

Certificado de Material de Referência

DIMCI 1562/2016

Número do Certificado

Identificação do item

MRC: Flunitrazepam

Unidade produtora: Laboratório de Química Biológica (Lqbio)

Numeração do lote: MRC 8723.0001

Código do serviço: 8723

VÁLIDO SOMENTE COM
CHANCELA E ASSINATURA

14/12/2016

Data de emissão

Rodrigo Borges

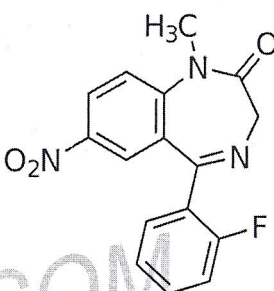
Pesquisador em Metrologia e Qualidade do Laboratório de Química Biológica

O MRC e seu certificado atendem aos requisitos dos guias ABNT ISO GUIA 31 [1] e ABNT ISO GUIA 34 [2] e da norma ABNT NBR ISO/IEC 17025 [3]. Este certificado é válido apenas para o item acima, não sendo extensivo a quaisquer outros e somente pode ser reproduzido de forma integral.

Descrição e preparação do MRC

Este Material de Referência Certificado (MRC) consiste em um pó cristalino amarelo claro (Tabela 1), envasado em frasco de vidro âmbar de borossilicato contendo 50 mg do material sólido e fechado com tampa de borracha e lacre de alumínio.

Tabela 1 – Dados do MRC

Nome do composto:	Flunitrazepam	Fórmula estrutural
Sinônimos:	- Flunidazepam - Fluridrazepam 5-(2-Fluorofenil)-1,3-diidro-1-metil-7-nitro-2H-1,4-benzodiazepin-2-ona 7-Nitro-1-metil-5-(2-fluorofenil)-3H-1,4-benzodiazepin-2(1H)-ona 5-(2-Fluorofenil)-1-metil-7-nitro-1,3-diidrobenzo[e][1,4]diazepin-2-ona - Narcozep; Rohypnol; Silece; Rohydorm	
Fórmula molecular:	C ₁₆ H ₁₂ FN ₃ O ₃	
Massa molecular:	313,3 g/mol	
Número CAS:	1622-62-4	

Este MRC foi obtido a partir de um material de partida adquirido de um produtor comercial.

Metodologia analítica

Este MRC foi submetido a estudos de caracterização, homogeneidade e estabilidade conforme os princípios detalhados nos guias ABNT ISO GUIA 34 [2] e ABNT ISO GUIA 35 [4], sendo as incertezas de medição estimadas conforme guia ABNT ISO GUIA 35 [4], o Guia para a Expressão da Incerteza de Medição [5] e o Guia Eurachem/Citac CG 4 [6].

A caracterização qualitativa (identidade) do flunitrazepam foi determinada pela combinação dos seguintes métodos: cromatografia gasosa com espectrometria de massas (GC-MS) - incluindo estudo de coeluição com um MRC de flunitrazepam fornecido pelo Instituto Nacional de Metrologia da Austrália (D882); espectrometria de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR); ressonância magnética nuclear de prótons (¹H-RMN); ressonância magnética nuclear de carbono-13 (¹³C-RMN) e análise elementar de carbono, hidrogênio e nitrogênio (CHN).

GS-MS

Equipamento:	Cromatógrafo gasoso Agilent 7890A com espectrômetro de massas Agilent 5975C		
Coluna:	DB-5 MS 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm		
Programa:	60-250 °C a 7 °C/min; 250-300 °C a 20 °C/min (hold 3 min)		
Gás de arraste:	hélio	Fluxo:	1 mL/min (constante)
Temp.do injetor:	280 °C	Método de injeção:	split 20:1
Volume de injeção:	1 µL		
Modo de aquisição:	scan	Programa do scan:	50-600 m/z
Solvent delay:	4 min	Temp. da fonte:	230 °C
Temp. transferl. MS:	250 °C	Temp. do quadrupolo:	150 °C

FTIR	Equipamento:	Spectrum Gx		
	Método:	Transmitância em pastilha de KBr		
	Região de varredura:	4000 cm ⁻¹ a 600 cm ⁻¹	Passo:	1 cm ⁻¹
	Resolução:	4 cm ⁻¹	Nº de varreduras:	16
¹H-RMN	Equipamento:	Espectrômetro de RMN 500 MHz modelo Avance III HD Bruker		
	Programa de pulso:	zg30		
	Pulso de 90 °:	8 µs	Frequência ¹ H:	500,13 MHz
	Janela espectral:	15 ppm	Freq. excitação ¹ H:	6,5 ppm
	Tempo de aquisição:	4,37 s	Time domain size:	65536
	Nº de scans:	32	Pre-scan delay:	10 µs
	Nº de dummy scans:	0	Tempo de espera D1:	1 s
	Dwell time:	66,667 µs	Temperatura:	297,8 K
	Solvente:	CDCl ₃	Ganho:	automático
¹³C-RMN	Equipamento:	Espectrômetro de RMN 500 MHz modelo Avance III HD Bruker		
	Programa de pulso:	zgpg30		
	Pulso de 90 °:	15 µs	Frequência ¹³ C:	125,77 MHz
	Janela espectral:	236,637 ppm	Freq. excitação ¹³ C:	100 ppm
	Tempo de aquisição:	1,10 s	Time domain size:	65536
	Nº de scans:	512	Pre-scan delay:	10 µs
	Nº de dummy scans:	0	Tempo de espera D1:	0,5 s
	Dwell time:	16,8 µs	Temperatura:	297,8 K
	Desacoplamento ¹ H:	WALTZ16	Frequência ¹ H:	500,13 MHz
	Pulso desacopl. ¹ H:	80 µs	Freq. excitação ¹ H:	4 ppm
	Solvente:	CDCl ₃	Ganho:	automático
CHN	Equipamento:	Perkin Elmer CHN – 2400		
	Temp. de combustão:	975 °C	Temp. de redução:	501 °C
	Temp. forno detector:	82,2 °C	Pressão:	116,2 mmHg
	Gás de arraste:	hélio		

A caracterização quantitativa (pureza – fração mássica) do flunitrazepam foi determinada pela combinação de dois métodos independentes: balanço de massa e ressonância magnética nuclear de prótons quantitativa (¹H-RMNq).

O balanço de massa foi determinado de acordo com a equação 1:

$$\text{Flunitrazepam (fração mássica \%)} = 100\% - \sum \text{impurezas orgânicas relacionadas\%} - \sum \text{água\%} - \sum \text{solventes residuais\%} - \sum \text{impurezas inorgânicas\%}$$

Equação 1

O teor de impurezas orgânicas relacionadas foi determinado por cromatografia gasosa com detector de ionização de chamas (GC-FID) utilizando-se dois equipamentos diferentes. O teor de água foi determinado por titulação coulométrica Karl Fischer (KF). O teor de solventes residuais foi determinado por cromatografia gasosa com espectrometria de massas e amostragem *headspace* (HS-GC-MS). O teor de impurezas inorgânicas foi determinado pelo método de cinzas (CINZAS).

GC-FID 1	Equipamento:	Cromatógrafo gasoso Agilent 7890A	
	Coluna:	DB-1 MS 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm	
	Programa:	200-240 °C a 5 °C/min; 240-285 °C a 4 °C/min; 285-300 °C a 20 °C/min (<i>hold</i> 3 min)	
	Gás de arraste:	hélio	Fluxo: 1 mL/min (constante)
	Temp. do injetor:	250 °C	Método de injeção: <i>split</i> 20:1
	Vol. de injeção:	1 µL	Temp. do detector: 320 °C
GC-FID 2	Equipamento:	Cromatógrafo gasoso Agilent 7890A	
	Coluna:	DB-5 MS 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm	
	Programa:	200-240 °C a 5 °C/min; 240-285 °C a 4 °C/min; 285-300 °C a 20 °C/min (<i>hold</i> 3 min)	
	Gás de arraste:	hélio	Fluxo: 1 mL/min (constante)
	Temp. do injetor:	250 °C	Método de injeção: <i>split</i> 20:1
	Vol. de injeção:	1 µL	Temp. do detector: 320 °C
KF	Equipamento:	Metrohm 852 Titrand	
	Solução anolítica:	Hydranal® - Coulomat AG	
	Solução catolítica:	Hydranal® - Coulomat CG	
	Eletrodo:	Eletrodo metálico	Eletrodo gerador: com diafragma
	I (pol):	10 µA	Pausa: 60 s
	Ponto de equivalência:	50,0 mV	Veloc. de titulação: otimizada
	Critério de parada:	desvio relativo	Desvio relativo: 5 µg/min
	Tempo de extração:	0 s	Temperatura: 25 °C
HS-GC-MS	Equipamento:	Cromatógrafo gasoso Agilent 7890A com espectrômetro de massas Agilent 5975C e amostrador <i>headspace</i> Agilent 7697A	
	Coluna:	DB-624 30 m x 0,32 mm x 1,8 µm	
	Programa:	35 °C (<i>hold</i> 20 min), 35-80 °C a 5 °C/min, 80-250 °C a 10 °C/min (<i>hold</i> 2 min)	
	Gás de arraste:	hélio	Fluxo: 2,5 mL/min (const.)
	Amostrador:	<i>headspace</i>	Método de injeção: <i>split</i> 5:1
	Temp. do forno HS:	85 °C	Temp. do <i>loop</i> : 120 °C
	Temp. <i>transferline</i> HS:	125 °C	Tempo equilíbrio <i>vial</i> : 30 min
	Tempo de injeção:	1 min	Tempo do ciclo do GC: 63 min
	Fluxo de purga:	200 mL/min	Tempo de purga: 2 min
	Modo de aquisição:	<i>scan</i> /SIM simultâneo	
	<i>Solvent delay</i> :	0 min	Temp. da fonte: 230 °C
	Temp. <i>transferline</i> MS:	250 °C	Temp. do quadrupolo: 150 °C
	Programa do <i>scan</i> :	29-150 m/z	Programa do SIM: NIT-Lqbio-026 [7]
CINZAS	Equipamento:	Mufla Quimis Q318M25T	
	Temperatura:	600 °C	Tempo: 3 h

¹H-RMNq

Equipamento:	Espectrômetro de RMN 500 MHz modelo Avance III HD Bruker		
Programa de pulso:	zgig30		
Pulso de 90 °:	9,1 µs	Frequência ¹ H:	500,13 MHz
Janela espectral:	20 ppm	Freq. excitação ¹ H:	6 ppm
Tempo de aquisição:	2,56 s	Time domain size:	51200
Nº de scans:	16	Pre-scan delay:	10 µs
Nº de dummy scans:	4	Tempo de espera D1:	24 s
Dwell time:	50 µs	Temperatura:	297,8 K
Desacoplamento ¹³ C:	GARP	Frequência ¹³ C:	125,77 MHz
Pulso desacopl. ¹³ C:	70 µs	Freq. excitação ¹³ C:	100 ppm
Solvente:	DMSO-d6	Padrão interno:	ácido benzoico
Ganho:	automático	Line broadening:	0,30 Hz
Correção de fase:	manual	Correção linha de base:	manual
Integração:	manual		

O estudo de homogeneidade foi conduzido para as impurezas presentes no MRC, descritas na equação 1, usando os métodos descritos.

O estudo de estabilidade foi conduzido para as impurezas orgânicas relacionadas e água, descritas na equação 1, bem como para os solventes residuais, quando presentes, novamente usando os métodos descritos.

Rastreabilidade metrológica

O valor certificado para pureza é rastreável à unidade de massa (kg) do Sistema Internacional de Unidades (SI) através de padrões nacionais brasileiros via calibração de balança. A pureza foi derivada pela subtração da massa das impurezas da massa do MRC. O conteúdo de impurezas orgânicas relacionadas e de solventes residuais é rastreável à massa pela separação cromatográfica e determinação de fatores de respostas dos componentes individuais ou calibração com um calibrante rastreável à massa. O conteúdo de água e de impurezas inorgânicas é diretamente rastreável à massa pelo uso de titulação coulométrica Karl Fischer e análise de cinzas por gravimetria, respectivamente. A ressonância magnética nuclear de prótons quantitativa fornece uma medida direta e independente da fração mássica do analito de interesse, calibrada com um padrão interno certificado para pureza (fração mássica).

Uso pretendido

Este MRC é para uso laboratorial em processos de calibração; validação de métodos; monitoramento do desempenho de instrumentos, métodos e pessoal; controle de qualidade e provimento de rastreabilidade metrológica em medições de flunitrazepam em diversos tipos de amostras. Este MRC deve ser utilizado unicamente para testes e ensaios. A comutatividade deste material não foi avaliada.

Instruções para uso

O MRC não requer secagem antes de seu uso. O MRC somente deve ser aberto após atingir a temperatura de manuseio descrita neste certificado. A alíquota mínima que deve ser utilizada é de 2 mg. O certificado não terá valor caso o MRC seja danificado, contaminado, alterado, ou ainda se for utilizada uma quantidade inferior à alíquota mínima.

O MRC deve ser rapidamente manuseado na faixa de temperatura de 18-25 °C e umidade relativa de 30-70%. Após cada uso, o MRC deve ser bem fechado e armazenado tal como recomendado neste certificado.

O valor de propriedade certificado, com sua incerteza associada, permanece válido quando o MRC é transportado, armazenado e manuseado nas condições estabelecidas neste certificado.

Do melhor do nosso conhecimento, a estabilidade do MRC não é afetada após períodos curtos de manuseio e uso nas condições de manuseio descritas neste certificado. No entanto, o Inmetro não pode ser responsabilizado por quaisquer alterações do material que ocorram durante o manuseio e armazenamento nas dependências do cliente após a abertura do frasco contendo o MRC.

Transporte e armazenagem

O MRC deve ser armazenado na faixa de temperatura de 18-25 °C, umidade relativa de 30-70% e protegido da luz.

O MRC deve ser transportado em temperatura não superior a 40 °C. Se o transporte ocorrer em temperatura entre 25,1-40 °C, ele deverá ser realizado em até 3 semanas. Se o transporte ocorrer em temperatura igual ou inferior a 25 °C, não há restrições de tempo para sua realização.

Todas as informações referentes ao transporte e segurança estão contidas na FISPQ (Ficha de Informação de Segurança de Produtos Químicos), disponível no endereço eletrônico (www.inmetro.gov.br).

Atenção! Este MRC contém substância sujeita a controle especial no Brasil e a regulamentação sanitária vigente deve ser atendida em relação ao seu transporte.

Valor certificado

O valor certificado é o que apresenta a mais elevada confiança na sua exatidão e para o qual todas as fontes de erro conhecidas ou potenciais foram pesquisadas e consideradas.

O valor certificado para a pureza do flunitrazepam (fração mássica) com sua incerteza expandida para um nível de confiança de aproximadamente 95 % e fator de abrangência $k=2$ [5] está discriminado a seguir:

Pureza: $(99,82 \pm 0,37) \%$

A incerteza expandida foi calculada pela combinação das contribuições de incerteza-padrão dos estudos de homogeneidade, estabilidade e caracterização [4].

Prazo de validade

O MRC 8723.0001 é válido até **02 de junho de 2021**.

Este MRC deve ser manuseado e armazenado de acordo com as instruções contidas neste certificado. O certificado não terá valor caso o MRC seja danificado, contaminado ou alterado.

O Inmetro mantém um programa de monitoramento de todos os MRC. Qualquer alteração no valor certificado durante o prazo de validade será comunicada ao usuário.

Referências

- [1] ABNT ISO GUIA 31:2004. Materiais de Referência – Conteúdo de certificados e rótulos.
- [2] ABNT ISO GUIA 34:2012. Requisitos gerais para a competência de produtores de material de referência.
- [3] ABNT NBR ISO/IEC17025:2005. Requisitos gerais para competência de laboratórios de ensaio e calibração.
- [4] ABNT ISO GUIA 35:2012. Materiais de referência – Princípios gerais e estatísticos para certificação.
- [5] Avaliação de dados de medição – Guia para a expressão de incerteza de medição – GUM 2008. Tradução da 1ª edição de 2008 da publicação *Evaluation of measurement data – Guide to expression of uncertainty in measurement – GUM 2008*, do BIPM. Duque de Caxias – RJ, 2012. Publicado pelo Inmetro.
- [6] EURACHEM/CITAC GUIDE CG 4. Quantifying uncertainty in analytical measurement. 3.ed. London, 2012. 133 p.
- [7] NIT-Lqbio-026 rev. 00 (2017) - Avaliação qualitativa de solventes residuais em amostras orgânicas de elevada pureza por HS-GC-MS.

VÁLIDO SOMENTE COM
CHANCELA E ASSINATURA