

# ANÁLISE QUANTITATIVA DE COMPOSTOS COMPLEXOS POR HPLC ESTRATÉGIAS E DESAFIOS

*Data de aceite: 02/10/2023*

### **Erick da Silva Polycarpo**

Graduado em Química pela Universidade  
Cidade de São Paulo  
Limeira – SP  
<http://lattes.cnpq.br/7262216012767207>

**RESUMO:** Os compostos complexos demandam por averiguações singulares em variadas aplicações no período hodierno. Objetivou-se, assim, aprofundar o conhecimento sobre as estratégias e desafios envolvidos na análise quantitativa de compostos complexos por cromatografia líquida de alta eficiência. Justificou-se este tema através da notoriedade tanto da precisão quanto da sensibilidade analítica nos principais campos onde esta técnica é empregada, além da contribuição para o desenvolvimento de produtos e processos, monitoramento e controle ambiental e conformidades regulatórias. No campo metodológico, aplicou-se uma revisão bibliográfica exploratória e documental por vias de uma pesquisa com abordagem descritiva e observacional. Os principais resultados ressaltam a versatilidade do HPLC na análise de compostos complexos, permitindo a separação eficaz

e a quantificação precisa de analitos em diversas matrizes. Ainda mais, estratégias de detecção, como UV-Vis, fluorescência e espectrometria de massas, oferecem opções para analisar diferentes tipos de analitos, aperfeiçoando a seletividade e a sensibilidade da análise.

**PALAVRAS-CHAVE:** Compostos Complexos; HPLC; Estratégias; Adversidades.

### QUANTITATIVE ANALYSIS OF COMPLEX COMPOUNDS BY HPLC STRATEGIES AND CHALLENGES

**ABSTRACT:** Complex compounds demand unique investigations in various applications in the modern period. Thus, the objective was to deepen the knowledge about the strategies and challenges involved in the quantitative analysis of complex compounds by high-performance liquid chromatography. This theme was justified by the notoriety of both precision and analytical sensitivity in the main fields where this technique is used, in addition to the contribution to the development of products and processes, monitoring and environmental control and regulatory compliance. In the methodological field, an exploratory and

documental bibliographical review was applied through a research with a descriptive and observational approach. The main results highlight the versatility of HPLC in the analysis of complex compounds, allowing efficient separation and precise quantification of analytes in different matrices. Furthermore, detection strategies such as UV-Vis, fluorescence and mass spectrometry offer options for analyzing different types of analytes, improving the selectivity and sensitivity of the analysis.

**KEYWORDS:** Complex Compounds; HPLC; Strategies; Adversities.

## INTRODUÇÃO

A análise quantitativa de compostos complexos denota-se como fundamental no campo da química analítica, tendo implicações abrangentes nas áreas farmacêutica, química ambiental e alimentícia.

A necessidade de quantificar a concentração de compostos complexos em matrizes diversas é fidedigna para garantir a qualidade, a segurança e a eficácia em inúmeras aplicações, oportunizando assim a inovação em diferentes setores.

Outrossim, a precisão e a confiabilidade dessas análises são de grande valia para garantir o cumprimento de normas regulatórias, promover a inovação e assegurar tanto a saúde pública quanto a proteção ambiental. Este trabalho propõe-se, singularmente, a explorar as estratégias e desafios envolvidos na análise quantitativa de compostos complexos por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).

Justificou-se a seleção deste tema pela demanda crescente por precisão e sensibilidade analítica nos principais campos onde esta técnica é empregada, além da contribuição para o desenvolvimento de produtos e processos, monitoramento e controle ambiental e as exigências quanto à conformidade regulatória.

Assim, o objetivo geral deste trabalho consiste em aprofundar o conhecimento sobre as estratégias e desafios envolvidos na análise quantitativa de compostos complexos por cromatografia líquida de alta eficiência. Em relação aos objetivos específicos, espera-se caracterizar os fundamentos da cromatografia líquida de alta eficiência, descrever os compostos complexos e suas aplicações por visas de estratégias para análise quantitativa e evidenciar as adversidades enfrentadas durante este processo avaliativo.

Para tanto, a problemática norteadora para este estudo advém da seguinte questão: Quais são as estratégias eficazes para superar os desafios intrínsecos à análise quantitativa de compostos complexos por cromatografia líquida de alta eficiência e como essas estratégias podem ser aplicadas com êxito para garantir a qualidade, segurança e eficácia nas análises?

Metodologicamente, incorporou-se uma revisão bibliográfica documental, descritiva e exploratória em harmonia com uma pesquisa observacional, embasando-se nas seguintes palavras-chave: “compostos complexos”, “HPLC”, “estratégias” e “adversidades”.

## METODOLOGIA

No eixo metodológico, este estudo embasa-se em uma revisão bibliográfica exploratória do tipo documental partindo de uma pesquisa de abordagem descritiva e observacional. As investigações desta natureza são fundamentadas pelo:

[...] exame de materiais que ainda não receberam um tratamento analítico ou que podem ser reexaminados com vistas a uma interpretação nova ou complementar. Pode oferecer base útil para outros tipos de estudos qualitativos e possibilita que a criatividade do pesquisador dirija a investigação por enfoques diferenciados. Esse tipo de pesquisa permite o estudo de pessoas a que não temos acesso físico (distantes ou mortas). Além disso, os documentos são uma fonte não-reativa e especialmente propícia para o estudo de longos períodos de tempo (NEVES, 1996, p. 4).

De acordo com Godoy (1995, p. 21), as pesquisas deste campo não se apresentam como uma “proposta rigidamente estruturada, ela permite que a imaginação e a criatividade levem os investigadores a propor trabalhos que explorem novos enfoques”. Através do método observacional, engloba-se o desenvolvimento de uma pesquisa ampla direcionada aos intuítos do pesquisador, haja vista que:

[...] o método observacional é o início de toda pesquisa científica, pois serve de base para qualquer área das ciências. O método observacional fundamenta-se em procedimentos de natureza sensorial, como produto do processo em que se empenha o pesquisador no mundo dos fenômenos empíricos. É a busca deliberada, levada a efeito com cautela e predeterminação, em contraste com as percepções do senso comum. O objetivo da observação naturalmente pressupõe poder captar com precisão os aspectos essenciais e acidentais de um fenômeno do contexto empírico. Dentro das ciências sociais, a literatura costuma chamar esses aspectos de fatos; o produto de um ato observado e registrado denomina-se dado [...] (FACHIN, 2005, p. 38).

Realizou-se, assim, uma busca em bases de dados como Scielo e Google Acadêmico, com ênfase em referências brasileiras e estrangeiras dos últimos 10 anos (2013-2023), salvaguardando espaço para citações de autores clássicos que são imprescindíveis para a contextualização temática.

Excluiu-se, entretanto, informações advindas de obras incompletas ou fragmentos de textos e artigos acadêmicos que não se adequaram ao delineamento temporal ou às definições prévias de linguagem (português, espanhol e inglês).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Fundamentos da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC)

A evolução da cromatografia líquida representa, do ponto de vista histórico, um marco positivo na progressão da ciência analítica, marcada por desenvolvimentos conceituais e instrumentais que transformaram radicalmente a capacidade de separar e analisar compostos complexos em solução. A trajetória da cromatografia líquida é correlata

à demanda contínua por métodos analíticos precisos nas ciências químicas (SANTI *et al.*, 2014).

A cromatografia líquida enraíza-se tanto na cromatografia em papel quanto na cromatografia de partição, sendo técnicas iniciais que permitiam a separação de misturas complexas por diferenciação de afinidade entre os componentes e uma fase estacionária sólida. Todavia, o advento da cromatografia líquida, com uma fase estacionária líquida, representou um salto qualitativo na capacidade de separação (CHEIRAN, 2018).

A primeira aplicação documentada da cromatografia líquida ocorreu em 1903, quando Mikhail Tswett, um cientista russo, utilizou uma coluna preenchida com sílica gel e uma solução de éter de petróleo como fase móvel para separar pigmentos vegetais. Sua inovação reside no uso de uma fase estacionária sólida, que permitiu a separação de uma ampla gama de compostos, e na observação da eluição sequencial de diferentes pigmentos (LIMA, 2022).

Durante a primeira metade do século XX, a cromatografia líquida evoluiu principalmente como uma técnica analítica qualitativa, sendo empregada na identificação de compostos orgânicos em amostras complexas. No entanto, a revolução verdadeira ocorreu com o desenvolvimento da cromatografia líquida de alta eficiência nas décadas de 1960 e 1970 (SANTI *et al.*, 2014).

A HPLC trouxe consigo avanços significativos, incluindo a utilização de colunas mais eficientes, bombas de alta pressão, detectores sensíveis e sistemas de automação, permitindo a análise quantitativa de compostos complexos em níveis de sensibilidade e precisão sem precedentes. A cromatografia líquida de alta eficiência tornou-se uma ferramenta indispensável em uma variedade de disciplinas, incluindo química analítica, química farmacêutica, ciências ambientais, biologia molecular e indústria de alimentos. Hoje, a cromatografia líquida continua a evoluir com o advento de novos tipos de colunas, avanços em técnicas de detecção, automação mais sofisticada e desenvolvimentos em software analítico. Sua aplicação se estende a campos tão diversos quanto a proteômica, a farmacocinética, a pesquisa de drogas, o controle de qualidade industrial e a análise de poluentes ambientais (LIMA, 2022).

Isão intrinsecamente dependentes da interação complexa entre a fase estacionária e a fase móvel. A HPLC baseia-se na distribuição diferencial de componentes de uma amostra entre duas fases imiscíveis: a fase estacionária e a fase móvel. A fase estacionária, localizada dentro de uma coluna cromatográfica, é escolhida com base em sua afinidade seletiva pelos analitos de interesse (CHEIRAN, 2018).

Na cromatografia de fase reversa, a fase estacionária é hidrofóbica, enquanto a fase móvel consiste em uma mistura de solventes miscíveis em água. Analitos mais hidrofóbicos têm uma afinidade maior pela fase estacionária e, portanto, eluem mais lentamente, ao passo que analitos hidrofílicos eluem de forma mais rápida. Já na cromatografia de fase normal, a fase estacionária é polar, e a fase móvel consiste em um solvente orgânico menos

polar. A separação é baseada na afinidade relativa dos analitos pela fase estacionária polar. Por fim, a cromatografia de troca iônica emprega uma fase estacionária que contém grupos iônicos. A separação ocorre devido às interações eletrostáticas entre os íons presentes na fase estacionária e os analitos carregados que estão na amostra (LIMA, 2022).

A fase móvel, por sua vez, é responsável por transportar os analitos através da coluna. A composição da fase móvel, a sua taxa de fluxo e a sua polaridade são ajustadas para otimizar a separação dos analitos de interesse. Mudanças na composição da fase móvel podem ser usadas para controlar a eluição dos analitos e afetar a seletividade da separação (ABRÃO *et al.*, 2013).

A eluição dos analitos da coluna ocorre com base nas diferenças nas interações entre os analitos e a fase estacionária em relação à fase móvel. Compostos que interagem mais fortemente com a fase estacionária permanecem na coluna por mais tempo, enquanto aqueles que têm maior afinidade pela fase móvel eluem mais rapidamente (SANTI *et al.*, 2014).

Um sistema HPLC, amplamente utilizado na química analítica e em diversas outras áreas científicas e industriais, é composto por um conjunto de componentes interligados, cada um desempenhando um papel crucial na separação e análise de compostos complexos. A bomba HPLC é um componente essencial, responsável por fornecer a fase móvel ao sistema a uma taxa de fluxo precisa e constante. A alta pressão gerada pela bomba é fundamental para manter a eficiência da separação, especialmente em colunas de alta eficiência. O injetor, por sua vez, é o componente responsável por introduzir a amostra a ser analisada no fluxo da fase móvel. Em sistemas HPLC modernos, frequentemente utiliza-se um injetor automático, o que garante uma injeção precisa de volumes definidos de amostra e, assim, reprodutibilidade nos resultados (CHEIRAN, 2018).

A coluna de cromatografia é o elemento central do sistema, onde ocorre a separação dos analitos. Essas colunas são preenchidas com uma fase estacionária que pode variar em natureza e química, dependendo da aplicação específica. A escolha criteriosa da coluna e da fase estacionária é determinante para a seletividade da separação. O detector HPLC é responsável por monitorar os analitos à medida que são eluídos da coluna e gerar sinais detectáveis. Existem diferentes tipos de detectores, incluindo UV-Vis, de fluorescência, de índice de refração, de condutividade e de espectrometria de massas, sendo a escolha dependente da natureza dos analitos e dos propósitos da análise (SANTI *et al.*, 2014).

Para aquisição e análise de dados, são utilizados sistemas de coleta de dados, como computadores, e software dedicado. O software controla os parâmetros do sistema, coleta dados do detector e permite a análise quantitativa e qualitativa dos resultados cromatográficos. Além desses componentes principais, sistemas de controle e regulação de temperatura são frequentemente utilizados para manter a temperatura da coluna estável, o que é crítico para a retenção e a resolução dos analitos (SILVA, 2017).

Em algumas aplicações, como na preparação de amostras para análises posteriores,

é utilizado um coletor de frações para recolher e armazenar os picos cromatográficos separadamente. Esses componentes formam um sistema integrado, e a escolha adequada e a manutenção cuidadosa de cada um deles são fundamentais para o sucesso de uma análise por HPLC. Compreender o papel de cada componente e sua interação é essencial para a execução eficiente e precisa das análises cromatográficas (LIMA, 2022).

Isto posto, existem diversos tipos de colunas HPLC, cada uma projetada para atender a diferentes necessidades analíticas e abordar a separação de compostos complexos. Os tipos mais comuns de colunas HPLC incluem colunas de fase reversa, colunas de fase normal e colunas de troca iônica (TEIXEIRA *et al.*, 2018).

As colunas de fase reversa são amplamente utilizadas na cromatografia líquida de alta eficiência devido à sua versatilidade e aplicabilidade a uma ampla gama de compostos. Essas colunas possuem uma fase estacionária não polar, geralmente à base de sílica modificada com grupos hidrofóbicos, como cadeias alquilas. A fase móvel consiste em uma mistura de solventes polar e não polar, sendo os compostos mais hidrofóbicos retidos na coluna por mais tempo. As colunas de fase reversa são ideais para separar compostos orgânicos apolares ou fracamente polares, como compostos farmacêuticos, lipídios, pesticidas e muitos outros. A capacidade de ajustar a polaridade da fase móvel permite uma ampla variação nas condições de separação.

As colunas de fase normal apresentam uma fase estacionária polar, como sílica não modificada, e uma fase móvel não polar. Essas colunas são usadas principalmente para separar compostos polares ou iônicos, como aminoácidos, açúcares, metabólitos ácidos, entre outros. A retenção de analitos em colunas de fase normal ocorre devido a interações polares entre a fase estacionária e os compostos. A separação em colunas de fase normal é útil em aplicações que envolvem compostos polares que não interagem bem com fases reversas. No entanto, elas requerem cuidados específicos, pois são sensíveis à umidade e tendem a fornecer picos largos para compostos menos polares.

Colunas de troca iônica são usadas principalmente para separar íons e compostos iônicos. A fase estacionária é modificada com grupos funcionais que podem atrair ou repelir íons, dependendo de sua carga e tamanho. A fase móvel é uma solução tampão que facilita a eluição controlada de íons. Essas colunas são frequentemente aplicadas em análises de aminoácidos, íons metálicos, íons orgânicos e polímeros iônicos. A seletividade na troca iônica é controlada pela escolha da fase estacionária e da composição do tampão da fase móvel (SANTI *et al.*, 2014).

Além desses tipos principais, existem colunas especializadas, como colunas de afinidade, colunas quirais e colunas de tamanho. Cada tipo de coluna HPLC tem suas vantagens e limitações, e a escolha adequada depende da natureza dos analitos e dos objetivos da análise. A compreensão das características e da aplicabilidade de cada tipo de coluna é fundamental para a otimização das separações cromatográficas em HPLC (SANTI *et al.*, 2014).

Ainda mais, a seleção do detector depende da natureza dos analitos, dos objetivos da análise e da sensibilidade necessária. Alguns dos principais tipos de detectores HPLC incluem o Detector UV-Vis (Ultravioleta-Visível), o Detector de Fluorescência, a Espectrometria de Massas (MS), o Detector de Índice de Refração (RID), Detector de Condutividade e o Detector de Eletroquímica (SILVA, 2017).

Na cromatografia líquida, os solventes são necessários, pois exercem influência direta na separação dos analitos. A seleção e composição adequadas dos solventes são determinadas pelo tipo de cromatografia e pelos analitos em análise. O solvente utilizado como fase móvel é responsável por transportar a amostra através da coluna cromatográfica e exerce impacto superior na retenção e eluição dos analitos. É verossímil que esse solvente seja de alta pureza, visando evitar a contaminação da coluna. A composição da fase móvel pode variar consideravelmente, abrangendo misturas de solventes orgânicos, água e tampões, de acordo com as exigências da aplicação em questão.

No contexto da cromatografia iônica, o eluente constitui uma solução que varia em concentração iônica e pH, sendo empregado para eluir íons de interesse da coluna de troca iônica. A escolha do eluente depende intrinsecamente da natureza dos analitos e das interações específicas que se deseja promover (SANTI *et al.*, 2014).

Um aspecto de extrema relevância diz respeito à qualidade dos solventes empregados. Solventes de alta qualidade revelam-se fundamentais para prevenir contaminações e a formação de picos de base larga durante as análises cromatográficas. Práticas comuns incluem a filtragem e a degaseificação, visando assegurar a pureza do solvente utilizado no processo.

## **Compostos Complexos e Suas Aplicações: Estratégias para Análise Quantitativa**

Os compostos complexos, no panorama químico, são substâncias moleculares que possuem uma estrutura química intrincada e composta por uma grande variedade de átomos, por vezes incluindo múltiplas ramificações, grupos funcionais e/ou ligações químicas diversificadas. Esses compostos são caracterizados por sua elevada complexidade estrutural e podem ser encontrados em diversas áreas da química, desempenhando papéis significativos em produtos farmacêuticos, alimentos, poluentes ambientais e muitas outras aplicações (TEIXEIRA *et al.*, 2018).

Neste prisma, os compostos complexos são uma parte essencial do mundo químico, e sua diversidade estrutural e funcionalidade têm aplicações significativas em diversas áreas, desde a medicina até a indústria alimentícia e a preservação ambiental. Compreender a natureza complexa desses compostos é essencial para seu estudo e aplicação em diferentes contextos científicos e industriais (ALVES FILHO, 2014).

A precisão na determinação da concentração de compostos complexos é fidedigna em uma variedade de campos, como a química farmacêutica, onde a dosagem precisa de

princípios ativos em medicamentos é crítica para a segurança e eficácia do tratamento. Da mesma forma, na indústria de alimentos, a quantificação de componentes, como vitaminas e aditivos, é vital para atender a regulamentos e garantir a qualidade dos produtos (SILVA, 2017).

Na área ambiental, a análise quantitativa é essencial para monitorar a presença de poluentes em água, solo e ar, permitindo avaliar o impacto das atividades humanas no meio ambiente e tomar medidas corretivas quando necessário. A quantificação precisa de poluentes orgânicos, como pesticidas e hidrocarbonetos, é crucial para garantir que os níveis estejam dentro dos limites estabelecidos (ALVES FILHO, 2014).

Além disso, em pesquisas acadêmicas, a análise quantitativa de compostos complexos auxilia em estudos de cinética, termodinâmica e outras investigações científicas que exigem dados quantitativos confiáveis. A falta de precisão nessas análises pode levar a conclusões equivocadas e interpretações errôneas (CHEIRAN, 2018).

Antes da introdução da HPLC, os métodos analíticos tradicionais para a análise de compostos complexos eram baseados em técnicas manuais e menos eficazes, tais como: cromatografia em papel, cromatografia em camada delgada, espectrofotometria UV-Vis, métodos de titulação (FREITAS, 2013).

Nos últimos anos, avanços graduais na análise de compostos complexos por HPLC transformaram essa técnica em uma ferramenta altamente eficaz e versátil. Esses avanços englobam colunas de alta eficiência, detecção avançada, automação, software e técnicas avançadas de preparo de amostras (AVILA *et al.*, 2021).

Esses desenvolvimentos recentes tornaram o HPLC uma ferramenta indispensável para a análise quantitativa de compostos complexos em uma variedade de áreas, oferecendo sensibilidade, precisão e eficiência excepcionais. Isso tem implicações profundas no avanço da pesquisa científica, no controle de qualidade industrial e na proteção do meio ambiente, garantindo resultados analíticos confiáveis e informações valiosas (AVILA *et al.*, 2021).

Inobstantemente, há duas técnicas de calibração comuns em HPLC, que são a curva de calibração e os padrões internos. No método da curva de calibração, uma série de padrões de concentrações conhecidas do analito de interesse é preparada e injetada no sistema HPLC. A resposta do detector (por exemplo, a área do pico cromatográfico) é registrada para cada padrão. Uma curva de calibração é construída plotando a resposta do detector em função da concentração dos padrões. Essa curva é usada para calcular a concentração de analitos nas amostras desconhecidas com base em suas respostas cromatográficas (FIGUEIREDO; TFOUNI, 2013).

Os padrões internos, por sua parte, são compostos adicionados às amostras e que são quimicamente semelhantes aos analitos de interesse, mas não estão presentes naturalmente nas amostras. Após a separação cromatográfica, a razão entre a área do pico do analito e a área do pico do padrão interno é calculada. Isso corrige variações nas condições experimentais e na resposta do detector. A concentração do analito é calculada

comparando essa razão com a de padrões conhecidos (FIGUEIREDO; TFOUNI, 2013).

A preparação de amostras representa uma etapa crítica e determinante na análise por cromatografia líquida de alta eficiência e sua escolha depende da natureza da matriz da amostra e dos analitos em questão. Uma das técnicas frequentemente empregadas é a extração líquido-líquido. Nesse método, busca-se extrair os analitos da matriz da amostra para um solvente orgânico imiscível, seguido pela separação da fase orgânica e posterior injeção dessa fase no sistema HPLC. Essa abordagem se mostra útil em amostras que contenham analitos apolares. Outra técnica relevante é a extração em fase sólida (SPE), que envolve a passagem da amostra por uma coluna preenchida com uma fase sólida seletiva. Nesse processo, os analitos são retidos enquanto as impurezas são lavadas. Posteriormente, os analitos são eluídos da coluna e introduzidos no sistema HPLC (AVILA *et al.*, 2021).

Em situações em que a extração não é necessária, a diluição simples da amostra com um solvente apropriado pode ser suficiente. No entanto, é crucial planejar essa diluição com cuidado para evitar diluições excessivas que possam impactar a sensibilidade da análise. Por fim, em análises de amostras biológicas, como plasma ou soro, pode ser necessária a precipitação de proteínas. Isso é geralmente realizado mediante o uso de solventes orgânicos ou ácidos, visando à remoção das proteínas antes da injeção da amostra no sistema HPLC (ALVES FILHO, 2014).

O controle de qualidade e a validação são procedimentos de extrema importância na garantia da precisão e confiabilidade dos resultados obtidos por meio da HPLC. Primordialmente, a preparação de padrões de calibração com concentrações conhecidas representa um passo essencial para a quantificação precisa dos analitos. A elaboração criteriosa desses padrões e sua análise paralela com as amostras são práticas inegociáveis (FREITAS, 2013).

A reprodutibilidade do método deve ser meticulosamente verificada por meio da realização de análises em diferentes momentos, por distintos operadores e, se aplicável, em equipamentos diversos. A determinação dos Limites de Detecção (LOD) e de Quantificação (LOQ) é crucial para avaliar a sensibilidade do método. O LOD representa a menor concentração detectável, enquanto o LOQ corresponde à menor concentração que pode ser quantificada com precisão (AVILA *et al.*, 2021).

A avaliação da recuperação dos analitos é realizada mediante a adição de quantidades conhecidas de analitos às amostras, seguida da comparação dos resultados com as concentrações teóricas esperadas. Os parâmetros de precisão e exatidão são determinados por meio da análise de amostras de controle de qualidade e sua comparação com os valores de referência, garantindo a robustez do método. A linearidade do método deve ser verificada em uma faixa de concentrações apropriada, proporcionando uma avaliação abrangente da resposta analítica. Por fim, a estabilidade das amostras e dos padrões é um ponto crucial, visando a assegurar que não ocorram alterações significativas

durante o armazenamento (AVILA *et al.*, 2021).

A implementação rigorosa de práticas de controle de qualidade e validação é essencial para garantir que o método de HPLC seja confiável, preciso e esteja em conformidade com os requisitos regulatórios, quando aplicáveis. Essas medidas são indispensáveis para garantir a qualidade dos resultados analíticos em diversos campos de aplicação, desde pesquisas científicas até a indústria farmacêutica e de alimentos (CHEIRAN, 2018).

## CONCLUSÃO

A análise quantitativa de compostos complexos por cromatografia líquida de alta eficiência demonstrou ser um recurso essencial em diversas áreas, incluindo a química farmacêutica, a química ambiental e a indústria de alimentos. Dessarte, explorou-se nesta investigação as estratégias, desafios e avanços associados a essa técnica analítica, abordando questões que vão desde a seleção de colunas e condições de execução até a importância da calibração e controle de qualidade.

Os principais resultados destacam a versatilidade do HPLC na análise de compostos complexos, permitindo a separação eficaz e a quantificação precisa de analitos em uma ampla gama de matrizes. As estratégias de detecção, como a detecção UV-Vis, a detecção de fluorescência e a espectrometria de massas, garantem opções positivas para abordar variados tipos de analitos, aumentando a seletividade e a sensibilidade da análise.

Enfatizou-se, ainda, a relevância da calibração e do controle de qualidade por serem etapas fidedignas para garantir resultados confiáveis, bem como a validação do método para atender a requisitos regulatórios.

Por conseguinte, sugere-se que pesquisas futuras investiguem a integração de técnicas de HPLC com outras tecnologias analíticas avançadas na prática, como a espectrometria de massas de alta resolução e a cromatografia líquida acoplada à espectrometria de fluorescência. Além disso, a otimização de métodos de preparo de amostras e a busca por abordagens mais sustentáveis na cromatografia líquida representam direções promissoras para os avanços constantes da química contemporânea.

## REFERÊNCIAS

ABRÃO, Lailah Cristina de Carvalho *et al.* **Desenvolvimento de um disco de extração em fase sólida molecularmente impresso para a pré-concentração seletiva de tetraciclina em amostras de água seguida de análise por HPLC-UV.** 2013. Disponível em: <http://btdt.unifal-mg.edu.br:8080/>. Acesso em: 30 ago. 2023.

ALVES FILHO, Elenilson de Godoy. **Análises de compostos orgânicos não específicos no esgoto sanitário doméstico através das técnicas RMNq e HPLC-(UV/MS)-SPE-ASS-NMR.** 2014. Disponível em: <https://repositorio.ufscar.br/>. Acesso em: 02 set. 2023.

AVILA, Milena Pendeza de *et al.* **Determinação de compostos aromáticos nitrogenados fixos e voláteis em matrizes asfálticas empregando cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).** 2021. Disponível em: <https://repositorio.ufsm.br/>. Acesso em: 01 set. 2023.

CHEIRAN, Kamila Patikowski. **Determinação do perfil de compostos fenólicos e nitrogenados de cervejas artesanais por HPLC-DAD-ESI-MS/MS.** 2018. Disponível em: <https://www.lume.ufrgs.br/>. Acesso em: 29 ago. 2023.

FACHIN, O. **Fundamentos de Metodologia.** 5ª edição. Revista e atualizada pela norma da ABNT 14724, de 30/12/2005 Ed. Hora Saraiva. Disponível em: <http://maratavarepsicitics.pbworks.com/>. Acesso em: 28 ago. 2023.

FIGUEIREDO, Leonardo Elias; TFOUNI, Elia. **Síntese, caracterização, reatividade química e atividade biológica de nitrosilo complexos de rutênio ligados ao peptídeo penetrador de células TAT-48-60 e ao anticorpo contra células tumorais mamárias transtuzumab.** 2013. Disponível em: <https://repositorio.usp.br/>. Acesso em: 02 set. 2023.

FREITAS, Daniela Cristina Parrinha. **Caracterização fenólica de azeites virgens provenientes da cultivar galega vulgar e validação do método por HPLC.** 2013. Instituto Politécnico de Beja. Escola Superior Agrária. Disponível em: <http://repositorio.ipbeja.pt:8080/>. Acesso em: 05 set. 2023.

GODOY, A. S. **Introdução à pesquisa qualitativa e suas possibilidades.** RAE - Revista de Administração de Empresas, São Paulo, v. 35, n. 2, p. 57-63, 1995. Disponível em: <https://www.scielo.br/>. Acesso em: 28 ago. 2023.

LIMA, Margarida Lago. **Separação, identificação e caracterização dos compostos neutros da Pitch por HPLC-MS, ESI-MS/MS, GC-MS, FTIR-ATR e RMN e avaliação da sua atividade antioxidante e antibacteriana.** 2022. Disponível em: <https://repositorium.sdum.uminho.pt/>. Acesso em: 31 ago. 2023.

NEVES, J. L. **Pesquisa Qualitativa – Características, Usos e Possibilidades.** Caderno de Pesquisas em Administração, São Paulo, v.1, n° 3, 2º Sem./1996. Disponível em: <https://www.hugoribeiro.com.br/>. Acesso em: 28 ago. 2023.

SANTI, M. M. *et al.* **Determinação do perfil fitoquímico de extrato com atividade antioxidante da espécie medicinal Cordia verbenacea DC por HPLC-DAD.** Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, v. 16, p. 256-261, 2014. Disponível em: <https://www.scielo.br/>. Acesso em: 28 ago. 2023.

SILVA, Danielle Fernandes da. **Eficácia dos flavonóides hesperidina e naringenina e o fenol ácido isovanílico complexados com Mg (II), para o controle da bactéria xanthomonas citri ssp. citri.** 2017. Disponível em: <https://repositorio.ufscar.br/>. Acesso em: 01 set. 2023.

TEIXEIRA, Natércia *et al.* **Estudo dos compostos fenólicos presentes em tintas ferrogálicas medievais obtidas através do uso de reconstruções históricas.** 2018. Disponível em: <https://sites.fct.unl.pt/>. Acesso em: 31 ago. 2023.