



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-34 - Tecnólogo - Processos químicos

QUESTÃO 1:

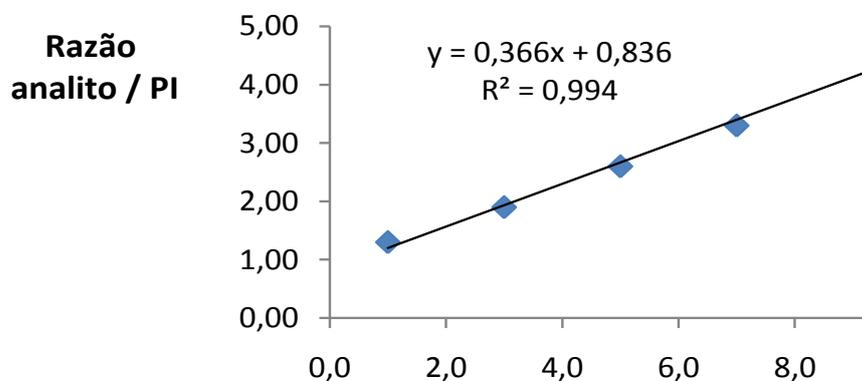
Um agente dopante hipotético "X" é o principal alvo analítico para quantificação quando presente na análise das urinas dos atletas. Tal análise é realizada através da CL-EM-EM, com uma coluna C18 de 1,8 μ m X 2,1 mm X 50 mm. Para determinar, quantitativamente, a concentração de "X" na urina do atleta, 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:

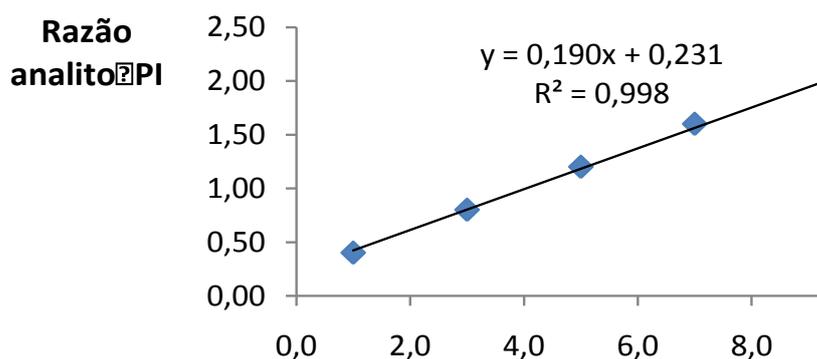
A

Curva Analítica



B

Curva Analítica

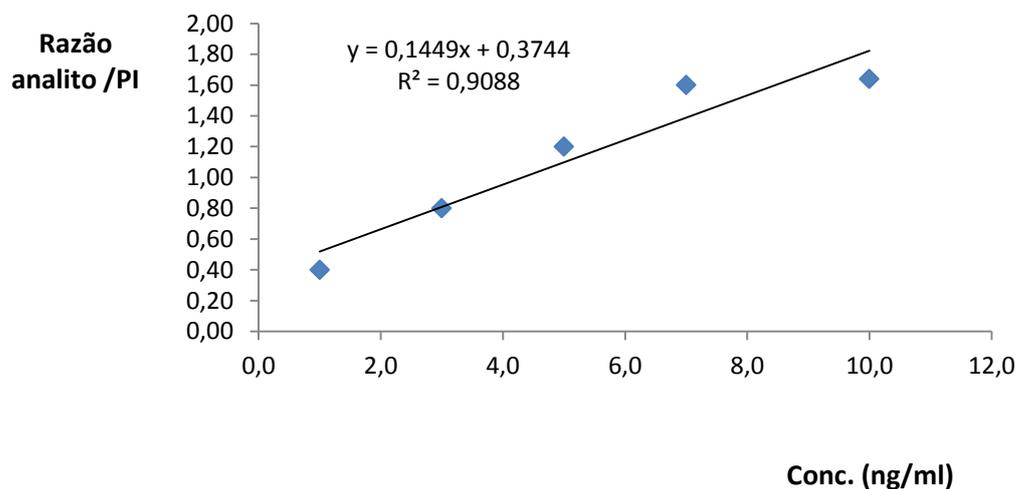




UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
Concurso Público para provimento de vagas de cargos Técnico-Administrativos – Edital 342/2013
Chave de Correção da Prova Prática

C

Curva Analítica



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	
Resposta	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

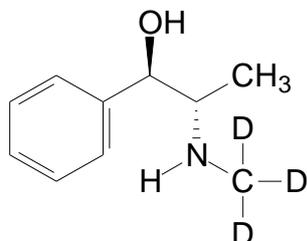
Item B) É possível utilizar qualquer um dos três gráficos para proceder com a quantificação? Explique detalhadamente sua resposta.

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

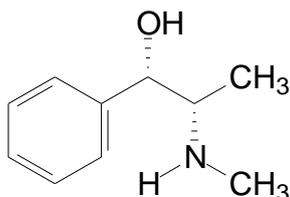


UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
Concurso Público para provimento de vagas de cargos Técnico-Administrativos – Edital 342/2013
Chave de Correção da Prova Prática

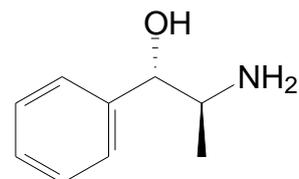
Item C) Para quantificar Efedrina, em urina humana e tendo disponível para utilização como padrão interno: Efedrina-D₃, Pseudoefedrina e Catina (abaixo representados), qual dos três compostos seria selecionado? Apresente ao menos três argumentos justificando sua escolha.



Efedrina-D3



Pseudoefedrina



Catina

Chave de Correção	
Resposta	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 e 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
Descrição da preparação: - 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 400mL; - 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 10mM 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? Justifique sua resposta.

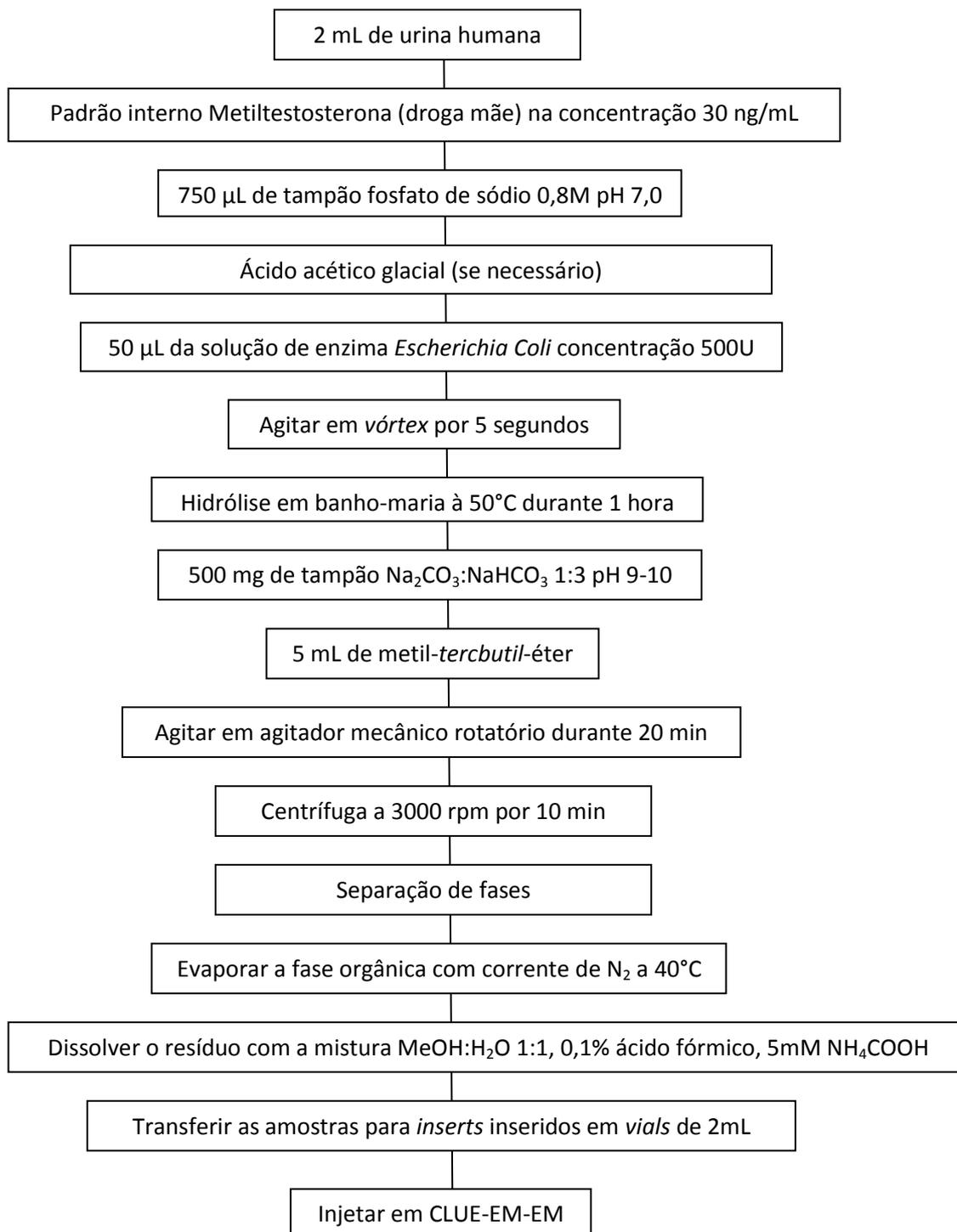
Chave de Correção	
Resposta	Qtde de Pontos
<ul style="list-style-type: none">- 2 provetas graduadas de 1000 mL.- Kitassato.- copo de filtração.- garra.- bomba de vácuo.- membrana filtrante.- cilindro de 1000mL. <p>Filtrar a água (700 mL) e o metanol (300 mL), com filtros de 0,22 ou 0,45 um, transferir 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 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
Porque não está presente como analito a ser pesquisado na lista de substâncias proibidas da AMA.	1

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

Chave de Correção	
Resposta	Qtde de Pontos
Garantir que 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	
Resposta	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	
Resposta	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	
Resposta	Qtde de Pontos
- 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
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. Misturas 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.	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 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 escolhidos 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

	Controle Positivo	Amostra
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 amostra em questão como presumível, adversa, atípica ou negativa. Justifique sua resposta.

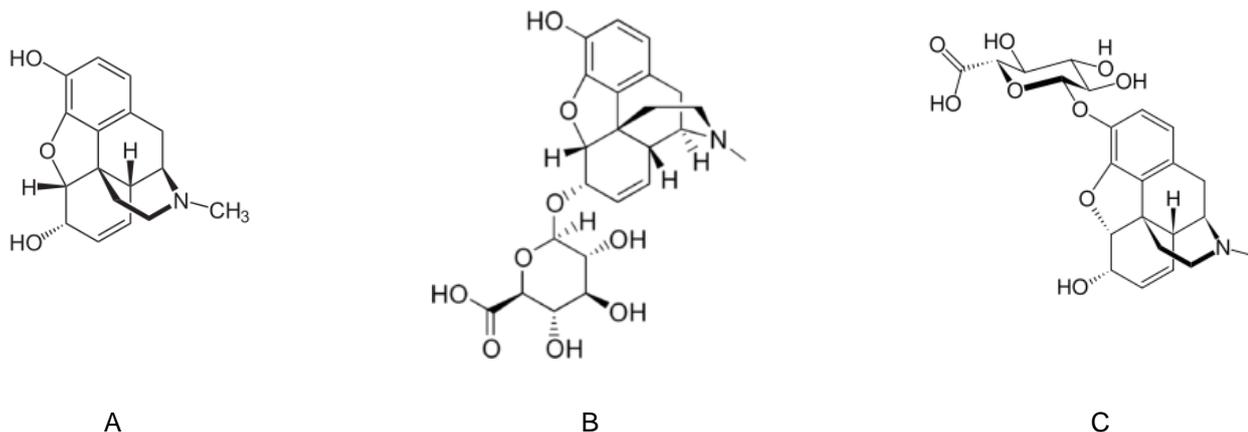
Chave de Correção	
Respostas	Qtde de Pontos
Amostra negativa.	10
Avaliação do tempo de retenção. Resultado conforme considerando a tolerância de dois % (2%) ou ± 0.1 minutes (o que for menor).	5
Avaliação do íon diagnóstico 2. Resultado conforme considerando a tolerância de vinte % (20%) (relativo).	5
Avaliação do íon diagnóstico 3. Resultado não-conforme considerando a tolerância de cinco % (5%) (absoluto).	5
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:

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:



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>	25