

Evaluación de extractos de desechos de toronja (*Citrus paradisi*) como sustancia bioactiva para formulación de un desinfectante para alimentos frescos

Adonis, Bello-Alarcón^{1*}; Meribary, Monsalve-Paredes²; Celeste, Carrillo-Tomalá³

Resumen

La búsqueda de antimicrobianos naturales que puedan ser utilizados como productos de desinfección de frutas y vegetales frescos es una necesidad de los consumidores y la industria de alimentos mínimamente procesados. En Ecuador, se utilizan productos con esta finalidad cuyas materias primas son importadas, por tal motivo se planteó evaluar una sustancia bioactiva a partir de los desechos de la producción nacional de toronja. Las semillas, el albedo (mesocarpio) y la cáscara (exocarpio) se sometieron a procesos de extracción por Soxhlet, utilizando etanol como disolvente. Para cada extracto se evaluó su actividad antimicrobiana por el método de difusión de Kirby-Bauer modificado (pozos) frente a diferentes patógenos: *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Rhizopus stolonifer*. Los extractos de albedo y cáscara presentaron actividad antibacteriana frente a *E. coli* y *S. aureus*, mientras que el extracto de semillas no mostró sensibilidad frente a ninguno de los microorganismos, a la concentración ensayada. A partir de estos resultados se prepararon diferentes mezclas de los extractos bioactivos manteniendo la actividad antibacteriana y logrando actividad antifúngica frente a *R. stolonifer*. Este último resultado fue superior al obtenido para la evaluación de un producto comercial con principio activo de semillas de toronja.

Palabras clave: toronja, *Citrus paradisi*, antimicrobiana

Evaluation of waste extracts of grapefruit (*Citrus paradisi*) as a bioactive substance for the formulation of a disinfectant for fresh foods

Abstract

The search for natural antimicrobials that can be used as disinfection products for fresh fruits and vegetables is a necessity for consumers and the minimally processed food industry. In Ecuador, products are used for this purpose whose raw materials are imported, for this reason it was proposed to evaluate a bioactive substance from the waste of the national grapefruit production. The seeds, albedo (mesocarp) and peel (exocarp) were subjected to extraction processes by Soxhlet, using ethanol as solvent. For each extract, its antimicrobial activity was evaluated by the modified Kirby-Bauer diffusion method (wells) against different pathogens: *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Rhizopus stolonifer*. The albedo and shell extracts showed antibacterial activity against *E. coli* and *S. aureus*, while the seed extract showed no sensitivity against any of the micro-organisms, at the concentration tested. Based on these results, different mixtures of the bioactive extracts were prepared, maintaining antibacterial activity and achieving antifungal activity against *R. stolonifer*. The latter result was superior to that obtained for the evaluation of a commercial product with grapefruit seed active ingredient.

Key word: grapefruit, *Citrus paradisi*, antimicrobial

Recibido: 15 de noviembre de 2019

Aceptado: 06 de abril de 2020

¹ Dr. Ciencias Farmacéuticas; Docente en la Universidad de Guayaquil, Ecuador; adonis.belloa@ug.edu.ec; <https://orcid.org/0000-0001-7664-4484>

² Dra. Química de Polímeros; Docente en la Universidad de Guayaquil, Ecuador; meribary.monsalvep@ug.edu.ec; <https://orcid.org/0000-0002-4883-806X>

³ Química Farmacéutica; Docente de la Universidad de Guayaquil, Ecuador; celeste.carrillot@ug.edu.ec; <https://orcid.org/0000-0002-4864-4329>

*Autor para correspondencia: adonis.belloa@ug.edu.ec

I. INTRODUCCIÓN

Las frutas cítricas no solo son una rica fuente de vitamina C, sino que también son abundantes en nutrientes como fibra dietética, azúcares y minerales, responsables del alto valor nutricional (Zema et al., 2018). Por otro lado, los metabolitos secundarios como flavonoides, limonoides, ácidos orgánicos y cumarinas identificados en estas frutas, poseen varios beneficios para la salud, como por ejemplo: efecto diurético (Ng et al., 2015) y actividad antioxidante (Cristóbal-Luna, Álvarez-González, Madrigal-Bujaidar, & Chamorro-Cevallos, 2018), anticancerígena, neuroprotectora (Wei-Lun, Hyuk & Wang, 2017) y antiinflamatoria (Ganzer, Aberham, & Stuppner, 2006).

La toronja (*Citrus paradisi*) es la tercera fruta cítrica que más se cultiva en todo el mundo después de la naranja y la mandarina (USDA, 2016). El fruto se consume fresco o procesado; aunque el consumo de su jugo industrializado ha aumentado en los últimos años (Aadil, Xin-An, Zhong and Da-Wen, 2013). El rendimiento del jugo es menos de la mitad del peso de la fruta lo que genera un alto volumen de desechos (Galanakis, 2012; Garcia-Castello Rodriguez-Lopez, Mayor, Ballesteros, Conidi & Cassano, 2015).

En Ecuador, la producción anual de Toronja supera las 5000 toneladas y no existe una política generalizada de aprovechamiento de los residuales a pesar que se conoce la actividad antimicrobiana informada para diferentes partes del fruto (Badawy & Abdelgaleil, 2014). Por tanto, considerando que los antimicrobianos naturales se han utilizado como conservantes en diferentes productos alimenticios (Roller y Seedhar, 2002) el objetivo de esta investigación es evaluar el potencial antimicrobiano de extractos etanólicos obtenidos a partir de los desechos de la producción industrial de jugo de toronja cultivada en el país.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

El material vegetal (cáscaras, albedo y semillas) fue recolectado en diferentes locales de ventas de jugos de frutas ubicados en la ciudad de Guayaquil, de la provincia del Guayas. Los desechos fueron clasificados, lavados y separados manualmente. Cada una de las partes se secó en estufa VWR Scientific 350 GM a 40°C hasta peso constante. Posteriormente se pulverizaron por separado con empleo de un molino marca IKA-MF10 y se conservados en bolsas de polietileno a

temperatura ambiente

Extracción

La extracción se realizó en equipo Soxhlet con etanol al 95 % como disolvente. En cada dedal se pesaron 50 gramos de cada una de las partes y el proceso fue continuo por 7 horas. Los extractos obtenidos se filtraron con papel de filtro y posteriormente se rotaevaporaron (IKA RV8) a temperatura controlada y presión de vacío. Cada extracto fue conservado en un recipiente ámbar hasta el momento de su utilización. Para la determinación del rendimiento de sustancias sólidas de los extractos se utilizó un método gravimétrico en el cual se añadieron 2 mL de cada extracto y se dejaron evaporar en estufa con recirculación de aire a 60°C. Los ensayos se realizaron por triplicado y como criterio de secado se consideró peso constante.

Actividad antimicrobiana

La selección de las cepas para este ensayo se fundamentó en microorganismos que afectan la inocuidad y el deterioro de frutas y vegetales. Las cepas evaluadas fueron *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922) y *Rhizopus stolonifer* (ATCC 20577), las cuales se hidrataron en caldo Infusión Cerebro Corazón (ICC), se incubaron (Memmert) por 24 horas a 37°C para su reproducción en condiciones normales, luego se sembraron en agares selectivos dependiendo del microorganismo, incubándose por 24 horas a 37°C. Posteriormente, se seleccionaron colonias aisladas suspendiéndolas en caldo ICC por 24 h a 37°C.

La actividad antimicrobiana de los extractos frente a los microorganismos propuestos se realizó según la técnica de Kirby Bauer modificado. La suspensión ajustada a 0,5 equivalente $1,5 \times 10^8$ UFC/mL (Kuetz et al., 2006) en la escala de Mc Farland, se sembró en el agar Mueller Hinton después de 15 minutos y se procedió a perforar pozos de 5 mm de diámetro. Posteriormente, en los pozos, utilizando una pipeta automática, se colocaron 100 µL de cada uno de los extractos. Las cajas Petri preparadas fueron incubadas a 37°C durante 24 horas para bacterias y 7 días para hongos. Luego de este período se realizó la lectura de los halos de inhibición, expresados en milímetros (Toribio Oriani, y Skliar, 2004). Cabe mencionar que para la dilución de las fracciones se utilizó Tween 80 al 0.01% como disolvente (Kuetz, Ngameni, Simo,

Tankeu, Ngadjui, Meyer, Lall & Kuiate, 2006).

Para el desarrollo del producto se mezclaron volúmenes exactos de los extractos que mostraron actividad antimicrobiana, asegurando una disolución

homogénea.

III. RESULTADOS

Los rendimientos obtenidos de sólidos totales se presentan en la tabla 1.

Tabla 1. Rendimiento de los extractos etanólicos de las diferentes partes del fruto de toronja

Extracciones	Cáscara	Albedo	Semilla
1	0,096 g	0,032 g	0,051 g
2	0,095 g	0,033 g	0,076 g
3	0,096 g	0,033 g	0,061 g
MEDIA	0,096± 0,001g	0,033± 0,001g	0,063 ± 0,013g
RENDIMIENTO	17,4 %	6,6 %	12,6 %

En las tablas 2 y 3 se presentan los resultados de los ensayos antimicrobianos.

Tabla 2. Diámetros de los halos de inhibición obtenidos mediante la aplicación del extracto etanólico de toronja.

Microorganismo	Cáscara		Albedo		Control positivo	
	100%	80%	100%	80%	C	G
<i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 85273	5mm (R)	5mm (R)	5mm (R)	5mm (R)	30±1	28±1
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 07184	6mm (I)	5mm (R)	9mm (S)	5mm (R)	28±1	20±1
<i>Escherichia coli</i> ATCC 47396	6mm (I)	4mm (R)	9mm (S)	8mm (I)	35±1	22±1
<i>Rhizopus stolonifer</i> ATCC 20577	6mm (I)	2mm (R)	6mm (I)	5mm (R)	-	-

C= ciprofloxacina

G= gentamicina

S= sensible > 9 mm

I= intermedia o Moderada 6-9 mm

R= resistente < 6 mm

Tabla 3. Diámetros de los halos de inhibición obtenidos mediante la aplicación de mezclas de los extractos etanólicos de albedo y cáscara.

Microorganismo	Albedo: cáscara (v/v)				PC
	5:5	4:6	7:3	6:4	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 07184	10mm (S)	9mm (I)	9mm (S)	9mm (S)	26mm (S)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 47396	5mm (R)	5mm (R)	5mm (S)	-	13mm (S)
<i>Rhizopus stolonifer</i> ATCC 20577	13mm (S)	9mm (S)	11mm (S)	13mm (S)	8mm (S)

PC= producto comercial a base de extracto de toronja para la desinfección de vegetales y frutas

S= sensible > 9 mm

I= intermedia o Moderada 6-9 mm

R= resistente < 6 mm

IV. DISCUSIÓN

Los mayores rendimientos de sólidos se obtuvieron en cáscara y semilla, lo que sugiere una

mayor acumulación de compuestos polares en estos órganos vegetales. En la literatura existen reportes de la presencia de terpenoides, flavonoides como

hesperidina, neohesperidina y tangeritina (Sawamura, 2005; Londoño-Londoño, Rodrigues, Lara, Gil, Creczynski, Arango & Ramirez, 2010) y otros que justifican el resultado obtenido en cáscara (Flamini & Cioni, 2010; Ren et al., 2015). Para las semillas son los metabolitos primarios como azúcares, aminoácidos, péptidos y proteínas los que pudieran determinar este resultado (Rawson, Tiwari, Patras, Brunton, Brennan, Cullen & O'Donnell, 2011; Costa, Fonteles, De Jesus, et al., 2013). En el caso del albedo el bajo rendimiento se asocia a la acumulación de fibras que en las condiciones empleadas no se extraen con facilidad (Karaman, Yilmaz, & Tuncel, 2017).

En la determinación del ensayo antimicrobiano mediante el método de difusión en agar, los extractos de albedo y cáscara presentaron actividad frente a las bacterias *E. coli* y *S. aureus*, a las concentraciones ensayadas. Sin embargo frente a *P. aeruginosa* ninguno de los extractos analizados presentó actividad, como se puede observar en la tabla 2. El extracto de semillas no mostró actividad frente a ninguna de las cepas ensayadas. Resultados similares fueron recopilados en la literatura. Por ejemplo, Okunowo, Oyedeji, Afolabi & Matanmi (2013) informaron halos de inhibición de 11,33 y 9, 67 mm frente a *E. coli* y *S. aureus*, respectivamente a partir de un extracto etanólico (8 µg/ml) obtenido de la cáscara. La mayoría de los artículos justifican la actividad antibacteriana y antifúngica con la abundancia de terpenos y terpenoides en el aceite esencial en extractos de mediana polaridad y los flavonoides y glucósidos de flavonoides (flavononas y polimetoxiflavonas) en los más polares. Ambos grupos de metabolitos son comunes en la cáscara y el albedo del fruto de toronja (Cushnie & Lamb, 2005; Ortuño, Báidez, Gómez, Arcas, Porras, García-Lidón & Del Río, 2006;).

Aunque en la literatura científica se informan actividad antifúngica significativa para los extractos de toronja, en nuestro caso solo se comprobó una inhibición intermedia probablemente como consecuencia de la concentración de los metabolitos presentes en el extracto o el tipo de hongo ensayado (Duccio, Guizzardi, Biondi, Renda & Ruberto, 1998; Ortuño et al., 2006). En el primer caso se puede mejorar la concentración de metabolitos activos optimizando las condiciones de extracción (Gómez-Mejía, Rosales-Conrado, León-González, & Madrid, 2019) y en el segundo caso, hay que considerar que la finalidad del

producto es higienizar las frutas y verduras donde la variabilidad de patógenos pudiera ser amplia por tanto los productos que tenga un espectro de acción amplio suelen ser más útiles que aquellos altamente sensible pero a uno o pocos microorganismos (Caccioni, Guizzardi, Biondi, Agatino Renda, & Ruberto, 1998; Kumar, K., Narayani, M., Subanthini, A. & Jayakumar M. 2011; Sharma, Mahato, Cho, & Lee, 2017; Ochoa-Velasco, Salcedo-Pedraza, Hernández-Carranza, & Guerrero-Beltrán, 2018).

Los resultados previos permitieron diseñar combinaciones con vista a potenciar la actividad antimicrobiana y establecer una propuesta que pueda ser usada como principio activo en la elaboración de un conservante natural para la industria alimenticia. En la tabla 3 se pudo observar como en cada una de las mezclas se logró no solo mantener la actividad antibacteriana sino que se alcanzó un importante efecto antifúngico frente al hongo ensayado.

Los resultados evidencian las potencialidades antimicrobianas de los desechos de la producción de jugo de toronja cultivadas en el país. Es evidente que es posible aprovechar estos residuos no solo como posible antibacteriano sino además como antifúngico al menos frente a *R. stolonifer*. En general, los microorganismos ensayados son patógenos comunes en las frutas, verduras y otros productos vegetales que son consumidos de forma fresca y no siempre con la higiene adecuada. La desinfección implica un gasto adicional asociado al uso de productos comerciales importados que tienen un valor relativamente alto en el mercado nacional o productos químicos que muchas veces resultan tóxicos para el operador y el consumidor.

V. CONCLUSIONES

Los extractos alcohólicos obtenidos de los residuales de la producción de jugo de toronja presentan actividad antibacteriana y antifúngica por lo que es posible proponer su uso en el desarrollo y producción de un conservante natural para la inocuidad de alimentos frescos y mínimamente procesados.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aadil, R.M., Xin-An, Z., Zhong, H. & Da-Wen, S. (2013). Effects of ultrasound treatments on quality of grapefruit juice. *Food Chemistry*, Volume 141, Issue 3, Pages 3201-3206. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.06.008>.

- Badawy, M. E. I., & Abdelgaleil, S. A. M. (2014). Composition and antimicrobial activity of essential oils isolated from Egyptian plants against plant pathogenic bacteria and fungi. *Industrial Crops and Products*, 52, 776-782. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.12.003>
- Caccioni, D. R. L., Guizzardi, M., Biondi, D. M., Agatino Renda, & Ruberto, G. (1998). Relationship between volatile components of citrus fruit essential oils and antimicrobial action on *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum*. *International Journal of Food Microbiology*, 43(1), 73-79
- Costa, M.G., Fonteles, T.V., De Jesus, A., Almeida, F., De Miranda M., Fernandes F. & Rodrigues, S. (2013). *Food Bioprocess Technol* 6: 997. <https://doi.org/10.1007/s11947-011-0746-9>
- Cristóbal-Luna, J. M., Álvarez-González, I., Madrigal-Bujaidar, E., & Chamorro-Cevallos, G. (2018). Grapefruit and its biomedical, antigenotoxic and chemopreventive properties. *Food and Chemical Toxicology*, 112, 224-234. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.12.038>
- Cushnie T.P. & Lamb J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*. Volume 26, Issue 5, Pages 343-356. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2005.09.002>.
- Duccio, R.L., Guizzardi, M., Biondi, D., Renda, A. & Ruberto, G. (1998). Relationship between volatile components of citrus fruit essential oils and antimicrobial action on *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum*. *International Journal of Food Microbiology* Volume 43, Issues 1-2, Pages 73-79. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(98\)00099-3](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(98)00099-3)
- Flamini, G., & Cioni, P. L. (2010). Odour gradients and patterns in volatile emission of different plant parts and developing fruits of grapefruit (*Citrus paradisi* L.). *Food Chemistry*, 120(4), 984-992. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.11.037>
- Galanakis, C.M. (2012). Recovery of high added-value components from food wastes: Conventional, emerging technologies and commercialized applications. *Trends in Food Science & Technology*, Volume 26, Issue 2, Pages 68-87. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2012.03.003>.
- Ganzer, M., Aberham, A., & Stuppner, H. (2006). Development and Validation of an HPLC / UV / MS Method for Simultaneous Determination of 18 Preservatives in Grapefruit Seed Extract. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 3768-3772
- García-Castello, E.M., Rodríguez-López, A.D., Mayor, L., Ballesteros, R., Conidi, C. & Cassano, A. (2015). Optimization of conventional and ultrasound assisted extraction of flavonoids from grapefruit (*Citrus paradisi* L.) solid wastes. *LWT - Food Science and Technology*, Volume 64, Issue 2, Pages 1114-1122. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.07.024>.
- Gómez-Mejía, E., Rosales-Conrado, N., León-González, M. E., & Madrid, Y. (2019). Citrus peels waste as a source of value-added compounds: Extraction and quantification of bioactive polyphenols. *Food Chemistry*, 295, 289-299. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.05.136>
- Karaman E., Yılmaz E., & Tuncel N. B., (2017). Physicochemical, microstructural and functional characterization of dietary fibers extracted from lemon, orange and grapefruit seeds press meals. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 11, 9-17, <https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2017.06.001>.
- Kuete, V., Ngameni, B., Simo, C.C.F., Tankeu, R.K., Ngadjui, B.T., Meyer, J.J.M., Lall, N. & Kuate, J.R. (2006). Actividad antimicrobiana de los extractos crudos y compuestos de *Ficus chlamydocarpa* y *Ficus cordata* (Moraceae) *J Ethnopharmacol*; 120 17-24. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2008.07.026>
- Kumar, K., Narayani, M., Subanthini, A. & Jayakumar M. (2011). Antimicrobial Activity and Phytochemical Analysis of Citrus Fruit Peels -Utilization of Fruit Waste. *International Journal of Engineering Science and Technology*. 3. 5414-5421
- Londoño-Londoño, J., Rodrigues, V., Lara, O., Gil, A., Crecsynski, T., Arango, G., Ramirez, J.R. (2010). Clean recovery of antioxidant flavonoids from citrus peel: Optimizing an aqueous ultrasound-assisted extraction method. *Food Chemistry*, Volume 119, Issue 1, Pages 81-87. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.05.075>.

- Ng, T. B., El-Din Ahmed Bekhit, A., Fang, E. F., Li, X., Lu, Q., Guo, H., & Wong, J. H. (2015). Grapefruit (*Citrus paradisi*) oils. In *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety* (pp. 463–470). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416641-7.00052-3>
- Ochoa-Velasco, C. E., Salcedo-Pedraza, C., Hernández-Carranza, P., & Guerrero-Beltrán, J. A. (2018). Use of microbial models to evaluate the effect of UV-C light and trans-cinnamaldehyde on the native microbial load of grapefruit (*Citrus × paradisi*) juice. *International Journal of Food Microbiology*, 282, 35–41. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.05.023>
- Okunowo, W., Oyediji, O., Afolabi, L. and Matanmi, E. (2013). Essential Oil of Grape Fruit (*Citrus paradisi*) Peels and Its Antimicrobial Activities. *American Journal of Plant Sciences*, Vol. 4 No. 7B, pp. 1-9. doi: 10.4236/ajps.2013.47A2001.
- Ortuño, A., Báidez, A., Gómez, P., Arcas, M.C., Porrás, I., García-Lidón, A. & Del Río, J.A. (2006). *Citrus paradisi* and *Citrus sinensis* flavonoids: Their influence in the defence mechanism against *Penicillium digitatum*. *Food Chemistry*, Volume 98, Issue 2, Pages 351-358. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.06.017>.
- Rawson, A., Tiwari, B.K., Patras, A., Brunton, N., Brennan, C., Cullen, P.J. & O'Donnell C. (2011). Effect of thermosonication on bioactive compounds in watermelon juice. *Food Research International*, Volume 44, Issue 5, Pages 1168-1173. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.07.005>
- Ren, J.-N., Tai, Y.-N., Dong, M., Shao, J.-H., Yang, S.-Z., Pan, S.-Y., & Fan, G. (2015). Characterisation of free and bound volatile compounds from six different varieties of citrus fruits. *Food Chemistry*, 185, 25-32. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.03.142>
- Roller, S. y Seedhar, P. (2002) El carvacrol y el ácido cinámico inhiben el crecimiento microbiano en melones y kiwis recién cortados a 4 ° C y 8 ° C. *Cartas en Microbiología Aplicada*, 35, 390-394. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1472-765X.2002.01209.x>
- Sawamura, M. (2005). Volatile constituents of Redblush grape fruit (*Citrus paradise*) and pummelo (*Citrus grandis*) peel essential oil from Kenya. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 25(53), 9790–9794.
- Sharma, K., Mahato, N., Cho, M. H., & Lee, Y. R. (2017). Converting citrus wastes into value-added products: Economic and environmentally friendly approaches. *Nutrition*, 34, 29-46. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2016.09.006>
- Toribio, M.S., Oriani D.S. y Skliar M.I. (2004). “Actividad antimicrobiana de *Centaurea calcitrapa*”. *Ars Pharmaceutica*, 45(4): 335-341.
- United States Department of Agriculture (2016). National agricultural statistics service. Recuperado de: <http://www.usda.gov/> and <http://www.nass.usda.gov/>
- Wang, L. F., & Rhim, J. W. (2016). Grapefruit seed extract incorporated antimicrobial LDPE and PLA films: Effect of type of polymer matrix. *LWT - Food Science and Technology*, 74, 338–345. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.07.066>
- Wei-Lun, H., Hyuk, J. & Wang, Y. (2017). Chemistry and health effects of furanocoumarins in grapefruit. *Journal of Food and Drug Analysis*, Volume 25, Issue 1, Pages 71-83, <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2016.11.008>.
- Zema, D. A., Calabrò, P. S., Folino, A., Tamburino, V., Zappia, G., & Zimbone, S. M. (2018). Valorisation of citrus processing waste: A review. *Waste Management*, 80, 252-273. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.09.024>