

Plano de Ensino – 2022.1*

*Plano de ensino prevendo o retorno ao ensino com aulas presenciais. Em caso de necessidade é possível retornar imediatamente as aulas com emprego de meios digitais.

Código: FMC510046-41000242DO/ME

Nome da disciplina: Cromatografia líquida aplicada à análise de drogas e a outras substâncias bioativas.

Nº de Créditos: 3

Total Horas-Aula:45

Docentes:

Prof. Rui Daniel S Prediger (Coordenador do PPG em Farmacologia)

Ministrante: Prof. Anicleto Poli (email: poli.anicleto@ufsc.br)

Semestre/Ano: 1/2022

Período: 04/05/2022 a 29/06/2022

Horário: Quarta-feira, das 08:30 às 11:30 h ou a combinar (conforme cronograma anexo)

Número de vagas: 10

Local das aulas: Sala 14, FMC, CCB, Bloco “D”, térreo. Se houver atividade em Ambiente Virtual de Ensino e Aprendizagem (AVEA) será através da plataforma Big Blue ButtonBN no Moodle (Conferência Web).

Horário e local de atendimento a alunos:

O atendimento será por feita por solicitação do acadêmico ao professor ou através do Fórum da disciplina no Moodle.

Pré-requisitos

Não há. Será dada prioridade aos alunos do programa de pós-graduação em Farmacologia da UFSC.

Ementa:

Princípios gerais de cromatografia líquida – Histórico, conceituação, classificação, mecanismos de separação, fase móvel e estacionária, parâmetros da separação. Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Instrumental utilizado em cromatografia líquida. Desenvolvimento e validação de métodos cromatográficos. Preparo de amostras.

Metodologia de ensino:

Atividades teóricas:

- Aulas teóricas: Serão desenvolvidas presencialmente pelo professor através de exposição oral usando os recursos de slides.
- Seminários: Discussão com os alunos de textos de artigos sobre os assuntos apresentados na forma presencial pelos próprios alunos.
- Aulas teórico/práticas: Os alunos terão uma atividade prática demonstrativa com o objetivo de realizar uma separação cromatográfica e produzir os principais parâmetros da cromatografia. Sobre a atividade teórico/prática o aluno produzirá um relatório que fará parte do seu processo de avaliação de desempenho na disciplina.
- Frequência: A frequência às atividades será computada pela presença nas atividades previstas.

Avaliação:

- A avaliação será feita pela apresentação de seminário e pela participação das atividades teórico/práticas com a elaboração de relatórios;
- O valor de cada avaliação será discutido com os alunos no início do curso, quando da apresentação do Plano de Ensino.

De acordo com normas vigentes da UFSC (Resolução 017/CUn/97), a média da nota para aprovação é 6,0, ficando para recuperação o aluno que obtiver média entre 3,0 e 6,0.

- Recuperação: A recuperação consistirá de atividades didático-pedagógicas executadas pelo aluno, sob a orientação do professor, durante um período de tempo, destinadas a adquirir competências sobre conteúdos em que não obteve rendimento suficiente, de modo a capacitá-lo para realizar uma nova avaliação.
- Nova avaliação: Após as atividades de recuperação uma nova avaliação será realizada sobre os conteúdos para os quais não obteve suficiência anteriormente.

Conteúdo Programático e Cronograma:

I - PRINCÍPIOS GERAIS DE CROMATOGRAFIA.

1 - Introdução. 2 - Histórico. 3 – Classificação da cromatografia. 4 – Mecanismos de interação 5 - Terminologia geral. 6 – Características da fase móvel (Componente forte e fraco), mistura de solventes – água, tampões, acetonitrila, metanol, dioxana, n-hexano, n-heptano, álcool isopropílico, tetrahidrofurano, pH e força iônica. 7 - Características da fase estacionária (recheio) – materiais, estrutura, forma, tamanho das partículas, porosidade das partículas, resistência, eficiência cromatográfica, aplicabilidade. 8 - Características das colunas. 9 – Características da eluição (corrida) – Velocidade de fluxo, eluição isocrática, eluição por gradiente, volume morto, tempo de retenção, temperatura. 10 – Propriedades do analito (soluto ou composto de interesse), identificação e quantificação. 11 – Injeção da amostra – Efeito de volume e carga (massa). 12 - Características do cromatograma – banda, pico (base, altura, área, largura, ombro, cauda. 13 - Parâmetros qualitativos da separação cromatográfica - razão de distribuição das massas ou fator de capacidade (k'), fator de separação (α , alfa), retenção relativa, resolução, eficiência, seletividade, repetibilidade. 14 – Aparelhagem.

II - CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE).

1- Princípios de CLAE. 2 – As técnicas da CLAE. 3 – Características das fases móveis usadas em CLAE.

4 - Características das fases estacionárias usadas em CLAE. 5 - Características das colunas usadas em CLAE.

III - INSTRUMENTAL UTILIZADO EM CROMATOGRAFIA LÍQUIDA

A - Instrumentos: 1. Bombas, 2. desgaseificadores, 3. Fornos para colunas, 4. Válvulas de injeção, 5. Auto-injetores, 6. Registradores, integradores e softwares, 7. Detectores (de espectrometria UV – Vis, de Fluorescência, de Índice de refração, Eletroquímico, de espectrometria de massa.

Sobre os detectores: 1. O detector ideal, 2. Princípio de operação, 3. Limite de detecção. 4. Faixa de Linearidade, 5. Tipo e Volume de Cella, 6. Sensibilidade à temperatura, 7. Sensibilidade à vazão de fase móvel e suporte a gradiente, 8. Aplicabilidade.

B - Métodos de Ionização de moléculas: 1. Por impacto de elétrons, 2. Foto-ionização, 3. bombardeamento de íons, 4. bombardeamento com partículas neutras, 5. por eletro-nebulização (ESI), 6. térmica (íon + e -), 7. de campo, 8. química e 9. termo-nebulização.

C - Analisadores de massa: 1. O analisador magnético, 2. O time-of-flight (TOF), 3. O de ressonância Cyclotron e 4. O quadrupolo.

IV – DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS

1. Introdução. 2. Seleção do ensaio e desenvolvimento de métodos cromatográficos. 3. Protocolo Experimental Analítico - (POPs). 3. Qualidade do método. 4. Recuperação analítica. 5. Recuperação do padrão interno. 6. Padronização. 7. Padrão externo e interno. 8. Seletividade/especificidade. 9. Calibração: Curva de calibração, linearidade e tratamentos dos dados. 10. Sensibilidade: limite de detecção e quantificação. 11. Exatidão (viés). 12. Precisão (variabilidade) 13. Repetibilidade. 14. Reprodutibilidade. 15. Controle de Qualidade (amostras). 16. Estabilidade. 17. Re-ensaios (Repetições). 18. Robustez. 19. Registros e documentos e sua guarda.

V – PREPARO DE AMOSTRAS

1. Extração e purificação/concentração do analito na amostra. 2. Extração líquido-líquido. 3. Extração em fase sólida. 4. Extração com membranas. 4. Automação no preparo de amostras.

VI - ATIVIDADES TEÓRICO/PRÁTICAS DE LABORATÓRIO

1. Demonstração da influência da composição da fase-móvel, da velocidade de fluxo, do pH e da temperatura sobre os parâmetros de separação de drogas (padrões) por HPLC de fase-reversa com detecção UV.
2. Preparo de curva de calibração de um analito (droga) e análise por HPLC.
 - 2.1. Otimização das condições de análise para o analito pela injeção de padrões no HPLC.
 - 2.2. Preparo de Curva de Calibração e modos de diluição.
 - 2.3. Análise, coleta e tratamento dos resultados e elaboração de relatório.

CRONOGRAMA DE ATIVIDADES

Data/Aula	Detalhamento do conteúdo
1º dia 04/05/2022 Aula 1	I - Princípios gerais de cromatografia. Apresentação da disciplina; Introdução; Histórico; Classificação da cromatografia; Mecanismos de interação; Terminologia geral. Características da fase móvel; Características da fase estacionária; Características das colunas; Características da eluição; Propriedades do analito; Injeção da amostra; Características do cromatograma; Parâmetros qualitativos da separação cromatográfica.
2º dia 11/05/2022 Aula 2	II - Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Princípios de CLAE; As técnicas da CLAE; Características das fases móveis usadas em CLAE; Características das fases estacionárias usadas em CLAE; Características das colunas usadas em CLAE.
3º dia 18/05/2022 Aula 3	III - Instrumental utilizado em cromatografia líquida (I) Bombas; Desgaseificadores; Fornos para colunas, Válvulas de injeção; Auto-injetores; Registradores, integradores e softwares. Detectores (de espectrometria UV – Vis, de Fluorescência, de Índice de refração, Eletroquímico, de espectrometria de massa).
4º dia 25/05/2022 Aula 4	IV - Desenvolvimento e validação de métodos cromatográficos (I) Introdução; Seleção do ensaio e desenvolvimento de métodos cromatográficos; Protocolo Experimental Analítico - (SOPs); Qualidade do método; Recuperação analítica; Recuperação do padrão interno; Padronização; Padrão externo e interno; Seletividade; Calibração: Curva de calibração, linearidade e tratamentos dos dados; Sensibilidade: limite de detecção e quantificação. Exatidão (viés); Precisão (variabilidade); Repetibilidade; Reprodutibilidade; Controle de Qualidade (amostras); Estabilidade; Robustez; Re-ensaios (Repetições); Re-análise; Registros e documentos e sua guarda
5º dia 01/06/2022 Aula 5	V – Preparo de amostras 1. Extração e purificação/concentração do analito na amostra. 2. Extração líquido-líquido. 3. Extração em fase sólida. 4. Extração com membranas. 4. Automação no preparo de amostras.

6º dia 08/06/2022 Aula 6	VI – ATIVIDADE TEÓRICO/PRÁTICA
7º dia 15/06/2022 Aula 7	VIII – SEMINÁRIO 1 – Discussão de artigos.
8º dia 22/06/2022 Aula 8	IX - SEMINÁRIO 2 – Discussão de artigos
9º dia 29/06/2022 Aula 9	X - Discussão dos relatórios, avaliação geral e encerramento da disciplina.

Bibliografia Recomendada e links de interesse:

- 1) COLLINS, C. H., BRAGA, G. L. & BONATO, P. S. Introdução a métodos cromatográficos. Campinas, Editora da UNICAMP, 1993, p. 218-223.
- 2) SNYDER, L. R., GLAJCH, J. L. & KIRKLAND, J. J. Practical HPLC method development. New York, John Wiley & Sons Inc., 1988.
- 3) WILLIS, W. V. Laboratory experiments in liquid chromatography. Boca Raton, CRC Press Inc., 1991.
- 4) VICKREY, T. M. (Editor) Liquid chromatography detectors. New York, Marcel Dekker Inc. 1983.
- 5) AGUILAR M. I. HPLC of Peptides and Proteins. Methods and Protocols. Totowa, New Jersey, Humana Press Inc., 2004.
- 6) SAMANIDOU, V. (Editor). Solid Phase Extraction: State of the Art and Future Perspectives. <https://www.mdpi.com/books/pdfview/book/1408>. Acesso em 12/08/2020.

Observação: A Resolução Normativa de 21 de julho de 2020 Art.14, §2º dispõe que bibliografia principal das disciplinas deverá ser pensada a partir do acervo digital disponível na Biblioteca Universitária, como forma de garantir o acesso aos estudantes, ou, em caso de indisponibilidade naqueles meios, os professores deverão disponibilizar versões digitais dos materiais exigidos no momento de apresentação dos projetos de atividades aos departamentos e colegiados de curso.

Este Plano de Ensino foi aprovado pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia em 15/03/2022.