



UNIVERSIDADE DO SUL DE SANTA CATARINA
CRISTIANO ELEUTERIO DE SOUSA

CARACTERIZAÇÃO DE MATÉRIA PRIMA COMO PADRÃO SECUNDÁRIO PARA
ANÁLISE DE DOSEAMENTO DO ÁCIDO ASCÓRBICO

Tubarão
2020

CRISTIANO ELEUTERIO DE SOUSA

**CARACTERIZAÇÃO DE MATÉRIA PRIMA COMO PADRÃO SECUNDÁRIO PARA
ANÁLISE DE DOSEAMENTO DO ÁCIDO ASCÓRBICO**

Relatório de estágio apresentado ao
Curso de Química Bacharelado da
Universidade do Sul de Santa Catarina
como requisito parcial à obtenção do título
de Bacharel em Química.

Orientador: Prof. Alessandro de Oliveira Limas, Ms.

Tubarão
2020

CRISTIANO ELEUTERIO DE SOUSA

**CARACTERIZAÇÃO DE MATÉRIA PRIMA COMO PADRÃO SECUNDÁRIO PARA
ANÁLISE DE DOSEAMENTO DO ÁCIDO ASCÓRBICO**

Este Relatório de Estágio foi julgado adequado à obtenção do título de Bacharel em Química e aprovado em sua forma final pelo Curso de Química Bacharelado da Universidade do Sul de Santa Catarina.

Tubarão, 02 de dezembro de 2020.

Professor e orientador Alessandro de Oliveira Limas, Ms.
Universidade do Sul de Santa Catarina

Prof. Cesar Renato Alves da Rosa, Ms.
Universidade do Sul de Santa Catarina

Prof. Jair Juarez João, Dr.
Universidade do Sul de Santa Catarina

Prof. Suzana Cimara Batista, Dra.
Universidade do Sul de Santa Catarina

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, por ser essencial em minha vida ao meu pai Darcizio e minha mãe Custódia.

AGRADECIMENTOS

Deus por me proporcionar perseverança durante toda a minha vida.

Aos meus pais Darcizio e Custodia, pelo apoio e incentivo que serviram de alicerce para as minhas realizações e nunca deixaram desistir dos meus sonhos.

As minhas irmãs Catiana, Eliana e Luciana pela lealdade e atenção dedicada quando sempre precisei.

As minhas sobrinhas Karollyna, Priscila e meu sobrinho Davi, pelo carinho, afeto e atenção.

Aos meus cunhados Felipe e Jambert, por toda força e palavra amiga nos momentos difíceis.

A minha madrinha Joana e amiga Arlene pelos ensinamentos.

Ao meu coordenador Diego que concedeu todo suporte possível para a realização e êxito desse trabalho.

Ao meu professor orientador Alessandro, pelas valiosas contribuições dadas durante todo o processo.

A todos os meus amigos do curso de graduação, que compartilharam dos inúmeros desafios que enfrentamos, sempre com o espírito colaborativo.

“O sucesso não tem a ver com o lugar de onde você veio, e sim com a confiança que você tem e o esforço que você está disposto a investir” (OBAMA, 2017)

RESUMO

O presente estágio foi realizado em uma indústria farmacêutica no município de Pedras Grandes – SC. Para realização desse trabalho foi analisado matéria prima de ácido ascórbico para caracterização de padrão secundário sendo assim diminuir os custos com as análises de doseamento, uma vez que o padrão referência possui um custo elevado. As boas práticas de fabricação de medicamentos da ANVISA estabelece que os fármacos devam passar por análises que determinam a pureza e impureza dos princípios ativos determinados em bula dentre outras análises que asseguram a qualidade. Os padrões utilizados para essa determinação deverão ser padrões oficiais, sempre que existirem. A norma não esclarece a definição do termo padrões oficial, mas deixa a entender que são os padrões adquiridos de uma farmacopeia. Padrão de referência primário é uma substância que apresenta um elevado grau de pureza e autenticidade que foram demonstrados por meio de testes analíticos. Padrão de referência secundário é uma substância de qualidade e de pureza estabelecidas, após comparação com o padrão de referência primário. Foram repedidas três análises com pesos aproximadamente iguais e aplicado o teste T, para certificar que amostra de matéria prima analisada como padrão secundário era tão eficaz quando comparada com o padrão primário. O resultado foi positivo é mostrou que o teor ficou em 99,47%, sendo assim podendo ser substituído em futuras análises na presente empresa.

Palavras-chave: Padrão secundário. Ácido ascórbico. Cromatografia Líquida.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Representação gráfica do cromatograma de ácido ascórbico20

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Caracterização físico-química conforme metodologia farmacopeia.	19
Tabela 2 – Média, desvio padrão e coeficiente de variação percentual das réplicas injetadas de padrão de referência.	20
Tabela 3 - Doseamento de ácido ascórbico matéria-prima em comparação com o padrão analítico de referência.	21

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
1.1 JUSTIFICATIVA E PROBLEMA	12
1.2 OBJETIVOS	13
1.2.1 Objetivo geral	13
1.2.2 Objetivos específicos	13
2 REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1 INDÚSTRIA FARMACÊUTICA.....	14
2.2 CONTROLE DE QUALIDADE.....	14
2.3 MATÉRIA PRIMA.....	14
2.4 CROMATORAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA	14
2.5 PADRÃO PRIMÁRIO.....	15
2.6 PADRÃO SECUNDÁRIO	15
3 MATERIAIS E MÉTODOS	16
3.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE PADRÃO SECUNDÁRIO CONFORME METODOLOGIA FARMACOPEICA	16
3.1.1 Descrição	16
3.1.2 Solubilidade.....	16
3.1.3 Identificação	17
3.1.4 Poder rotatório	17
3.1.5 Resíduo por Incineração.	17
3.2 DOSEAMENTO DE ÁCIDO ASCÓRBICO POR CROMATOLOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA	17
3.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA DE DADOS.....	18
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	19
4.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA.....	19
4.2 DOSEAMENTO DE ÁCIDO ASCÓRBICO POR CROMATOLOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA	19
5 CONCLUSÃO	22
REFERÊNCIAS	23
APÊNDICE A – PESO DO PADRÃO PRIMÁRIO USP	25
APÊNDICE B – PREPARAÇÃO PADRÃO SECUNDÁRIO E	26
APÊNDICE C – VIAL NO HPLC PARA ANÁLISE DE TEOR	27

1 INTRODUÇÃO

Vários procedimentos analíticos para produtos farmacêuticos dependem do uso de materiais de referência química (SQR), para caracterizar ou quantificar suas características, que é base para o controle de qualidade farmacêutica (BROWNE, 2009).

Padrões de referência podem ser certificados como padrões primários ou como padrões secundários. O conteúdo de um padrão primário é determinado por intermédio de uma extensa série de análises físico-químicas e completa caracterização do candidato. Por sua vez, o conteúdo dos padrões secundários é determinado por cromatografia ou espectroscopia em comparação a um padrão de referência primário (MATHKAR et al., 2009).

O objetivo de estabelecer o padrão secundário é usá-lo em análise de rotina para determinar a identidade, pureza, especialmente os ingredientes ativos em preparações farmacêuticas (WHO, 1999). Desta forma, é fundamental que o padrão secundário apresente as mesmas propriedades do padrão primário, permitindo assim o seu uso como material de referência (COUNCIL OF EUROPE, 2008).

Segundo a RDC 166, 24 de julho de 2017 (ANVISA, 2017), na decisão sobre boas práticas de fabricação, os procedimentos analíticos e de qualificação utilizados para caracterizar os padrões referência devem ser mais amplos do que os procedimentos de controle de medicamentos.

1.1 JUSTIFICATIVA E PROBLEMA

O processo produtivo de uma indústria farmacêutica requer muito planejamento para atender todas as normas estabelecidas pela ANVISA, órgão que fiscaliza todo o processo produtivo da indústria. Existe uma linha de processo que vai desde recebimento da matéria prima até o produto final, aquele que chega até o consumidor, sendo indispensável um processo rigoroso no controle de qualidade e todas as análises que garantem a eficácia dos fármacos produzidos.

Entre uma grande variedade de medicamentos produzidos na presente empresa, temos o principal produto, sendo um comprimido efervescente do princípio ativo de ácido ascórbico, onde leva na sua manipulação além de ácidos orgânicos o bicarbonato de sódio.

Esses comprimidos após o processo de fabricação passam por uma análise para certificar o teor de ácido ascórbico presente no fármaco, essa análise é realizada no HPLC (cromatografia líquida de alta eficiência), é realizada sobre a comparação entre uma preparação amostra do próprio comprimido com o padrão primário, sendo assim comparada a pureza do fármaco.

O principal problema é o custo do padrão primário que é muito elevado e são realizadas inúmeras análises do teor diariamente para atender a demanda de produção da presente indústria farmacêuticas.

O intuito desse trabalho é realizar análises onde comprove que a pureza do padrão secundário que por sua vez é extraído da matéria prima de ácido ascórbico é equivalente ao padrão primário, tendo assim um baixo custo nas análises, já que a empresa possui uma quantidade significativa de matéria prima desse princípio ativo no qual será feito o padrão secundário.

Assim podemos evidenciar a grande importância na seguinte questão: **É possível realizar análises do teor de ácido ascórbico utilizando padrão secundário tendo a mesma pureza do padrão primário, em uma indústria farmacêutica no sul de Santa Catarina?**

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo geral

Caracterizar um padrão secundário para análise de doseamento do ácido ascórbico em uma indústria farmacêutica localizada no sul de Santa Catarina.

1.2.2 Objetivos específicos

- Caracterizar o padrão secundário conforme metodologia farmacopeia.
- Realizar o doseamento do padrão secundário por cromatografia líquida de alta eficiência.
- Determinar a pureza do padrão secundário por cromatografia líquida de alta eficiência.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 INDÚSTRIA FARMACÊUTICA

A indústria farmacêutica tem a responsabilidade de produzir medicamentos que em sua composição existem substâncias que atuam como princípio ativ. Segundo o guia Interfarma 2018, o Brasil ocupa o 6º lugar nos mercados farmacêuticos do mundo, onde traz projeção para que em 2022 ocupe o 5º lugar.

2.2 CONTROLE DE QUALIDADE

O controle de qualidade de uma empresa farmacêutica realiza análises lote a lote dos materiais, como matéria prima e produto acabado, baseados em parâmetros e certificações próprias. Essas análises podem apresentar alguma validação ou algum estudo de estabilidade prévio para assegurar que essas matérias-primas têm a segurança e a eficácia desejada. (INTERFARMA, 2020)

2.3 MATÉRIA PRIMA

As matérias primas de uso farmacêutico são substâncias químicas que têm como função a produção de medicamentos. Portanto, a aquisição de insumos químicos é uma das primeiras e mais importantes etapas na cadeia de produção de medicamentos em geral.

Os fornecedores de matéria prima para indústria farmacêutica devem ser cautelosos quanto à origem dos produtos oferecidos, a fim de garantir a qualidade e a segurança dos produtos de uso farmacêutico fabricados por seus fornecedores (METALLCHEMIE, 2018).

2.4 CROMATORAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA

Na verificação de métodos cromatográficos, os parâmetros analíticos usualmente determinados são: seletividade, precisão linear, exatidão, limite de detecção e limite de quantificação da robustez da faixa linear. Esses termos são

chamados de desempenho analítico, parâmetro de características de desempenho, às vezes também chamados de fatores de qualidade analítica (RIBANI, 2004).

2.5 PADRÃO PRIMÁRIO

Os padrões de referências farmacêuticos primários são substâncias designadas que são amplamente reconhecidas por terem as qualidades apropriadas dentro de um contexto específico. Seu valor é aceito desde que a substância esteja sendo armazenada e utilizada de acordo com as instruções no rótulo.

Embora os padrões de referências sejam primeiro avaliados quanto à pureza, se a pureza não for aceitável, ele é posteriormente purificado até que um nível aceitável seja obtido. Uma vez que a pureza cromatográfica é aceitável, a substância é ainda caracterizada por MS, FTIR, C-NMR, H-NMR e análise elementar (BRASIL, 2010).

2.6 PADRÃO SECUNDÁRIO

Usa-se uma solução de padrão secundário com concentração aproximada desejada para titular uma massa conhecida de um padrão primário. Padrões secundários são muito utilizados por ter um custo mais baixo e disponibilidade no mercado (BRASIL, 2010).

Será admitido o uso de substâncias químicas de referência caracterizada (SQC), Mediante a apresentação de relatório de caracterização conclusivo para o lote em estudo, incluindo as razões técnicas para a escolha dos ensaios utilizados e os dados brutos pertinentes (ANVISA, 2017).

O relatório de caracterização depende da amostra, onde deve conter os dados obtidos a partir de técnicas aplicáveis à caracterização de cada substância química como, por exemplo, em métodos cromatográficos, entre outros (ANVISA, 2017).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Para caracterizar o padrão secundário, foi necessário utilizar alguns procedimentos para uma boa eficácia do padrão em meio às análises de doseamento. A caracterização se deu através da escolha de matéria prima de ácido ascórbico, um controle de análises, determinação do teor por cromatografia líquida de alta eficiência, sendo a técnica definida para essa análise e determinação dos resultados obtidos.

A seguir foram realizadas as seguintes etapas para caracterizar a matéria prima em padrão secundário.

3.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE PADRÃO SECUNDÁRIO CONFORME METODOLOGIA FARMACOPEICA

Para caracterização do padrão secundário de ácido ascórbico foi utilizada a farmacopeia americana, cujos testes estão elencados abaixo.

Descrição

Solubilidade

Identificação

Poder rotatório

Resíduo por incineração

3.1.1 Descrição

Na descrição foi verificada a característica física do material, descrito como um cristal ou pó branco, com coloração ligeiramente amarela.

3.1.2 Solubilidade

Foi verificada a solubilidade em água purificada, álcool etílico, éter etílico, clorofórmio e benzeno. O material deve ser muito solúvel em água, moderadamente solúvel em álcool etílico, insolúvel em clorofórmio, éter etílico e benzeno.

3.1.3 Identificação

Foi realizada identificação por espectrômetro de infravermelho e identificação colorimétrica por reação de redução do tartarato cúprico.

3.1.4 Poder rotatório

O poder rotatório específico foi determinado com o auxílio de um polarímetro, realizada leitura em 589 nm e determinado em graus, sendo um valor aceito entre + 20,50° a + 21,50°.

3.1.5 Resíduo por Incineração.

O resíduo por incineração foi determinado pela técnica termogravimétrica, em mufla a 600 ± 50 °C. O valor de aceitação para o material é $\leq 0,10\%$.

3.2 DOSEAMENTO DE ÁCIDO ASCÓRBICO POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA

Análise escolhida para caracterizar a matéria prima de ácido ascórbico em padrão secundário foi à determinação do teor cromatografia líquida de alta eficiência, utilizando um UPLC Acquity, H Class, com detector UV-vis. O sistema cromatográfico está descrito abaixo:

Detector: UV;

Comprimento da onda: 240nm;

Coluna: C18 (50x 2,10mm, partícula de 1,70 μm);

Filtro pré-coluna para hplc: 0,20 μm ;

Fluxo: 0,20ml/min;

Temperatura da coluna: 30°C

Tempo de corrida: 2 minutos por amostra;

Volume de injeção: 0,5 μL

Fase móvel: Fosfato de sódio tribásico dodecahidratado 7,6024%, pH ajustado para 2,5 com ácido o-fosfórico 85%.

As amostras foram preparadas na concentração teórica de 0,07 mg/mL, na fase móvel e filtradas através de filtro de PVDF de 0,22 µm para um vial e sonicar por 10 minutos antes do uso. Foram pesadas em triplicata e injetadas seis réplicas de cada amostra.

O padrão de referência utilizado foi Ácido Ascórbico SQR certificado pela farmacopeia americana (USP).

O resultado foi expresso em percentual (%).

3.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA DE DADOS

Para doseamento do ácido ascórbico e determinação da pureza, foi verificado a média, desvio padrão e coeficiente de variação percentual entre as réplicas injetadas. Foi verificada a diferença estatística entre as médias das amostras, em comparação com o padrão de referência utilizando test-T de Student, com nível de significância de 0,05.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA

Os dados de caracterização físico-química estão descritos na tabela 1.

TABELA 1 – Caracterização físico-química conforme metodologia farmacopeia.

Análise	Especificação	Resultado
Descrição.	Cristais ou pó branco ou ligeiramente amarelo.	Conforme farmacopeia Americana.
Solubilidade.	Muito solúvel em água, moderadamente solúvel em álcool, insolúvel em clorofórmio, em éter e em benzeno.	Conforme farmacopeia Americana.
Identificação Infravermelha.	O espectro de absorção da preparação amostra apresenta máximos de absorção nos mesmos comprimentos de onda quando comparado com o espectro da preparação padrão.	Conforme farmacopeia Americana.
Identificação colorimétrica.	Alteração de coloração devido à redução lenta do tartarato cúprico.	Conforme farmacopeia Americana.
Poder rotatório específico.	+ 20,50° a + 21,50°.	Conforme farmacopeia Americana.
Resíduo por incineração.	≤ 0,10%.	Conforme farmacopeia Americana.

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

A caracterização físico-química, conforme metodologia da farmacopeia apresentou resultados dentro dos parâmetros definidos, mostrando que o material caracterizado tem qualidade suficiente para iniciar os testes de determinação de teor e pureza por cromatografia líquida de alta eficiência.

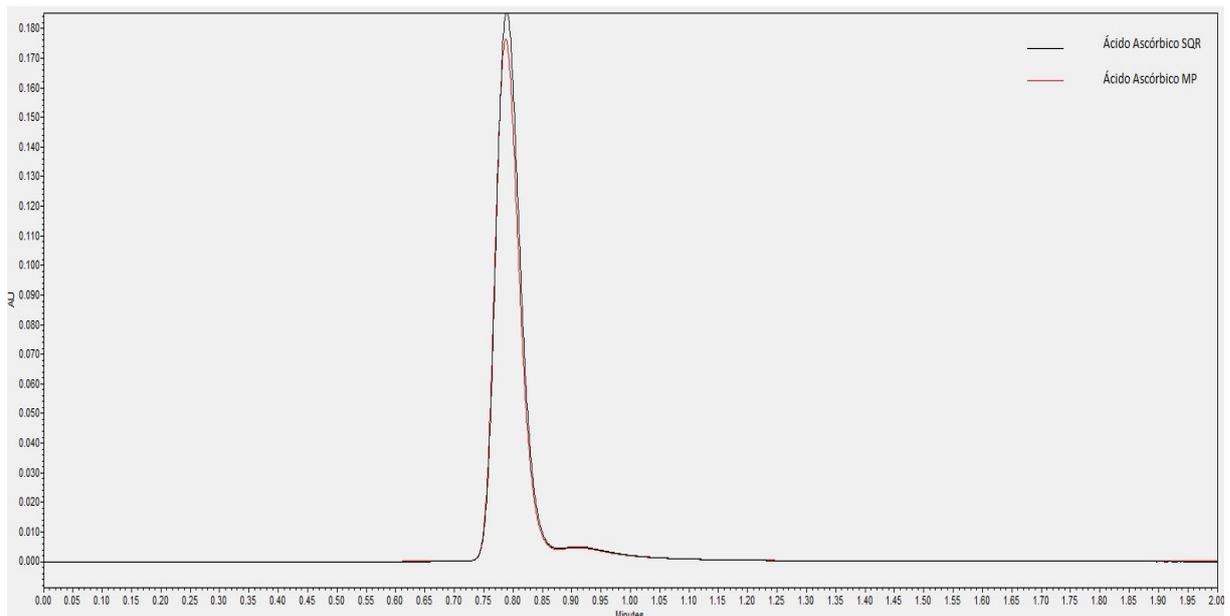
4.2 DOSEAMENTO DE ÁCIDO ASCÓRBICO POR CROMATOLOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA

Na cromatografia líquida de alta eficiência utiliza-se o tempo de retenção da amostra, em comparação com o padrão de referência como análise de

identificação. Foi utilizado esse valor como um complemento da caracterização físico-química farmacopeia.

O tempo de retenção do padrão de referência foi 0,787 minutos e o tempo de retenção da amostra foi de 0,785 minutos, conforme apresentado na figura 2. Esse valor caracteriza a amostra como sendo realmente ácido ascórbico.

Figura 1 – Representação gráfica do cromatograma de ácido ascórbico padrão de referência e amostra de ácido ascórbico.



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

- (Preto) Ácido Ascórbico, Substância Química de Referência; (vermelho) Ácido Ascórbico, matéria-prima.

A tabela 2 apresenta a média, desvio padrão e coeficiente de variação percentual das réplicas injetadas de padrão de referência.

TABELA 2 – Dados referentes à análise padrão de referência.

Ácido Ascórbico SQR		
Réplica	Área	%
Rep1	509141	99,87
Rep2	514081	99,75
Rep3	513840	99,61
Rep4	518099	99,45
Rep5	516926	99,13
Rep6	520668	99,65
Média	515503,5	99,63
DP	4017,3	0,3
CV(%)	0,78	0,26

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

A eficiência e estabilidade de um método analítico são determinadas pelo coeficiente de variação percentual (CV %) entre as réplicas injetadas. CV % abaixo de 2 % mostram que o método tem uma boa repetibilidade, indicando estabilidade do sistema cromatográfico. Isso é determinado antes de cada análise para excluir possíveis erros analíticos relacionados ao equipamento.

A tabela 3 apresenta os dados de doseamento (%) do ácido ascórbico matéria-prima, em comparação com o padrão analítico de referência. Foram pesadas três amostras e injetadas seis réplicas cada uma. Isso foi realizado para minimizar possíveis erros analíticos relacionados ao analista ou calibração estabilidade de balança de pesagem, etc.

TABELA 3 – Doseamento de ácido ascórbico matéria-prima em comparação com o padrão analítico de referência.

	Ácido Ascórbico - Amostra 1			Ácido Ascórbico - Amostra 2			Ácido Ascórbico - Amostra 3		
	Área	p	%	Área	p	%	Área	p	%
Rep1	515410	0,171	99,78	519285	0,078	99,34	505360	0,170	99,02
Rep2	514917	0,171	99,69	520142	0,078	99,51	509667	0,170	99,87
Rep3	514769	0,171	99,66	519508	0,078	99,39	508087	0,170	99,56
Rep4	513184	0,171	99,35	517517	0,078	99,00	508844	0,170	99,71
Rep5	510019	0,171	98,74	520281	0,078	99,53	507880	0,170	99,52
Rep6	511612	0,171	99,05	519346	0,078	99,35	507837	0,170	99,51
Média	513976,5		99,50	519427		99,37	507983,5		99,54
DP	2137,777		0,414	988,235		0,189	1448,569		0,284
CV(%)	0,416		0,416	0,190		0,190	0,285		0,285

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Foi determinado o teor de ácido ascórbico na matéria-prima, bem como teste T de student para verificar a diferença entre as médias, em relação ao padrão de referência. Conforme dados da tabela 3, não houve diferença estatisticamente significativa em relação ao padrão de referência para todas as amostras preparadas.

O doseamento foi determinado pela média das três amostras preparadas. O teor de ácido ascórbico foi de 99,47%.

5 CONCLUSÃO

A análise físico-química da matéria prima mostrou que seus resultados estavam conforme as especificações estabelecidas em cada um dos processos de acordo com a farmacopeia.

A partir dos estudos realizados foi possível caracterizar a matéria-prima como padrão secundário para utilização em análises de controle de qualidade. A caracterização foi realizada segundo a farmacopeia americana e o teor determinado por cromatografia líquida de alta eficiência, sendo 99,47% numa comparação entre análises.

A confirmação da pureza do padrão secundário se deu pela comparação com o padrão primário, no qual apresentou parâmetros semelhantes quando comparados entre si, sendo assim obtendo êxito no estudo realizado.

REFERÊNCIAS

ANVISA-Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia para Validação de Métodos Analíticos e dá outra providências. Resolução RDC nº 166, de 24 de julho de 2017.

BRASIL Científica do Brasil (CMS). **Padrões de referências, padrões primários e secundários**. 2015. Disponível em: <https://cmscientifica.com.br/padroes-de-referencia-padroes-primarios-e-secundarios>. Acesso em: 26 ago. 2020.

BROWNE, D. C. Reference-standard material qualification. **Pharmaceutical Technology**, v. 33, n. 4, p. 66-73, 2009.

COUNCIL OF EUROPE. The **European Pharmacopoeia**, General Text 5.12. 5th ed. Strasbourg, 2008.

FAMACOPÉIA AMERICANA (USP), 43ª edição, 2020.

INTERFARMA, Associação da indústria farmacêutica e pesquisa, 2020. [vhttps://guiadafarmacia.com.br/ferramentas-de-controle-de-qualidade-na-industria-farmacutica](https://guiadafarmacia.com.br/ferramentas-de-controle-de-qualidade-na-industria-farmacutica). Acesso em: 04 nov. 2020.

MATHKAR, S.; KUMAR, S.; BYSTOL, A.; OLAWOORE, D.; MIN, D.; MARKOVICH, A.; RUSTUM, A. The use of differential scanning calorimetry for the purity verification of pharmaceutical reference standards. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 49, n. 3, p. 627-631, 2009.

METALLCHEMIE. **Fornecedores de matéria prima para indústria farmacêutica**. 2018 Disponível em : <https://www.metallchemie.com.br/fornecedores-materia-prima-industria-farmacutica>. Acesso em: 04 nov. 2020.

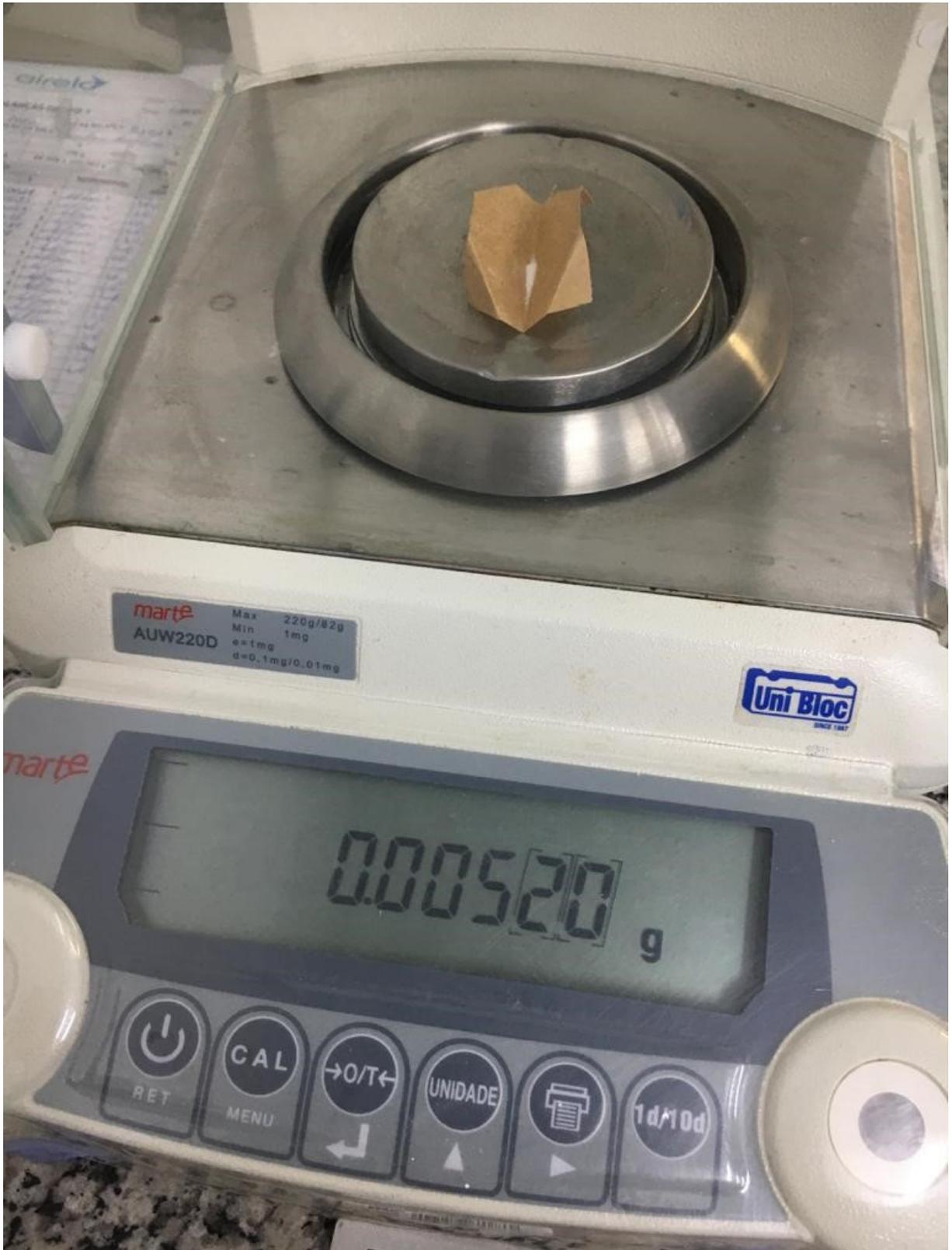
RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; **Química Nova**, 2004, 27, 771. Acesso em: 12 out. 2020

WHO-World Health Organization. General **guidelines for the establishment, maintenance and distribution of chemical references substances**. WHO Technical Reports Series, n. 885, Part A, 5. Genebra: World Health Organization, 1999.

WILLIAMS, R. L. Official USP Reference Standards Metrology concepts, overview and scientific issues and opportunities. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 40, n. 1, p. 3-15, 2006.

APÊNDICES

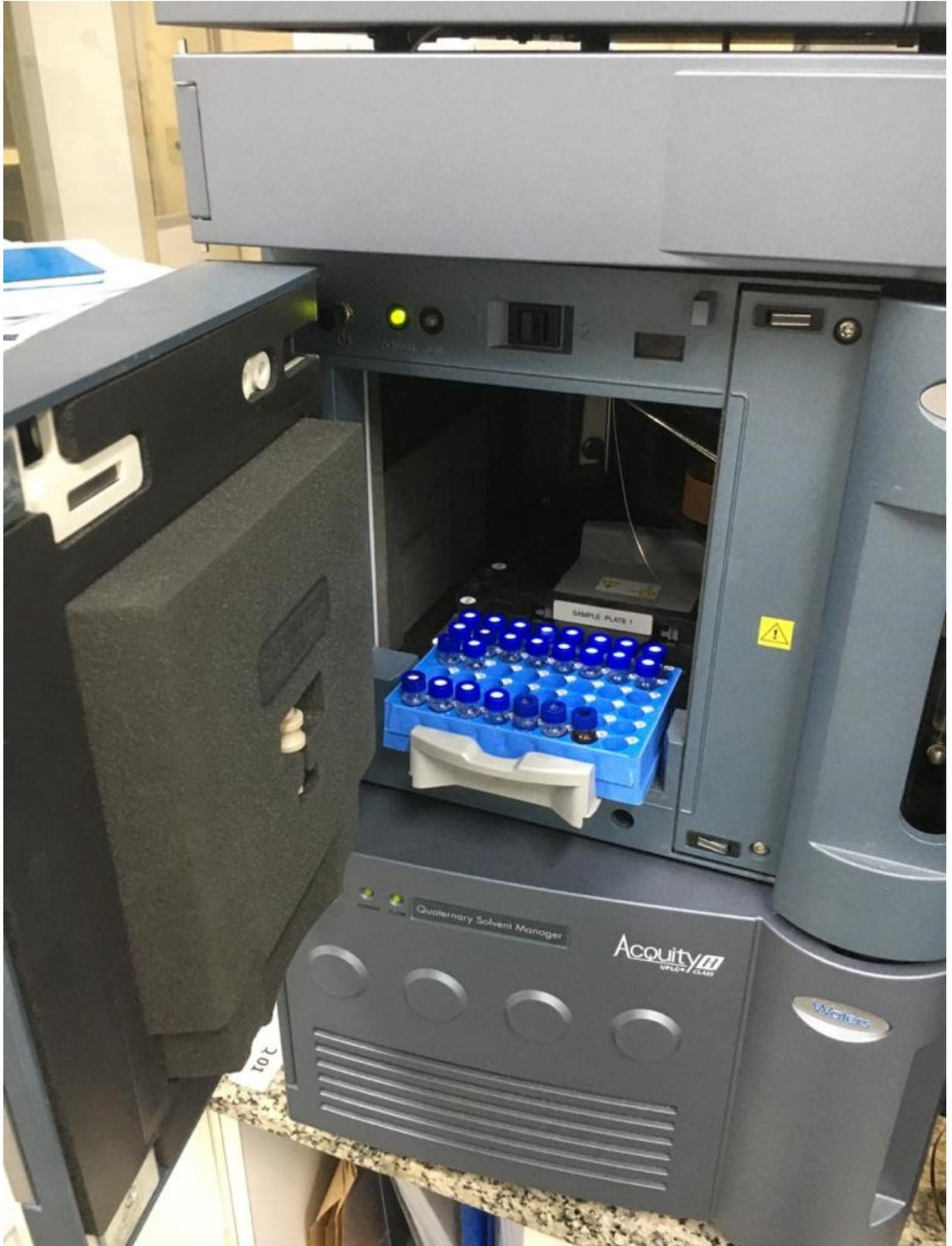
APÊNDICE A – PESO DO PADRÃO PRIMÁRIO USP



FONTE: Autor, 2020.

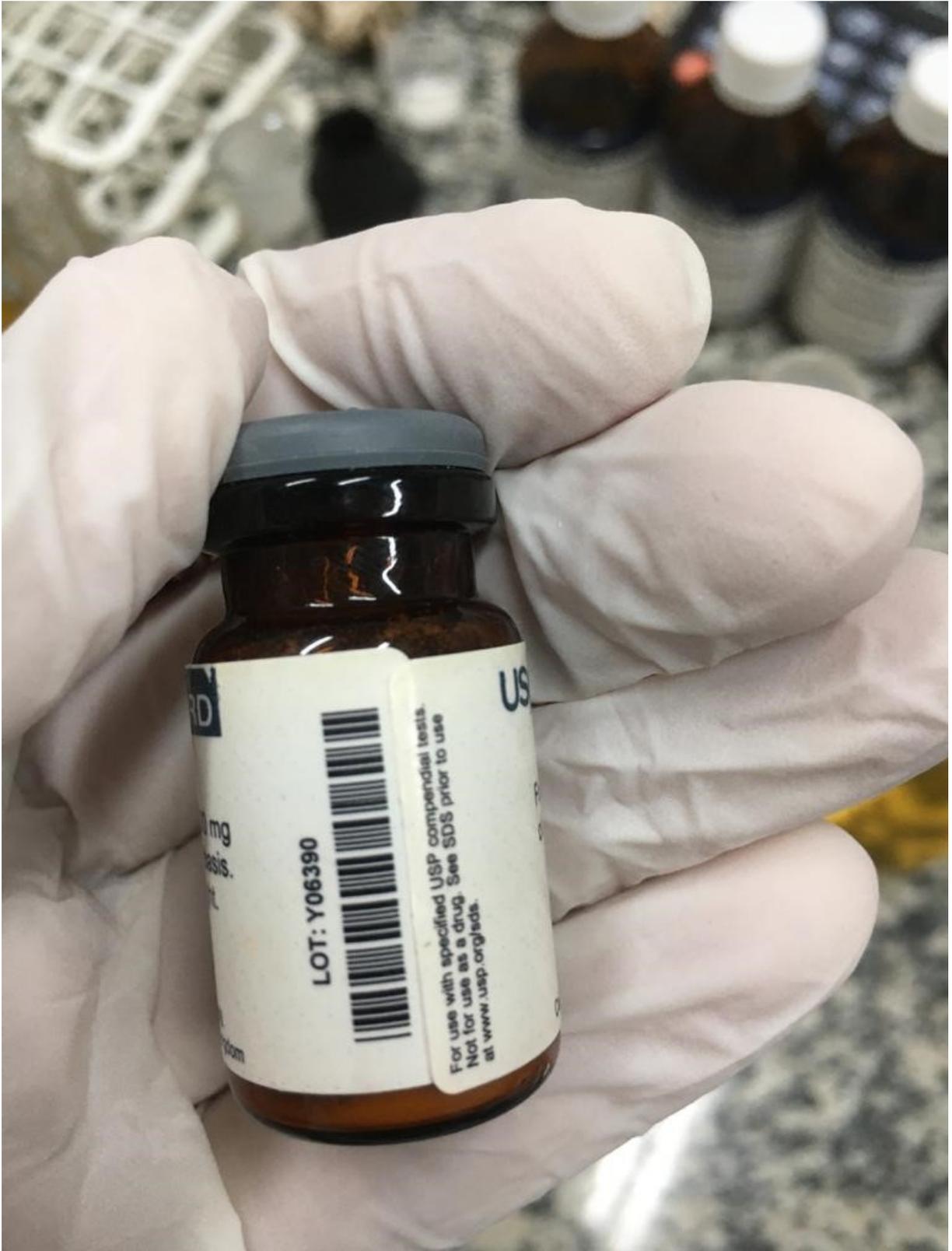
APÊNDICE B – PREPAÇÃO PADRÃO SECUNDÁRIO E PRIMÁRIO

FONTE: Autor, 2020.

APÊNDICE C – VIAL NO HPLC PARA ANALISE DE TEOR

FONTE: Autor, 2020.

APÊNDICE D – PADRÃO PRIMÁRIO LOTE: Y06390



FONTE: Autor, 2020.