



Application Note AN-S-400

Analisis de nitritos en nitrato de sodio

Estudio de equivalencia de columna según la Farmacopea de EE.UU.

El cianuro, una sustancia tóxica, puede ingerirse o inhalarse accidentalmente como cianuro de hidrógeno volátil. Incluso pequeñas cantidades de cianuro son letales, ya que bloquea rápidamente el proceso de respiración celular. En casos severos de envenenamiento por cianuro, el nitrito de sodio se usa junto con el tiosulfato de sodio para el tratamiento [1]. Nitrito de sodio (NaNO_2) se cree que ejerce un efecto terapéutico al reaccionar con la hemoglobina para formar metahemoglobina. La metahemoglobina tiene una alta afinidad por el cianuro, y este complejo ayuda a eliminar la toxina del cuerpo de manera segura [2]. El nitrito de sodio figura en las Listas modelo de medicamentos esenciales de la OMS [3].

Los productos farmacéuticos requieren un estricto control de calidad. Por lo tanto, es necesario determinar las impurezas, así como el contenido de ingredientes activos. La Farmacopea Farmacopea (USP) **monografía nitrito de sodio** describe el método analítico para determinar el componente principal nitrito (NO_2^-) y la impureza aniónica nitrato (NO_3^-) simultáneamente con cromatografía iónica (IC) [4]. Esta nota de aplicación describe el ensayo IC de nitrito con la columna Metrosep A Supp 4 y la detección de conductividad suprimida. El nitrito y el nitrato de sodio se determinan dentro de una serie de análisis. El estudio de equivalencia de columnas se realizó en cooperación con la USP de acuerdo con el Capítulo General de la USP <621> [5].

MUESTRAS Y STANDARDS

Para preparar soluciones de muestra, se diluyeron sales de nitrito de sodio comercialmente disponibles en agua ultrapura. La concentración nominal final para las muestras fue de 0,12 mg/mL de nitrito.

Se creó una calibración de un solo punto con 0,12 mg/mL de nitrito preparado a partir de un estándar de referencia de nitrito de sodio de la USP (CAS RM® 7632-00-0).

EXPERIENCIA

Las muestras se inyectaron automáticamente con el 889 IC Sample Center, que garantiza inyecciones rápidas y precisas (**Figura 1**). Posteriormente, se

analizaron con un 940 Professional IC Vario utilizando los parámetros del método proporcionados en la monografía de la USP respectiva (**Tabla 1**).



Figure 1. Configuración instrumental que incluye un 940 Professional IC Vario ONE/SeS/PP, un detector de conductividad IC (L) y el 889 IC Sample Center (R).

Tabla 1. Parámetros del método IC según la monografía de la USP «Sodium Nitrite» [4].

Columna con empaque L105	Metrosep A Supl 4 - 250/4.0
Eluyente	2,7 mmol/l de carbonato de sodio 0,3 mmol/l de bicarbonato de sodio
Tasa de flujo	1,5 ml/min
Temperatura de la columna	Ambiente
Volumen de inyección	25 µL
Detección	Conductividad con supresión secuencial

Los componentes aniónicos se separaron isocráticamente en un Metrosep A Supl 4 - 250/4.0 columna, que contiene material de embalaje L105. La señal de conductividad se detectó después de la supresión secuencial. Nitrito y nitrato eluidos en menos de cinco minutos. Sin embargo, de acuerdo

con los requisitos de la USP, el tiempo de funcionamiento total debe establecerse en al menos cuatro veces el tiempo de retención de nitrito. Para el estudio de equivalencia de columna, se evaluaron la idoneidad del sistema (p. ej., repetibilidad, factores de cola) y la recuperación de muestras (Tabla 2).

RESULTADOS

El nitrito y el nitrato se cuantificaron en sales de nitrito de sodio disueltas (**Figura 2**). La determinación del componente principal nitrito y la impureza de nitrato en nitrito de sodio se realizó de acuerdo con el Capítulo General <621> de la USP, Cromatografía [5]. Se realizó un estudio de equivalencia de columna y se cumplieron todos los criterios de aceptación (p. ej., repetibilidad, resolución, factor de cola y precisión). La columna Metrosep A Supp 4 - 250/4.0 fue eficiente

(4000 platos teóricos) y el nitrito eluyó como un pico simétrico (factor de cola 1,06) con alta repetibilidad (desviación estándar relativa del 0,08 % para el área del pico de nitrito en la solución estándar). La resolución entre los picos de nitrito y nitrato fue de 4,2. En todas las muestras analizadas, las recuperaciones de nitrito fueron del 101 % y el contenido de nitrato fue <0,2 % (**Tabla 2**).

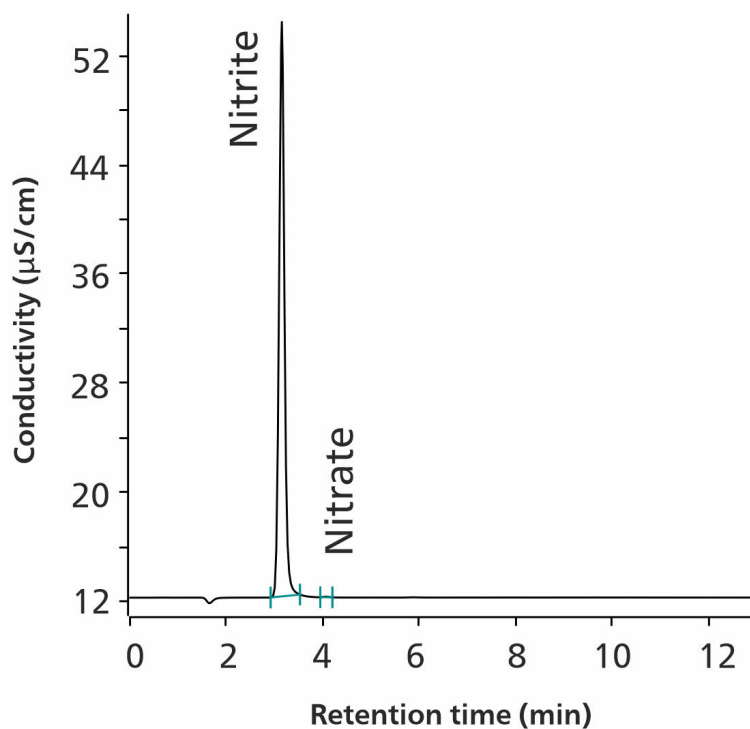


Figura 2. Cromatograma que muestra el análisis de nitrito y trazas de nitrato en una solución de muestra de nitrito de sodio que contiene 0,121 mg/mL de nitrito (100,8 % de recuperación).

Tabla 2. Características de rendimiento seleccionadas.

Características de presentación	Criterios de aceptación	Resultados
Factor de coleo	Los factores de cola (asimetría) para el pico de fosfato son NMT 2.0	1,06
Eficiencia de la columna	No menos de 3000 placas teóricas	4000
Repetibilidad	La desviación estándar relativa para el área del pico de nitrito en la solución estándar es no más de 1,5 % para cinco repeticiones	0,08%
Resolución	Resolución entre el pico de nitrito y nitrato en la solución de muestra	4,2
Precisión	El % de recuperación promedio debe ser del 98,0 al 102,0 % del valor CoA del fabricante	100,8%
Impureza	Límite de nitrato de sodio NMT 0.4%	0,2%

El método IC presentado para la determinación de nitrito y nitrato en nitrito de sodio con la columna Metrosep A Supp 4 (material de embalaje L105) se incluye oficialmente en la USP. La robustez y confiabilidad del método se demostró dentro del

estudio de equivalencia de columnas siguiendo las pautas del Capítulo General de la USP <621> [5]. La configuración es adecuada para cuantificar el nitrito y la impureza de nitrato en sodio de acuerdo con los requisitos de la USP.

REFERENCIAS

- [1] Bebartá, V. S.; Bretana, M.; Chan, A.; et al. El nitrito de sodio y el tiosulfato de sodio son efectivos contra el envenenamiento agudo por cianuro cuando se administran por inyección intramuscular. *Anales de Medicina de Emergencia* **2017**, 69 (6), 718-725.e4. <https://doi.org/10.1016/j.annemergmed.2016.09.034>.
- [2] FDA. *Inyección de nitrito de sodio, USP - Acceso a datos*. Fda . Gov ; https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/la

<bel/2012/203922s000lbl.pdf>.

- [3] eEML - *Lista electrónica de medicamentos esenciales*. <https://list.essentialmeds.org/> (consultado el 28 de octubre de 2022).

[4] NOSOTROS Farmacopea. Nitrito de sodio USP-NF. *Monografía*. https://doi.org/10.31003/USPNF_M76880_03_01.

- [5] 6 2 1 *Cromatografía*. https://doi.org/10.31003/USPNF_M99380_01_01.

Internal reference: AW IC IN6-2181-062021

CONTACT

Metrohm Hispania
Calle Aguacate 15
28044 Madrid

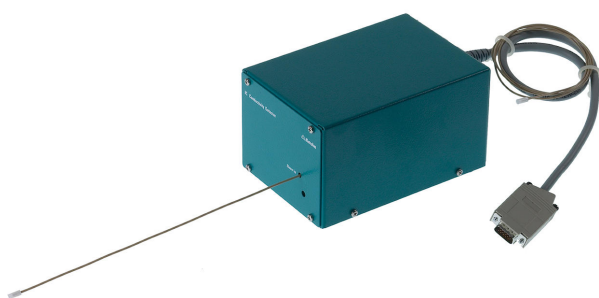
mh@metrohm.es

CONFIGURACIÓN



Metrosep A Supp 4 - 250/4,0

La Metrosep A Supp 4 - 250/4,0 es una columna extraordinariamente robusta con muy buenas propiedades de separación. La fase de separación consta de partículas de alcohol polivinílico de 9 μm de diámetro cubiertas con grupos de amonio cuaternarios. Esta construcción garantiza una elevada estabilidad y mayor tolerancia a partículas muy finas que podrían pasar la placa del filtro integrada. La Metrosep A Supp 4 - 250/4,0 posee una capacidad media de intercambio de iones; el sulfato se eluye al cabo de 12,5 minutos. Los números de platos que se pueden obtener con esta columna de separación son mayores que en la Metrosep Anion Dual 2 - 75/4,6. La A Supp 4 - 250/4,0 es especialmente apropiada para todas las tareas rutinarias en el análisis del agua.



IC Conductivity Detector

Detector de conductividad de alto rendimiento, inteligente y compacto para los aparatos CI inteligentes. La extraordinaria constancia de temperatura, el tratamiento completo de la señal dentro del bloque detector protegido y DSP (tratamiento digital de la señal controlado por microprocesador) de última generación garantizan la máxima precisión de la medida. Gracias a la zona de trabajo dinámica no es necesario el cambio de la zona (ni siquiera automático).