



OTIMIZAÇÃO DA EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA (SPE) E PARA DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA PARA PURIFICAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DE BRIÓFITAS

Paulo Vitor Nunes da Costa de Souza¹; Filipe Mangabeira Resende²; Giovanna Rodrigues de Freitas Lima³; Luiza da Silva Lima⁴; Silvia Keli de Barros Alcanfôr⁵; Fabiana Casarin⁶

¹Programa de Iniciação Científica/UCB; ²Discente de graduação/UCB; ³Discente de graduação/UCB;

⁴Discente de graduação/UCB; ⁵Troplia Ltda.; ⁶Docente/UCB.

E-mail: paulovitor.nunes02@gmail.com; Filipe.resende@a.ucb.br; lima.giovanna@outlook.com.br; luizasvlima@gmail.com; silviaalcanfor@gmail.com; fabiana.casarin@p.ucb.br

RESUMO

A extração em fase sólida (SPE) é uma estratégia relevante para purificação e pré-concentração de metabólitos bioativos presentes em matrizes vegetais complexas. Este estudo teve como objetivo estruturar e otimizar uma metodologia de SPE aplicada a extratos de briófitas, empregando planejamento experimental para avaliar variáveis críticas do processo. Como etapa preliminar de controle da matriz, foi aplicado delineamento fatorial completo 2² para investigar temperatura e tempo de secagem, utilizando compostos fenólicos totais como resposta. A curva de Folin-Ciocalteu apresentou R² > 0,99 e RSD < 5%. A temperatura de 90 °C reduziu o teor de fenólicos, enquanto 40 °C associada a 24 h preservou melhor a resposta. Em razão da reforma estrutural do laboratório, os testes completos de SPE foram postergados, sendo priorizadas a fundamentação metodológica, a definição dos fatores do planejamento e a organização dos protocolos para continuidade e validação do método.

Palavras-chave: Extração em fase sólida. Briófitas. Planejamento experimental.

INTRODUÇÃO

As briófitas constituem fontes promissoras de metabólitos secundários, incluindo flavonoides, terpenoides, ácidos fenólicos, bibenzilas e bisbibenzilas, moléculas relacionadas à adaptação das plantas a condições ambientais adversas e com potencial antioxidante, antimicrobiano e farmacológico (Asakawa & Ludwiczuk, 2018). Entretanto, a exploração desse potencial depende de procedimentos analíticos capazes de preservar, separar e concentrar os compostos de interesse em matrizes vegetais de elevada complexidade.

Extratos de briófitas podem conter proteínas, polissacarídeos, pigmentos e outros interferentes que prejudicam a resposta espectrofotométrica e a separação cromatográfica. A extração em fase sólida (SPE) é particularmente útil nesse contexto por permitir limpeza, fracionamento e pré-concentração dos analitos com menor consumo de solventes e maior seletividade do que procedimentos convencionais de preparo de amostras (Ötles & Kartal, 2016; Mencin et al., 2021). A eficiência da SPE, contudo, depende de fatores como natureza do sorvente, pH da amostra, força de eluição, composição do solvente e volume aplicado.

O projeto original propôs avaliar simultaneamente esses fatores por planejamento experimental, evitando a otimização univariada, que não identifica adequadamente interações entre variáveis. A aplicação de delineamentos fatoriais permite estimar efeitos principais e interações, reduzir o número de experimentos e orientar etapas posteriores de otimização por superfície de resposta (Neto et al., 2010). Além disso, o controle das condições de pré-tratamento da biomassa é



necessário para que a otimização da SPE seja realizada sobre uma matriz quimicamente preservada e reprodutível.

OBJETIVO

Otimizar as condições da extração em fase sólida (SPE) para compostos polares e apolares de briófitas, aplicando planejamento experimental para definir os parâmetros mais eficientes de purificação e estruturar um protocolo reprodutível, seletivo e compatível com posterior caracterização dos metabólitos bioativos.

MÉTODO

O estudo integra duas etapas complementares. A primeira correspondeu ao controle pré-analítico da biomassa, avaliando o impacto da secagem sobre compostos fenólicos totais. Foi empregado delineamento fatorial completo 2^2 , com temperatura de secagem em 40 e 90 °C e tempo de 6 e 24 h. O teor de compostos fenólicos totais foi determinado pelo método de Folin-Ciocalteu, com leitura a 765 nm e expressão em equivalentes de ácido gálico. O modelo linear considerado para a triagem foi $Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \varepsilon$, em que Y representa a resposta, X_1 e X_2 os fatores estudados, β os coeficientes e ε o erro experimental.

Na segunda etapa, correspondente ao objetivo central do projeto, foi estruturado um planejamento fatorial completo 2^4 para a SPE, considerando fase estacionária (C18 ou sílica normal), solvente de eluição (metanol ou acetonitrila), proporção orgânica na eluição (20 ou 80%) e pH da amostra (3,5 ou 7,0), mantendo-se fixos massa do cartucho, vazão e volume de extrato de 10 mL. O procedimento foi organizado em condicionamento do sorvente, carregamento da amostra, lavagem para remoção de interferentes e eluição dos compostos retidos. As respostas planejadas incluem fenólicos totais, flavonoides, eficiência de remoção de interferentes e desempenho posterior em UV-Vis/HPLC. A análise estatística foi prevista por ANOVA e modelagem em R ou Octave.

RESULTADOS

Os resultados parciais demonstraram que a etapa de pré-tratamento térmico influencia diretamente a integridade química da biomassa. A curva analítica empregada na determinação dos fenólicos apresentou coeficiente de determinação superior a 0,99 e repetibilidade adequada, com RSD inferior a 5%. A temperatura foi o fator mais crítico: a condição de 90 °C promoveu redução consistente da resposta de compostos fenólicos, enquanto 40 °C apresentou maior compatibilidade com sua preservação. O aumento do tempo para 24 h mostrou efeito favorável quando associado à temperatura moderada, sugerindo que a remoção de umidade pode beneficiar a extração sem impor degradação térmica severa. A interação temperatura $\times$ tempo não foi significativa dentro da faixa estudada.

A Tabela 1 sintetiza os principais resultados e as implicações metodológicas desta etapa, incluindo a estruturação das variáveis críticas que deverão compor o planejamento da SPE.

Tabela 1

Síntese dos resultados parciais e implicações para a otimização da SPE

Componente avaliado	Resultado/definição parcial	Implicação metodológica
Curva de Folin-Ciocalteu	$R^2 > 0,99$; RSD < 5%	Resposta adequada para a triagem inicial



Temperatura de secagem	90 °C reduziu o teor de fenólicos	Evitar aquecimento severo antes da SPE
Tempo de secagem	24 h foi favorável a 40 °C	Melhor remoção de umidade sem perda acentuada
Interação tempo × temperatura	Não significativa na faixa estudada	Temperatura predominou na etapa de triagem
Planejamento da SPE	Fase, solvente, proporção e pH definidos	Base para o delineamento fatorial 2 ⁴

Nota. Resultados parciais do projeto; a SPE completa ainda não havia sido executada no período avaliado.

Fonte: Elaboração dos autores a partir do relatório parcial (2026).

A execução integral dos testes de SPE foi temporariamente limitada pela reforma estrutural do Bloco M, que aumentou a presença de poeira, vibração e circulação de materiais nas proximidades do laboratório. Considerando a sensibilidade de pesagens, preparo de padrões, cartuchos de SPE e leituras espectrofotométricas, optou-se por postergar experimentos que poderiam produzir dados comprometidos. Nesse intervalo, foram priorizadas a revisão bibliográfica, a consolidação do DoE, a definição dos fatores e níveis, a organização de protocolos e o planejamento estatístico. Essa decisão preservou a rastreabilidade analítica e evitou desperdício de reagentes e retrabalho.

A Figura 1 apresenta o fluxo metodológico estabelecido para a continuidade da purificação por SPE. A sequência evidencia que o desempenho final depende do controle integrado de condicionamento, carregamento, lavagem e eluição, e não apenas da escolha isolada do solvente.

Figura 1

Fluxo metodológico estruturado para a purificação de compostos bioativos por SPE

Fluxo metodológico proposto para a purificação por SPE



Nota. Representação esquemática do procedimento planejado; não corresponde a dados experimentais de SPE concluída.

Fonte: Elaboração dos autores, com base em Ötles e Kartal (2016) e Mencin et al. (2021).

CONCLUSÃO

O estudo permitiu estabelecer bases experimentais e metodológicas para a otimização da SPE aplicada a extratos de briófitas. A triagem do pré-tratamento indicou que a temperatura de secagem constitui variável crítica para preservação dos compostos fenólicos, com redução da resposta em 90 °C e melhor desempenho em condições moderadas. Paralelamente, foram definidos os fatores centrais do planejamento da SPE, incluindo fase estacionária, solvente, proporção orgânica e pH, bem como o fluxo operacional de condicionamento, carregamento, lavagem e eluição. Embora a reforma do laboratório tenha impedido a execução integral da etapa de bancada, o período foi utilizado para



consolidar o delineamento experimental e os protocolos analíticos, fornecendo base reprodutível para a continuidade, otimização multivariada e futura validação do método.

REFERÊNCIAS

- Asakawa, Y., & Ludwiczuk, A. (2018). Chemical constituents of bryophytes: Structures and biological activity. *Journal of Natural Products*, 81(3), 641–660. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.6b01046>
- Kupina, S., Fields, C., Roman, M. C., & Brunelle, S. L. (2018). Determination of total phenolic content using the Folin-C assay: Single-laboratory validation, first action 2017.13. *Journal of AOAC International*, 101(5), 1466–1472. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.18-0031>
- Mencin, M., Mikulic-Petkovsek, M., Veberič, R., & Terpinč, P. (2021). Development and optimisation of solid-phase extraction of extractable and bound phenolic acids in spelt seeds. *Antioxidants*, 10(7), 1085. <https://doi.org/10.3390/antiox10071085>
- Neto, B. B., Scarminio, I. S., & Bruns, R. E. (2010). *Como fazer experimentos: Pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria* (4ª ed.). Bookman.
- Ötles, S., & Kartal, C. (2016). Solid-phase extraction (SPE): Principles and applications in food samples. *Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria*, 15(1), 5–15. <https://doi.org/10.17306/J.AFS.2016.1.1>

Financiamento: CNPq – Projeto BRIOTECH, processo 440916/23-2.