



Application Note AN-D-003

Control de calidad de concentrados de diálisis

Análisis exhaustivo de aniones, acetatos y cationes por IC

La hemodiálisis es un tratamiento médico que se aplica para mantener la vida cuando las funciones renales disminuyen y la capacidad de desintoxicación endógena de los riñones falla.^[1,2] Los líquidos de diálisis (soluciones de hemodiálisis), compuestos por electrolitos, tampones y carbohidratos (glucosa) idénticos a la sangre, son un elemento central de este tratamiento ^[1,3–5]. El gradiente de difusión entre la sangre y el líquido de diálisis permite la eliminación de

desechos metabólicos y la normalización del contenido de electrolitos.^[1,2] Los líquidos de diálisis se preparan agregando al agua concentrados que contienen electrolitos, carbohidratos y tampones. Estos requieren los más altos estándares de fabricación y preparación in situ, especificados, por ejemplo, por la Farmacopea Europea, ISO 11663, ISO 23500 o ISO 13958 (para concentrados de hemodiálisis) ^[1,2,4].

La espectroscopia de absorción atómica (AAS) se utiliza a menudo con fines de control de calidad, pero está restringida a componentes catiónicos (metálicos) y a un número limitado de analitos determinados simultáneamente. La cromatografía iónica (IC) es una solución automatizada, rápida y sensible para cuantificar con precisión los componentes catiónicos y aniónicos, incluido el acetato, simultáneamente. Este

enfoque integral convierte a la IC en una alternativa económica a las técnicas analíticas tradicionales para el control de calidad de soluciones farmacéuticas como los concentrados de hemodiálisis. La facilidad de uso, la precisión y las capacidades de alto rendimiento de IC aumentan la productividad y cumplen con las demandas de los laboratorios de investigación y de rutina modernos.

MUESTRA Y PREPARACIÓN DE MUESTRA

Los fluidos de diálisis deben imitar de cerca la composición del plasma sanguíneo para eliminar los componentes tóxicos de la sangre por difusión. Estos fluidos suelen estar compuestos de agua, electrolitos que proporcionan cationes y aniones (p. ej., sodio, potasio, calcio, cloruro), tampones (p. ej., acetato o carbonato) y carbohidratos (p. ej., glucosa) [1,3–5]. En este ejemplo de aplicación, se analizó el contenido de cationes, aniones y acetato en dos concentrados de hemodiálisis (tabla 1). Los resultados óptimos se obtuvieron con una dilución en el rango de 1:500 a 1:750 utilizando agua ultrapura (UPW).

Los concentrados de diálisis fueron proporcionados

por MTN Neubrandenburg GmbH una empresa de Nipro, un productor establecido de productos de hemodiálisis de alta calidad. Ambos eran concentrados ácidos (A-concentrados) para diálisis de bicarbonato con diferentes composiciones (tabla 1). La producción de tales concentrados está sujeta a estrictos criterios de calidad estandarizados como, por ejemplo, ISO 13958, ISO 11663 y ANSI/AAMI RD 61:2000 [1]. También se aplican normas estrictas a los demás componentes necesarios para la preparación del líquido de diálisis final, incluidos el agua y los concentrados básicos (concentrados B) [1,3–5].

PRÁCTICA

Los aniones y cationes se analizaron con una configuración IC de doble canal (Figura 1) usando detección de conductividad (suprimida secuencialmente para aniones). También se puede

utilizar un detector UV/VIS (947 Professional UV/VIS detector Vario) para excluir la contaminación por nitritos, nitratos y bromuros en los concentrados.

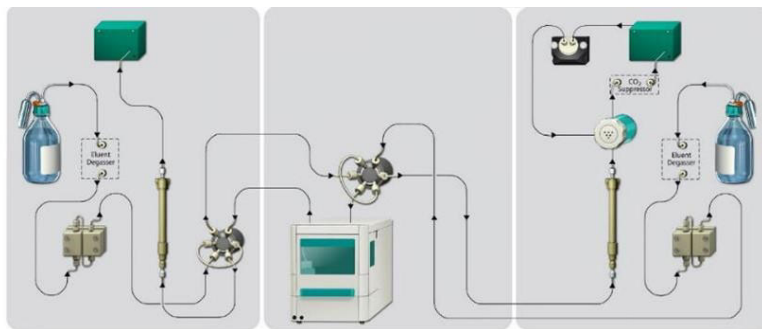


Figura 1. Ruta de flujo para un sistema IC de Metrohm de dos canales. La inyección se realizó utilizando el 889 Sample Center - frío (medio). Se utilizó conductividad no suprimida para la detección de cationes, mientras que los aniones se detectaron con conductividad suprimida y UV (205 nm).

Estas impurezas se pueden determinar con alta precisión y sensibilidad incluso en presencia de concentraciones elevadas de cloruro (tabla 1). Las pruebas de rendimiento del método con concentrados enriquecidos con nitrato y nitrito arrojaron recuperaciones del 90 al 110 %.

Tabla 1. Composición (promedio y rango) de dos concentrados de ácido de hemodiálisis probados (concentrados A) según el fabricante.

A-concentrado	#293	#570
Sodio (mol/L)	3,61 (3,51–3,70)	4,64 (4,52–4,75)
Potasio (mmol/L)	70,00 (66,50–73,50)	90,00 (85,50–94,50)
Magnesio (mmol/L)	17,50 (16,63–18,37)	22,50 (21,38–23,62)
Calcio (mmol/L)	52,50 (49,88–55,12)	56,25 (53,44–59,06)
Cloruro (mol/L)	3,82 (3,62–4,01)	4,88 (4,64–5,13)
Ácido acético (mol/L)	0,11 (0,10–0,11)	0,14 (0,13–0,14)
Glucosa (g/L)	35,00 (33,25–36,75)	45,00 (42,75–47,75)

El sistema completo (**Figura 1**) fue controlado por el software Waters Empower™ 3. Se usó un muestreador automático refrigerado (889 IC Sample Center – cool) para extender la estabilidad de las muestras altamente diluidas.

Los aniones se separaron utilizando el Metrosep A Supl 19 - Columna 150/4.0 (eluyente estándar y caudal, **Figura 2A, C**). Esta columna IC de alta capacidad exhibe excelentes capacidades de

separación, incluso para matrices altamente cargadas. Las propiedades únicas de la columna Metrosep A Supp 19 permiten una adecuada separación y cuantificación de acetato incluso en presencia de altas concentraciones de cloruro. Además de acetato (0,4–20 mg/L) y cloruro (6–300 mg/L), la calibración del sistema incluyó fluoruro (0,02–1 mg/L), nitrito y bromuro (0,04–2 mg/L), así como nitrato, fosfato y sulfato (0,2–10 mg/L).

Los cationes se separaron usando un Metrosep C 6 - Columna 150/4.0 (eluyente estándar, caudal: 1,3 mL/min, **Figura 2B**). La calibración de cationes se realizó para sodio (4–200 mg/L), amonio (0,02–1 mg/L) y potasio, calcio y magnesio (0,2–10 mg/L). La química especial de la columna del Metrosep C 6 garantiza resoluciones máximas óptimas y permite la cuantificación de bajas concentraciones de analitos

RESULTADOS

Un resumen de los resultados, incluidas las recuperaciones calculadas en comparación con los valores del fabricante, se muestra en **Tabla 2**. Las desviaciones estándar relativas (RSD) de menos del 1% para aniones y cationes para mediciones de muestras repetidas revelan una repetibilidad adecuada del método. Las recuperaciones calculadas según los datos del fabricante cayeron entre el 91 y el 106 % para todos los analitos (**Tablas 1 y 2**).

Los componentes principales de los concentrados A probados son el sodio y el cloruro, que corresponden a las fracciones principales en el plasma sanguíneo,

(p. ej., amonio) que eluyen cerca de componentes más concentrados (p. ej., sodio).

Los aniones y cationes se analizaron simultáneamente de la misma muestra en menos de 25 minutos (**Figura 2**). La solidez de ambas columnas de separación permite caudales elevados, lo que acelera el tiempo total de ejecución.

con 136–145 mEq/L y 98–106 mEq/L, respectivamente.² Sin embargo, esto también muestra que estos concentrados son soluciones altamente salinas, analíticamente desafiantes y que a menudo requieren pasos de eliminación de la matriz para una determinación precisa del analito. Cuando están presentes en altas concentraciones, tanto el sodio como el cloruro pueden superponerse a los picos cercanos (p. ej., acetato, nitrito o amonio), lo que imposibilita su cuantificación o sobrecarga la columna, lo que provoca la ampliación de los picos y cambios sustanciales en el tiempo de retención.

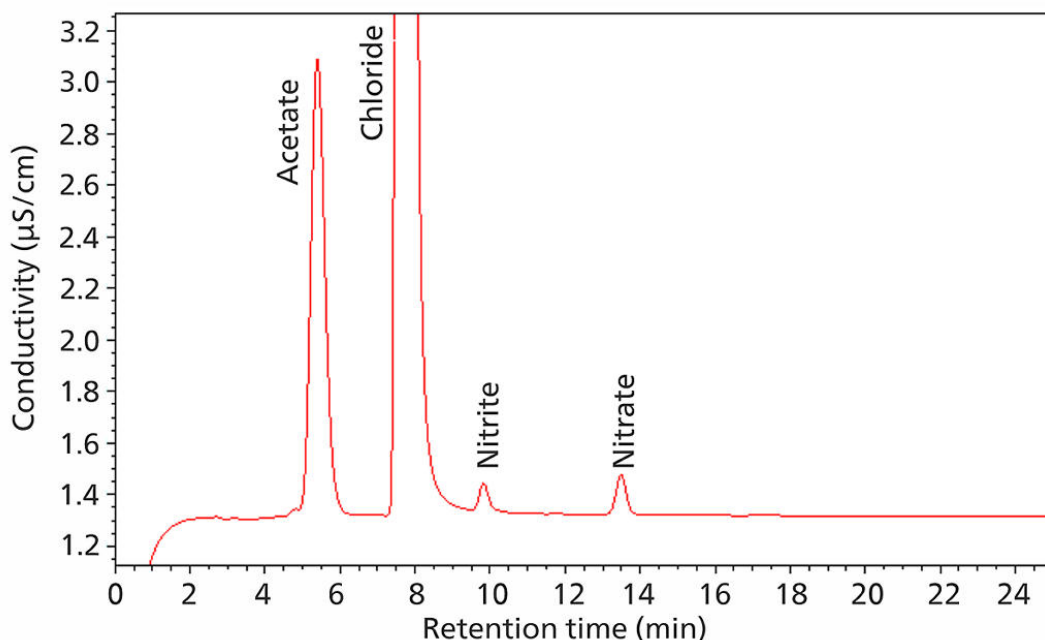


Figura 2 A.

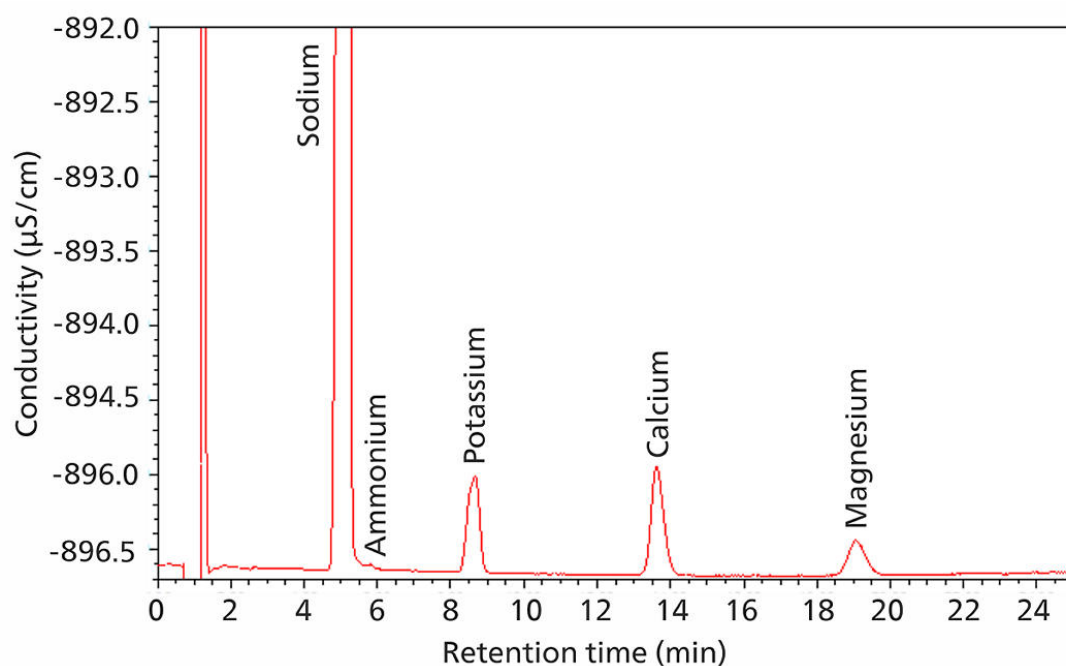


Figura 2 B.

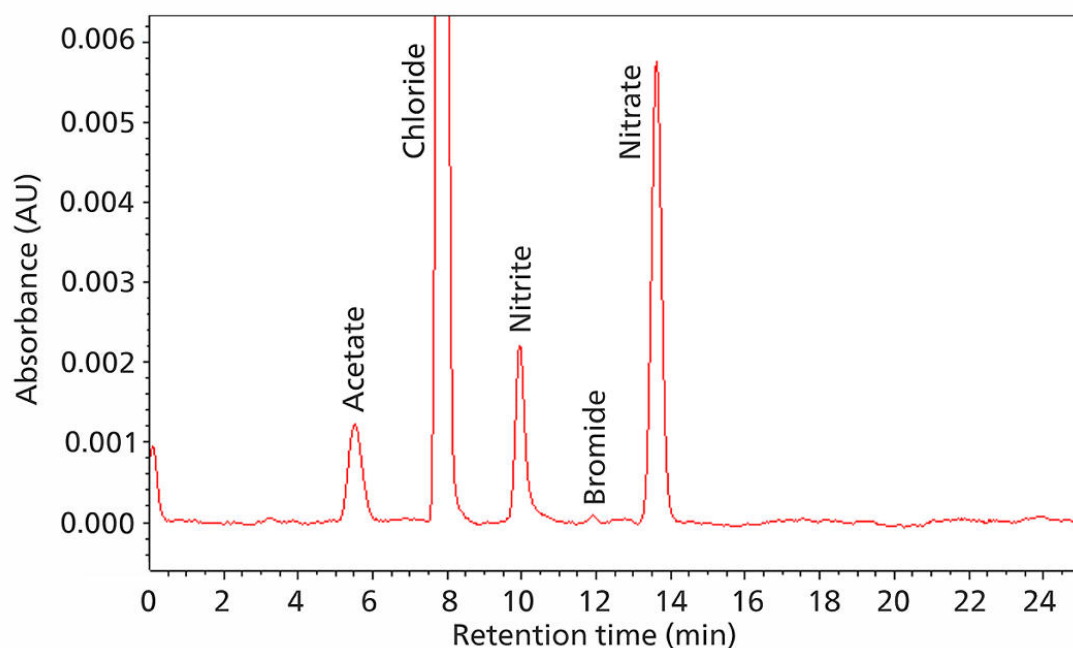


Figura 2 C. Cromatogramas que muestran señales de conductividad (A, B) y UV (C) para el análisis IC de aniones (incluido el acetato) y cationes en la muestra de concentrado de hemodíalisis n.º 293. Todas las muestras se diluyeron por un factor de 750 con UPW. El volumen de inyección fue de 20 µL.

Para los concentrados A, la determinación precisa de todos los componentes (acetato, cloruro, sodio, potasio, calcio y magnesio, tabla 1) es indispensable y requiere una separación de picos adecuada combinada con picos nítidos y simétricos. El uso de las columnas Metrosep A Supp 19 y Metrosep C 6 evita los problemas antes mencionados: las altas capacidades de las columnas evitan la sobrecarga de la matriz y garantizan una excelente separación de picos.

Tabla 2. Datos de los componentes principales en las muestras de concentrado A de hemodiálisis n.º 293 y n.º 570 de MTN Neubrandenburg GmbH una empresa de Nipro. Los datos muestran valores medios y RSD para dos muestras preparadas y analizadas por separado (dilución 1:500), así como las recuperaciones basadas en los datos del fabricante.

	#293 Conc _{AVG} ±SD (RSD (%))	Recuperación (%)	#570 Conc _{AVG} ±SD (RSD (%))	
Sodio (mol/L)	3,70±0,04 (1,0)	103	4,90±0,03 (0,6)	106
Potasio (mmol/L)	66,21±0,52 (0,8)	95	86,75±0,42 (0,5)	96
Magnesio (mmol/L)	15,95±0,11 (0,7)	91	21,47±0,08 (0,4)	96
Calcio (mmol/L)	50,36±0,56 (1,1)	96	55,18±0,19 (0,3)	98
Cloruro (mol/L)	3,84±0,01 (0,2)	103	4,97±0,01 (0,1)	104
Ácido acético (mol/L)	0,11±<0,01 (<0,1)	102	0,14±<0,01 (0,2)	102

El acetato (≈ 8 g/L) se puede determinar directamente junto a altas concentraciones de cloruro (≈ 180 g/L) en la columna Metrosep A Supp 19. No se requieren pasos adicionales, como la eliminación de la matriz o el uso de diferentes factores de dilución. Los cationes se pueden determinar en paralelo a partir de la misma muestra (**Figura 1**, canal de cationes) ya que la

columna Metrosep C 6 también es ideal para muestras de alta matriz.

Para analizar las posibles impurezas de nitrito, bromuro y nitrato, se puede lograr una mayor sensibilidad utilizando un detector UV/VIS a una longitud de onda de 205 nm.

CONCLUSIÓN

Los concentrados de diálisis utilizados para los tratamientos de hemodiálisis son soluciones altamente salinas que requieren análisis de control de calidad sensibles, precisos y tolerantes a la matriz. Mediante el uso de un sistema IC de doble canal, los aniones y cationes se pueden determinar con precisión y simultáneamente a partir de la misma muestra. En menos de 25 minutos, se pueden cuantificar los principales componentes concentrados de acetato, cloruro, sodio, potasio, calcio y magnesio, junto con las impurezas (p. ej., nitrito, nitrato o amonio). Aunque el análisis de matrices de alta salinidad suele ser un desafío, las columnas de separación de alta capacidad Metrosep A Supl 19 y Metrosep C 6 reducir los riesgos comunes de

sobrecarga de la columna y la identificación y cuantificación imprecisas de los picos. El análisis simultáneo de impurezas y componentes aniónicos y catiónicos permite un examen completo de todos los analitos de una sola muestra, lo que presenta a la IC como una técnica analítica precisa, sensible, eficiente y de alto rendimiento para el control de calidad de soluciones farmacéuticas como los concentrados de hemodiálisis.

Los sistemas IC de Metrohm se pueden controlar completamente (incluidas las funciones inteligentes y automatizadas) mediante diferentes software: MagIC Net (Metrohm), Empower™ 3 (Waters) o OpenLab CDS (Agilent). Estas opciones proporcionan una solución flexible para muchos laboratorios analíticos.

REFERENCIAS

- [1] Hoenich, N.; Thijssen, S.; Kitzler, T.; Levin, R.; Ronco, C. Impact of Water Quality and Dialysis Fluid Composition on Dialysis Practice. *BPU* 2008, 26 (1), 6–11. <https://doi.org/10.1159/000110556>.
- [2] Hoenich, N. A.; Ronco, C. Haemodialysis Fluid: Composition and Clinical Importance. *BPU* 2007, 25 (1), 62–68. <https://doi.org/10.1159/000096400>.
- [3] Coulliette, A. D.; Arduino, M. J. Hemodialysis and

Water Quality. *Seminars in Dialysis* 2013, 26 (4), 427–438. <https://doi.org/10.1111/sdi.12113>.

[4] Parker, J. N.; Parker, P. M. *Hemodialysis - A Medical Dictionary, Bibliography, and Annotated Research Guide to Internet References*; ICON Health Publications, USA, 2004.

[5] Catto, G. R. D. *Haemodialysis*; Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Boston, London, 1989.

Internal reference: AW IC CH-1455-042022

CONTACT

Metrohm Argentina S.A.
Avda. Regimiento de
Patricios 1456
1266 Buenos Aires

info@metrohm.com.ar

CONFIGURACIÓN



Metrosep A Supp 19 - 150/4,0

Excelentes propiedades de separación y alta capacidad: estas son las cualidades que distinguen claramente a la familia de productos Metrosep A Supp 19 de las demás integrantes de la cartera de columnas. Destaca por tener las mejores simetrías de picos y su gran selectividad, así como por su elevada estabilidad térmica, mecánica y química, lo que le confiere extrema robustez y resistencia ante presiones y flujos más altos.

La versión de 150 mm es considerada la columna estándar para la cromatografía aniónica, pues resuelve con seguridad la gran mayoría de aplicaciones y puede utilizarse con mucha versatilidad. En virtud de su gran capacidad, la columna de separación Metrosep A Supp 19 - 150/4,0 resulta particularmente adecuada, incluso para aplicaciones complejas con exigentes matrices. Por sus excelentes propiedades de separación, el campo de utilización de la Metrosep A Supp 19 - 150/4,0 es muy versátil y abarca, entre otras, las siguientes aplicaciones:

- Determinación de aniones estándar (fluoruro, cloruro, nitrito, bromuro, nitrato, fosfato y sulfato) en las más diversas muestras de agua;
- Determinación de aniones estándar y ácidos orgánicos en complejas matrices de muestras como, por ejemplo, muestras tomadas del medioambiente o muestras de alimentos;
- Determinación de aniones estándar y ácidos orgánicos en el agua de alimentación de calderas para garantizar la seguridad de las operaciones en centrales eléctricas;
- Determinación de aniones estándar en muestras farmacéuticas.



Metrosep A Supp 19 Guard/4,0

La Metrosep A Supp 19 Guard/4,0 protege fiablemente las columnas de separación de aniones de la familia de productos Metrosep A Supp 19 frente a contaminaciones provenientes de la muestra o del eluyente, lo que le permite prolongar considerablemente la vida útil de estas columnas. Las precolumnas y las columnas de separación de la familia de productos Metrosep A Supp 19 están hechas de PEEK y rellenas con el mismo material. Esto evita con absoluta seguridad cualquier deterioro de la eficacia de separación cromatográfica.

El «On Column Guard System» permite enroscar directa y cómodamente la precolumna en la columna de separación de aniones. Gracias a su precio económico y a su fácil manejo, la Metrosep A Supp 19 Guard/4,0 es la protección ideal para la columna de separación.



Metrosep C 6 - 150/4,0

Le matériau haute capacité de la C 6 fait de la colonne de séparation Metrosep C 6 - 150/4,0 la solution optimale pour la séparation des cations standard à des concentrations très différentes avec des temps de rétention raisonnables. Les eaux potables présentant de faibles teneurs en ammonium peuvent être déterminées à l'aide de cette colonne.



Metrosep C 6 Guard/4,0

La Metrosep C 6 Guard/4,0 está hecha a base del material de la columna C 6 y sirve para proteger frente a las partículas y la contaminación. Con ello se prolonga notablemente la vida útil de la columna de separación analítica. La Metrosep C 6 Guard/4,0 funciona según el "on-column Guard system" y se monta prácticamente sin volumen muerto directamente en la columna de separación correspondiente.



940 Professional IC Vario TWO/SeS/PP

El 940 Professional IC Vario TWO/SeS/PP es un aparato inteligente CI **bicanal** con **supresión secuencial** (un canal) y una **bomba peristáltica** para la regeneración de supresores. El aparato se puede emplear con cualquier método de separación o de detección.

Ámbitos típicos de aplicación:

- Aparato estándar para determinaciones en paralelo de cationes y aniones
- Análisis de trazas para aniones y cationes
- Supervisión online para aniones y cationes



889 IC Sample Center – cool

El 889 IC Sample Center - cool es la solución de automatización perfecta para cuando se dispone de muy poca cantidad de muestra. A diferencia del 889 IC Sample Center, también dispone de una función de refrigeración que lo convierte en el cambiador de muestras ideal para muestras inestables térmicamente o bioquímicamente relevantes.



947 Professional UV/VIS Detector Vario MW

El detector inteligente de varias longitudes de onda, el 947 Professional UV/VIS Detector Vario MW, permite cuantificar las sustancias activas en el espectro ultravioleta o visible de forma segura y fiable. Se pueden seleccionar libremente hasta ocho longitudes de onda. La detección se realiza a través de una serie de diodos.