5. Estrutura básica dos flavonoides.....	19
Figura 6. Estrutura química dos flavonoides e flavanonas.	21
Figura 7. Medicamentos comerciais que contem Hesperidina.	25
Figura 8. Reação e transformação por meio da Hidrólise da naringina pela enzima naringinase	31
Figura 9. Extratoras: Centro de Tecnologia de Pesquisa para Processamento de Frutas e Vegetais <i>Jhon Bean Technologies</i> (JBT).....	33
Figura 10. Amostras dos resíduos gerados pela extratora de copos modelo JBT e utilizadas no projeto.....	33
Figura 11. Fluxograma genérico de processamento de citros.	35
Figura 12. Mecanismo de determinação de atividade antioxidante. Estabilização do radical ABTS•+ por um antioxidante e sua formação pelo persulfato de potássio....	40
Figura 13. Reação da atividade antioxidante utilizando o método ABTS	40
Figura 14. Perfil colorimétrico para açúcares totais redutores (DNS).....	41
Figura 15. Perfil colorimétrico de fenólicos totais e flavanonas totais. <i>Análise dos resultados dos fenólicos totais</i>	43
Figura 16. Perfil colorimétrico de fenólicos totais e flavanonas totais. <i>Análise dos resultados das flavanonas totais</i>	44
Figura 17. Consolidado perfil colorimétrico Flavanonas totais.....	45
Figura 18. Perfil cromatográfico para Curva Padrão.....	47
Figura 19. Cromatograma da amostra de resíduo laranja Pera Rio	47
Figura 20. Teores de flavanonas glicosiladas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). Pré- hidrólise.....	48
Figura 21. Tratamentos selecionados para etapa de hidrólise enzimática	50
Figura 22. Teores de flavanonas glicosiladas naringina, naringina e hesperidina após modificação pela naringinase nos tempos de 1 e 3 horas. <i>Resíduo casca</i>	51
Figura 23. Teores de flavanonas glicosiladas naringina, naringina e hesperidina após modificação pela naringinase nos tempos de 1 e 3 horas. <i>Resíduo "Frit"</i>	52
Figura 24. Capacidade antioxidante dos extratos antes e após modificação enzimática.	55

Lista de tabelas

Tabela 1. Tipos de Laranja Doce: Distribuição das árvores de laranja produtivas e não produtivas.....	15
Tabela 2. Valor médio dos teores de hesperidina e naringina encontrados em sucos de laranja.....	20
Tabela 3. Exportações da cadeia produtiva Brasileira - Medicamentos e Insumos..	27
Tabela 4. Capacidade antioxidante dos extratos antes e após modificação enzimática. Análise estatística entre os tempos pré-hidrolise, 1 e 3 horas.....	55
Tabela 5. Rendimento/tonelada e estimativa para a obtenção de prunina, com valor de compra aplicado ao mercado atual.....	57
Tabela 6. Rendimento/tonelada e estimativa para a hesperidina considerando o valor de compra aplicado no mercado atual.....	58
Tabela 7. Rendimento/tonelada e estimativa para a naringina considerando o valor de compra aplicado no mercado atual.....	59

Lista de quadros

Quadro 1. Composição da laranja	13
Quadro 2. Importantes propriedades biológicas de compostos bioativos presentes em resíduos cítricos.....	23
Quadro 3. Estudos sobre a aplicação farmacológica das flavanonas hesperidina e naringina.....	24
Quadro 4. Diferentes métodos aplicados para a extração de flavonoides.....	36

Sumário

RESUMO
ABSTRACT
LISTA DE FIGURAS
LISTA DE TABELAS
LISTA DE QUADROS

1. INTRODUÇÃO E REVISÃO BIBLIOGRAFICA	11
1.1. Os Cítricos	12
1.2. Composição Química e morfológica da laranja	13
1.3. Variedades de Laranjas doce produzidas no Brasil.....	14
1.4. Laranja doce (<i>Citrus Sinensis</i>): Variedade Pera Rio	16
1.5. Geração de Resíduos Cítricos e Impactos Ambientais	17
1.6. Flavonoides	18
1.6.1. Naringina.....	19
1.6.2. Hesperidina	20
1.7. Bioatividade dos flavonoides e sua aplicação nas Indústrias Farmacêutica e Alimentícia.....	22
1.7.1. Aplicações no Mercado Farmacêutico	25
1.8. Extração de Compostos fenólicos	27
1.9. Biotransformação de substâncias por enzimas.....	29
1.9.1. Enzima Naringinase	30
2. OBJETIVOS	32
2.1. Objetivo Geral.....	32
2.2. Objetivos Específicos	32
3. MATERIAL E MÉTODOS	33
3.1. Material.....	33
3.2. FLUXOGRAMA EXPERIMENTAL	34
3.3. Métodos de extração dos flavonoides	35
3.4. Determinação dos flavonoides.....	36
3.4.1. Determinação dos compostos fenólicos totais pelo método de <i>Folin-Ciocalteu</i> ..	37
3.4.2. Determinação de flavanonas pelo método de Davis	37

3.4.3.	Determinação de açúcares redutores totais.....	37
3.4.4.	Determinação do perfil de flavonoides por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência- CLAE.....	37
3.5.	Biotransformação dos flavonoides: Hidrólise Enzimática das Flavanonas e atividade enzimática.....	38
3.5.1.	Modificação enzimática das flavanonas naringina, narirutina e hesperidina.	39
3.6.	Atividade Antioxidante	39
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
4.1.	Extração de compostos fenólicos e caracterização dos extratos obtidos a partir dos resíduos cítricos da Variedade Pera Rio Meia Estação – Safra 2018.....	41
4.1.1.	Determinação de açúcares redutores totais para os resíduos casca, <i>frit</i> e bagaço.	41
4.1.2.	Determinação de fenólicos totais para os resíduos casca, <i>frit</i> e bagaço.	42
4.1.3.	Determinação de flavanonas totais para os resíduos casca, <i>frit</i> e bagaço.	44
4.2.	Determinação da concentração de flavanonas glicosiladas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) - Seleção dos resíduos.....	46
4.2.1.	Determinação da concentração de flavanonas glicosiladas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) Pré da hidrólise.....	47
4.3.	Biotransformação de substâncias por enzimas: Hidrólise Enzimática.....	49
4.3.1.	Concentração de flavanonas glicosiladas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) após hidrólise enzimática.	50
4.4.	Determinação da atividade antioxidante dos extratos antes e após modificação enzimática.....	54
4.5.	Rendimento dos produtos por tonelada de laranja processada <i>versus</i> valor estimado de mercado.....	56
5.	CONCLUSÃO	60
6.	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	61
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	62
 ANEXO 1		
ANEXO 2		

6. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Foi possível identificar algumas sugestões para trabalhos futuros, tais como:

- Testes utilizando o resíduo (casca) da indústria utilizado no processo de trituração e prensagem para extração de D-limoneno.
- Realização da hidrólise enzimática utilizando nitrogênio para inativação da enzima evitando o uso de aquecimento.
- Viabilidades para tratamento de purificação dos compostos obtidos através da reação enzimática.
- Realização de testes de bioatividade *in vitro*, em animais e humanos.
- Viabilização de produção em maiores escalas, análise de custo do produto final, fornecedores, potencial de mercado.
- Aplicação do extrato como enriquecimento nutricional do suco como uma alternativa para aplicação imediata desses extratos pela indústria seria a aplicação no suco aumentando seu valor nutricional devido o aumento da capacidade antioxidante.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AWAN, A. T. A. J. **Orange bagasse as biomass for 2g-ethanol production bagaço de laranja como biomassa para produção de etanol-2g**. Thesis (Doctorate in Organic Chemistry) 2013. - Institute of Chemistry, University of Campinas, 2013. p. 157.

BAMPIDIS, V. A.; ROBINSON, P. H. Citrus by-products as ruminant feeds: A review. **Animal Feed Science and Technology**, v. 128, n. 3–4, p. 175–217, 2006.

BEHLING, E. B. *et al.* Flavonóide Quercetina : Aspectos Gerais e Ações Biológicas. **Alimentos e Nutrição**, v. 15, n. 3, p. 285–292, 2004.

CACCAMESE, S.; CHILLEMI, R. Racemization at C-2 of naringin in pummelo (*Citrus grandis*) with increasing maturity determined by chiral high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 7, p. 1089–1093, 2010.

CHEIGH, C. I.; CHUNG, E. Y.; CHUNG, M. S. Enhanced extraction of flavanones hesperidin and narirutin from Citrus unshiu peel using subcritical water. **Journal of Food Engineering**, v. 110, n. 3, p. 472–477, 2012.

CITRUS BR. **Compromisso de transparência**. São Paulo: Associação Nacional dos Exportadores de Suco Cítricos, 2016. Disponível em: <<http://www.citrusbr.com/safras/>>. Acesso em: 25 jun. 2017.

CYPRIANO, D. Z. *et al.* A Biomassa da Laranja e seus Subprodutos. **Revista Virtual de Química**, v. 9, n. 1, p. 176–191, 2017.

DAVIS, P. L. A Rapid Procedure for Extraction of Naringin From Grapefruit Rind Sections12. **Proceedings of the Floriada state horticultural society**, v. 79, p. 325–326, 1966. Disponível em: <<http://journals.fcla.edu/fshs/article/view/100436/96391>>.

DAVIS, W. B. Determination of Flavanones in Citrus Fruits. **Analytical Chemistry**, v. 19, n. 7, p. 476–478, 1947.

DESIDERIO, C.; ROSSI, A. de; SINIBALDI, M. Analysis of flavanone-7-O-glycosides in citrus juices by short-end capillary electrochromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1081, n. 1 SPEC. ISS., p. 99–104, 2005.

DONADIO, L. C. Laranja pêra. Jaboticabal: Funep, 1999. 51 p.(Boletim Citrícola, n. 11).Disponível em: <http://www.estacaoexperimental.com.br/documentos/BC_11.pdf>.

DORNELLES, C. M. M.. **características-botânicas**. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/afeira/materias-primas/frutas/laranja/caracteristicas-botanicas>>. Acesso em: 1 out. 2018.

EL-NAWAWI, S. A. Extraction of citrus glucosides. **Carbohydrate Polymers**, v. 27, n. 1, p. 1–4, 1995.

EMBRAPA. **Sistema de Produção de Citros para o Nordeste**. Disponível em: <<https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Citros/CitrosNordeste/clima.htm>>.

EMBRAPA. Fisiográfica Em 2013. p. 1–5, 2014.

ESCOBAR, M. **Extracción de compuestos fenólicos de las cáscaras de cítricos producidos en México..** 2010. Tesis (Maestria en Ciencias en Alimentos)- La Escuela Nacional de Ciencias Biologicas- Instituto Politecnico Nacional, Ciudad de Mexico, México., 2010.

FUNDECITRUS. **Inventario de Arvores e estimativa de safra de 2018/2019 laranja do cinturão citrícola de São Paulo e Triângulo/Sudoeste Mineiro**. Araraquara, SP: Fundo de Defesa da Citricultura, 2018. 144 p. Disponível em: https://www.fundecitrus.com.br/pdf/pes_relatorios/2018_05_21_Invent%C3%A1rio_e_Estimativa_do_Cinturao_Citricola_2018-20191.pdf

HABELT, K.; PITTLNER, F. A rapid method for the determination of naringin, prunin, and naringenin applied to the assay of naringinase. **Analytical Biochemistry**, v. 134, n. 2, p. 393–397, 1983.

HAVSTEEN, B. H. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 96, n. 2-3, p 67-202, 2002. Disponível em: ,<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S016372580200298X?via%3Dihub>>.

HUNLUN, C. *et al.* Characterisation of the flavonoid composition and total antioxidant capacity of juice from different citrus varieties from the Western Cape region. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 62, September, p. 115–125, 2017. Disponível

em: <<https://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2017.04.018>>.

JUSTESEN, U.; KNUTHSEN, P.; LETH, T. Determination of plant polyphenols in Danish foodstuffs by HPLC-UV and LC-MS detection. **Cancer Letters**, v. 114, n. 1–2, p. 165–167, 1997.

KHAN, M. K.; ZILL-E-HUMA; DANGLES, O. A comprehensive review on flavanones, the major citrus polyphenols. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 33, n. 1, p. 85–104, 2014.

KHARFAN, D. **Proposta de método para avaliação do processo de extração de sucos cítricos**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de produção) Universidade Federal de São Carlos, 2011.

SILVA, L. C.R.C. **Desenvolvimento de estratégias analíticas para determinação de flavanonas e psoraleno por clae-dad em sucos de laranjas de diferentes procedências**. Tese (Doutorado em Química) Universidade Federal da Bahia, 2009.

MARQUES LINS, E. *et al.* Perfil epidemiológico de pacientes submetidos a tratamento cirúrgico de varizes de membros inferiores Epidemiologic profile of the patients underwent varicose vein surgery of the lower limbs. **Jornal Vascular Brasileiro**, v. 11, n. 4, p. 301–304, 2007.

MILLER, G. L. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31, n. 3, p. 426–428, 1959.

MULVIHILL, E. E.; BURKE, A. C.; HUFF, M. W. Citrus Flavonoids as Regulators of Lipoprotein Metabolism and Atherosclerosis. **Annual Review of Nutrition**, v. 36, n. 1, p. 275–299, 2016.

NEVES, M. F. (Coord.) *et al.* **O retrato da citricultura brasileira**. São Paulo: MARKESTRAT, 2010. 138 p.

OLIVEIRA, K. B.; OLIVEIRA, B. H. Obtenção De Substâncias Bioativas Através Da Biotransformação De Produtos Naturais. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 9, n. 1, p. 89–99, 2012.

OLIVEIRA, V. B. *et al.* Efeito de diferentes técnicas extrativas no rendimento, atividade antioxidante, doseamentos totais e no perfil por clae-dad de Dicksonia

sellowiana (Presl.). Hook, dicksoniaceae. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, v. 18, n. 1, p. 230–239, 2016.

POURBAFRANI, M. *et al.* Production of biofuels, limonene and pectin from citrus wastes. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 11, p. 4246–4250, 2010.

PURI, M. *et al.* Immobilized enzyme technology for debittering citrus fruit juices. In: BUSTO, M. D.; ORTEGA, N. (ed), **Food enzymes** : application of new technologies. Kerala, India:Transworld Research Network, 2008. p.91-103.

PURI, M. *et al.* Molecular characterization and enzymatic hydrolysis of naringin extracted from kinnow peel waste. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 48, n. 1, p. 58–62, 2011.

QUINTERO, A. *et al.* Constituents and biological activity of Citrus aurantium amara L. essential oil. **Acta Horticulturae**, v. 597, April, p. 115–117, 2004.

RAJENDRAN, P. *et al.* Antioxidants and human diseases. **Clinica Chimica Acta**, v. 436, p. 332–347, 2014.

RUFINO, M. DO S. M. *et al.* Metodologia Científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. **Comunicado Técnico Online**, Fortaleza, CE., n. 127, p. 1–4, 2007. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPAT/10224/1/Cot_127.pdf>.

SAID, D. Insumos farmacutêicos. **Revista de Saude Publica**, v. 40, n. 2, p. 359–360, 2006.

SANTOS, C. M. *et al.* Application of orange peel waste in the production of solid biofuels and biosorbents. **Bioresource Technology**, v. 196, p. 469–479, 2015.

SHARMA, K. *et al.* Converting citrus wastes into value-added products: Economic and environmently friendly approaches. **Nutrition**, v. 34, p. 29–46, 2017.

SPAGOLLA, L. C. *et al.* Extração alcoólica de fenólicos e flavonóides totais de mirtilo “Rabbiteye” (*Vaccinium ashei*) e sua atividade antioxidante. **Revista de Ciencias Farmaceuticas Basica e Aplicada**, v. 30, n. 2, p. 187–191, 2009.

TRIPOLI, E. *et al.* Citrus flavonoids: Molecular structure, biological activity and

nutritional properties: A review. **Food Chemistry**, v. 104, n. 2, p. 466–479, 2007.

TURKMEN, N.; SARI, F.; VELIOGLU, Y. S. Effects of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and black mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and Folin-Ciocalteu methods. **Food Chemistry**, v. 99, n. 4, p. 835–841, 2006.

WANNMACHER, L. Interações de medicamentos com álcool: verdades e mitos. In: Organização Pan-Americana da Saúde, Brasil. **Uso Racional de Medicamentos: Temas Selecionados**. Brasília: OPAS, v. 4, n. 12, p. 1–6, 2007. Disponível em: <http://www.saudedireta.com.br/docsupload/1339892860v4n12_interacoes_medicamentosas.pdf>..