

## Plano de Ensino – 2025.1

**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. José Eduardo da Silva Santos (Coordenador do PPG em Farmacologia)

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

**Semestre/Ano:** 1/2025

**Período:** 03/04/2025 a 05/06/2025

**Horário:** Quinta-feira, aulas presenciais das 08:30 às 11:30 h ou a combinar (conforme cronograma anexo)

**Número de vagas:** 10

**Local das aulas:** Sala CCB-PG 01, Bloco “A”, Antigo MIP, térreo ou "a reservar"

**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 do cromatograma – banda, pico (base, altura, área, largura, ombro, cauda. 7 - Parâmetros qualitativos da separação cromatográfica – seletividade, tempo de retenção, razão de distribuição das massas ou fator de capacidade ( $k'$ ), fator de separação ( $\alpha$ , alfa), eficiência e resolução.

### **II - CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE).**

1- – Características das fases móveis usadas em CLAE. 2 – 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. 3 - Características da fase estacionária (recheio) – materiais, estrutura, forma, tamanho das partículas, porosidade das partículas, resistência, eficiência cromatográfica, aplicabilidade. 4 - Características das colunas – materiais, tamanho, composição. 5 – Características da eluição (corrida) – Velocidade de fluxo, eluição isocrática, eluição por gradiente, temperatura. 6 – Propriedades do analito (soluto ou composto de interesse), identificação e quantificação. 7 – Injeção da amostra – Efeito de volume e carga (massa).

### **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<br>03/04/2025<br>Aula 1 | I - Princípios gerais de cromatografia.<br>Apresentação da disciplina; Introdução; Histórico; Classificação da cromatografia; Mecanismos de interação. Características do cromatograma. Parâmetros qualitativos da separação cromatográfica – seletividade, tempo de retenção, fator de capacidade ( $k'$ ), fator de separação ( $\alpha$ , alfa), eficiência e resolução.                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| 2º dia<br>10/04/2025<br>Aula 2 | II- Características da fase móvel - Solventes e Sais, Características da fase estacionária - materiais, formas, tamanho e porosidade das partículas ; Características das colunas; Características da eluição; Propriedades do analito; Injeção da amostra.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| 3º dia<br>17/04/2025<br>Aula 3 | III - Instrumental utilizado em cromatografia líquida (I)<br>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<br>24/04/2025<br>Aula 4 | IV - Desenvolvimento e validação de métodos cromatográficos (I)<br>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.<br>Exatidão (viés); Precisão (variabilidade); Repetibilidade; Reprodutibilidade;<br>Controle de Qualidade (amostras); Estabilidade; Robustez; Re-ensaios (Repetições); Re-análise; Registros e documentos e sua guarda. |
| 01/05/2025                     | Feriado – Dia do trabalho                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| 5º dia<br>08/05/2025<br>Aula 5 | V – Preparo de amostras<br>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<br>15/05/2025<br>Aula 6 | VI – ATIVIDADE TEÓRICO/PRÁTICA                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |

|                                |                                                                                                                            |
|--------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 7º dia<br>22/05/2025<br>Aula 7 | VII – ATIVIDADE TEÓRICO/PRÁTICA                                                                                            |
| 8º dia<br>29/05/2025<br>Aula 8 | VIII – SEMINÁRIO 1 – Discussão de artigos.                                                                                 |
| 9º dia<br>05/06/2025<br>Aula 9 | IX - SEMINÁRIO 2 – Discussão de artigos<br><br>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.

---

Prof. Anicleto Poli  
Ministrante

Aprovado pelo Colegiado da PGFMC em ...../...../.....  
Coordenador PG