

May 26, 2025

Version 1

Protocolo de Extração de Biomassa de Coleções V.1

DOI

<https://dx.doi.org/10.17504/protocols.io.8epv5o896g1b/v1>

Ricardo Borges¹

¹UFRJ

LAABio-IPPN-UFRJ



Ricardo M. Borges

UFRJ

Create & collaborate more with a free account

Edit and publish protocols, collaborate in communities, share insights through comments, and track progress with run records.

Create free account

OPEN  ACCESS



DOI: <https://dx.doi.org/10.17504/protocols.io.8epv5o896g1b/v1>

Protocol Citation: Ricardo Borges 2025. Protocolo de Extração de Biomassa de Coleções. **protocols.io**
<https://dx.doi.org/10.17504/protocols.io.8epv5o896g1b/v1>

License: This is an open access protocol distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](#), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited



Protocol status: In development

We are still developing and optimizing this protocol

Created: May 26, 2025

Last Modified: May 26, 2025

Protocol Integer ID: 218977

Keywords: trituração do material vegetal seco, preparation of extract, dried plant material, centrifugação, extraction, agitação, plantas medicinais adquiridas comercialmente, extract, plant material, material vegetal seco, extração, biomassa, trituração do, extração com etanol, ultrassonicação, ultrapure water, plant, para estudos científico, este protocolo descreve, preparation

Abstract

This protocol describes the preparation of extracts from plants. The process involves grinding the dried plant material, extraction with 70% ethanol (HPLC grade) and ultrapure water (Milli-Q), followed by agitation, ultrasound, centrifugation, drying, and storage. The aim is to obtain consistent samples for scientific studies.

Este protocolo descreve a preparação de extratos de plantas medicinais adquiridas comercialmente. O processo envolve a trituração do material vegetal seco, extração com etanol 70% (grau HPLC) e água ultrapura (Milli-Q), seguida de agitação, ultrassonicação, centrifugação, secagem e armazenamento. O objetivo é obter amostras consistentes para estudos científicos.

Materials

- Material vegetal seco 10 g
- Triturador de café
- Tubos Falcon de 50 mL
- Tubos de vidro carbonizado de 13 mL
- Tubos Eppendorf de 1,5 mL
- Vortex
- Banho ultrassônico
- Centrífuga refrigerada
- SpeedVac

Preparação da Solução Extratora

Misture etanol 70% (grau HPLC) com água ultrapura (Milli-Q) na proporção adequada para obter a solução extratora desejada.



Safety warnings



Considerações de Segurança

- **Manuseio de Solventes:** O etanol é inflamável; manuseie-o longe de chamas ou faíscas e em local bem ventilado.
- **Equipamentos de Proteção Individual (EPI):** Utilize luvas, óculos de proteção e jaleco para evitar contato com solventes e material vegetal.
- **Descarte de Resíduos:** Siga as diretrizes adequadas para descarte de resíduos químicos e biológicos.

Preparação do Material Vegetal:

- 1
 - Triture todo o material vegetal seco utilizando um triturador de café até obter um pó homogêneo;
 - Pese e separe 10 gramas para extração em DOIS tubo Falcon de 50 mL: Cada tubo com 5 gramas;
 - Armazene o restante do material triturado em tubos Falcon.

OBS: Trabalhar com lotes de 6 amostras, ou seja, 6 pares de Amostras em tubos Falcon de 50mL!

OBS: Preparar 600 mL da solução Extratora: Etanol 70%.

Primeira Etapa de Extração:

- 2 Adicione 25 mL da solução extratora a cada um dos PARES de tubos contendo 5 g de material vegetal.
 - Agite utilizando um vortex por 15 segundos;
 - Submeta à ultrassonicação por 15 minutos em banho ultrassônico.
- 3 **Centrifugação:**
 - Centrifugue a 10.000 RPM por 10 minutos a 4°C.
- 4 **Coleta do Primeiro Sobrenadante: (verificar)**
 - Transfira 4× 5 mL do sobrenadante para os quatro tubo de vidro com tampa de rosca previamente rotulados.
 - Repita: Transfira mais 4× 5 mL do sobrenadante para os quatro tubo de vidro, somando 10 mL do sobrenadante sendo retirados.

IMP: Cada amostra (cada PAR de 5g de amostra) vai produzir 4 aliquotas que devem ser idênticas.

IMP: Um desses tubos de vidro com tampa de rosca (a cada grupo de 4) esta' tarado para balanço de massa.

OBS: Para 6 pares (6 Amostras), teremos 24 tubo de vidro com tampa de rosca para evaporar!

Segunda Etapa de Extração:

- 5
 - Adicione mais 25 mL da solução extratora aos PARES de tubos ja extraídos.
 - Agite utilizando um vortex por 15 segundos;
 - Submeta à ultrassonicação por 15 minutos em banho ultrassônico.
- 6 **Segunda Centrifugação:**



- Centrifugue a 10.000 RPM por 10 minutos a 4°C.

7 **Coleta do Segundo Sobrenadante: (verificar)**

- Transfira 4× 5 mL do sobrenadante para os quatro tubo de vidro com tampa de rosca previamente rotulados.
- Repita: Transfira mais 4× 5 mL do sobrenadante para os quatro tubo de vidro.

IMP: Cada amostra (cada PAR de 5g de amostra) vai produzir 4 alíquotas que devem ser idênticas.

Alíquota para Análise:

8 **Alíquota para Análise:**

- Separe 500 µL do extrato final (de um dos 4 tubo de vidro com tampa de rosca; Não TARADO) em um frasco de vidro limpo e rotulado para análises como LC-MS, NMR ou LC-DAD.

Secagem:

- 9
 - Evapore 'a secura todos os extratos nos tubos de vidro carbonizado utilizando um SpeedVac (GENIVAC) utilizando o metodo "aquoso".
 - *GENIVAC: limite 24 pares dos tubo de vidro com tampa de rosca*

Armazenamento:

- 10
 - Transfira o extrato seco para tubos Eppendorf e registre o peso para referência.