

**Desenvolvimento de método para separação de substâncias analgésicas empregando CCD-RP18**

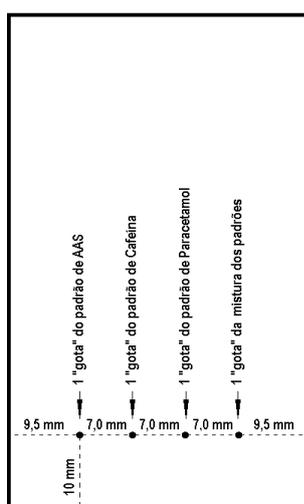
**1. Reagentes e soluções padrão:**

- Solução de ácido acetilsalicílico preparada em metanol na concentração de 3% m/v.
- Solução de cafeína preparada em metanol na concentração de 1,5% m/v.
- Solução de paracetamol preparada em metanol na concentração de 1% m/v.
- Solução da mistura dos padrões de ácido acetilsalicílico, cafeína e paracetamol preparada em metanol nas mesmas concentrações descritas acima para cada padrão.
- Placas de sílica-gel fluorescente ligadas a cadeias de C18, na espessura de 0,25 mm e nas dimensões de (4,0 x 6,6) cm.
- Fases móveis:
  - a) 65% de água + **30% de metanol** + 5% de ácido fórmico;
  - b) 55% de água + **40% de metanol** + 5% de ácido fórmico;
  - c) 71% de água + **24% de acetonitrila** + 5% de ácido fórmico.

**Revelação:** As placas serão reveladas por meio de irradiação ultravioleta no comprimento de 254 nm, situação em que a sílica-C18 presente na placa irá fluorescer e os pontos onde se encontram as substâncias analgésicas darão origem a manchas escuras.

**2. Procedimento:**

1. Ativar a placa de sílica-C18 aquecendo-a a 110 °C durante 10 minutos.
2. Utilizando um lápis macio e tomando cuidado para não danificar a superfície recoberta com sílica-C18, **marcar apenas os quatro pontos de aplicação** na placa cromatográfica tal como ilustrado pelas figuras abaixo.



Plaquinha resultante >>>



3. Conforme indicado na figura acima, aplicar na plaquinha apenas **uma "gota"** de cada uma das soluções padrão disponibilizadas: 1) ácido acetilsalicílico; 2) cafeína; 3) paracetamol; e 4) mistura dos padrões.
4. Transferir a placa para uma cuba cromatográfica previamente saturada com a fase móvel composta por 65% de água + **30% de metanol** + 5% de ácido fórmico;
5. Aguardar o desenvolvimento da corrida cromatográfica até que a frente da fase móvel atinja aproximadamente 0,5 cm da borda superior da placa.
6. Retirar a placa da cuba, marcar a altura atingida pela fase móvel e secar a placa utilizando um secador de cabelos.
7. Revelar a plaquinha por meio de irradiação uv no comprimento de 254 nm.
8. Avaliar se ocorreu uma separação satisfatória das substâncias analgésicas considerando o método analítico empregado.
9. Propor modificações ao método cromatográfico visando melhorar a separação dos analitos.

Repetir os passos anteriores (de 1 a 9) utilizando novas placas e empregando (no passo 4) as demais fases móveis disponibilizadas.