

Universidade do Algarve
Faculdade de Ciências e Tecnologia

Relatório Pedagógico da Unidade Curricular

**Métodos Instrumentais de Análise
em Biologia e Biotecnologia**

Mestrado em Biologia Marinha
Mestrado em Biotecnologia
Mestrado em Biologia Molecular e Microbiana
Mestrado em Aquacultura e Pescas

Luísa Paula Viola Afonso Barreira
2025

Relatório Pedagógico

Relatório da Unidade Curricular de **Métodos Instrumentais de Análise em Biologia e Biotecnologia**, respetivos conteúdos programáticos e metodologias de ensino e aprendizagem, conforme estipulado na alínea c) ii) do artigo 4º do Regulamento nº 502/2024 da Universidade do Algarve que regula a atribuição do Título de Agregado.

Ao meu marido Carlos e às minhas filhas, Maria Beatriz e Joana, que tanto me apoiaram no meu percurso profissional, pela sua compreensão pelas longas horas e dedicação ao meu trabalho

Aos alunos que inspiraram e motivaram este relatório, pela sua dedicação e empenho na utilização de técnicas analíticas avançadas nos seus projetos

Índice

1	NOTA INTRODUTÓRIA	6
2	ENQUADRAMENTO DA UNIDADE CURRICULAR	8
2.1	Enquadramento da Unidade Curricular nos planos de estudos de segundos ciclos oferecidos pela Faculdade de Ciências e Tecnologia	8
2.2	Capacidade letiva e instrumental da Faculdade de Ciências e Tecnologia	8
2.3	Adequação do Curriculum vitae da proponente à lecionação da UC de “Métodos Instrumentais de Análise em Biologia e Biotecnologia”	9
3	ESTRUTURA DA UNIDADE CURRICULAR	11
3.1	Organização geral	11
3.2	Objetivos gerais e resultados da aprendizagem	12
3.3	Conteúdos programáticos	13
3.4	Conteúdos programáticos em inglês	18
4	AVALIAÇÃO	22
5	BIBLIOGRAFIA RECOMENDADA	23

1 Nota Introdutória

A unidade curricular “Métodos Instrumentais de Análise em Biologia e Biotecnologia” é aqui proposta como disciplina opcional para os mestrados em Biotecnologia, Biologia Marinha, Biologia Molecular e Microbiana, e Aquacultura e Pescas, da Universidade do Algarve. Esta proposta surge no seguimento de vários anos de experiência na orientação de teses de dissertação dos mestrados referidos, nos quais se observou falhas na capacidade dos alunos para aplicar técnicas analíticas avançadas nos seus trabalhos. Isto deve-se ao facto de a maioria dos alunos a frequentar estes mestrados ter formação base em licenciaturas da área das Ciências Biológicas que geralmente não inclui formação em Métodos Instrumentais de Análise. Considerando que, num contexto científico e tecnológico em rápida evolução, o domínio de métodos instrumentais modernos é essencial para o desenvolvimento de competências analíticas avançadas, a UC proposta poderá ajudar a complementar a formação dos alunos nesta área permitindo o desenvolvimento de uma investigação mais rigorosa e com maior inovação tecnológica.

Os principais objetivos da unidade curricular (UC) são, assim, proporcionar aos alunos um conhecimento profundo dos métodos instrumentais de análise mais relevantes em biologia e biotecnologia, bem como capacitá-los a aplicar essas técnicas de forma eficiente e crítica em contextos de investigação e indústria. Os alunos serão introduzidos a uma variedade de técnicas instrumentais, como espectrofotometria de absorção e emissão, espectrometria de massa, e cromatografia líquida e gasosa. Além disso, serão incentivados a compreender os princípios teóricos subjacentes a essas técnicas, bem como a interpretar e analisar dados de maneira rigorosa.

No contexto da Biotecnologia e da Biologia Marinhas, por exemplo, os métodos instrumentais de análise são ferramentas cruciais para o desenvolvimento de produtos e processos inovadores. A capacidade de analisar e caracterizar moléculas biológicas, como proteínas, ácidos nucleicos, lípidos e metabolitos secundários como os compostos fenólicos, é fundamental para o avanço em áreas como biotecnologia farmacêutica, engenharia genética, e bioprocessos industriais. O domínio de técnicas instrumentais permite a exploração de novas soluções para desafios globais, incluindo a produção sustentável de alimentos, biocombustíveis, e terapias inovadoras. Os métodos instrumentais desempenham um papel igualmente vital na análise detalhada de amostras ambientais, a caracterização de compostos bioativos presentes em organismos marinhos, e o estudo de processos ecológicos complexos. Técnicas avançadas, como a espectrometria de massa e a cromatografia, são fundamentais para a identificação de novas moléculas com potencial biotecnológico, incluindo compostos com atividades antimicrobianas, anti-inflamatórias e anticancerígenas. Além disso, esses métodos são indispensáveis para a investigação dos impactos das mudanças climáticas e da poluição nos ecossistemas marinhos.

A UC de “Métodos Instrumentais de Análise em Biologia e Biotecnologia” (MIABB) visa, assim, desenvolver uma série de competências técnicas e científicas nos alunos incluindo: i)

a habilidade em operar e otimizar o uso de instrumentos analíticos avançados; ii) a aptidão para planejar e executar experiências utilizando técnicas instrumentais, além de analisar e interpretar dados de maneira crítica, garantindo a reprodutibilidade e a precisão dos resultados; iii) o desenvolvimento de pensamento crítico e capacidade de formular hipóteses baseadas em evidências empíricas, bem como a habilidade de comunicar resultados de forma clara e precisa, tanto em relatórios técnicos quanto em apresentações científicas; e iv) a compreensão dos aspetos éticos e de sustentabilidade relacionados ao uso de métodos instrumentais em investigação e indústria, promovendo práticas laboratoriais responsáveis e a minimização do impacto ambiental. A UC de MIABB torna-se então essencial para a formação de profissionais capacitados a enfrentar os desafios atuais e futuros das áreas de Biotecnologia e Biologia Marinha. Ao fornecer uma base sólida em técnicas instrumentais de análise, esta disciplina prepara os alunos para contribuir de forma significativa para a investigação científica e a inovação tecnológica, garantindo que estejam aptos a liderar e participar em projetos de vanguarda nestes campos. A compreensão e o domínio dessas técnicas não só ampliam as oportunidades de carreira dos alunos, como também reforçam a capacidade de gerar conhecimento novo e aplicável em diversas áreas de importância global.

A UC será lecionada em língua Inglesa, uma vez que os mestrados para os quais se propõe a sua lecionação, são mestrados internacionais, lecionados nesta língua.

O presente relatório está estruturado em 5 Capítulos. Após este capítulo inicial no qual integrei a Nota Introdutória, o Capítulo 2 descreve o enquadramento desta UC nos mestrados acima referidos, e o Capítulo 3, a estrutura da UC, assim como os seus objetivos e conteúdos programáticos. Os Capítulos 4 e 5, descrevem a metodologia de avaliação e a bibliografia recomendada.

2 Enquadramento da Unidade Curricular

Este capítulo visa enquadrar a unidade curricular nos ciclos de estudos em que é proposta, assim como a capacidade letiva e instrumental existente a nível da Faculdade de Ciências e Tecnologia (FCT) da Universidade do Algarve.

2.1 Enquadramento da Unidade Curricular nos planos de estudos de segundos ciclos oferecidos pela Faculdade de Ciências e Tecnologia

Propõe-se oferecer a UC de “Métodos Instrumentais de Análise em Biologia e Biotecnologia” no 1º ano dos mestrados em Biotecnologia, Biologia Marinha, Biologia Molecular e Microbiana, e Aquacultura e Pescas, da FCT. Uma vez que a formação, a nível de licenciatura, dos alunos que frequentam estes mestrados é variada, podendo incluir licenciaturas das áreas da Química, Biologia e Biotecnologia, entre outras, a formação proposta é oferecida como opcional pois licenciaturas na área da Química já contemplam habitualmente UCs de Métodos de Análise. Esta opção é assim especialmente dirigida a alunos com percursos ligados às Ciências Biológicas sem formação específica em métodos analíticos. Os planos das licenciaturas da área das Ciências Biológicas contemplam geralmente UCs de Química Geral, Química Orgânica, e Bioquímica, que permitirão aos alunos apreender os conhecimentos de métodos analíticos a transmitir na UC proposta.

A UC proposta não apresenta sobreposição com os conteúdos programáticos de outras UCs dos planos de estudos dos mestrados nas quais se propõe a sua oferta. Vários destes mestrados oferecem a opção “Métodos de Laboratório B”, na qual os alunos podem fazer trabalhos em diferentes laboratórios, geralmente associados a grupos de investigação dos centros de investigação da UALG. No entanto, tais trabalhos não incluem obrigatoriamente a formação em técnicas analíticas avançadas. Os mestrados em Biologia Marinha e em Aquacultura e Pescas oferecem formação específica em biologia molecular na UC de Técnicas de Biologia Molecular e Celular, mas, novamente, esta UC não inclui conhecimentos de métodos analíticos químicos.

2.2 Capacidade letiva e instrumental da Faculdade de Ciências e Tecnologia

A leção da UC de MIABB insere-se no Departamento de Química e Farmácia (DQF) da FCT, na Seção de Química Analítica e Ambiental (SQAA), da qual faço parte. Esta seção do DQF, é responsável pela leção de várias UCs relacionadas com as análises químicas como, Técnicas Laboratoriais de Análise (Licenciatura em Bioquímica, 2º ano), Métodos Instrumentais de Análise (Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, 2º ano), Química Analítica (Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, 2º ano), Técnicas Avançadas e

Qualidade em Análises (Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, 3º ano), e Molecular Spectroscopy, Advanced Instrumental Analysis in Practice, Liquid Chromatography e Gas Chromatography, todas do Mestrado Erasmus Mundus de Qualidade em Análises (1º ano). A SQAA conta com um total de 4 docentes habilitadas a lecionar independentemente ou complementarmente as várias UCs. A FCT conta ainda com vários equipamentos analíticos avançados que são habitualmente usadas nas aulas práticas das UCs referidas anteriormente como, espectrofotómetros de absorção UV-vis, espectrofotómetro de absorção de infravermelho, espectrofluorímetro, cromatógrafos líquidos de alta eficiência (HPLC) equipados com detetor UV e de espetrometria de massa, e cromatógrafos de gases com detetores de espetrometria de massa, de ionização por chama e condutividade térmica. A proximidade com o Centro de Ciências do Mar (CCMAR), que possui uma plataforma analítica consideravelmente bem equipada, permite complementar a lista de equipamentos descritos anteriormente com técnicas de espectrofotometria de emissão atómica, análise elementar e ressonância magnética nuclear.

2.3 Adequação do Curriculum vitae da proponente à lecionação da UC de “Métodos Instrumentais de Análise em Biologia e Biotecnologia”

A adequação do *Curriculum Vitae* de um docente à lecionação de uma Unidade Curricular deve ser justificada por várias vertentes incluindo a sua formação académica, experiência na investigação, publicações científicas, participação em projetos de investigação e colaborações e, por fim, mas não menos importante, na sua experiência docente e contribuição para a formação de competências. Sou licenciada em Química Aplicada, com uma especialização em Biotecnologia, pela Universidade Nova de Lisboa, tendo realizado um doutoramento em Ciências e Tecnologias do Ambiente, na Universidade do Algarve. A minha licenciatura deu-me uma base teórica e prática robusta para abordar os métodos instrumentais de análise, conhecimentos que foram depois aplicados durante a realização do meu projeto de doutoramento no qual usei técnicas cromatográficas avançadas na caracterização da contaminação de amostras biológicas e de sedimentos por hidrocarbonetos aromáticos policíclicos. A aplicação das técnicas cromatográficas foi ainda validada com recurso à análise de amostras certificadas que conferiram solidez aos resultados apresentados, demonstrando uma preocupação com a qualidade das análises químicas realizadas.

A minha carreira de investigação após o doutoramento centrou-se na valorização biotecnológica de biomassa proveniente de recursos marinhos que incluiu micro- e macroalgas, ervas marinhas, plantas halófitas e ainda invertebrados. Também aqui o recurso a técnicas analíticas avançadas tem sido uma necessidade constante. A valorização de qualquer tipo de biomassa assenta, muitas vezes, na sua composição em compostos de valor acrescentado, que é geralmente aferida com recurso a técnicas analíticas como espectrofotometria de absorção UV-Vis (análise de proteínas totais e açúcares totais), espectrofluorimetria (determinação de lípidos totais após coloração com Vermelho do Nilo),

cromatografia gasosa com detecção por espectrometria de massa (MS; na avaliação do perfil de ácidos gordos), cromatografia líquida de alta eficiência com detecção UV-Vis (HPLC; determinação do perfil de aminoácidos, vitaminas, pigmentos carotenoides ou compostos fenólicos), ou ainda HPLC acoplada a MS usada em estudos de metabolómica não dirigida, isto é, na identificação preliminar de compostos possivelmente responsáveis pelas atividades biológicas demonstradas pelos organismos para posterior confirmação por Ressonância Magnética Nuclear. A minha carreira de investigação após o doutoramento pautou-se pela utilização constante de todas as técnicas descritas anteriormente em projetos de mestrado e de doutoramento de alunos que fui orientando ao longo da minha carreira, assim como em projetos de investigação financiados por programas nacionais (Fundação para a Ciência e a Tecnologia, Agência Nacional de Inovação, Agência para a Competitividade e Inovação, e Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional) e internacionais (Interreg, Interreg MED, H2020, Horizon, Acordos Bilaterais FCT-CAPES Brasil), estando os resultados publicados em diferentes artigos científicos com revisão por pares. Estas publicações demonstram a capacidade de aplicar métodos analíticos complexos para obter resultados significativos e inovadores. Além disso, a experiência adquirida através da sua aplicação prática permite-me trazer para a sala de aula exemplos práticos e atuais de aplicação dos métodos instrumentais, enriquecendo o processo de ensino-aprendizagem. A participação em projetos e a colaboração com outros investigadores e instituições, tanto a nível nacional como internacional, serviram ainda para ampliar a minha rede de contactos e o acesso a tecnologias de ponta, o que é crucial para manter os conteúdos da disciplina atualizados e relevantes.

Para além da atividade no laboratório de investigação e na orientação de teses de pós-graduação, as minhas atividades letivas têm, desde o seu início em Março de 1993, incluído a lecionação e regência de UCs ligadas aos métodos analíticos a nível de primeiro e segundo ciclo, incluindo os Métodos de Análise Ambiental (Mestrado Integrado em Engenharia do Ambiente, 1994-2015), Metodologias, Instrumentação e Ferramentas em Química Marinha (Mestrado em Oceanografia, 2007-2009), Técnicas Laboratoriais de Análise (Licenciatura em Bioquímica, desde 2016), Métodos Instrumentais de Análise (Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, desde 2019), para além de módulos de mestrados Erasmus Mundus como Molecular Spectroscopy, Gas Chromatography, Liquid Chromatography e Advanced Instrumental Analysis in Practice. Penso que o meu longo percurso na docência destas UCs demonstra a minha capacidade em transmitir aos alunos não só o “como” das técnicas instrumentais, mas também o “porquê” da sua importância no contexto atual da ciência e da indústria.

3 Estrutura da Unidade Curricular

3.1 Organização geral

A UC de “Métodos Instrumentais de Análise em Biologia e Biotecnologia” deverá contemplar 6 ECTS (European Credit Transfer System), correspondentes a 150 horas totais de trabalho, das quais 52 horas serão de contacto ou de estudo acompanhado, correspondendo a 35% do total, e as restantes de estudo autónomo. Considerando um semestre letivo de 14 semanas (atualmente praticado na Universidade do Algarve), as horas de contacto serão divididas em 21 horas de aulas teóricas (T), 28 horas de aulas práticas de laboratório (PL) e 3 horas de seminário (S). A distribuição das horas letivas/estudo autónomo pelas 14 semanas do semestre será feita conforme descrito na Tabela 1.

Tabela 1. Distribuição das horas de contacto e de trabalho autónomo do aluno por tipologia de aula da UC de “Métodos Instrumentais de Análise em Biologia e Biotecnologia”.

Tipologia de aulas	Duração da aula (h)	Nº de aulas por semestre	Horas de contacto com o docente	Horas de trabalho autónomo	% de contacto
Teóricas	1,5	14	21	49	30
Práticas	4	7	28	29	49
Seminário	3	1	3	20	13
Total			52	98	35

As aulas teóricas serão distribuídas pelas 14 semanas do semestre, e serão aulas expositivas com o objetivo de fornecer aos estudantes as bases conceituais necessárias para compreender os tópicos da disciplina, preparando-os para a aplicação desse conhecimento em contextos práticos ou experimentais, abordados nas aulas práticas de laboratório. O principal objetivo das aulas práticas de laboratório é proporcionar uma aprendizagem ativa, onde os estudantes possam experimentar diretamente os processos e técnicas estudados, desenvolver o pensamento crítico, resolver problemas práticos e ganhar experiência na execução de análises químicas avançadas. As aulas práticas de laboratório oferecerão, assim, aos estudantes a oportunidade de aplicar os conhecimentos teóricos apreendidos em ambiente controlado e experimental. Estas aulas serão focadas na execução de técnicas específicas, envolvendo a manipulação dos equipamentos analíticos, com o objetivo de desenvolver habilidades práticas e consolidar a compreensão de conceitos teóricos. Durante as aulas práticas de laboratório, os alunos trabalharão em pequenos grupos sob a supervisão do professor seguindo os protocolos experimentais fornecidos. Os dados recolhidos serão

analisados ainda no decorrer da aula prática (razão pela qual a duração é de 4 horas) de forma a orientar os alunos na realização dos cálculos inerentes e interpretação dos resultados obtidos. Estas aulas deverão ajudar os alunos a adquirir competências técnicas e metodológicas. Finalmente, no seminário, que será realizado numa sessão única no final do semestre, pretende ser uma aula mais interativa na qual os alunos apresentaram trabalhos realizados no âmbito da disciplina, que são depois discutidos em grupo. O papel do professor será o de moderador, facilitando o debate, oferecendo orientação e aprofundando as discussões conforme necessário. Estas aulas têm como objetivo promover o desenvolvimento de competências como a comunicação oral, a argumentação, a síntese de informação e a capacidade de colaborar em discussões académicas.

3.2 Objetivos gerais e resultados da aprendizagem

Os objetivos gerais e os resultados de aprendizagem para uma disciplina de “Métodos Instrumentais de Análise em Biologia e Biotecnologia” devem ser formulados para garantir que os estudantes adquiram tanto o conhecimento teórico quanto as habilidades práticas necessárias para utilizar técnicas analíticas avançadas em contextos biológicos e biotecnológicos. Face a este enquadramento, os objetivos de aprendizagem para esta UC são:

1. Desenvolver uma compreensão sólida dos princípios e teorias subjacentes aos métodos instrumentais de análise utilizados em biologia e biotecnologia, preparando os estudantes para aplicar esses métodos em investigação científica e em contextos industriais.
2. Capacitar os estudantes a selecionar, operar e otimizar o uso de técnicas instrumentais para a análise de diferentes tipos de compostos, garantindo que possam resolver problemas complexos de forma eficaz e com precisão.
3. Promover a habilidade de interpretar e analisar criticamente dados experimentais obtidos através de métodos instrumentais, incluindo a identificação de possíveis fontes de erro e a aplicação de correções adequadas.
4. Fomentar a capacidade de integrar diferentes técnicas instrumentais em projetos de investigação multidisciplinares, permitindo que os estudantes contribuam significativamente para o avanço científico e tecnológico nas suas áreas de especialização.
5. Preparar os estudantes para a comunicação eficaz dos resultados científicos em contextos académicos e profissionais, promovendo a capacidade de elaborar relatórios técnicos e apresentações de alta qualidade.
6. Incentivar a consciência ética e a prática sustentável na aplicação de métodos instrumentais, incluindo a consideração do impacto ambiental e a promoção de práticas laboratoriais responsáveis.

No final da UC, o aluno deverá ser capaz de:

1. Demonstrar compreensão dos princípios teóricos e operacionais das principais técnicas instrumentais, como espectrofotometria de absorção e emissão, espectrometria de massa, e cromatografia, e explicar como esses métodos são aplicados em biologia e biotecnologia.
2. Operar e otimizar equipamentos de análise instrumental em laboratório, seguindo protocolos experimentais rigorosos para a análise de compostos de diferentes naturezas químicas.
3. Coletar, analisar e interpretar dados experimentais com precisão, utilizando software apropriado e abordagens estatísticas para garantir a validade e a reprodutibilidade dos resultados.
4. Aplicar técnicas instrumentais de forma integrada para resolver problemas específicos de investigação ou de processos industriais, demonstrando capacidade de síntese e inovação na escolha e combinação dos métodos.
5. Elaborar e comunicar relatórios científicos detalhados e apresentações orais que descrevam os métodos, resultados, e a sua interpretação, utilizando uma linguagem técnica clara e concisa.
6. Adotar práticas laboratoriais éticas e sustentáveis, demonstrando consciência dos impactos ambientais e sociais associados ao uso de métodos instrumentais, minimizando a geração de resíduos e promovendo o uso eficiente de recursos.

3.3 Conteúdos programáticos

AULAS TEÓRICAS

Conforme indicado acima, decidiu-se priorizar o ensino prático pelo que as aulas teóricas (1h por semana, no total de 14h) serão divididas em 3 partes (Tabela 2). A primeira parte será dedicada a conteúdos gerais relacionados com o tratamento do erro, métodos de quantificação e fontes de ruído em química analítica. As duas partes seguintes serão dedicadas aos métodos espectrofotométricos (parte 2) e métodos cromatográficos (parte 3).

Tabela 2. Conteúdos programáticos, objetivos específicos e resultados de aprendizagem do programa da UC de “Métodos Instrumentais de Análise em Biologia e Biotecnologia”.

Aulas 1-3 (4,5h)	Conceitos básicos em Análise Instrumental
Conteúdos programáticos	Apresentação <ul style="list-style-type: none">– Conteúdos programáticos.– Funcionamento da disciplina.– Avaliação.

	<ul style="list-style-type: none"> – Bibliografia recomendada. <p>Tratamento de resultados</p> <ul style="list-style-type: none"> – Revisão de conceitos básicos de tratamento de dados e incertezas em análise química quantitativa. Tipos de erros. Precisão e exatidão. – Distribuição do erro. Distribuição normal e t-Student. Intervalos de confiança. Níveis de confiança. – Regressão linear. Método dos mínimos quadrados. Determinação do erro da estimativa. <p>Sinal e Ruído</p> <ul style="list-style-type: none"> – Conceito de sinal e ruído. – Razão sinal-ruído. – Tipos de ruído em análises instrumentais. – Formas de maximizar a relação sinal-ruído. <p>Métodos de quantificação e calibração</p> <ul style="list-style-type: none"> – Métodos do padrão externo, padrão interno e da adição de padrão.
<p>Objetivos específicos</p>	<p>Na primeira aula (introdução) serão apresentados aos alunos os conteúdos programáticos e explicado o funcionamento da UC, incluindo a calendarização e objetivo das diferentes tipologias de aulas, as fontes de bibliografia, a forma de avaliação e a forma de comunicação com os alunos (plataforma Moodle).</p> <p>Com estas aulas pretende-se que os alunos conheçam os tipos de erros habitualmente encontrados em química analítica, como os estimar e reportar e compreender a importância da sua estimativa para a qualidade dos resultados. Pretende-se ainda que compreendam de que forma o ruído de uma análise afeta a interpretação e precisão das medidas analíticas. Por último, pretende-se dar a conhecer diferentes forma de quantificar os analitos nas amostras analisadas e como selecionar o método mais apropriado tendo em consideração a natureza da amostra, a concentração do analito e a instrumentação disponível.</p>
<p>Resultados de aprendizagem</p>	<ul style="list-style-type: none"> – Compreender o conceito de erro e calcular a incerteza de uma medição. Aplicar técnicas de regressão e avaliar a linearidade e a robustez do método.

	<ul style="list-style-type: none"> – Conhecer as fontes de ruído de uma análise instrumental. Avaliar a relação sinal-ruído e conhecer formas de a maximizar. – Conhecer e aplicar diferentes métodos de quantificação, calcular parâmetros analíticos como limite de deteção e quantificação. Avaliar qual o método mais apropriado.
Aulas 4-8 (7,5h)	Técnicas espectrofotométricas
Conteúdos programáticos	<p>Espectrofotometria molecular</p> <ul style="list-style-type: none"> – Propriedades da radiação eletromagnética. – Bases teóricas da absorção e emissão eletrónica em moléculas. – Espectroscopia de absorção UV-Vis. A lei de Lambert-Beer e suas limitações. – Fluorescência e fosforescência. – Principais tipos de equipamento. – Aplicações da espectrofotometria molecular em análise química quantitativa. <p>Espectrofotometria atómica</p> <ul style="list-style-type: none"> – Principais diferenças e semelhanças relativamente à espectrofotometria de absorção e emissão molecular. – Métodos de atomização. – Absorção atómica e interferências em espectroscopia de absorção atómica. – Emissão atómica. – Principais tipos de equipamento. – Aplicações da espectrofotometria atómica em análise química quantitativa.
Objetivos específicos	<p>Estas aulas têm como objetivo explicar aos alunos os fundamentos teóricos que levam à absorção e emissão da radiação eletromagnética por átomos e moléculas, assim como, a forma como os valores de absorvância ou emissão podem ser usados na sua quantificação. Serão ainda apresentados os equipamentos utilizados nestas técnicas, os seus componentes e respetiva função e importância para a análise.</p>

Resultados de aprendizagem	<ul style="list-style-type: none"> – Compreender os processos de interação entre átomos e moléculas e a radiação eletromagnética. – Perceber a diferença entre absorção e emissão. – Saber aplicar a Lei de Lambert-Beer com rigor. – Saber escolher a técnica mais apropriada para a quantificação dos diferentes tipos de analitos. – Conhecer os diferentes tipos de equipamentos utilizados em espectrofotometria, os seus componentes e respetivas funções e limitações.
Aulas 9-14 (9h)	Técnicas cromatográficas
Conteúdos programáticos	<p>Princípios gerais da cromatografia</p> <ul style="list-style-type: none"> – Cromatografia em coluna e em camada fina. – Migração de solutos. – Eficiência cromatográfica. Teoria dos pratos teóricos. – Otimização da eficiência cromatográfica. <p>Cromatografia Líquida de Alta Eficiência</p> <ul style="list-style-type: none"> – Princípios da cromatografia líquida de alta eficiência. Tipos de cromatografia líquida. – Instrumentação. Bombas. Tipos de colunas. Tipos de detetores. – Otimização da eficiência em cromatografia líquida em coluna. – Cromatografia de partição (fase normal e reversa) e desenvolvimento de método de separação. – Cromatografia iónica. – Cromatografia em gel ou por exclusão de tamanho. – Cromatografia de fluido supercrítico. <p>Cromatografia Gasosa</p> <ul style="list-style-type: none"> – Princípios da cromatografia gasosa. – Instrumentação. Gás arrastador. Injetor. Tipos de colunas. Detetores. – Otimização da eficiência cromatográfica em cromatografia gasosa. <p>Espetrometria de Massa</p> <ul style="list-style-type: none"> – Espectros de massa – Tipos de ionização e respetivas aplicações.

	<ul style="list-style-type: none"> – Analisadores de massas. – Aplicações da espectrometria de massa.
Objetivos específicos	O objetivo destas aulas é fornecer aos alunos conhecimentos teóricos necessários para usar técnicas cromatográficas na separação, identificação e quantificação de componentes em misturas complexas.
Resultados de aprendizagem	<ul style="list-style-type: none"> – Compreender os princípios da separação cromatográfica. – Saber como otimizar uma separação cromatográfica. – Saber escolher o tipo de cromatografia mais adequado para os analitos. – Saber escolher o melhor detetor para os diferentes tipos de analitos. – Conhecer os diferentes tipos de equipamentos utilizados em cromatografia, os seus componentes e respetivas funções e limitações.

AULAS PRÁTICAS

As aulas práticas pretendem aplicar os conceitos apresentados nas aulas teóricas. Os trabalhos serão realizados com matrizes biológicas comuns em biologia marinha e em biotecnologia como plantas e microalgas, às quais a docente tem fácil acesso. Em cada uma das aulas, os alunos realizarão a extração dos compostos a analisar (sempre que necessário) e aplicarão os diferentes métodos de quantificação introduzidos nas aulas teóricas. Os cálculos serão também realizados durante as aulas práticas e os resultados discutidos com os alunos.

1. **Espectrofotometria de absorção molecular:** Determinação do teor de fenólicos totais em extratos biológicos utilizando o método de Folin. Aplicação do método de padrões externos.
2. **Espectrofluorimetria de emissão molecular:** Determinação do teor total de lípidos neutros em microalgas pelo método do Vermelho do Nilo. Aplicação de técnicas de coloração de células. Utilização do método de padrões externos.
3. **Espectrofotometria de absorção atómica (AAS):** Determinação de cádmio numa amostra de água por AAS comparando os métodos de atomização por chama e por câmara de grafite. Aplicação do método de adição de padrão.
4. **Espectrofotometria de emissão atómica (MP-AES):** Determinação do perfil de minerais de plantas edíveis por espectrofotometria de emissão atómica em plasma de azoto induzido por micro-ondas. Aplicação do método de padrões externos.

5. **Cromatografia em cama da fina:** Separação de grupos lipídicos de extractos de microalgas.
6. **Cromatografia líquida de alta eficiência:** Quantificação dos ácidos gálico e salicílico em extratos de plantas por HPLC-UV. Aplicação do método do padrão interno.
7. **Cromatografia gasosa e espectrometria de massa:** Análise de óleos essenciais de plantas aromáticas. Aplicação do método do padrão interno.

3.4 Conteúdos programáticos em inglês

Uma vez que o idioma de leção será o inglês, abaixo são apresentados os conteúdos programáticos, objetivos e resultados esperados de aprendizagem, descritos nesta língua.

AULAS TEÓRICAS

Table 2a. Course contents, specific objectives and learning outcomes of the syllabus for the course “Instrumental Methods of Analysis in Biology and Biotechnology”.

Classes 1-3 (4,5h)	Basic Concepts in Instrumental Analysis
Course contents	<p>Introduction</p> <ul style="list-style-type: none"> – Syllabus topics – Course structure – Assessment criteria – Recommended bibliography <p>Data Processing</p> <ul style="list-style-type: none"> – Review of basic concepts of data processing and uncertainty in quantitative chemical analysis. Types of errors. Precision and accuracy. – Error distribution. Normal and t-Student distributions. Confidence intervals. Confidence levels. – Linear regression. Least squares method. Estimation error. <p>Signal and Noise</p> <ul style="list-style-type: none"> – Concepts of signal and noise – Signal-to-noise ratio – Types of noise in instrumental analysis – Ways to maximize the signal-to-noise ratio

	<p>Quantification and Calibration Methods</p> <ul style="list-style-type: none"> – External standard, internal standard, and standard addition methods.
<p>Specific Objectives</p>	<p>In the first class (introduction), students will be presented with the syllabus and the organization of the course, including the schedule and purpose of each type of class, the bibliographic sources, assessment methods, and communication platform (Moodle).</p> <p>These classes aim to familiarize students with the types of errors commonly encountered in analytical chemistry, how to estimate and report them, and the importance of error estimation in ensuring data quality. Students should also understand how noise impacts the interpretation and precision of analytical measurements. Finally, they will be introduced to different quantification strategies for analytes, and how to choose the most appropriate method based on sample nature, analyte concentration, and available instrumentation.</p>
<p>Learning Outcomes</p>	<ul style="list-style-type: none"> – Understand the concept of error and calculate measurement uncertainty. Apply regression techniques and evaluate the linearity and robustness of the method. – Identify sources of noise in instrumental analysis. Evaluate signal-to-noise ratio and understand how to optimize it. – Understand and apply various quantification methods, calculate analytical parameters such as detection and quantification limits. Assess the most appropriate method for a given analysis.
<p>Classes 4-8 (7,5h)</p>	<p>Spectrophotometric Techniques</p>
<p>Course contents</p>	<p>Molecular Spectrophotometry</p> <ul style="list-style-type: none"> – Properties of electromagnetic radiation – Theoretical basis of electronic absorption and emission in molecules – UV-Vis absorption spectroscopy. Lambert-Beer's Law and its limitations – Fluorescence and phosphorescence

	<ul style="list-style-type: none"> – Main types of instruments – Applications of molecular spectrophotometry in quantitative chemical analysis <p>Atomic Spectrophotometry</p> <ul style="list-style-type: none"> – Main differences and similarities compared to molecular absorption/emission spectrophotometry – Atomization methods – Atomic absorption and interferences in atomic absorption spectroscopy – Atomic emission – Main types of instruments – Applications of atomic spectrophotometry in quantitative chemical analysis
Specific Objectives	<p>These classes aim to explain the theoretical foundations of electromagnetic radiation absorption and emission by atoms and molecules, and how absorbance or emission values are used for quantification. Students will also learn about the instruments used in these techniques, their components, and their roles in the analysis.</p>
Learning Outcomes	<ul style="list-style-type: none"> – Understand interactions between atoms/molecules and electromagnetic radiation – Distinguish between absorption and emission processes – Accurately apply Lambert-Beer's Law – Select the most appropriate technique for quantifying different types of analytes – Understand the components, functions, and limitations of different spectrophotometric instruments
Aulas 9-14 (9h)	Chromatographic Techniques
Course Contents	<p>General Principles of Chromatography</p> <ul style="list-style-type: none"> – Column and thin-layer chromatography – Solute migration – Chromatographic efficiency. Plate theory – Optimization of chromatographic efficiency <p>High-Performance Liquid Chromatography (HPLC)</p> <ul style="list-style-type: none"> – Principles of HPLC. Types of liquid chromatography

	<ul style="list-style-type: none"> – Instrumentation. Pumps. Column types. Detector types – Efficiency optimization in column liquid chromatography – Partition chromatography (normal and reversed phase) and method development – Ion chromatography – Gel filtration (size-exclusion chromatography) – Supercritical fluid chromatography <p>Gas Chromatography (GC)</p> <ul style="list-style-type: none"> – Principles of GC – Instrumentation. Carrier gas. Injectors. Column types. Detectors – Optimization of chromatographic efficiency in GC <p>Mass Spectrometry (MS)</p> <ul style="list-style-type: none"> – Mass spectra – Ionization types and applications – Mass analyzers – Applications of mass spectrometry
<p>Specific Objectives</p>	<p>The objective of these classes is to provide students with the theoretical knowledge needed to apply chromatographic techniques for the separation, identification, and quantification of components in complex mixtures.</p>
<p>Learning Outcomes</p>	<ul style="list-style-type: none"> – Understand the principles of chromatographic separation. – Know how to optimize a chromatographic separation. – Be able to choose the most appropriate type of chromatography for different analytes. – Be able to select the most suitable detector for various types of analytes. – Be familiar with the different types of chromatography equipment, their components, and their respective functions and limitations.

PRACTICAL CLASSES

The practical classes aim to apply the concepts taught in the theoretical sessions. Experiments will use biological matrices commonly found in marine biology and biotechnology, such as plants and microalgae, which are readily available to the instructor. In each session, students

will perform compound extraction (when necessary) and apply the different quantification methods introduced in theory. Calculations will be performed during the sessions, and results will be discussed with the students.

1. Molecular Absorption Spectrophotometry: Analysis of total phenolic content in biological extracts using the Folin method. Application of the external standard method.
2. Molecular Emission Spectrofluorimetry: Analysis of total neutral lipid content in microalgae using the Nile Red method. Application of cell staining techniques. Use of the external standard method.
3. Atomic Absorption Spectrophotometry (AAS): Analysis of cadmium in a water samples by AAS, comparing flame and graphite furnace atomization. Application of the standard addition method.
4. Atomic Emission Spectrophotometry (MP-AES): Analysis of the mineral profile of edible plants using microwave plasma atomic emission spectrophotometry with nitrogen plasma. Application of the external standard method.
5. Thin-Layer Chromatography: Separation of lipid groups from microalgal extracts.
6. High-Performance Liquid Chromatography (HPLC): Quantification of gallic and salicylic acids in plant extracts by HPLC-UV. Application of the external standard method.
7. Gas Chromatography and Mass Spectrometry (GC-MS): Analysis of essential oils from aromatic plants. Application of the internal standard method.

4 Avaliação

A avaliação da unidade curricular inclui a realização de um trabalho individual no qual cada aluno deverá selecionar e justificar a escolha de um método analítico apropriado para a determinação da concentração de um analito específico, de acordo com a natureza da matriz e os objetivos da análise.

Este trabalho tem como objetivo avaliar a capacidade dos alunos de integrar os conhecimentos teóricos adquiridos ao longo da unidade curricular, nomeadamente no que se refere aos princípios de funcionamento dos diferentes métodos instrumentais, critérios de seleção e limitações associadas a cada técnica.

O trabalho deverá incluir:

- Uma breve descrição do analito e da matriz em que está presente;
- Justificação da escolha do método analítico com base em critérios como sensibilidade, seletividade, tempo de análise, custos e disponibilidade de equipamentos;
- Descrição do procedimento analítico proposto;
- Identificação de possíveis interferências e estratégias para as minimizar;

- Apresentação e discussão dos parâmetros analíticos relevantes (ex.: limite de deteção, precisão, exatidão).

O trabalho será entregue por escrito e apresentado oralmente. A avaliação será distribuída da seguinte forma:

- Relatório escrito: 60%
- Apresentação oral: 30%
- Participação e discussão crítica durante a apresentação: 10%

5 Bibliografia Recomendada

Recomenda-se a consulta dos seguintes livros, sendo que os dois primeiros se encontram disponíveis na Biblioteca da UALG, no Campus de Gambelas.

1. “Principles of Instrumental Analysis”, 7th Ed. (2017) by Douglas A. Skoog, F. James Holler, and Stanley R. Crouch (Editors). CENGAGE Learning, Boston, USA.
2. “Quantitative Chemical Analysis”, 10th Ed. (2020) by Daniel C. Harris and Charles A. Lucy (Editors). W. H. Freeman & Co, LTD.
3. “Analytical Liquid Chromatography - New Perspectives” (2023) by Serban C. Moldoveanu and Victor David (Editors), IntechOpen. ISBN 978-1-80355-514-0.
4. “Recent Advances in Gas Chromatography” (2022) by Fabrice Mutelet (Editor), IntechOpen. ISBN 978-1-83962-603-6.

Poderão ainda ser cedidos aos alunos artigos científicos nos quais se apliquem as técnicas exemplificadas nas aulas práticas. Por exemplo:

5. Monteiro I, Schüler LM, Santos E, Pereira H, Schulze PSC, Florindo C, Varela J, Barreira L (2023) Two-stage lipid induction in the microalga *Tetraselmis striata* CTP4 upon exposure to different abiotic stresses. *Renewable Energy*, 208, 693-701. DOI: 10.1016/j.renene.2023.03.103.

Onde são aplicadas técnicas de fluorescência para estimativa de lípidos neutros e cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa para análise do perfil de lípidos.

6. Blainski A, Lopes GC, De Mello JCP. Application and Analysis of the Folin Ciocalteu Method for the Determination of the Total Phenolic Content from *Limonium Brasiliense* L. *Molecules*. 2013; 18(6):6852-6865. <https://doi.org/10.3390/molecules18066852>

Onde são aplicadas técnicas de espectrofotometria de absorção molecular para a análise de fenólicos totais em amostras de plantas.

7. Schüler LM, Santos T, Pereira H, Duarte P, Gangadhar KN, Molina-Márquez AM, León-Bañares R, Sousa VS, Varela JCS, Barreira L (2020) Improvement of carotenoid extraction from a recently isolated, robust microalga, *Tetraselmis* sp. CTP4 (Chlorophyta). *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 43, 785–796. DOI: 10.1007/s00449-019-02273-9.

Onde são aplicadas técnicas espectrofotométricas e cromatográficas para a análise de pigmentos carotenoides em microalgas.