



OTIMIZAÇÃO DA EXTRAÇÃO DE PICEATANNOL E RESVERATROL EM AMOSTRAS DE UVA POR VA-MSPD

Ana Paula Lourenção Zomer¹, Iamim Barbosa de Souza², Joana Schuelter Boeing³, Liane Maldaner⁴

¹Doutoranda, Programa de pós-graduação em Química, Campus Maringá/PR, Universidade Estadual de Maringá-UEM. Bolsa CAPES. anapaulalourencaozomer@gmail.com

²Doutoranda, Programa de pós-graduação em Química, Campus Maringá/PR, Universidade Estadual de Maringá-UEM. iasmimsouza1599@gmail.com

³Professor, Pesquisador, Doutor, Programa de Pós-graduação em Química, Campus Maringá/PR, Universidade Estadual de Maringá-UEM. jsboeing@uem.br

⁴Orientadora, Professora, Doutora, Programa de Pós-graduação em Química, Campus Maringá/PR, Universidade Estadual de Maringá-UEM. lianemaldaner@gmail.com

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi otimizar as condições de extração da VA-MSPD (VA-MSPD, do inglês *vortex-assisted matrix solid phase dispersion*) para a determinação de piceatannol e resveratrol em amostras de uva, com subsequente análise por cromatografia líquida de ultra alta eficiência acoplada a espectrometria de massas sequencial (UHPLC-MS/MS, do inglês *ultra-high performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry*). Para a otimização das condições de extração foram avaliados os seguintes parâmetros: o sorvente para completa dispersão e homogeneização da amostra, o solvente de extração e o volume do solvente. Os resultados foram expressos em porcentagem de recuperação, porcentagem de efeito matriz (EM) e porcentagem de desvio padrão relativo (RSD, do inglês *relative standard deviation*). As condições otimizadas da VA-MSPD foram definidas como: 30 mg de amostra, 120 mg de C18, tempo de mistura amostra+sorvente de 60 s, 0,30 mL de metanol:acetato de etila (50:50 v/v) e tempo de agitação com vórtex de 60 s. O método VA-MSPD otimizado apresentou recuperações de 100 e 104 %, RSD de 3 e 5 % e valores de EM de -13 e -1 % para o piceatannol e o resveratrol, respectivamente. Baseado nesses resultados, o emprego da VA-MSPD é uma alternativa promissora para a determinação destes compostos antioxidantes em uvas, que é uma das principais fontes naturais destes compostos. Além disso, o método proposto se mostra compatível com análises de rotina, combinando simplicidade, eficiência e reprodutibilidade.

PALAVRAS-CHAVE: Piceatannol; Resveratrol; UHPLC-MS/MS; Uva; VA-MSPD.

1 INTRODUÇÃO

A dispersão da matriz em fase sólida assistida por vórtex (VA-MSPD), é uma versão miniaturizada da MSPD, proposta por Baker *et al.*, (1989). A VA-MSPD vem ganhando notoriedade como técnica de preparo de amostra, especialmente para matrizes sólidas e semi-sólidas, por apresentar vantagens importantes quando comparada com a versão original (Wianowska *et al.*, 2019).

A VA-MSPD compreende duas etapas principais: (i) a amostra e o sorvente são misturados manualmente com auxílio de um pistilo, até que ocorra a completa homogeneização e dispersão da amostra no sorvente formando uma fase única (amostra+sorvente) e (ii) a amostra+sorvente são transferidos para um tubo Falcon e o solvente é adicionado. O tubo Falcon é submetido a agitação por vórtex, seguido de uma etapa de centrifugação. Após a separação de fases, uma alíquota do sobrenadante é recolhida para análise (Arias *et al.*, 2024; Senes *et al.*, 2020; Capriotti *et al.*, 2015).

As principais vantagens apresentadas pela VA-MSPD, que envolve a substituição da etapa de recheamento e eluição da coluna pela agitação por vórtex, são: um contato imediato e efetivo entre a amostra+sorvente e o solvente, favorecendo a eficiência da extração; a realização da extração em uma única etapa; a possibilidade de uma etapa adicional de limpeza; além de ser mais econômica (emprega quantidades



menores de amostra, sorvente e solvente) e mais rápida (emprega menores tempos de extração) em comparação com a MSPD tradicional (Arias *et al.*, 2024; Capriotti *et al.*, 2015; Caldas *et al.*, 2013).

Há relatos de trabalhos utilizando a técnica VA-MSPD para a determinação de hidrocarbonetos policíclicos em camarões (Arias *et al.*, 2024), contaminantes antropogênicos em tecidos de peixe (Soares *et al.*, 2023), cromonas e cumarina em ervas (Zhao *et al.*, 2021), contaminantes biocidas em tecidos de peixe (Vieira *et al.*, 2018), ácidos fenólicos e flavonoides em *Myrciaria cauliflora* (Senes *et al.*, 2020) e halogênios em algas marinhas comestíveis (Malinowski *et al.*, 2022). Entretanto não há relatos na literatura acerca da determinação de estilbenos em uvas, empregando a VA-MSPD.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Amostras de uva vermelha sem semente (Natural flavors; Petrolina-PE) foram lavadas em água corrente, trituradas, colocadas em bandejas de liofilização e armazenadas em freezer a -18°C até o congelamento. Em seguida, as amostras foram liofilizadas por aproximadamente 72 h. Após a liofilização, as amostras foram peneiradas em peneira de 12 mesh, embaladas a vácuo e armazenadas em freezer a -18°C para posterior a análise.

Para a otimização do método de extração por VA-MSPD foram avaliados os seguintes parâmetros: o sorvente para completa dispersão e homogeneização da amostra, o solvente de extração e o volume do solvente. Para isso, primeiramente foram avaliados diferentes sorventes - C18 e sílica - e solventes - metanol (MeOH), acetonitrila (ACN), acetato de etila (ACE), MeOH:ACE (50:50 v/v) e ACN:ACE (50:50 v/v). Após estabelecido o melhor sorvente e solvente para a extração dos compostos, foi avaliado o melhor volume de solvente (0,30, 0,40, e 0,50 mL). Para a otimização das condições de extração por VA-MSPD foram pesados 30 mg de uva liofilizada + 120 mg de sorvente e a mistura amostra+sorvente foi homogeneizada com o auxílio de um pistilo e almofariz por 60 s. Em seguida a mistura foi transferida para um tubo Falcon de 15 mL e foi adicionado o solvente de extração. O tubo foi submetido a agitação com vórtex por 60 s, seguido de centrifugação por 10 min a 4000 rpm e 75 μL do sobrenadante foram coletados para análise por UHPLC-MS/MS.

O método VA-MSPD otimizado consistiu em 30 mg de uva liofilizada e 120 mg de C18 (proporção amostra:sorvente 1:4), tempo de mistura amostra+sorvente de 60 s, 0,30 mL de MeOH:ACE 50:50 v/v e tempo de agitação com vórtex de 60 s.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados da avaliação do tipo de sorvente e solvente de extração foram expressos em % recuperação (% R), % EM e RSD, e estão apresentados na Figura 1.

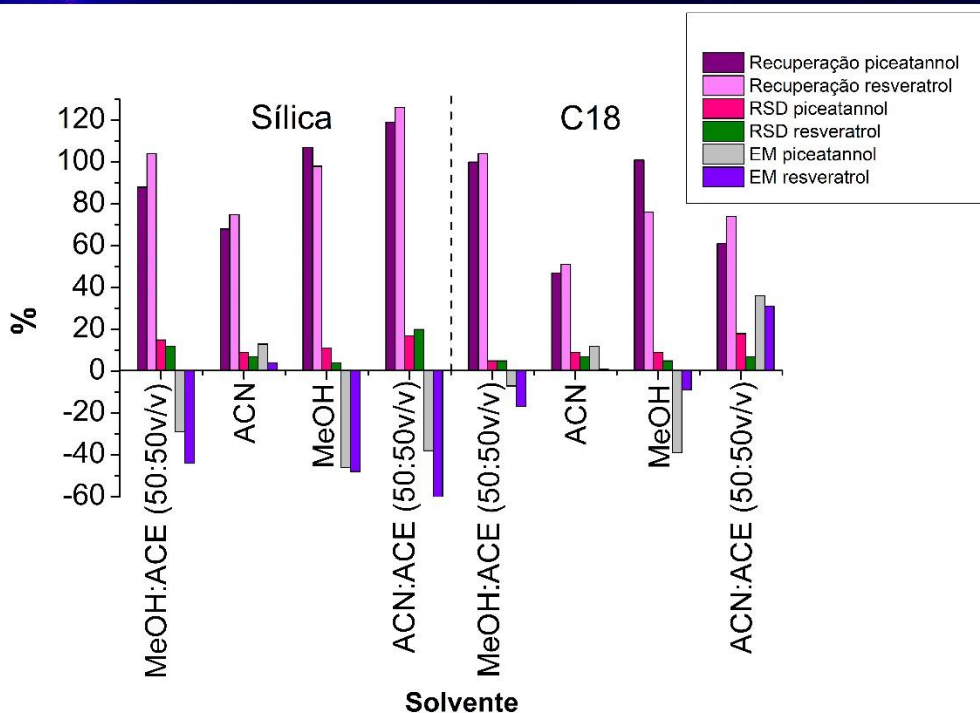


Figura 1: Otimização do método VA-MSPD para avaliação dos diferentes sorventes e solventes de extração. Todos os testes foram realizados em triplicata. A concentração de fortificação das amostras de uva foi de 4 mg kg^{-1} .

A partir dos resultados da Figura 1, pode-se observar que o emprego do sorvente C18 e a combinação dos solventes MeOH:ACE (50:50v/v), foi a condição avaliada que resultou nos melhores resultados de extração para ambos os compostos, apresentando recuperações de 100 e 104 %, RSD de 3 e 5 % e valores de % EM de -13 e -1 para o piceatannol e resveratrol, respectivamente.

Os resultados da avaliação do volume do solvente de extração (MeOH:ACE 50:50 v/v) foram expressos em % recuperação (% R), % EM e RSD e estão apresentados na Figura 2.

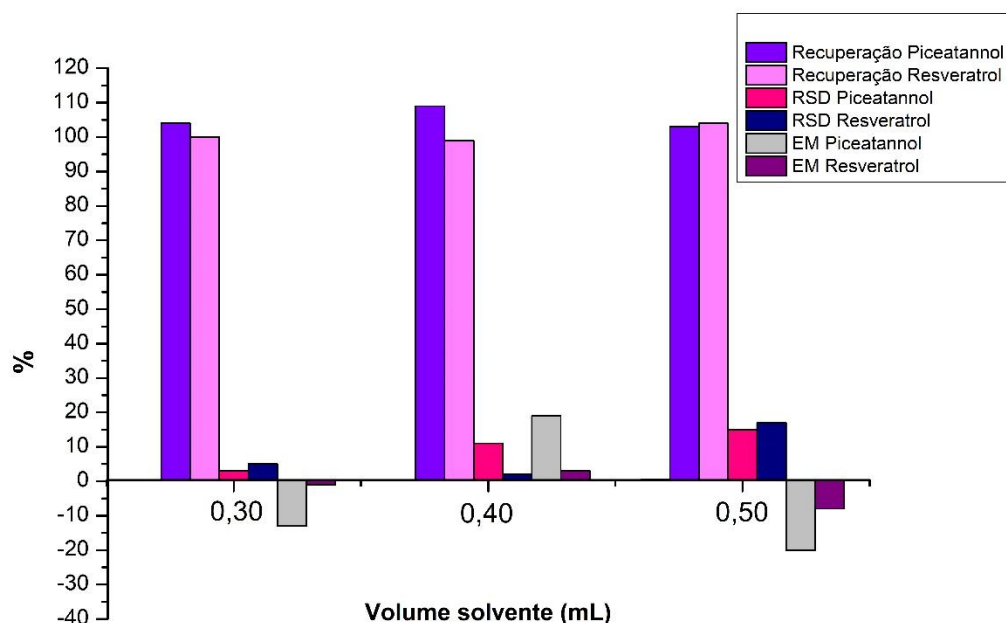




Figura 2: Otimização do método VA-MSPD para avaliação do volume do solvente de extração (MeOH:ACE 50:50 v/v). Todos os testes foram realizados em triplicata. A concentração de fortificação das amostras de uva foi de 4 mg kg⁻¹.

A partir dos resultados da Figura 2, pode-se observar que em todos os testes as recuperações foram satisfatórias para o piceatannol (103 a 109 %) e para o resveratrol (99 a 104 %). Além disso, todos os testes apresentaram resultados satisfatórios de EM < ± 20% e RSD < 20 %, indicando que qualquer um dos volumes poderia ser escolhido. Entretanto, pensando na proposta da técnica VA-MSPD, que se caracteriza por ser uma metodologia miniaturizada, econômica e que busca reduzir o consumo de reagentes e geração de resíduos, optou-se pelo menor volume de solvente testado.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A otimização da técnica VA-MSPD para a extração de piceatannol e resveratrol em amostras de uva demonstrou resultados satisfatórios em termos de recuperação (70 a 120 %), efeito matriz (EM < ± 20%) e RSD (< 20%). A escolha do sorvente C18 e da mistura de solventes metanol:acetato de etila (50:50 v/v), aliada ao menor volume de solvente testado (0,30 mL), resultou em um método eficiente, rápido e com baixo consumo de reagentes. Portanto, o emprego da VA-MSPD é uma alternativa promissora para a determinação de piceatannol e resveratrol em uva, que é uma das principais fontes naturais destes compostos, com potencial para ser aplicada em análises de compostos bioativos em matrizes vegetais diversas.

REFERÊNCIAS

ARIAS, J. L. O.; MEIRELES, A. C. N.; KULZER, J.; OLIVEIRA, L. T.; VALLE, S. L.; BORBA, V. S.; KUPSKI, L.; BARBOSA, S. C.; PRIMEL, E. G. A vortex-assisted MSPD method for the extraction of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons from shrimp with determination by GC-MS/MS. **Journal of Chromatography A**, v. 1734, p. 465307, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2024.465307>. Acesso em 07 out. 2025.

BARKER, S. A.; LONG, A. R.; SHORT, C. R. Isolation of drug residues from tissues by solid phase dispersion. **Journal of Chromatography**, v. 475, p. 353 – 361, 1989. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B0122267702056015>. Acesso em: 07 out. 2025.

CALDAS, S. S.; ROMBALDI, C.; CERQUEIRA, M. B. R.; SOARES, B. M.; PRIMEL, E. G. Avanços recentes da MSPD para extração de resíduos de agrotóxicos, PPCPs, compostos inorgânicos e organometálicos. **Scientia Chromatographica**, v. 5, n.3, p. 190 – 213, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.4322/sc.2014.004>. Acesso em: 07 out. 2025.

CAPRIOTTI, A.L.; CAVALIERE, C.; FOGLIA, P.; SAMPERI, R.; STAMPACHIACCHIERE, S.; VENTURA, S.; LAGANÁ, A. Recent advances and developments in matrix solid-phase dispersion. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 71, p. 186 – 193, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.03.012>. Acesso em: 07 out. 2025.



SENES, C. E. R.; RODRIGUES, C. A.; NICÁCIO, E.; BOEING, J. S.; MALDANER, L.; VISENTAINER, J. V. Determination of phenolic acids and flavonoids from *Myrciaria cauliflora* edible part employing vortex-assisted matrix solid-phase dispersion (VA-MSPD) and UHPLC-MS/MS. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 95, p. 103667, 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0889157520313727>. Acesso em: 07 out. 2025.

SOARES, K. L.; SUNYER-CALDÚ, A.; PRIMEL, E. G.; FILLMAN, G.; DIAZ-CRUZ, S. Distribution in marine fish and EDI estimation of contaminants of emerging concern by vortex-assisted matrix solid-phase dispersion and HPLC-MS/MS. **Marine Pollution Bulletin**, v.187, p. 114530, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2022.114530>. Acesso em: 07 out. 2025.

VIEIRA, A. A.; CALDAS, S. S.; ESCARRONE, A. L. V.; ARIAS, J. L. O.; PRIMEL, E. G. Environmentally friendly procedure based on VA-MSPD for the determination of booster biocides in fish tissue. **Food Chemistry**, v. 242, p. 475 – 480, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.09.085>. Acesso em: 07 out. 2025.

WIANOWSKA, D.; GIL, M. New insights into the application of MSPD in various fields of analytical chemistry. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 112, p. 29 – 51, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.12.028>. Acesso em: 07 out. 2025.

ZHAO, D.; WANG, L.; DU, K.; BOADI, E. O.; LI, J.; TIAN, F.; CHANG, Y-X. A sustainable vortex-assisted matrix solid phase dispersion for the simultaneous extraction of five active components from *Saposhnikovia Radix*. **Sustainable Chemistry and Pharmacy**, v. 24, p. 100524, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scp.2021.100524>. Acesso em: 07 out. 2025.