



Application Note AN-S-400

Bestimmung des Nitritgehalts in Natriumnitrit

Säulenäquivalenzstudie nach U.S. Pharmacopeia

EINFÜHRUNG

Cyanid, eine giftige Substanz, kann versehentlich als flüchtige Blausäure eingenommen oder eingeatmet werden. Selbst kleine Mengen Cyanid sind tödlich, da es den Zellatmungsprozess schnell blockiert. Bei einer schweren Cyanidvergiftung wird Natriumnitrit zusammen mit Natriumthiosulfat zur Behandlung verwendet [1]. Es wird angenommen, dass Natriumnitrit (NaNO_2) eine therapeutische Wirkung ausübt, indem es mit Hämoglobin zu Methämoglobin reagiert. Methämoglobin hat eine hohe Affinität zu Cyanid. Dieser Komplex hilft das Toxin sicher aus dem Körper zu entfernen [2]. Natriumnitrit ist in der WHO-Liste der unentbehrlichen Arzneimittel aufgeführt [3]. Pharmazeutika erfordern eine strenge Qualitätskontrolle. Daher ist es notwendig,

Verunreinigungen sowie den Gehalt der Wirkstoffe zu bestimmen. Die Monographie „Sodium Nitrite“ der U.S. Pharmacopeia (USP) beschreibt die Analysenmethode zur Bestimmung der Hauptkomponente Nitrit (NO_2^-) neben der anionischen Verunreinigung Nitrat (NO_3^-) mit Hilfe der Ionenchromatographie (IC) [4]. Diese Application Note beschreibt den Nitrit-IC-Assay mit der Metrosep A Supp 4-Säule und suppressierter Leitfähigkeitsdetektion. Nitrit und Nitrat in Natriumnitrat werden innerhalb eines Analyselaufs bestimmt. Die Säulenäquivalenzstudie erfolgte in Zusammenarbeit mit der USP gemäß USP General Chapter <621> [5].

PROBEN UND STANDARDS

Zur Herstellung der Probenlösungen wurden handelsübliche Natriumnitritsalze in Reinstwasser verdünnt. Die endgültige nominale Konzentration der Proben betrug 0,12 mg/ml Nitrit.

Es wurde eine Einpunktkalibrierung mit 0,12 mg/ml Nitrit erstellt, welches aus einem USP-Natriumnitrit-Referenzstandard (CAS RM® 7632-00-0) hergestellt wurde.

VERSUCHSDURCHFÜHRUNG

Um schnelle und präzise Injektionen zu garantieren, wurden die Proben automatisch mit dem 889 IC Sample Center injiziert (Abbildung 1). Anschließend wurden sie mit einem 940 Professional IC Vario

anhand der in der jeweiligen USP-Monographie angegebenen Methodenparameter (Tabelle 1) analysiert.



Abbildung 1. Instrumenteller Aufbau mit einem 940 Professional IC Vario ONE/SeS/PP, IC-Leitfähigkeitsdetektor (L) und dem 889 IC Sample Center (R).

Tabelle 1. IC-Methodenparameter gemäß USP-Monographie „Sodium Nitrite“ [4].

Säule mit L105 Packung	Metrosep A Supp 4 - 250/4.0
Eluent	2.7 mmol/L Natriumcarbonat 0.3 mmol/L Natriumbicarbonat
Flussrate	1.5 mL/min
Säulentemp.	Raumtemperatur
Injektionsvol.	25 µL
Detektion	Leitfähigkeit mit sequentieller Suppression

Die Anionen wurden auf einer Metrosep A Supp 4 - 250/4.0 Säule, die das Packungsmaterial L105 enthält, isokratisch getrennt. Die Detektion erfolgte nach sequenzieller Suppression mittels Leitfähigkeit. Nitrit und Nitrat eluierten in weniger als fünf Minuten. Gemäß den USP-Anforderungen muss die

Gesamtlaufzeit jedoch auf mindestens das Vierfache der Nitrit-Retentionszeit eingestellt werden. Für die Säulenäquivalenzstudie wurden die Systemeignung (z. B. Reproduzierbarkeit, Asymmetriefaktor) und die Wiederfindungsraten der Proben bewertet (**Tabelle 2**).

ERGEBNISSE

Nitrit und Nitrat wurden in gelösten Natriumnitritsalzen quantifiziert (**Abbildung 2**). Die Bestimmung der Hauptkomponente Nitrit und der Verunreinigung Nitrat in Natriumnitrit erfolgte gemäß der „USP General Chapter <621>, Chromatography“ [5]. Es wurde eine Säulenäquivalenzstudie durchgeführt, und alle Akzeptanzkriterien (z. B. Reproduzierbarkeit, Auflösung, Asymmetriefaktor und Genauigkeit) wurden erfüllt. Die Metrosep A Supp 4 -

250/4.0-Säule war mit 4000 theoretischen Böden leistungsstark und Nitrit eluierte als symmetrischer Peak (Asymmetriefaktor 1,06) mit einer hohen Reproduzierbarkeit (0,08 % relative Standardabweichung der Nitritpeakfläche in der Standardlösung). Die Auflösung zwischen den Nitrit- und Nitratpeaks betrug 4,2. In allen analysierten Proben lag die Wiederfindung für Nitrit bei 101% und der Nitratgehalt bei <0,2% (**Tabelle 2**).

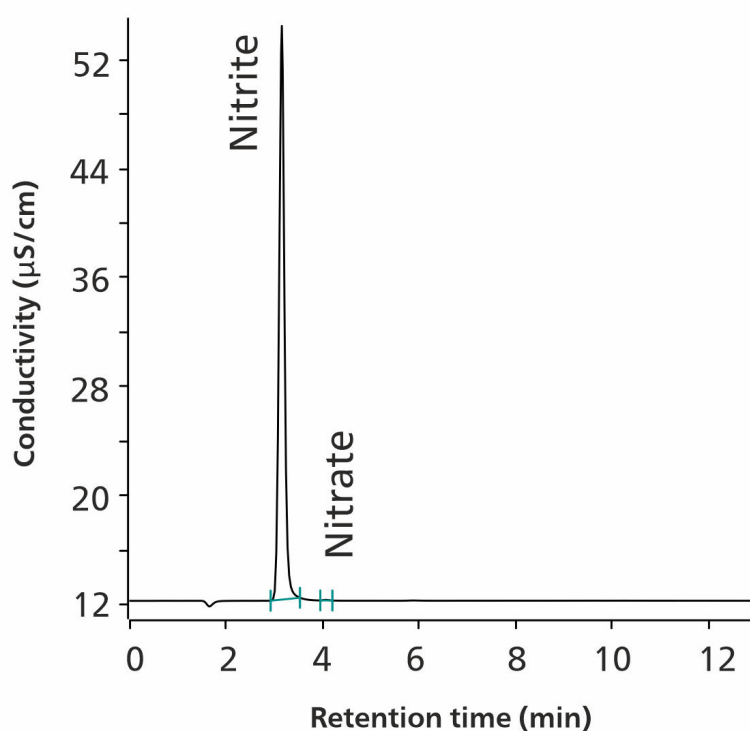


Abbildung 2. Chromatogramm der Analyse von Nitrit und Spuren von Nitrat in einer Natriumnitrit-Probenlösung mit 0,121 mg/ml Nitrit (100,8% Wiederfindung).

Tabelle 2. Ausgewählte Leistungsmerkmale.

Leistungsmerkmale	Akzeptanzkriterien	Resultat
Asymmetriefaktor	Asymmetriefaktor des Nitritpeaks ist NMT 2,0	1.06
Säuleneffizienz	NLT 3000 theoretische Böden	4000
Reproduzierbarkeit	Die relative Standardabweichung der Nitritpeakfläche in der Standardlösung beträgt NMT 1,5% für fünf Wiederholungsmessungen.	0.08 %
Auflösung	Auflösung zwischen dem Nitrit- und Nitratpeak in der Probenlösung	4.2
Genauigkeit	Die durchschnittliche prozentuale Wiederfindung sollte 98,0–102,0% des CoA-Wertes des Herstellers betragen	100.8 %
Verunreinigung	Grenzwert für Natriumnitrat NMT 0,4%	0.2%

FAZIT

Die vorgestellte IC-Methode zur Bestimmung von Nitrit und Nitrat in Natriumnitrit mit der Metrosep A Supp 4 Säule (Packungsmaterial L105) ist offiziell in die USP aufgenommen. Die Robustheit und Zuverlässigkeit der Methode wurde in der

Säulenäquivalenzstudie nach den Richtlinien des USP General Chapter <621> [5] nachgewiesen. Der Aufbau ist geeignet, Nitrit und die Verunreinigung Nitrat in Natriumnitrit gemäß USP-Anforderungen zu quantifizieren.

REFERENZEN

- [1] Bebart, V. S.; Brittain, M.; Chan, A.; et al. Sodium Nitrite and Sodium Thiosulfate Are Effective Against Acute Cyanide Poisoning When Administered by Intramuscular Injection. *Annals of Emergency Medicine* **2017**, *69* (6), 718-725.e4. <https://doi.org/10.1016/j.annemergmed.2016.09.034>.
- [2] FDA. *Sodium Nitrite Injection, USP - Access data*. *Fda.gov*; https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/la

<bel/2012/203922s000lbl.pdf>.

[3] eEML - *Electronic Essential Medicines List*. <https://list.essentialmeds.org/> (accessed 2022-10-28).

[4] U.S. Pharmacopeia. USP-NF Sodium Nitrite. *Monograph*. https://doi.org/10.31003/USPNF_M76880_03_01.

[5] 621 Chromatography. https://doi.org/10.31003/USPNF_M99380_01_01.

Internal reference: AW IC IN6-2181-062021

CONTACT

Metrohm Deutschland
In den Birken 3
70794 Filderstadt

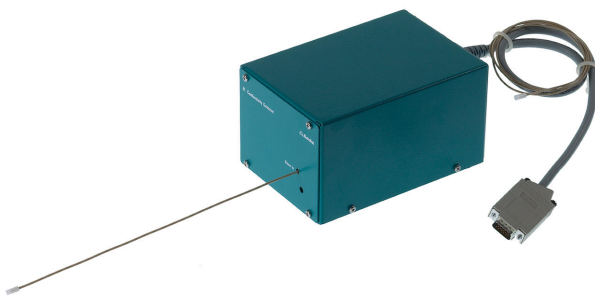
info@metrohm.de

KONFIGURATION



Metrosep A Supp 4 - 250/4.0

Die Metrosep A Supp 4 - 250/4.0 ist eine äusserst robuste Säule, die mit sehr guten Trenneigenschaften aufwartet. Die Trennphase besteht aus Polyvinylalkohol-Partikeln mit quaternären Ammoniumgruppen und einem Durchmesser von 9 µm. Dieser Aufbau gewährleistet hohe Stabilität und grössere Toleranz gegenüber Feinstpartikeln, die die integrierte Filterplatte passieren könnten. Die Metrosep A Supp 4 - 250/4.0 besitzt eine mittlere Ionenaustauschkapazität; Sulfat eluiert nach 12.5 Minuten. Die Bodenzahlen, die sich mit dieser Trennsäule erzielen lassen, sind höher als auf der Metrosep Anion Dual 2 - 75/4.6. Die A Supp 4 - 250/4.0 ist besonders für alle Routineaufgaben in der Wasseranalytik geeignet.



IC Conductivity Detector

Kompakter und intelligenter Hochleistungs-Leitfähigkeits-Detektor zu den intelligenten IC Geräten. Hervorragende Temperaturkonstanz, die gesamte Signalverarbeitung innerhalb des geschützten Detektorblocks und DSP – Digital Signal Processing – der letzten Generation garantieren höchste Präzision der Messung. Dank dem dynamischen Arbeitsbereich sind keine (auch nicht automatische) Bereichswechsel notwendig.