QUESTÃO 1

Os diuréticos são utilizados para controlar a pressão alta. Eles estimulam os rins a produzir mais urina, eliminando fluidos e minerais do corpo e diminuindo a pressão. Atletas podem utilizar diuréticos para eliminar o excesso de água do corpo e eliminar peso. Os diuréticos também podem ser utilizados com o intuito de reduzir a concentração de substâncias proibidas, através da eliminação pela urina, ou diminuir a retenção de líquido causada pelo uso excessivo de anabolizantes. Por essa razão, os diuréticos estão na lista de substâncias proibidas da WADA (*World Anti-Doping Agency*).

O método a seguir foi desenvolvido e validado para a análise dessas substâncias, por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas sequencial, utilizando ionização eletrospray (CL-EM/EM).

Preparo das amostras:

Uma solução de padrão interno (50 µL de mefrusida, 20 µg/mL) foi adicionado à 2 mL de urina, seguida pela adição de 1 mL de tampão acetato de sódio (pH 5,2). A extração líquido-líquido (ELL) foi realizada por rotação durante 20 minutos, com 4 mL de acetato de etila. Após a centrifugação, a fase orgânica foi transferida para um novo tubo e à urina remanescente foram adicionados 250 mg de carbonato de potássio. Uma segunda ELL foi realizada, com 4 mL de acetato de etila. Após a centrifugação, as fases orgânicas foram combinadas e evaporadas até a secura, sob fluxo de nitrogênio livre de oxigênio a 40ºC. O resíduo foi dissolvido em 200 µL de fase móvel inicial (1% de ácido acético em água:acetonitrila 85:15 V/V). As amostras foram injetadas num sistema de CL-EM/EM.

Instrumentação:

A análise por CL-EM/EM foi realizada em um espectrômetro triplo quadrupolo, com fonte eletrospray, operando no modo positivo. A fonte estava acoplada *online* a um sistema de cromatografia líquida. A tabela a seguir informa os detalhes do sistema:

Tabela:

Coluna cromatográfica	C18 (100 x 3 mm, 5µm)
Fase móvel A	1% de ácido acético em água ultrapura
Fase móvel B	Acetonitrila
Modo de eluição	Gradiente
Fluxo	0,3 mL/min
Volume de injeção	0,5 µL
Temperatura do capilar	300 ºC
Gás secante	30 unidades
Voltagem do capilar	5000 V
Gás de bainha (nebulizante)	80 unidades
Temperatura do gás de bainha	320 ºC

Foi realizado o monitoramento seletivo da reação para acetazolamida, amilorida e canrenona (m/z 221→83, m/z 230→213 e m/z 341→187, respectivamente). As energias de colisão foram 32, 31 e 28 eV, respectivamente.

Considere as informações acima e responda:

A. Defina dissociação induzida por colisão.

B. Era realmente necessário utilizar o gás de colisão?

C. Qual a vantagem de usar o modo gradiente de eluição?

D. Defina monitoramento de reação selecionada.

QUESTÃO 2

Explique os fundamentos teóricos da extração líquido-líquido (ELL).

QUESTÃO 3

Descreva os principais mecanismos de reconcentração ou focalização de amostra.

QUESTÃO 4

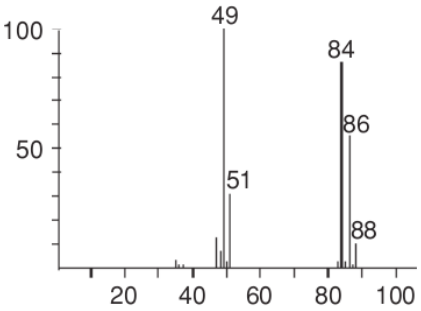
Uma das funções disponíveis no programa Microsoft Excel é denominada de Desvio Padrão (DESVPAD). Ela remete ao desvio padrão a partir de uma amostra ignorando os valores lógicos e o texto desta. Considere uma amostra cujo intervalo de células inicia-se em J5 a J20 e na qual o valor calculado apareça na célula J21. Após o fim da operação, ao pressionar o botão esquerdo do mouse na célula J21, qual equação surge na barra de redação fx?

Atenção: Caso seja necessário simbolizar a presença de espaços entre os elementos da equação, utilize o símbolo ϕ.

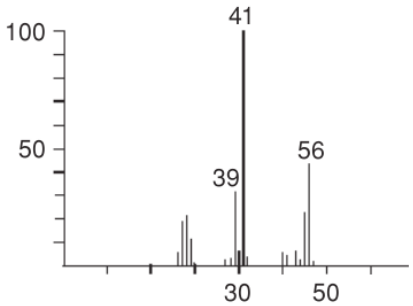
QUESTÃO 5

Interpret the main peaks of the following spectra (quadrupole analyser - electron ionization).

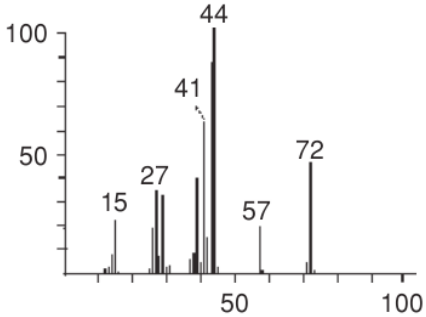
a) Methylene chloride



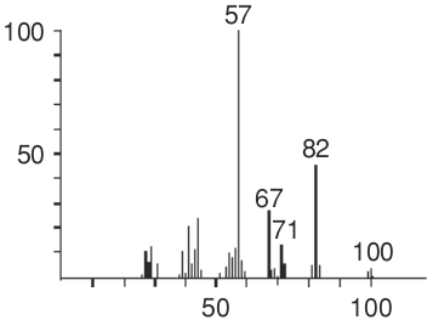
b) 1-Butene



c) n-Butyraldehyde



d) Cyclohexanol



UFRJ