

Extração Assistida por Ultrassom de Compostos Bioativos das Cascas de Lichia (*Litchi Chinensis* Sonn.)

Ultrasound Assisted Extraction of Bioactive Compounds from Lichia Peels (*Litchi Chinensis* Sonn.)

Camila da Silva

Universidade Estadual de Maringá – UEM, Umuarama, PR
camiladasilva.eq@gmail.com

Vitor Augusto dos Santos Garcia

Universidade Estadual de Maringá – UEM, Umuarama, PR
garcia.vitoraugusto@gmail.com

Lidaiane Mariah Silva dos Santos Franciscato

Universidade Estadual de Maringá – UEM, Umuarama, PR
lidaianemariah@gmail.com

Resumo: O processamento da lichia (*Litchi chinensis* Sonn.) gera subprodutos, os quais apresentam elevada concentração de compostos bioativos, sendo que eles podem ser efetivamente extraídos em processo assistido por ultrassom. O presente trabalho objetivou investigar a aplicação do ultrassom na extração de compostos bioativos das cascas de lichia. O efeito das variáveis de processo (temperatura, tempo e concentração de etanol), na extração de compostos fenólicos, foi avaliado por meio de um planejamento experimental Box-Behnken. O aumento da temperatura e concentração de etanol proporcionou a obtenção de elevadas concentrações de compostos fenólicos, sendo a variável resposta não influenciada pelo tempo de extração. Constatou-se que o teor de compostos fenólicos está relacionado às variáveis independentes a partir de uma equação polinomial de segunda ordem, com coeficiente de correlação $> 0,98$. A temperatura de 60 °C, utilizando solução com 70% de etanol, durante 30 minutos, foi identificada como condição ótima de extração de compostos fenólicos, com 1225,7 mg EAG 100 g⁻¹. Na condição otimizada avaliou-se o efeito da aplicação do

Recebido em 04/07/2015 - Aceito em 29/09/2015.

RECEN 18(1) p. 81-96 jan/jun 2016 DOI: 10.5935/RECEN.2016.01.07

ultrassom na extração de compostos fenólicos e capacidade antioxidante. A partir dos resultados obtidos verifica-se que o processo assistido por ultrassom favorece a extração de compostos bioativos ($p < 0,05$).

Palavras-chave: capacidade antioxidante; compostos fenólicos; etanol; subprodutos.

Abstract: The processing of litchee (*Litchi chinensis* Sonn.) generates by-products that have a high concentration of bioactive compounds which can be effectively extracted in the process assisted by ultrasound. This study aimed to investigate the application of ultrasound in the extraction of bioactive compounds of the litchee peel. The effect of the process variables (temperature, time and ethanol concentration) in the extraction of phenolic compounds was evaluated by Box-Behnken experimental design. The increased temperature and ethanol concentration provided high concentrations of phenolic compounds and the time variable did not influence the extraction. It was found that the content of phenolic compounds is related to independent variables from a second-order of polynomial equation, with a correlation coefficient > 0.98 . The temperature of 60 °C, solution with 70% ethanol for 30 minutes was identified as the best condition for the extraction of phenolic compounds, with 1225.7 mg EAG 100 g⁻¹. In the optimized condition it was evaluated the effect of ultrasound application in the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacity. From the results obtained it was verified that the process assisted by ultrasound increases the extraction of bioactive compounds ($p < 0.05$).

Keywords: antioxidant capacity; byproducts; ethanol; phenolics compounds.

1 Introdução

A lichia (*Litchi chinensis* Sonn.) é um fruto de clima subtropical a tropical, e a casca é constituída por aproximadamente 58% de carboidratos, 10% de proteínas, 8% de lipídeos, 4% de cinzas e 20% de fibras [1]. Também apresenta compostos que fornecem elevada capacidade antioxidante à fruta [2-4] como antocianinas, polifenóis

e flavonoides [5]. O interesse em compostos antioxidantes está relacionado aos seus efeitos benéficos à saúde, tais como cardioprotetor e anticancerígeno [6,7]. As cascas e as sementes de lichia são consideradas resíduos provenientes do processamento da polpa, que podem ser comercializadas enlatadas, desidratadas ou processadas na forma de sucos, bebidas fermentadas, compotas, sorvetes e iogurtes [8].

Diversos fatores podem influenciar na obtenção de compostos bioativos, tais como: a metodologia de extração, natureza da matriz vegetal, tamanho das partículas, solvente utilizado, tempo e temperatura de extração [9]. O processo convencional consiste na extração sólido-líquido utilizando solventes orgânicos [10], que apresentam várias desvantagens como: geração de resíduos tóxicos, transformação química dos extratos, utilização de solventes que podem ser prejudiciais, a longo prazo, ao meio ambiente [11], além disso a resistência natural da estrutura da planta para a penetração do solvente faz a extração convencional inadequada [12]. Estes compostos podem também ser extraídos a partir da extração alcalina [10] e extração assistida por micro-ondas [13].

Buscando melhorar a eficiência do processo de extração, diversos trabalhos têm reportado a utilização de ultrassom para extração de compostos bioativos a partir de matrizes vegetais [14–17]. A extração assistida por ultrassom tem recebido destaque, pois se trata de uma metodologia de intensificação do processo [18] tornando possível a obtenção de elevadas taxas de extração em menores tempos [19]. A cavitação gerada pelo ultrassom é conhecida por produzir diversos efeitos na matriz vegetal, tais como: a circulação do líquido (agitação do solvente) no sistema e a geração de turbulência que pode auxiliar no aumento da transferência de massa [20].

De acordo com Corbin et al [21], as cavitações acústicas produzidas pelo ultrassom facilitam a penetração do solvente nas paredes celulares da matriz vegetal, permitindo que o conteúdo intracelular seja liberado de forma eficiente, e a agitação do solvente aumentará a área de contato entre o solvente e os compostos alvos, permitindo a maior penetração do solvente na matriz da amostra. Pelos motivos citados a extração assistida por ultrassom apresenta inúmeras vantagens, como por exemplo, redução do tempo de extração, consumo reduzido de solvente, além da extração em temperaturas inferiores poder evitar danos térmicos ao extrato e minimizar a perda

de compostos ativos. A obtenção de maiores concentrações de compostos bioativos na extração assistida por ultrassom é reportada nos trabalhos de Khan et al [19] e Carrera et al [22].

Tendo como referência o embasamento teórico apresentado, o presente estudo teve como objetivo avaliar as condições operacionais (concentração de etanol, temperatura e tempo) na extração de compostos fenólicos das cascas de lichia em processo assistido por ultrassom. Para tal propósito, o planejamento experimental Box-Behnken foi utilizado visando a determinação da condição que proporcione a obtenção de extrato com elevada concentração de compostos fenólicos e, nesta condição, avaliou-se o efeito da aplicação do ultrassom na extração de compostos fenólicos e capacidade antioxidante.

2 Material e métodos

2.1 Materiais

Os frutos de lichia foram adquiridos na cidade de Maria Helena, Paraná (safra de 2013/2014). Os reagentes utilizados foram: álcool etílico (Anidrol, 95%); para as análises de compostos fenólicos e capacidade antioxidante utilizou-se Folin-Ciocalteau (Dinâmica), carbonato de sódio (Anidrol), ácido gálico (Vetec, 99%), DPPH• (2,2-difenil-1-picrilhidrazina, Sigma Aldrich), TPTZ (2,4,6-Tris(2-piridil)-s-triazina, Sigma Aldrich), sulfato de ferro heptahidratado (Synth) e cloreto férrico hexahidratado (Synth).

2.2 Secagem e classificação da matéria-prima

Após a higienização, os frutos foram selecionados em relação à ausência de injúrias, e separados manualmente em casca, polpa e semente. As cascas foram submetidas à secagem na temperatura de 60 °C, durante 8 horas, em estufa com circulação forçada de ar (Marconi, MA 35). Em seguida, as cascas foram trituradas em moinho elétrico (IKA, A 11/B) e procedeu-se à classificação granulométrica utilizando peneiras da série Tyler (Bertel, ASTM), sendo utilizado o material que apresentou diâmetro médio de 0,5 mm para a condução dos experimentos.

2.3 Planejamento experimental

Para determinar a influência dos fatores principais (temperatura, concentração de etanol e tempo) na extração de compostos fenólicos das cascas de lichia, foram testados três níveis das variáveis, como mostrado na tabela 1, utilizando planejamento fatorial Box-Behnken, com quadruplicata do ponto central. O *software* Statistica® 8.0 (STATSOFT™, Inc) foi utilizado para a análise estatística dos dados, com intervalo de confiança de 95%.

Tabela 1. Variáveis e níveis analisados no planejamento experimental Box-Behnken

Variáveis	Nível		
	-1	0	1
Temperatura (°C) – X ₁	40	50	60
Tempo (min) – X ₂	30	45	60
Concentração de etanol (v/v) – X ₃	30	50	70

2.4 Extração e determinação de compostos bioativos

A extração dos compostos bioativos das cascas de lichia foi realizada em banho de ultrassom com contato indireto (Ultrasonic Q5. 9/40 A – com frequência de 40 kHz, potência de 132 W), utilizando uma mistura água:etanol como solvente em diferentes concentrações. Em cada experimento, foram utilizados 0,04 g de amostra e 7,5 mL do solvente, quantidades definidas a partir de testes preliminares. Os experimentos foram conduzidos em tubos de ensaio, mantidos no ultrassom de acordo com as condições experimentais da tabela 1. Após o tempo dos testes, as amostras foram centrifugadas a 3500 rpm por 10 minutos.

Para determinação do teor de compostos fenólicos, retirou-se alíquota de 0,5 mL do sobrenadante, sendo esta adicionada em um tubo contendo 2,5 mL de reagente Folin-Ciocalteu (1:10). O tubo foi homogeneizado e mantido em repouso por 5 minutos. Em seguida, 2 mL de carbonato de sódio (7,5%) foram adicionados e a solução foi homogeneizada novamente e mantida em repouso na ausência de luz por 2 horas [23]. A leitura das amostras foi realizada em espectrofotômetro (Kasuki, IL-227) à 740 nm, e os resultados foram expressos em mg equivalente de

ácido gálico (EAG) 100 g^{-1} de amostra, utilizando dados de curva de calibração obtida a partir de soluções do padrão ácido gálico.

Na condição otimizada, a partir do planejamento experimental apresentado na tabela 1, avaliou-se o efeito da aplicação do ultrassom na extração dos compostos bioativos, sendo a extração realizada conforme descrito anteriormente, no entanto, sem a aplicação da irradiação ultrassônica. Nessa condição, avaliou-se o teor de compostos fenólicos e a capacidade antioxidante pelos métodos de redução do ferro (FRAP) e radical livre DPPH• seguindo as metodologias descritas por Benzie et al [24] e Brand-Williams et al [25], respectivamente. As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se SAS (Versão 9.2, SAS, Inc). As diferenças significativas entre as médias foram identificadas através do teste de Tukey (Intervalo de confiança de 95%).

O reagente FRAP foi preparado a partir de uma solução tampão acetato 0,3 M (25 mL), solução 2,4,6-Tris(2-piridil)-s-triazina (TPTZ) 10 mM (2,5 mL) e solução aquosa de cloreto férrico 20 mM (2,5 mL). Para análise, 150 μL do extrato foram adicionados à 2850 μL do reagente FRAP e a solução foi incubada a 37°C em banho termostático (Forlab, Dubnoff FL157/22R) à 37°C por 30 minutos. As absorbâncias foram registradas em espectrofotômetro (Kazuaki/IL-227) à 595 nm. Como padrão foi utilizado Trolox (200 a 500 μMol). Os resultados foram expressos em μmol equivalentes de Trolox 100 g^{-1} de amostra.

Para determinação da capacidade antioxidante pelo método DPPH•, inicialmente foi preparada uma solução do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazina (DPPH•) com absorbância de 0,7 (0,6 mM), determinada à 517 nm em espectrofotômetro (Kazuaki/IL-227). Amostras com diferentes concentrações foram preparadas (0,1 a 0,8 g) em balões volumétricos de 10 mL com solvente e submetidas à extração dos compostos. Alíquotas de 100 μL de cada diluição foram adicionadas à 3,9 mL da solução do radical livre DPPH• e a solução foi mantida na ausência de luz por 180 minutos. A atividade antioxidante foi expressa como a quantidade de antioxidante necessária para reduzir a concentração inicial de DPPH• em 50% (EC_{50}). A partir dos dados de concentração de extrato *versus* a atividade antioxidante, foi obtida uma equação da reta para determinação do EC_{50} .

3 Resultados e discussões

A tabela 2 apresenta a matriz do planejamento experimental com os valores codificados para as variáveis independentes (conforme tabela 1) e a resposta em termos de teor de compostos fenólicos (TCF).

Tabela 2. Condições experimentais avaliadas para extração de compostos fenólicos das cascas de lichia e resultados obtidos

Experimentos	Variáveis			TCF [mg EAG 100 g ⁻¹]
	X ₁	X ₂	X ₃	
1	-1	-1	0	1048,14
2	1	-1	0	1125,55
3	-1	1	0	1055,29
4	1	1	0	1212,52
5	-1	0	-1	945,97
6	1	0	-1	998,38
7	-1	0	1	1003,49
8	1	0	1	1210,11
9	0	-1	-1	1017,69
10	0	1	-1	988,12
11	0	-1	1	1118,01
12	0	1	1	1170,10
13	0	0	0	1127,77
14	0	0	0	1108,25
15	0	0	0	1104,19
16	0	0	0	1141,10

Com o objetivo de realizar a análise consistente dos efeitos das variáveis de processo na extração de compostos fenólicos, os dados da tabela 2 foram utilizados para calcular o efeito das variáveis. Os resultados obtidos são apresentados na figura 1, na forma de gráfico de Pareto, ao nível de confiança de 95%.

Pode ser verificada a partir da figura 1 que a concentração de etanol utilizada nos testes é a variável com maior efeito significativo. De acordo com Ghitescu et al [26], o aumento da concentração de etanol acelera a transferência de massa entre o líquido e o sólido, e proporciona o aumento de solubilidade dos compostos fenólicos, conforme se observa nos trabalhos de Prasad et al [2], Vizzotto e Pereira [14], Tabaraki et al [27]

e Wang et al [28].

A obtenção de maiores teores de compostos fenólicos com o aumento da concentração de etanol, na mistura etanol-água, foi observada por Khan et al [19], Tabaraki et al [27] e Tabaraki e Rastgoo [29] utilizando cascas de laranja, romã e nozes verdes, respectivamente.

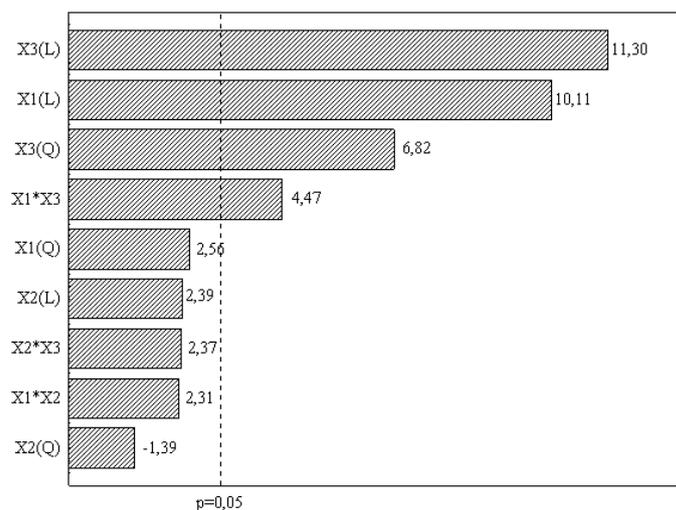


Figura 1. Diagrama de Pareto para o efeito das variáveis independentes na extração de compostos fenólicos das cascas de lichia

A temperatura influenciou positivamente nos resultados obtidos, haja vista a permeabilidade das paredes celulares poder ser enfraquecida com o aumento de temperatura, o que facilita o processo de difusão e de transferência de compostos fenólicos [21]. Com o aumento da temperatura, ocorre o aumento da solubilidade dos compostos fenólicos e decréscimo da viscosidade dos extratos, acelerando a extração [28].

Os trabalhos de Wang et al [28] e Ghafoor et al [30] relatam a maior extração de compostos fenólicos do farelo de trigo e sementes de uva com o aumento da temperatura de extração de 33 a 67 °C. Este efeito também por ser observado nos resultados apresentados por González-Centeno et al [12] na obtenção de compostos fenólicos do bagaço de uva com o aumento da temperatura de 20 para 50 °C.

A interação entre a temperatura de extração e a concentração de etanol foi estatisticamente significativa. A figura 2 apresenta as curvas de contorno para esta interação

no tempo de 30 minutos, sendo possível constatar a maior eficiência de extração nos maiores níveis destas variáveis.

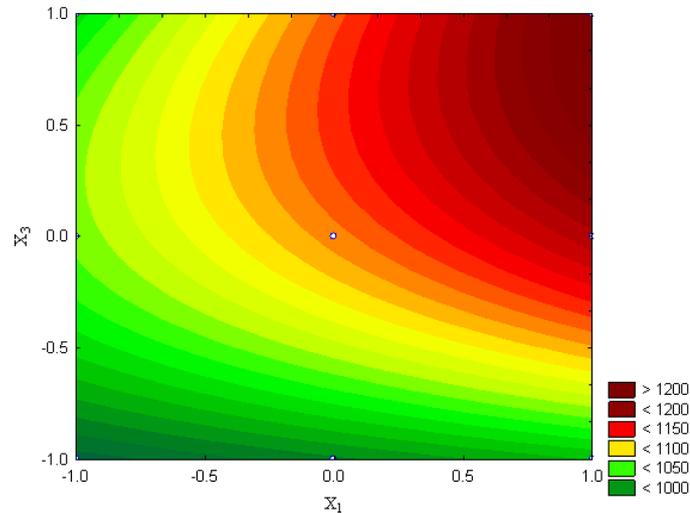


Figura 2. Curva de contorno para a interação entre temperatura e concentração de etanol na extração de compostos fenólicos das cascas de lichia

Os trabalhos de Ghitescu et al [17] e Tabaraki e Rastgoo [29] relatam que o aumento da temperatura em elevadas concentrações de etanol, na mistura etanol-água, favorece a obtenção de compostos fenólicos.

O tempo de extração não apresentou efeito significativo na extração de compostos fenólicos na faixa experimental avaliada de 30 a 60 minutos. A literatura relata resultados similares para esses tempos de extração [19]. A utilização de longos períodos de extração aumenta a possibilidade de oxidação dos fenólicos [17, 29].

A partir da análise de regressão de dados, verificou-se que o teor de compostos fenólicos e as variáveis experimentais estão correlacionados a partir da equação (1).

$$TCF = 1074,44 + 61,70 * X_1 + 68,94 * X_3 + 29,43 * X_3^2 + 38,55 * X_1 * X_3 \quad (1)$$

A tabela 3 apresenta a análise de variância (ANOVA) utilizada para validação do modelo preditivo. O modelo é validado, ou seja, apresenta ajuste satisfatório aos dados experimentais, quando $F_{CALC} > F_{TAB}$ (calculados a partir da tabela ANOVA

e tabulados, respectivamente). O valor do coeficiente de correlação (0,98) e o teste F de regressão mostrou que o modelo foi capaz de representar os dados experimentais na faixa experimental avaliada.

Tabela 3. Análise de variância (ANOVA) para o modelo de segunda ordem correlacionando o teor de compostos fenólicos com as variáveis experimentais

Causas das variações	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrados médios	F _{CALC}	F _{TAB} (0,05)
Regressão	88296,40	4	22074,09	26,68	3,36
Resíduo	9099,23	11	827,20		
Falta de ajuste	8206,06	8	1025,75		
Erro puro	893,17	3	297,72		
Total	97395,63	15	6493,04		

A obtenção de um modelo matemático válido para representar o sistema permite determinar o TCF ótimo indicado pelo mesmo, na faixa experimental testada para as variáveis. O modelo indica a tendência da variável resposta em função das variáveis independentes e os níveis das variáveis para atingir o valor ótimo para o teor de compostos fenólicos, como apresenta a figura 3.

Pode ser verificado a partir da figura 3 que o TCF ótimo, 1225,7 mg 100 g⁻¹, pode ser obtido em 60 °C, 30 minutos e utilizando solvente com 70% de etanol. A capacidade preditiva do modelo foi avaliada por experimentos na condição ótima, em quadruplicata, as quais forneceram 1232,2 ± 42,28 mg 100 g⁻¹. A partir da aplicação do teste t de Student verificou-se que não houve diferença significativa (p < 0,05) entre o valor experimental e o estimado pelo modelo.

Na condição otimizada, apresentada na figura 3, verificou-se o efeito da aplicação do ultrassom na extração de compostos fenólicos e capacidade antioxidante, cujos resultados são apresentados na tabela 4. A partir da análise dos resultados obtidos é possível verificar que aplicação do ultrassom foi eficiente na extração dos compostos fenólicos e capacidade antioxidante pelo método de redução do ferro (FRAP) com aumento de ~26 e 52% nos valores obtidos, respectivamente. Em relação aos valores de EC₅₀ obtidos pelo método do radical livre DPPH•, a aplicação do ultrassom apresentou redução de 26% na concentração.

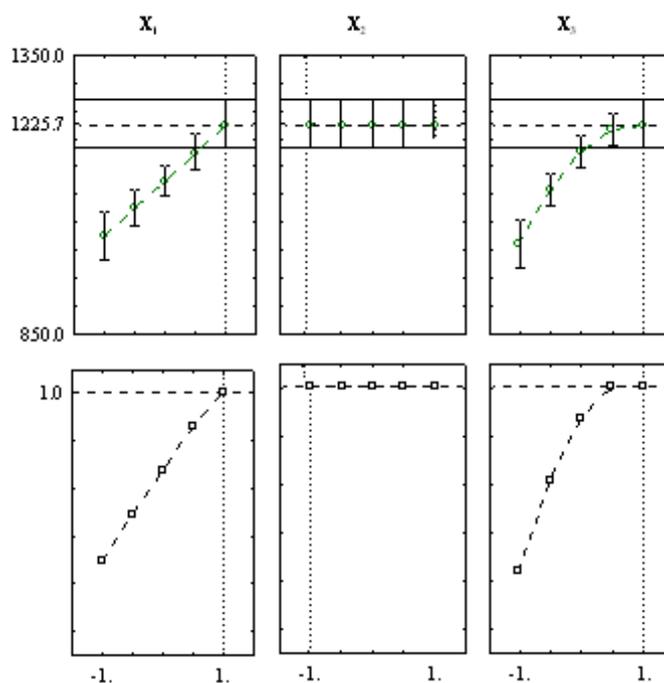


Figura 3. Condição otimizada para extração de compostos fenólicos das cascas de lichia

A literatura apresenta trabalhos que avaliaram o teor de compostos fenólicos e capacidade antioxidante nas cascas de lichia. A análise desses trabalhos relata elevadas diferenças entre cultivares, condições de temperatura, tempo e natureza do solvente utilizado.

Tabela 4. Compostos fenólicos e da capacidade antioxidante das cascas de lichia obtidos na condição otimizada

	Com ultrassom	Sem ultrassom
Compostos fenólicos ¹	1232,2 ± 42,28 ^a	974,11 ± 43,23 ^b
FRAP ²	9742,11 ± 173,61 ^a	6388,62 ± 220,11 ^b
EC ₅₀ ³	0,008 ± 0,001 ^a	0,011 ± 0,001 ^b

¹ mg EAG 100 g⁻¹; ² μmol ET 100 g⁻¹; ³ mg mL⁻¹

Prasad et al [2] realizaram a extração dos compostos fenólicos das cascas de lichia e relatam teores de 15,8 a 24,1 mg EAG 100 g⁻¹ utilizando água e etanol como solventes.

Os teores de compostos fenólicos em cascas de nove cultivares de lichia são reportados por Li et al [31], os quais apresentaram entre 938 e 3016 mg EAG 100 g⁻¹. Queiroz et al [1] reportam 22,04 e 71,71 mg 100 g⁻¹ de compostos fenólicos para as cascas de lichia *in natura* e seca, respectivamente.

Queiroz et al [1], Prasad et al [2] e Amorim et al [32] reportaram uma alta atividade antioxidante nas cascas de lichia pelo método de redução do radical livre DPPH•. Liu et al [33] avaliaram a extração dos compostos antioxidantes das flores de lichia utilizando como solventes acetona e metanol, e reportaram valores de EC₅₀ 0,0301 ± 0,00228 e 0,12 ± 0,00864 (mg mL⁻¹), para extrato obtido a partir da acetona e metanol, respectivamente, indicando que a atividade antioxidante das cascas de lichia no extrato obtido por ultrassom é superior ao reportado para as flores.

4 Conclusão

A aplicação do processo assistido por ultrassom apresentou-se eficiente na extração de compostos bioativos das cascas de lichia. A extração de compostos fenólicos é dependente da temperatura e concentração de etanol no solvente, sendo que não é influenciada pelo tempo de extração. Os parâmetros que afetam a extração foram otimizados e considerando esses resultados, as condições ideais para extração de compostos fenólicos das cascas de lichia foram 30 minutos de extração, temperatura de 60 °C e 70% de concentração de etanol.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Fundação Araucária pelo suporte financeiro e a Universidade Estadual de Maringá – *Campus* Regional de Umuarama pela infraestrutura.

Referências

- [1] QUEIROZ, E. R.; ABREU, C. M. P.; SANTOS, C. M., SIMÃO, A. A. Chemical and phytochemical composition of flours from skin and seeds of “Bengal” lychee (*Litchi chinensis* Sonn). *Cienc Rural*, vol. 45, n. 2, p. 329-334, 2015.

- [2] PRASAD, N. K.; YANG, B., YANG, S.; CHEN, Y.; ZHAO, M.; ASHRAF, M.; JIANG, Y. Identification of phenolic compounds and appraisal of antioxidant and antityrosinase activities from litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) seeds. *Food Chem*, vol. 116, n. 1, p. 1-7, 2009.
- [3] XU, X.; XIE, H.; XU, L.; WEI, X. A novel cyclopropyl-containing fatty acid glucoside from the seeds of *Litchi chinensis*. *Fitoterapia*, vol. 82, n. 3, p. 485-488, 2011.
- [4] JIANG, G.; LIN, S.; WEN, L.; JIANG, Y.; ZHAO, M.; CHEN, F.; PRASAD, N.; DUAN, X. YANG, B. Identification of a novel phenolic compound in litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) pericarp and bioactivity evaluation. *Food Chem*, vol. 136, n. 2, p. 563-568, 2013.
- [5] QUEIROZ, E. R.; ABREU, C. M. P.; OLIVEIRA, K. S.; RAMOS, V. O.; FRÁGUAS, R. M. Bioactive phytochemicals and antioxidant activity in fresh and dried lychee fractions. *Rev Cienc Agron*, vol. 46, n. 1, p. 163-169, 2015.
- [6] PRIOR, R. L.; GU, L. Occurrence and biological significance of proanthocyanidins in the American diet. *Phytochemistry*, vol. 66, n. 18, p. 2264-2280, 2005.
- [7] ZHANG, R.; ZENG, Q.; DENG, Y.; ZHANG, M.; TANG, X. Phenolic profiles and antioxidant activity of litchi pulp of different cultivars cultivated in Southern China. *Food Chem*, vol. 136, n. 3-4, p. 1169-1176, 2013.
- [8] QUEIROZ, E. R.; ABREU, C. M. P.; OLIVEIRA, K. S. Constituintes químicos das frações de lichia *in natura* e submetidas à secagem: potencial nutricional dos subprodutos. *Rev Bras Frutic*, vol. 34, n. 4, p. 1174-1179, 2012.
- [9] ANDREO, D.; JORGE, N. Antioxidantes naturais: técnicas de extração. *B Cent Pesqui Proc A*, vol. 24, n. 2, p. 319-336, 2006.
- [10] VARDANEGA, R.; SANTOS, D. T.; MEIRELES, A. A. Intensification of bioactive compounds extraction from medicinal plants using ultrasonic irradiation. *Pharmacogn Rev*, vol. 8, n. 16, p. 88-95, 2014.

- [11] ELIASSON, C.; KAMAL-ELDIN, A.; ANDERSSON, R.; AMAN, P. High-performance liquid chromatographic analysis of secoisolariciresinol diglucoside and hydroxycinnamic acid glucosides in flaxseed by alkaline extraction. *J Chromatogr A*, vol. 1012, p. 151-159, 2003.
- [12] GONZÁLEZ-CENTENO, M. R.; COMAS-SERRA, F.; FEMENIA, A.; ROSSELLÓ, C.; SIMAL, S. Effect of power ultrasound application on aqueous extraction of phenolic compounds and antioxidant capacity from grape pomace (*Vitis vinifera* L.): experimental kinetics and modeling. *Ultrason Sonochem*, vol. 22, p. 506-514, 2015.
- [13] FLINIAUX, O.; CORBIN, C.; RAMSAY, A.; RENOUEAU, S.; BEEJ-MOHUN, V.; DOUSSET, J.; FALGUIÈRES, A.; FERROUD, C.; LAMBLIN, F.; LAINÉ, E.; ROSCHER, A.; GRAND, E.; MESNARD, F.; HANO, C. Microwave-assisted extraction of herbacetin diglucoside from flax (*Linum usitatissimum* L.) seed cakes and its quantification using an RP-HPLC-UV system. *Molecules*, vol. 19, p. 3025–3037, 2014.
- [14] VIZZOTTO, M.; EREIRA, M. C. Amora-preta (*Rubus* sp.): otimização do processo de extração para determinação de compostos fenólicos antioxidantes. *Rev Bras Frutic*, vol. 33, n. 4, p. 1209-1214, 2011.
- [15] PORTO, C. D.; PORRETTO, E.; DECORTI, D. Comparison of ultrasound-assisted extraction with conventional extraction methods of oil and polyphenols from grape (*Vitisvinifera* L.) seeds. *Ultrason Sonochem*, vol. 20, n. 4, p. 1076–1080, 2013.
- [16] BOTH, S.; CHEMAT, F.; STRUBE, J. Extraction of polyphenols from black tea – conventional and ultrasound assisted extraction. *Ultrason Sonochem*, vol. 21, p. 1030-1034, 2014.
- [17] GHITESCU, R. E.; VOLF, L.; CARAUSU, C.; BÜHLMANN, A. M.; GILCA, I. A.; POPA, V. I. Optimization of ultrasound-assisted extraction of polyphenols from spruce wood bark. *Ultrason Sonochem*, vol. 22, p. 535–541, 2015.

- [18] SHIRSATH, S. R.; SONAWANE, S. H.; GOGATE, P. R. Intensification of extraction of natural products using ultrasonic irradiations – a review of current status. *Chem Eng Process*, vol. 53, p. 10-23, 2012.
- [19] KHAN, M. K.; ABERT-VIAN, M.; FABIANO-TIXER, A. S.; DANGLES, O.; CHEMAT, F. Ultrasonnd-assisted extraction of polyphenols (flavonone glycosides) from orange (*Citrus sinensis* L.) peel. *Food Chem*, vol. 119, n. 2, p. 851-858, 2010.
- [20] JADHAV, D.; REKHA, B. N.; GOGATE, P. R.; RATHOD, V. K. Extraction of vanillin from vanilla pods: a comparison study of conventional soxhlet and ultrasound assisted extraction. *J Food Eng*, vol. 93, n. 4, p. 421-426, 2009.
- [21] CORBIN, C.; FIDEL, T.; LECLERC, E. A; BARAKZOY, E.; SAGOT, N.; FALGUIÉRES, A.; RENOUEAU, S.; BLONDEAU, J. P.; FERROUD, C.; DOUSSOT, J.; LAINÉ, E.; HANO, C. Development and validation of an efficient ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from flax (*Linum usitatissimum* L.) seeds. *Ultrason Sonochem*, vol. 26, p. 176-185, 2015.
- [22] CARRERA, C.; RODRÍGUEZ, A. R.; PALMA, M.; BARROSO, C. G. Ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from grapes. *Anal Chim Acta*, vol. 732, p. 100-104, 2012.
- [23] SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELARAVENTÓS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocateau reagent. *Method Enzymol*, vol. 299, p. 152-178, 1999.
- [24] BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “Antioxidant Power”: The FRAP assay. *Anal Biochem*, vol. 239, n. 1, p. 70-76, 1996.
- [25] BRAND-WILIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Sci Technol*, vol. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

- [26] GUITESCU, R.; VOLF, I.; CARAUSU, C.; BUHLMANN, A.; GLICA, I.A.; POPA, V. I. Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from spruce wood bark. *Ultrason Sonochem*, vol. 22, p. 535-541, 2015.
- [27] TABARAKI, R.; HEIDARIZADI, E.; BENVIDI, A. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of pomegranate (*Punica granatum* L.) peel antioxidants by response surface methodology. *Sep Purif Technol*, vol. 98, p. 16-23, 2012.
- [28] WANG, J.; SUN, B.; CAO, Y.; TIAN, Y.; LI, X. Optimisation of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from wheat bran. *Food Chem*, vol. 106, n. 2, p. 804-810, 2008.
- [29] TABARAKI, R.; RASTGOO, S. Comparison between conventional and ultrasound-assisted extractions of natural antioxidants from walnut green husk. *Korean J Chem Eng*, vol. 31, n. 4, p. 676-683, 2014.
- [30] GHAFLOOR, K.; CHOI, H. C.; JEON, J. Y.; JO, I. H. Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds, antioxidants, and anthocyanins from grape (*Vitis vinifera*) seeds. *J Agr Food Chem*, vol. 57, n. 11, p. 4988-4994, 2009.
- [31] LI, W.; ZHANG, M. W.; ZHANG, R. F.; DENG, Y. Y.; WEI, Z. C.; ZHANG, Y.; TANG, X. J. Phenolic profiles and antioxidant activity of Litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) fruit pericarp from different commercially available cultivars. *Molecules*, vol. 17, n. 12, p. 14954-14967, 2012.
- [32] AMORIM, K. A.; OLIVEIRA, A. L. M.; VIEIRA, E. C. S.; GARCIA, L. G. C.; DIAS, L. G.; PAULA, L. C.; ORTIZ, D. W.; DAMIANI, C. Análise da atividade antioxidante da casca de Lichia (*Litchi chinensis*). *Rev Biotecnol Ciênc*, vol. 4, n. 1, p. 1-1, 2015.
- [33] LIU, S. C.; LIN, J. T.; WANG, C. K.; CHEN, H. Y.; YANG, D. J. Antioxidant properties of various solvent extracts from lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) flowers. *Food Chem*, vol. 114, n. 2, p. 577-581, 2009.