



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
Concurso Público para provimento de vagas de cargos Técnico-Administrativos – Edital 342/2013
Chave de Correção da Prova Prática

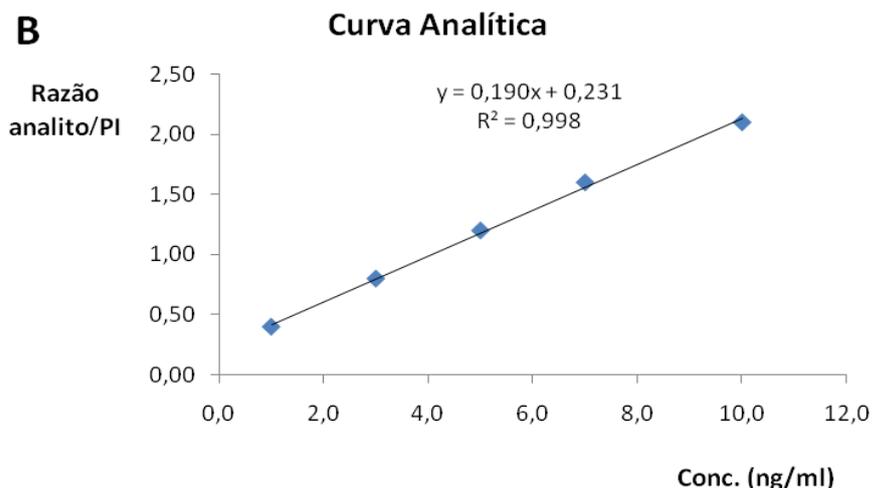
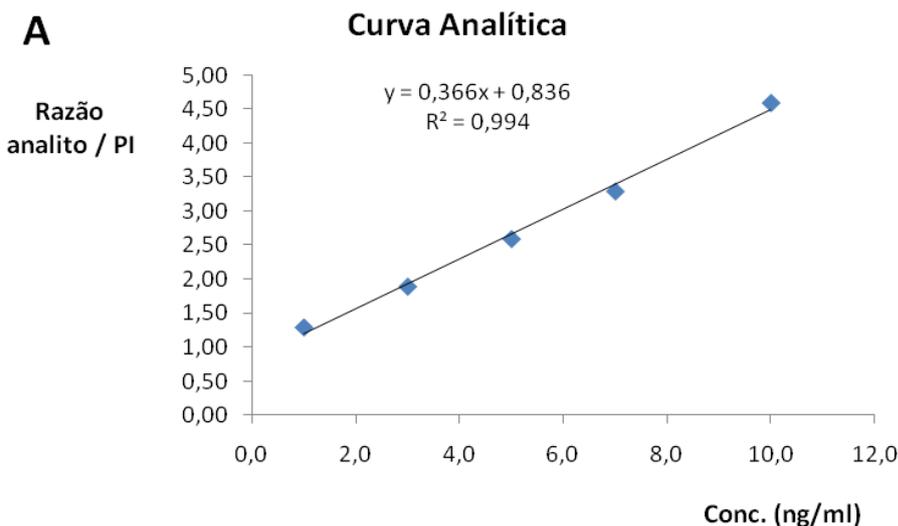
Cargo:
E-24 - Tecnólogo - Farmácia - Análise de agentes dopantes não esteroidais

QUESTÃO 1:

Um agente hipotético "X" é o principal alvo analítico para quantificação quando presente na análise das urinas dos atletas. Tal análise é realizada através da CLUE-EM-EM, com uma coluna C18 de 1,8 μ m X 2,1 mm X 50 mm. Para determinar, quantitativamente, a concentração de "X" na urina do atleta, o primeiro passo é a construção de uma curva analítica de "X", com utilização de padrão interno deuterado ("X-D₃"). A amostra foi preparada em triplicata. A área do analito "X" na amostra e a área do PI ("X-D₃") encontram-se na tabela abaixo.

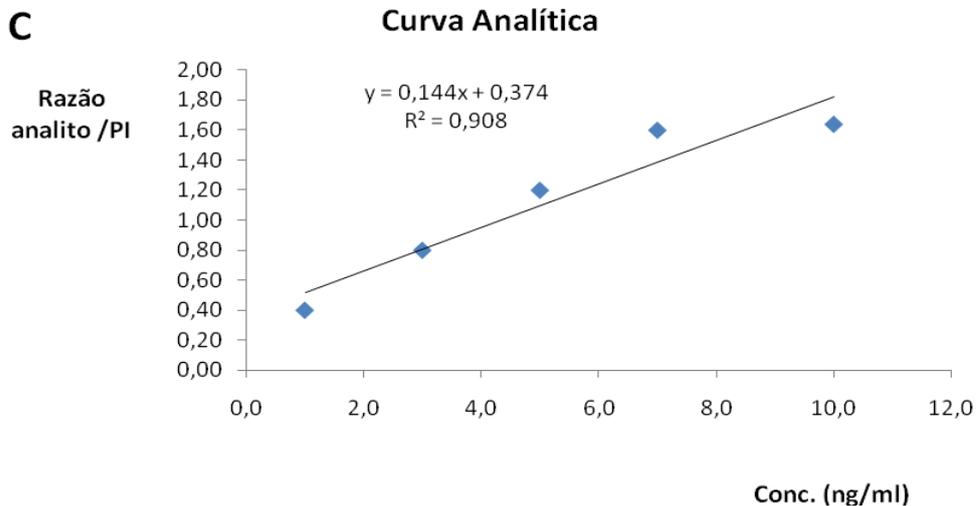
Replicatas	Analito (área)	Padrão interno (área)
Replicata 1	16764	12693
Replicata 2	16015	11948
Replicata 3	16128	12277

As curvas analíticas são apresentadas abaixo:





UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
Concurso Público para provimento de vagas de cargos Técnico-Administrativos – Edital 342/2013
Chave de Correção da Prova Prática



De acordo com o exposto, responda:

Item A) Qual dos três gráficos apresentados é o mais adequado para proceder com a quantificação? Explique sua resposta. Qual a concentração em ng/mL do analito "X" na urina?

Chave de Correção	
Respostas	Qtde de Pontos
Gráfico B. Os valores de razão área analito sobre área do padrão interno estão no centro do gráfico. 5,75 ng/mL.	5

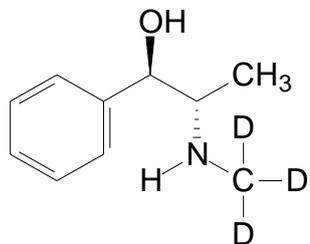
Item B) É possível utilizar qualquer um dos três gráficos para proceder com a quantificação? Explique detalhadamente sua resposta.

Chave de Correção	
Respostas	Qtde de Pontos
Não. Faixa linear de trabalho. Valores da razão analito sobre padrão interno no centro do gráfico.	5

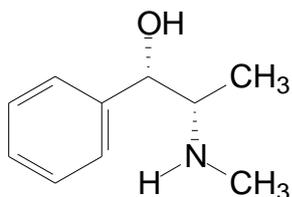


UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
Concurso Público para provimento de vagas de cargos Técnico-Administrativos – Edital 342/2013
Chave de Correção da Prova Prática

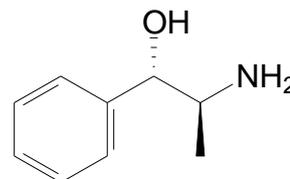
Item C) Para quantificar Efedrina em urina humana e tendo disponível para utilização como padrão interno Efedrina-D3, Pseudoefedrina e Catina (abaixo representados), qual dos três compostos seria selecionado? Apresente ao menos três argumentos, justificando sua escolha.



Efedrina-D3



Pseudoefedrina



Catina

Chave de Correção	
Respostas	Qtde de Pontos
Efedrina-D3. - PI estruturalmente semelhante ao analito alvo. - Fator de resposta do PI deuterado semelhante ao do analito alvo. - Ausência de sinal do PI deuterado na amostra.	5



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
Concurso Público para provimento de vagas de cargos Técnico-Administrativos – Edital 342/2013
Chave de Correção da Prova Prática

Item D) Um analista trabalha com uma fase móvel contendo uma mistura de tampão fosfato de sódio monobásico monohidratado e metanol. Quais são os cuidados necessários no preparo de 1 L de fase móvel contendo uma mistura de tampão fosfato de sódio monobásico monohidratado 0,10mol.L-1 e metanol na proporção (60:40)? Descreva detalhadamente a preparação desta fase.

Chave de Correção	
Resposta	Qtde de Pontos
<ul style="list-style-type: none">- utilizar metanol grau HPLC;- utilizar água Tipo I com valor de condutividade inferior a 20 ohms;- utilizar frasco de borossilicato (geralmente 1L) com tampa específica para armazenar a FM;- pesar em balança analítica, a massa de 8,28 g de fosfato de sódio (deve ter pureza mínima de 90%);- transferir quantitativamente para um Bécher e adicionar água Tipo I;- transferir o conteúdo para uma proveta com volume total de 1000 mL;- lavar o Bécher várias vezes com água Tipo I e seguir transferindo a solução para um cilindro até a lavagem total do Bécher, sempre com volume total inferior a 600 mL;- completar o volume de 600 mL com água Tipo I;- filtrar a solução em equipamento de filtração contendo: kitassato, copo de filtração e garra. Usar filtro para solução aquosa, de nylon ou teflon (0,22 ou 0,45µm).- filtrar separadamente o metanol grau HPLC, com o mesmo procedimento utilizando filtro para solventes orgânicos, celulose ou teflon (0,22 ou 0,45µm).- ou filtrar a mistura Tampão:MeOH com o mesmo procedimento utilizando filtro para solução aquosa, de teflon (0,22 ou 0,45µm).- transferir o conteúdo para um cilindro com volume total de 500 mL, até completar o volume de 400 mL;- transferir os 400 mL de MeOH para o cilindro de 1000 mL contendo a solução tampão e homogeneizar em cilindro fechado;- abrir o cilindro para aliviar a pressão;- observa-se leve aquecimento da solução em função da mistura exotérmica;- transferir a solução para frasco de fase móvel de 1L;- levar a mistura de fase móvel para o ultrassom por cerca de 15 minutos, com a tampa aberta. Respeitar o nível de água do ultrassom e a temperatura de trabalho. Levar o frasco de fase móvel para o reservatório de fase móvel, no sistema CLAE e conectar adequadamente ou- levar a mistura de fase móvel para o reservatório de fase móvel acoplado a degaseificador "on line" no sistema CLAE (com linha de Hélio) e conectar adequadamente.	10

Item E) Quais são os cuidados necessários com o equipamento cromatográfico, quando se utiliza fase móvel contendo a mistura de tampão fosfato 10 mM e metanol na proporção (40:60)?

Chave de Correção	
Resposta	Qtde de Pontos
Passar água do tipo I, no sistema todo após a utilização da FM.	5



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
Concurso Público para provimento de vagas de cargos Técnico-Administrativos – Edital 342/2013
Chave de Correção da Prova Prática

Item F) Como deve ser realizada a preparação de uma fase móvel metanol / água (30:70)? Quais os materiais de laboratório seriam utilizados? Explique detalhadamente, justificando sua resposta.

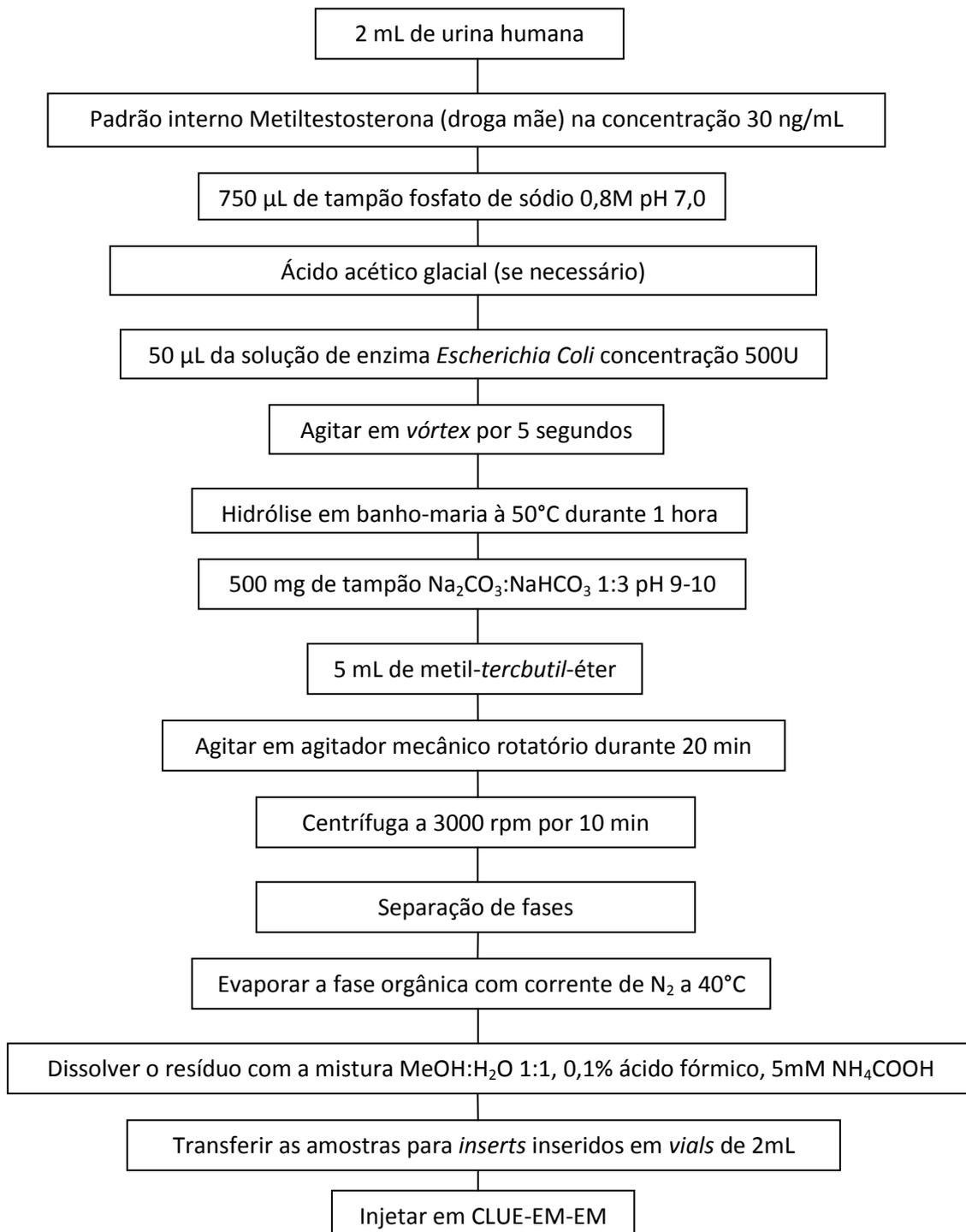
Chave de Correção	
Resposta	Qtde de Pontos
<ul style="list-style-type: none">- 2 provetas graduadas de 1000 mL.- Kitassato.- copo de filtração.- garra.- bomba de vácuo.- membrana filtrante.- cilindro de 1000 mL. <p>Filtrar a água (700 mL) e o metanol (300 mL), com filtros de 0,22 ou 0,45 μm, transferir o metanol para o cilindro contendo água, aliviar a pressão do cilindro, um leve aquecimento será observado (mistura exotérmica). Transferir a mistura para um frasco de vidro borossilicato de 1 L, levar ao ultrassom por cerca de 15 min e conectá-lo ao sistema CLAE.</p>	10



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
Concurso Público para provimento de vagas de cargos Técnico-Administrativos – Edital 342/2013
Chave de Correção da Prova Prática

QUESTÃO 2:

O protocolo de preparação de amostra, para análise de estimulantes para fins de controle de dopagem, envolve uma série de etapas, que exigem conhecimento a respeito das principais técnicas utilizadas em laboratórios que trabalham com fármacos em fluidos biológicos. Considere o fluxograma a e responda as questões a seguir:





UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
Concurso Público para provimento de vagas de cargos Técnico-Administrativos – Edital 342/2013
Chave de Correção da Prova Prática

Item A) Por que se utiliza Metiltestosterona, droga mãe, como padrão interno?

Chave de Correção	
Resposta	Qtde de Pontos
Para avaliar a recuperação do método de extração.	1

Item B) Qual a função do tampão fosfato de sódio 0,8M pH 7,0?

Chave de Correção	
Resposta	Qtde de Pontos
Garantir o funcionamento da enzima <i>E. coli</i> .	1

Item C) Qual a função da hidrólise? A enzima utilizada na etapa de hidrólise é a β -glicuronidase de *Escherichia Coli*, o que essa enzima cliva?

Chave de Correção	
Respostas	Qtde de Pontos
A função da hidrólise é promover a desconjugação dos metabólitos conjugados formados a partir da fase II do metabolismo. A enzima cliva a ligação glicosídica existente entre analito e o ácido glicurônico.	1

Item D) Qual a função do tampão $\text{Na}_2\text{CO}_3:\text{NaHCO}_3$ 1:3? Por que o tampão é utilizado na forma sólida?

Chave de Correção	
Respostas	Qtde de Pontos
Manter o pH das amostras entre 9,0 - 10,0, garantindo que os analitos não estejam na forma ionizada. Promover o "salting out", o que contribui para aumentar a solubilidade do analito na fase orgânica.	1

Item E) Qual o solvente utilizado para extração dos analitos livres (desconjugados)?

Chave de Correção	
Resposta	Qtde de Pontos
<i>terc</i> -butil metil-éter	1



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
Concurso Público para provimento de vagas de cargos Técnico-Administrativos – Edital 342/2013
Chave de Correção da Prova Prática

Item F) Descreva detalhadamente a etapa de separação de fases. Quais os cuidados que devemos ter nessa etapa?

Chave de Correção	
Respostas	Qtde de Pontos
<ul style="list-style-type: none">- Observar se houve completa separação entre as fases (orgânica e aquosa).- Observar se houve a formação de emulsão.- Transferir, com auxílio de pipeta paster, o máximo de fase orgânica, sem remover parte da fase aquosa.	2

Item G) Descreva detalhadamente o preparo da mistura MeOH:H₂O 1:1, 0,1% ácido fórmico, 5mM NH₄COOH.

Chave de Correção	
Resposta	Qtde de Pontos
<p>Em uma proveta de 1000 mL adicionar 700 mL de metanol, em seguida adicionar 1000 µL de ácido fórmico e avolumar até o traço de aferição de 1000 mL com metanol. Filtrar a solução com filtros de solventes orgânicos, celulose ou teflon(0,22 ou 0,45µm), em kitassato com copo de filtração e garra, a vácuo. Em outra proveta de 1000 mL adicionar 700 mL de água tipo I e em seguida adicionar 1000 µL mais 1000 µL de uma solução de formiato de amônio 5M e avolumar até 1000 mL com água do tipo I. Em seguida filtrar a solução com filtros de solução aquosa, de nylon ou teflon (0,22 ou 0,45µm) em kitassato com copo de filtração e garra, a vácuo.</p> <p>Misturar cada uma das fases em cilindro, de acordo com a quantidade desejada, de modo a manter a proporção 1:1. Aliviar a pressão, abrindo o cilindro. Transferir o conteúdo do cilindro para frasco de vidro borossilicato, levar o mesmo ao ultrassom por ao menos 15 minutos e em seguida acoplar o frasco ao CLAE.</p>	3



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
Concurso Público para provimento de vagas de cargos Técnico-Administrativos – Edital 342/2013
Chave de Correção da Prova Prática

QUESTÃO 3:

O espectrofotômetro é um equipamento simples, entretanto muito útil em análises rotineiras nos laboratórios de análises químicas e farmacêuticas. A respeito do espectrofotômetro, considerando uma substância com $\lambda_{\text{máx}}$ em 272 nm, responda as questões abaixo:

Item A) Desenhe o diagrama de bloco de um espectrofotômetro, explicando a função de cada parte do equipamento.

Chave de Correção	
Resposta	Qtde de Pontos
<p>Diagrama de blocos: Fonte-Monocromador-cubeta com amostra-Detector-Estação de trabalho.</p> <p>Fonte – dispositivo responsável por emitir vários comprimentos de onda.</p> <p>Monocromador – dispositivo que seleciona o comprimento de onda que incide sobre a amostra. Os monocromadores mais sofisticados são os que contêm prisma ou rede de difração.</p> <p>Cubeta – contém a amostra, objeto da análise.</p> <p>Detector – É um dispositivo que produz um sinal elétrico quando é atingido por fótons. A resposta de um detector é uma função do comprimento de onda da radiação incidente.</p> <p>Estação de trabalho – Dispositivo utilizado para visualizar a informação obtida durante uma análise.</p>	2,5

Item B) Qual o princípio da técnica?

Chave de Correção	
Resposta	Qtde de Pontos
<p>É uma técnica que utiliza luz para medir concentrações de espécies químicas. Para que essa medição fosse feita, o conjunto fonte-monocromador-amostra tem que estar fechado para evitar a interferência da luz ambiente.</p> <p>A técnica baseia-se no fato de que quando uma radiação atravessa um material ou amostra, uma parte da radiação pode ser absorvida. Como resultado da absorção de energia, átomos ou moléculas passam de um estado de energia mais baixa (estado fundamental) para um estado de energia maior (estado excitado). Ou seja, quando uma molécula absorve energia, um elétron é promovido de um orbital ocupado para um orbital desocupado de maior energia. Em geral, a transição mais provável é do orbital ocupado de maior energia (HOMO) para o orbital desocupado de menor energia (LUMO).</p> <p>A relação entre a luz incidida (I_0) e transmitida (I) pode ser expressa pela lei de Lambert-beer, que relaciona a absorvância com a absorvidade molar da substância, com a concentração da substância na amostra e com o comprimento da cubeta (caminho ótico).</p>	2,5



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
Concurso Público para provimento de vagas de cargos Técnico-Administrativos – Edital 342/2013
Chave de Correção da Prova Prática

Item C) Descreva detalhadamente as etapas necessárias para se proceder com uma medição usando o espectrofotômetro. Considere que o equipamento encontra-se desligado.

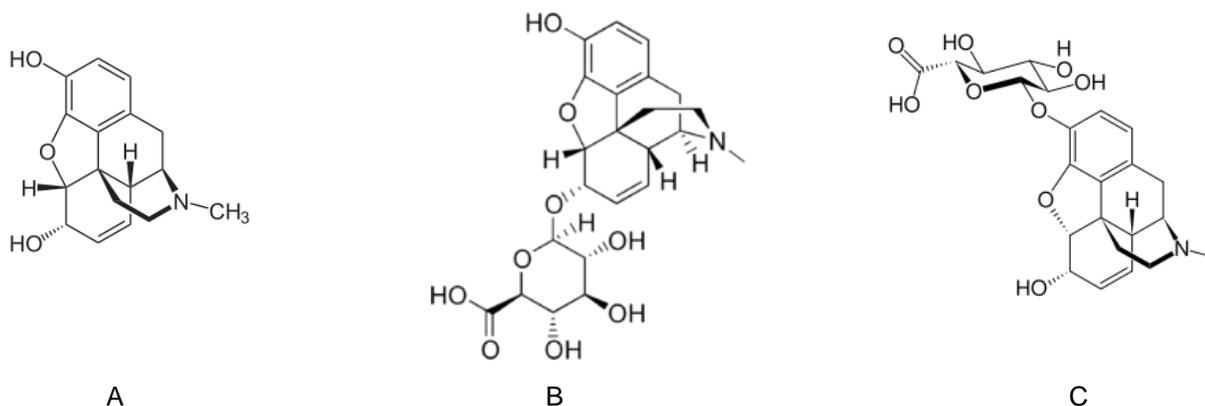
Chave de Correção	
Resposta	Qtde de Pontos
Como a substância absorve em 272 nm, deve-se usar como fonte de luz uma lâmpada de deutério ou hidrogênio, que tem radiação que corresponde a faixa do ultra-violeta. - Ligar o equipamento pelo menos meia-hora antes da utilização. - Deve-se utilizar luvas durante todo o procedimento de modo a evitar que gordura proveniente das mãos do operador, fique aderida a superfície externa da cubeta. - Colocar o solvente na cubeta, limpar a parte externa da cubeta com papel de toalha, tomando cuidado de modo a evitar que resíduos do papel fiquem aderidos a superfície da cubeta. - Ajustar o 100% de transmitância do aparelho com a cubeta contendo somente o solvente utilizado (normalmente água). - Ajustar o 0 (zero) % de transmitância com o feixe de luz totalmente obstruído. - A cubeta é retirada do aparelho e substituída por outra cubeta idêntica, que contem a substância de interesse. - Uma vez o λ máximo da substância de interesse sendo 272 nm deve-se utilizar cubeta de quartzo (material transparente à radiação eletromagnética na região do UV). - Com o comprimento de onda escolhido, fazem-se as medidas de transmitância da substância de interesse. - Calcula-se a absorbância. - Retira-se a cubeta do aparelho.	5



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
Concurso Público para provimento de vagas de cargos Técnico-Administrativos – Edital 342/2013
Chave de Correção da Prova Prática

QUESTÃO 4:

A fim de oferecer suporte a uma pesquisa da área clínica, um laboratório analítico precisa desenvolver um método de análise capaz de detectar morfina e alguns de seus metabólitos em urina humana (Morfina, Morfina-6-glicuronídeo e Morfina-3-glicuronídeo) A, B e C, respectivamente, representados a seguir.



No estudo em questão, é importante para o grupo do estudo clínico que os resultados sejam expressos para cada composto separadamente, ou seja, é necessário conhecer as concentrações de cada composto individualmente.

Descreva o desenvolvimento do método em questão, desde a extração da urina até a análise instrumental, indicando as melhores técnicas e práticas em cada etapa.

Chave de Correção	
Resposta	Qtde de Pontos
<p>O candidato deve ser capaz de dissertar sobre a técnica mais recomendada para a determinação dos compostos em questão em uma matriz complexa que é a cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas em série (CLAE-EM/EM).</p> <p>A morfina é um alcaloide e, portanto, o melhor procedimento de extração a ser utilizado em termos de rapidez e praticidade é a extração líquido-líquido que deve ser realizada com um solvente orgânico imiscível com a água e de fácil evaporação (ex.: acetato de etila, éter dietílico, terc-butil metil éter (TBME), entre outros).</p> <p>Opcionalmente o candidato pode citar a adição de sal à fase aquosa que pode ser utilizada para melhorar os rendimentos de extração pelo efeito de "salting out".</p> <p>Após a extração e evaporação, o extrato deve ser reconstituído em solvente adequado para análise por cromatografia líquida (Água, acetonitrila, metanol ou suas misturas).</p> <p>Quanto à análise instrumental, devem ser citados detalhes acerca do desenvolvimento do método cromatográfico, passando pela seleção de coluna cromatográfica (que pode ser iniciada com testes em fase reversa com uma coluna C18) e da fase móvel (sendo a fase A uma fase aquosa pura ou com adição de pequena quantidade de ácido fórmico ou ácido acético e a fase B uma fase orgânica composta de acetonitrila ou metanol puros ou com os mesmos aditivos).</p> <p>Quanto à análise por espectrometria de massas, o candidato deve ser capaz de identificar o objetivo do método (análise quantitativa) e descrever a realização de uma análise utilizando o modo de monitoramento de reações múltiplas (MRM), o qual é o método de escolha para análise quantitativa de compostos orgânicos em matrizes complexas.</p> <p>Detalhes da prática descritos em qualquer uma das etapas serão um diferencial. Dilute and shoot, com as devidas justificativas, também será aceito como resposta.</p>	40