|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | **UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE****PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE****LABORATÓRIO MULTIUSUÁRIOS DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE** |  |
| **FORMULÁRIO DE UTILIZAÇÃO DO HPLC** ***Prominence Shimadzu* High Performance Liquid Chromatography** |
| **TIPO**: Formulário Interno | ML- FHPLC | **REV.**03 | **APLICAÇÃO:** Laboratório Multiusuário do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde |

**Preencher completamente o formulário. Após o preenchimento, enviar para o email** **multilab@unesc.net** **e aguardar a confirmação da reserva.**

|  |
| --- |
| **Orientador:**   |
| **Laboratório:**   | **Telefone:**   |
| **Nome do pesquisador:**   | **Telefone:**   |
| **Nível de formação:**   |
| **Vínculo com a Instituição:**   |

|  |
| --- |
| **Orientador:**   |
| **Laboratório:**   | **Telefone:**   |
| **Nome do pesquisador:**   | **Telefone:**   |
| **Nível de formação:**   |
| **Vínculo com a Instituição:**   |

|  |
| --- |
| **Título do Projeto:**   |
|  |
|  |
|  |
| **Finalidade (TCC, Dissertação de mestrado, tese de doutorado, etc):**   |
|  |
|  |
|  |
| **Equipamento solicitado: Prominence Shimadzu - High Performance Liquid Chromatography** |
| **Data de utilização: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_\_ Horário de início:** 00h00min  **Horário de término:** 00h00min  |
| **Tipo de amostras (Relacionar tudo que se aplica, p.ex. tipo de célula/tecido, patógenos presentes, etc).**  |
| **Compostos químicos presentes na amostra (Relacionar todos que se aplicam p.ex., Metanol, ácidos, tampão, sais, etc.).**  |
| **Observações:**  |
| **Descrição do Método Cromatográfico (Fluxo de bombeamento, proporção dos solventes da fase móvel, temperatura, coluna, volume de injeção, composição da fase móvel, etc):**  |

**1. ANÁLISE QUANTITATIVA – CURVA PADRÃO**

|  |  |
| --- | --- |
| **Nome do método** |   |
| **Nome da amostra** |   |
| **Qual parâmetro estará no eixo X.** |  Concentração Área/Altura |
| **Unidade das concentrações: Ex: mL/L** |   |
| **Concentração do composto padrão** |   |
|  |  |
| **Os picos deverão ser identificados no intervalo estipulado em:**  |  Porcentagem  Unidade de tempo  |
| **Detector utilizado** |  Detector A (UV/VIS) mm Detector B (Fluorescência) Excitação mm Emissão mm |
| **Volume a ser injetado para a análise** |  µL (Deve ter quantos volumes, quanto pontos da curva. Entre 1 - 100 µL) |
| **Nível dos pontos da amostra padrão** |  Quantidade de pontos da curva de calibração |

**2. CONFIGURAÇÕES PARA AMOSTRAS EM SEQUÊNCIA**

|  |  |
| --- | --- |
| **Identificação da amostra** |   |
| **Volume a ser injetado para a análise**  |  µL (1 - 100µL) |
| **Número de repetições da amostra**  |  (máximo 3 para métodos cuja corrida seja maior ou igual a 30 min) |
| \* Amostra desconhecida  Amostra padrão |  |

**3. PREPARAÇÃO E CUIDADOS COM AS AMOSTRAS**

**1.** Dissolver completamente a amostra em um solvente com uma composição idêntica ou similar à fase móvel utilizada no método analítico.

**2.** Filtrar a amostra com filtros para seringa #0.45µm. Esta etapa deve ser realizada pelo técnico do MULTILAB.

**3.** Todos os frascos (*vial*) deverão ser preenchidos cuidadosamente com até 1,5 mL da amostra.

**OBS1:** Todas as amostras devem ser filtradas para eliminar detritos e partículas não dissolvidas que podem vir a entupir a agulha durante a amostragem.

**OBS2:** Diluir as amostras altamente viscosas antes da utilização, pois as amostras de alta viscosidade não podem ser aspiradas.

**OBS3:** É de responsabilidade do pesquisador a utilização de amostras dentro de uma margem de pH de 2,0 a 7,5, pois o pH superior irá dissolver a sílica e criar espaços vazios na coluna. O pH mais baixo pode, eventualmente, tirar um pouco da fase ligada. Estas condições podem causar alterações no tempo de retenção.

**OBS4**: Um dos requisitos para as análises terem sucesso é de que a amostra tenha solubilidade na fase móvel.

**OBS5:** As amostras devem possuir alto grau de pureza, polaridade e viscosidade adequadas.

**OBS6:** A água utilizada nas amostras deve ter grau de HPLC. Purificadas com resinas de troca iônicas, carvão ativado, filtro de membrana e produzida no momento da utilização. Deverá ser utilizada água ultrapurificada (Milli-Q).

**OBS7:** Nunca utilizar tampões orgânicos, pois podem entupir os capilares.

**OBS8:** Limitar quantidade necessária de utilização de ácidos e bases fortes para ajustar o pH da amostra.

**OBS9:** Ter cuidado para não misturar, ou utilizar em sequência, as soluções que podem precipitar na coluna ou no sistema, como a utilização de tampões e acetonitrila.

**OBS10:** Não é recomendado utilizar amostras incompatíveis com PEEK (material que é feito as conexões marrons do HPLC. Um material muito inerte e com uma gama de pH utilizável de 1 – 14)

**OBS11:** Restringe-se a utilização dos reagentes listados abaixo em altas concentrações. A concentração destes deverá ser de menos que 0,5% (solução fraca) e diluída em água ultrapurificada para não danificar o equipamento. Caso seja necessário sua utilização entrar em contato com o coordenador do MULTILAB.

* Ácido sulfúrico;
* Ácido nítrico (deverá ter a concentração máxima de 30%);
* Ácido dicloroacético;
* Acetona;
* Tetrahidrofurano ( THF );
* Diclorometano;
* Clorofórmio;
* Sulfóxido de dimetilo (DMSO);
* HFIP (hexafluoroisopropanol);
* HF (fluoreto de hidrogênio);
* Freon 113;
* Fluorinert FC-40;
* Fluorinert FC-72;
* Fluorinert FC-75;
* Benzeno perfluoro;
* Octanagem perfluoro;
* Perfluoro decalin;
* Perfluoro-1 methyldecalin;
* perfluoro dimethyldecalin,
* Perfluoro metil-ciclo-hexano;
* Perfluoro-dimetil-ciclo-hexano;
* AK-225.

**OBS12:** O pesquisador deverá ficar atento para o volume preparado da amostra. Lembrando que o volume padrão do frasco (vial) que será preenchido com a amostra é de 1,5 mL.

**4. RESULTADOS ANALÍTICOS**

**1.** O MULTILAB não se responsabiliza pela interpretação dos resultados do cromatograma.

**2.** A retirada dos dados obtidos dos equipamentos será **exclusivamente** via gravação em CD ou DVD.

**3.** Ao término da análise, a técnica do laboratório enviará um e-mail ao pesquisador informando que os dados já podem ser retirados.

**5. PROCESSO DE RESERVA DE UTILIZAÇÃO**

**1.** Na solicitação de reserva, para uso do processamento de amostras no HPLC Prominence Shimadzu (High Performance Liquid Chromatography), o usuário **deve obrigatoriamente**, **ler** as Normas gerais de uso do MULTILAB (ML-NG01) e as normas gerais para uso do equipamento (ML-NHPLC 01), que podem ser solicitadas através do e-mail multilab@unesc.net ou disponíveis para *Download* na página do laboratório.

**2.** O pesquisador deve preencher completamente este formulário para a reserva do equipamento de interesse (também solicitados por e-mail ou disponíveis para *Download* na página do laboratório) e encaminhá-lo para o e-mail multilab@unesc.net.

**3.** A confirmação da reserva ocorrerá em um prazo de até 48 horas após o envio do formulário pelo pesquisador. Caso o pesquisador não receba uma resposta dentro do prazo de 48 horas, o mesmo deverá entrar em contato via e-mail ou através do telefone (48) 3431-4518, de segunda a sexta-feira das 9h às 13h e das 14h às 18h.

**4.** O equipamento possui um formulário especifico que deverá ser preenchido **para a primeira solicitação de reserva referente ao um determinado projeto e obedecerá a ordem cronológica de recebimento dos formulários**;

**5.** Casos de faltas e atrasos, sem aviso prévio, e o não cumprimento das normas de uso dos equipamentos, levará o usuário à advertência definida pela coordenação do PPGCS.

**Assinatura do Orientador:**   **Data:**  \_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_\_\_

