



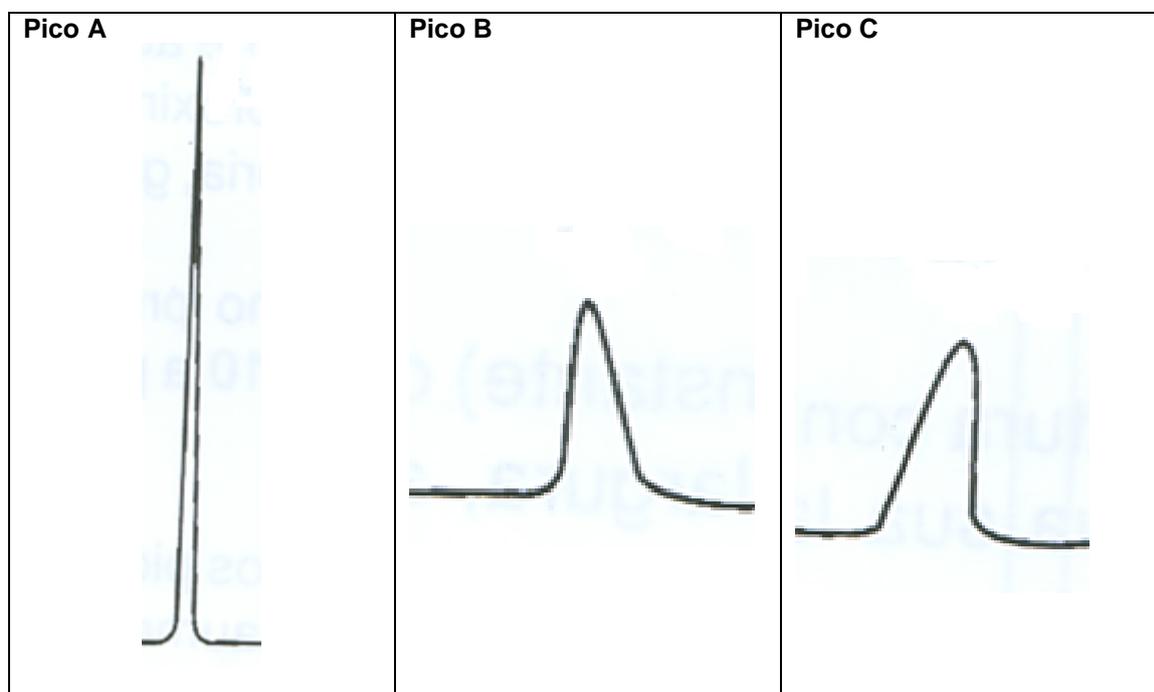
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO  
Concurso Público para provimento de vagas de cargos Técnico-Administrativos – Edital 342/2013  
Chave de Correção da Prova Prática

Cargo:  
E-26 - Tecnólogo - Farmácia - Análise de proteínas por espectrometria de massas

QUESTÃO 1:

A cromatografia gasosa (CG) é uma técnica extremamente difundida na análise de biomoléculas de peso molecular abaixo de 1000 Da. Dependendo das características físico-químicas dos analitos, etapas de derivatização podem ser necessárias para o sucesso da análise. Nesse contexto, a CG torna-se uma ferramenta útil na análise de aminoácidos. Colunas com fase estacionária 5% fenil – 95% dimetilpolisiloxano (30 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu$ m) podem ser utilizadas, apresentando usualmente, grande eficiência de separação.

A Figura a seguir apresenta três picos cromatográficos obtidos em análises de aminoácidos: o pico “A” apresenta-se simétrico, os picos “B” e “C” apresentam deformações, o que potencialmente compromete a qualidade da análise.



Responda:

Item A) Que tipo de deformação é observada no pico “B”? Cite potenciais causas? Que intervenções/procedimentos são recomendados para solucionar esse tipo de problema?

| Chave de Correção  |                |
|--|----------------|
| Respostas  | Qtde de Pontos |
| Deformação do pico B: “Cauda” ou deformação na parte traseira do pico cromatográfico.                                  | 3              |
| Potenciais causas: Atividade na coluna cromatográfica. Coluna com sítios ativos expostos devido a perda de fase móvel. | 3              |
| Intervenções: Corte na parte inicial da coluna. Injeção de solução que passive os sítios ativos.                       | 3              |
| Total  | 9              |



**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 B) Que tipo de deformação é observada no pico "C"? Cite potenciais causas? Que intervenções/procedimentos são recomendados para solucionar esse tipo de problema?**

| Chave de Correção  |                |
|--|----------------|
| Respostas  | Qtde de Pontos |
| Deformação do pico C: "Barriga" ou deformação na parte dianteira do pico cromatográfico. | 3              |
| Potenciais causas: Amostra muito concentrada. Saturação da fase estacionaria.            | 3              |
| Intervenções: Diluição da amostra. Aumento da taxa de divisão de fluxo da injeção.       | 3              |
| Total  | 9              |

**Item C) Descreva detalhadamente o procedimento para limpeza do injetor por vaporização aquecido com e sem divisão de fluxo.**

| Chave de Correção  |                |
|--|----------------|
| Resposta   | Qtde de Pontos |
| <p>Considerando que o cromatógrafo está desligado.</p> <ul style="list-style-type: none"><li>- afrouxar e retirar a tampa do septo</li><li>- retirar o septo</li><li>- afrouxar e retirar cuidadosamente o encamisamento de vidro ("liner") do interior do injetor</li><li>- afrouxar e retirar a porca de redução</li><li>- com luva de nylon, limpar a parte interna da tampa do conjunto do injetor, onde se localiza o septo, com um cotonete umedecido em solvente</li><li>- inserir a escova umedecida em diclorometano no injetor, movendo-a para cima e para baixo sem deformá-la</li><li>- rinsar o tubo do injetor com diclorometano utilizando uma pipeta Pasteur</li><li>- aquecer o injetor a 65°C por 10 minutos</li><li>- lixar e limpar a porca de redução. Colocar a porca de redução em metanol e manter no banho de ultra-som por 10 minutos. Repetir a operação com acetona.</li></ul> <p>Para limpeza do selo de ouro, sobrepor três folhas de papel ofício modelo A4, umedecer as folhas com metanol seguindo o desenho de uma linha, esfregar a superfície lisa do selo de ouro sobre a parte umedecida com metanol avaliando a limpeza do mesmo, colocar o selo de ouro em metanol e manter no banho de ultra-som por ao menos 10 minutos. Repetir todo procedimento utilizando acetona.</p> | 7              |



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:

Atualmente, a espectrometria de massas é uma ferramenta formidável na análise de peptídeos e proteínas. Dessa forma, a espectrometria de massas tornou-se uma técnica poderosa na detecção de agentes dopantes baseados em cadeias peptídicas. A esse respeito, sabe-se que substâncias de alta massa molecular podem apresentar múltiplas cargas quando ionizadas via *electrospray*.

O espectro a seguir (Figura A) foi obtido a partir de uma amostra apreendida na mochila de um atleta. A suspeita é de que se trata de uma substância proibida pela Agência Mundial Anti-Dopagem. Testes preliminares garantiram que o material apreendido apresenta grau de pureza de 100%.

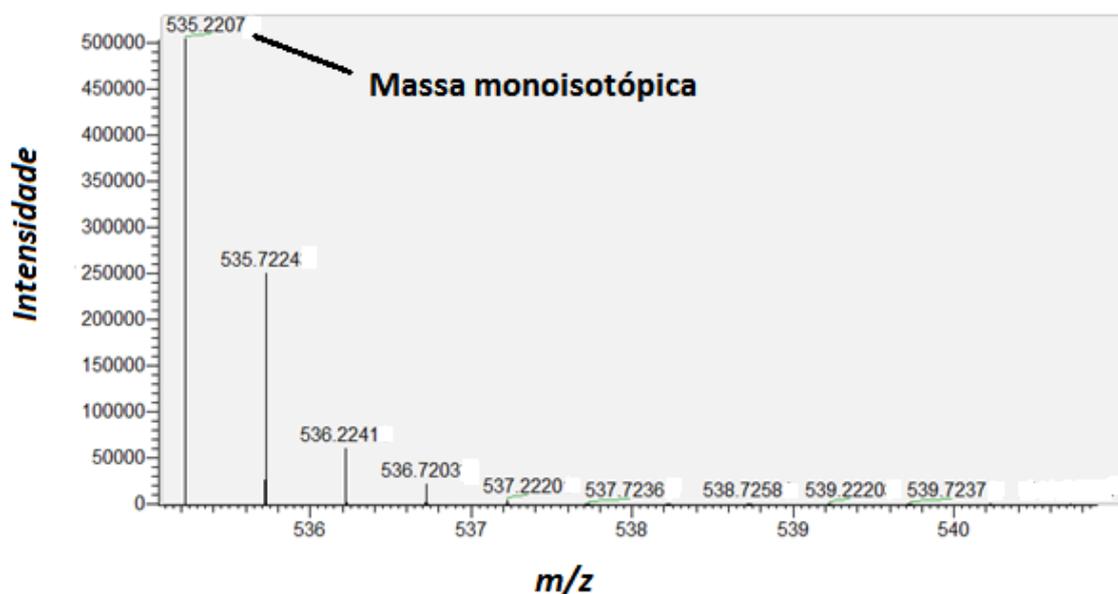


Figura A. Espectro de massas obtido em um analisador de massas do tipo Orbitrap com resolução de 70K.

Tabela 1. Massa moleculares monoisotópicas (teóricas) dos analitos A, B, C, D, E, F e G.

| Substancia Proibida | Massa Molecular Monoisotópica (teórica) em Daltons |
|---------------------|--|
| Analito A           | 535,2208   |
| Analito B           | 1068,4264  |
| Analito C           | 1070,4415  |
| Analito D           | 534,2128   |
| Analito E           | 1605,6624  |
| Analito F           | 2136,8830  |
| Analito G           | 1066,3465  |

A partir dos dados disponíveis, responda:

Item A) Qual a carga apresentada pelo analito durante a análise por *electrospray* (padrão isotópico)? Justifique.

| Chave de Correção   |                |
|---|----------------|
| Resposta  | Qtde de Pontos |
| Carga dois (+2). A diferença entre as massas observadas no espectro é de 0,5. | 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**

**Item B) Dentre as opções apresentadas na tabela 1, indique a substância (Analitos A – F) que corresponde a amostra. Justifique.**

**Obs: Peso molecular do Hidrogênio 1,0078 Da.**

| Chave de Correção  |                |
|--|----------------|
| Resposta   | Qtde de Pontos |
| Analito "B". Comparação do valor [(massa mono isotópica x2) – 2H]. | 5              |

**Item C) Qual o erro (exatidão de massa) em PPM da análise?**

| Chave de Correção   |                |
|---|----------------|
| Resposta  | Qtde de Pontos |
| $\text{Erro} = [(\text{valor exp.} - \text{valor teo} / \text{valor teo}) * 1 \times 10^6 = 0,56 \text{ PPM.}]$ | 10             |

**QUESTÃO 3:**

Nas últimas décadas, os avanços na espectrometria de massas de proteínas e peptídeos têm apresentado uma grande contribuição na caracterização de misturas complexas de proteínas, fundamentando o campo de pesquisa denominado de proteômica. Em contraste, a identificação de proteínas na ciência anti-dopagem é limitada à identificação de substâncias específicas classificadas como proibidas a atletas. Assim, o isolamento seletivo de proteínas alvo em matrizes biológicas é uma parte relevante da atividade anti-dopagem.

Em casos específicos, proteínas podem apresentar uma razão massa-carga que exceda o intervalo dinâmico (intervalo de massas) do instrumento. Cite duas abordagens permitidas pela Agência Mundial Anti-Dopagem para lidar com essa situação. Elabore um protocolo sucinto para ambas.

| Chave de Correção  |                |
|--|----------------|
| Respostas  | Qtde de Pontos |
| Clivagem da proteínas antes da análise por espectrometria de massas. | 3              |
| Proposta de protocolo.   | 9              |
| Modificação química aumentando o número de cargas da proteína.       | 3              |
| Proposta de protocolo.   | 10             |
| Total  | 25             |



**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:**

O texto a seguir apresenta uma situação hipotética relacionada à atividade de controle de dopagem no esporte. Leia atentamente e responda ao que se pede sempre justificando à luz das normas da Agência Mundial Anti-Dopagem.

**Situação hipotética:**

Após a realização dos testes iniciais de análise, um analista suspeitou da presença de uma substância proibida a atletas. Como resultado, solicitou uma nova alíquota para análise, cujo método de confirmação inclui as técnicas de cromatografia em coluna e espectrometria de massas. A tabela a seguir apresenta, para o controle positivo e amostra, os dados de tempo de retenção ( $t_R$ ) e abundância relativa entre três íons diagnósticos, previamente escolhido durante o desenvolvimento e validação do método. Ressalta-se que no controle negativo, o analito não foi observado, não sendo possível, portanto, a avaliação do tempo de retenção e espectro de massas.

**Tabela. Dados de tempo de retenção e abundância relativa entre três íons diagnósticos**

|   | <b>Controle Positivo</b> | <b>Amostra</b> |
|---|--------------------------|----------------|
| $t_R$ (min)   | 3,00                     | 2,95           |
| Abundância Relativa (%) Íon diagnóstico 1 (m/z 634) | 100                      | 100            |
| Abundância Relativa (%) Íon diagnóstico 2 (m/z 415) | 70                       | 63             |
| Abundância Relativa (%) Íon diagnóstico 3 (m/z 233) | 20                       | 27             |

Imaginando-se no papel do analista e com base nos dados disponíveis, classifique as amostras em questão como presumível, adversa, atípica ou negativa. Justifique sua resposta.

| <b>Chave de Correção</b>  |                       |
|---|-----------------------|
| <b>Respostas</b>  | <b>Qtde de Pontos</b> |
| Amostra negativa.   | 10                    |
| Avaliação do tempo de retenção. Resultado conforme considerando a tolerância de dois % (2%) ou $\pm 0.1$ minutes (o que for menor). | 5                     |
| c. Avaliação do íon diagnóstico 2. Resultado conforme considerando a tolerância de vinte % (20%) (relativo).                        | 5                     |
| d. Avaliação do íon diagnóstico 3. Resultado não-conforme considerando a tolerância de cinco % (5%) (absoluto).                     | 5                     |
| <b>Total</b>  | <b>25</b>             |