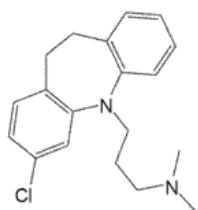


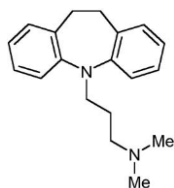
## QUI624 - 3ª PROVA - 22 PONTOS - 03/07/2010

Nome: \_\_\_\_\_

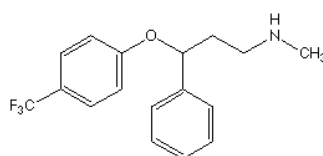
1) Um método cromatográfico foi desenvolvido para determinação dos antidepressivos mais prescritos no Brasil e seus produtos de biotransformação (amitriptilina, imipramina, clomipramina, desmetilclomipramina, desipramina, nortriptilina, fluoxetina, norfluoxetina e sertralina) em sangue total por cromatografia em fase gasosa com detector de nitrogênio e fósforo (DNP). Após um procedimento de extração/separação/evaporação, o extrato foi ressuspensionado em 100,0  $\mu\text{L}$  metanol contendo etidocaína como padrão interno (PI). Após esse procedimento, 2,00  $\mu\text{L}$  foi injetado no cromatógrafo equipado com coluna HP Ultra 2 composta de 5% fenil e 95% metilsiloxano com 25m de comprimento x 0,20mm de diâmetro interno x 0,33 $\mu\text{m}$  de espessura de filme de fase estacionária (apolar). A temperatura do injetor e do detector foi ajustada para 300 °C e 325 °C, respectivamente, e a temperatura da coluna foi programada para 180 °C por 1 min e rampa de 8 °C/min até atingir 250 °C, permanecendo nesta temperatura por 11,5 min. Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) encontrados foram de 0,1mg/L e 0,4mg/L, respectivamente. O método foi preciso, específico e linear na faixa de concentração estudada (do LQ até 12mg/L). O método foi aplicado em amostras de âmbito forense e de emergência clínica.



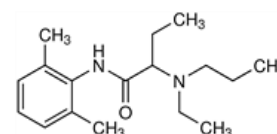
I - clomipramina



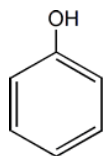
II - imipramina



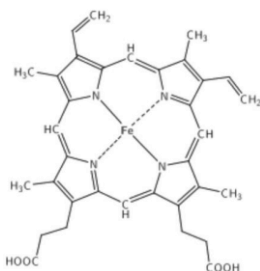
III - fluoxetina



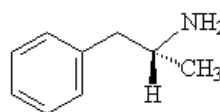
IV - etidocaína (PI)



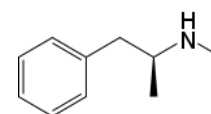
V - fenol



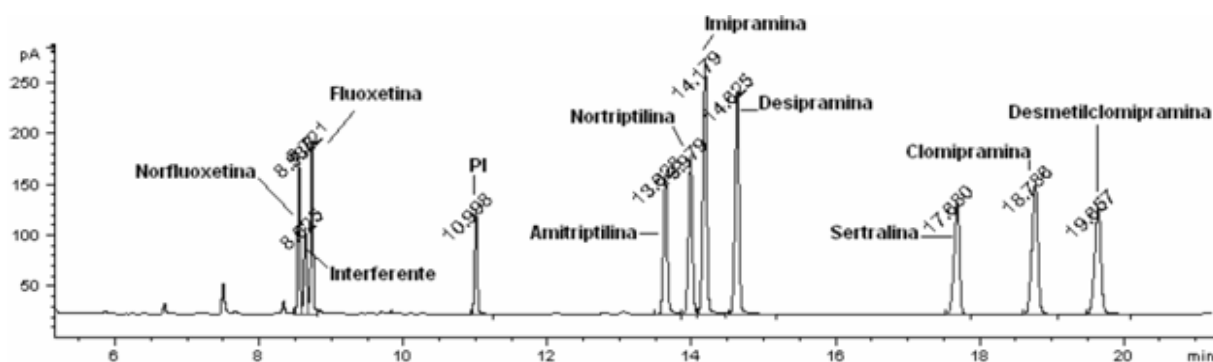
VI - hemoglobina



VII - anfetamina



VIII - metanfetamina



De acordo com o enunciado, com o cromatograma e com as estruturas de I a VIII, mostradas anteriormente, responda as seguintes questões:

I - Com respeito ao método desenvolvido, é **INCORRETO** afirmar:

- a) a troca do detector DNP utilizado por um de captura de elétrons (DCE) aumentaria a sensibilidade da detecção.
- b) o aumento do tamanho da coluna aumentaria o tempo de análise, mas poderia promover a melhor separação dos eluatos com tempos de retenção ao redor de 8,5 min.
- c) a programação linear de temperatura do forno permite uma melhor separação dos constituintes em um tempo menor de análise do que o modo isotérmico.

II - Com respeito ao uso da etidocaína (IV) usada como padrão interno, é **CORRETO** afirmar:

- a) a escolha desta substância como padrão interno foi devida ao fato dela ter em sua estrutura química um anel benzênico como todas as outras.
- b) o uso dela ou de qualquer outra substância como padrão interno tem a finalidade de criar uma referência nos tempos de retenção, já que esses padrões são bem conhecidos e têm tempos de retenção conhecidos.
- c) além de ser uma substância da mesma classe que as demais, seu uso tem a finalidade de corrigir variações nos volumes de injeção ou variações instrumentais.

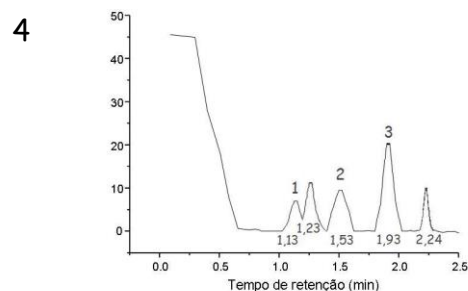
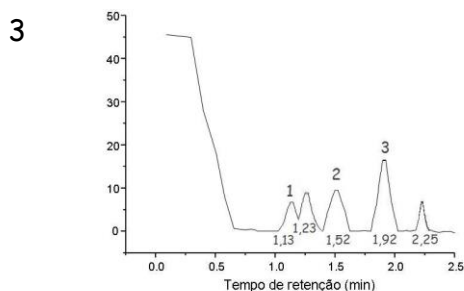
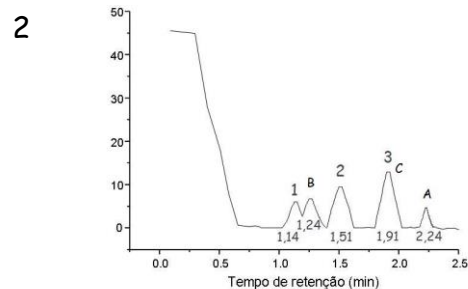
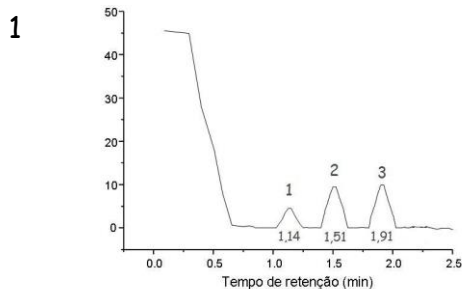
III - Com respeito ao método como um todo, assinale a alternativa **CORRETA**:

- a) o fenol (V), ponto de ebulição 182 °C, sendo mais volátil que as demais substâncias, caso fosse usado como padrão interno, seria detectado em tempo de retenção menor que o PI utilizado.
- b) uma vez que a coluna tem FE apolar, trata-se de uma cromatografia de fase reversa.
- c) As anfetaminas (VII) e metanfetaminas (VIII), se presentes no extrato, poderiam ser detectadas e seu picos cromatográficos teriam tempos de retenção menores que o do PI, já que em uma análise prévia tiveram os tempos de retenção iguais a 4,03 e 4,63 min, respectivamente (mesma coluna; temperatura do injetor 260 °C; temperatura do detector 275 °C; programação de temperatura do forno de 140 °C por 2 minutos, seguida de elevação de 5 °C/min até 190 °C e posterior elevação de 35 °C/min até 270 °C, isotérmico durante 6 minutos nessa temperatura final).
- d) O procedimento de extração/separação/evaporação torna-se necessário, pois o pico da hemoglobina (VI) poderia interferir na detecção dos antidepressivos.

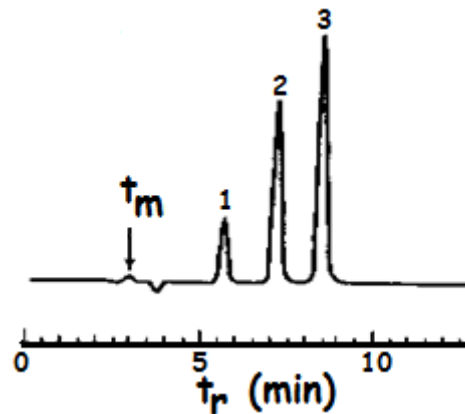
2) Um lote de leite foi recolhido e analisado por haver indícios de estar contaminado com algum dos pesticidas organoclorados mais comuns. Foram analisadas três alíquotas de uma amostra do leite. Inicialmente foi feita uma extração e posterior diluição de 150  $\mu\text{L}$  do extrato obtido do leite em hexano em um balão de 10,00 mL. Em seguida, a 3,00 mL desta solução foram adicionadas alíquotas de 3 padrões de pesticidas organoclorados (A, B e C), conforme tabela abaixo, sendo os volumes completados com hexano em um balão de 10,00 mL. Embora não houvesse necessidade, por comodidade, foi realizada a adição de padrões por não se ter certeza qual dos pesticidas estaria presente. Os valores apresentados correspondem a uma das alíquotas da amostra de leite, uma vez que as demais apresentaram uma diferença de  $\pm 0,2\%$ , com 95% de confiança, em relação a esta. Assim sendo, responda as questões a seguir:

- De acordo com os cromatogramas, qual dos pesticidas (A, B ou C) adicionados corresponde ao contaminante do leite? Explique como você chegou a sua conclusão.
- Calcule a concentração deste pesticida no leite e sabendo que a legislação estipula um máximo de 50 ng de organoclorados por grama de gordura do leite, emita um laudo que servirá de subsídio para os fiscais da ANVISA interditar ou não a comercialização do lote de leite. Cada 100 mL de leite tem em média 3 g de gordura (3% m/v).

Balão 10,00 mL	Concentração de Padrão A Adicionado (mg .L <sup>-1</sup> )	Concentração de Padrão B Adicionado (mg .L <sup>-1</sup> )	Concentração de Padrão C Adicionado (mg .L <sup>-1</sup> )	Área do pico
1	0	0	0	1138
2	1,50	2,00	3,00	1839
3	3,00	4,00	6,00	2557
4	6,00	8,00	9,00	3234

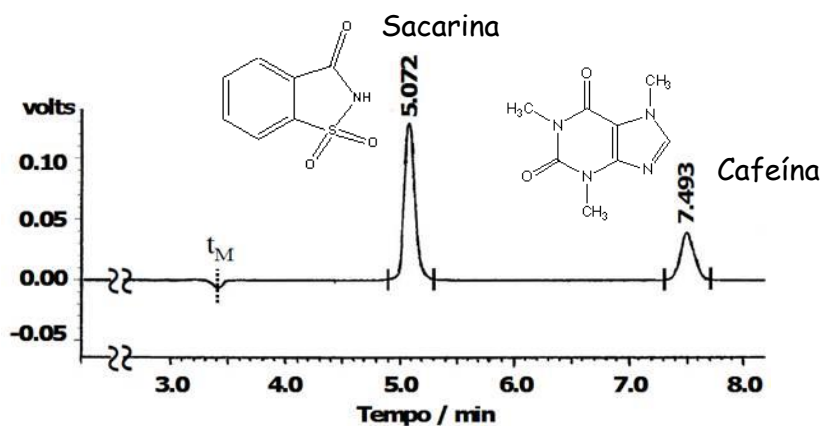


3) Considere o cromatograma ao lado. Admitindo-se que ele foi obtido com uma coluna C18 (FE apolar), por CLAE, e que a mistura que está sendo separada é composta por metanol, benzeno e n-hexanol, pode-se afirmar que o pico 3 corresponde ao n-hexanol? Explique.



4) Considerando que o cromatograma da questão anterior foi obtido com detector de UV, é correto afirmar que o composto 3 é o que apresenta a maior concentração na amostra? Justifique.

5) O cromatograma abaixo mostra a separação de cafeína e sacarina em cromatografia líquida de alta eficiência (fase reversa). Foi utilizada uma coluna com 25 cm de comprimento preenchida com fase estacionária C18 apolar. O modo de eluição foi o isocrático, utilizando como fase móvel uma mistura de tampão fosfato (pH 3,5) e acetonitrila, na proporção 80:20. Um detector por absorção na região do UV (230 nm) foi utilizado.



De acordo com o enunciado, com o cromatograma e com as estruturas da cafeína e da sacarina, julgue se verdadeiro (V) ou falso (F) os itens a seguir:

- ( ) a substituição do detector UV por um detector de índice de refração, que é menos seletivo e por ser universal, faria com que o tempo de retenção da cafeína se aproximasse do tempo de retenção da sacarina.
- ( ) o aumento da polaridade da fase móvel favoreceria uma maior interação dos solutos com a FE, fazendo com que o tempo de retenção aumentasse.
- ( ) o uso da espectrometria de massas acoplada ao cromatógrafo, no modo íons totais, não traria nenhuma melhoria na detecção dos dois constituintes.