



Application Note AN-S-400

Analisi del nitrito nel nitrito di sodio

Studio di equivalenza delle colonne secondo la Farmacopea Statunitense

Il cianuro, una sostanza tossica, può essere accidentalmente ingerito o inalato come acido cianidrico volatile. Anche piccole quantità di cianuro sono letali poiché bloccano rapidamente il processo di respirazione cellulare. Nei casi gravi di avvelenamento da cianuro, il nitrito di sodio viene utilizzato insieme al tiosolfato di sodio per il trattamento [1]. Si ritiene che il nitrito di sodio (NaNO_2) eserciti un effetto terapeutico reagendo con l'emoglobina per formare metaemoglobina. La metaemoglobina ha un'elevata affinità per il cianuro e questo complesso aiuta a rimuovere in modo sicuro la tossina dal corpo [2]. Il nitrito di sodio è elencato negli elenchi modello di farmaci essenziali dell'OMS [3].

I prodotti farmaceutici richiedono un rigoroso

controllo di qualità. Pertanto, è necessario determinare le impurità e il contenuto di principi attivi. La **monografia Sodium Nitrite** della US Pharmacopeia (USP) descrive il metodo analitico per determinare il componente principale nitrito (NO_2^-) e l'impurezza anionica nitrato (NO_3^-) contemporaneamente alla cromatografia ionica (IC) [4]. Questa Application Note descrive il dosaggio di nitrito IC con la colonna Metrosep A Supp 4 e il rilevamento della conducibilità soppressa. Il nitrito e il nitrato nel nitrato di sodio vengono determinati in un'unica sessione di analisi. Lo studio di equivalenza della colonna era in collaborazione con l'USP secondo il Capitolo Generale dell'USP <621> [5].

Per preparare soluzioni campione, i sali di nitrito di sodio disponibili in commercio sono stati diluiti in acqua ultrapura. La concentrazione nominale finale per i campioni era di 0,12 mg/mL di nitrito.

È stata creata una calibrazione a punto singolo con 0,12 mg/mL di nitrito preparato da uno standard di riferimento per nitrito di sodio USP(CAS RM® 7632-00-0).

ANALISI

I campioni sono stati iniettati automaticamente con l'889 IC Sample Center, che garantisce iniezioni rapide e precise (**Figura 1**). Successivamente sono

stati analizzati con un 940 Professional IC Vario utilizzando i parametri del metodo indicati nella rispettiva monografia USP (**Tabella 1**).



Figura 1. Configurazione strumentale che include un 940 Professional IC Vario ONE/SeS/PP, IC Conductivity Detector (L) e 889 IC Sample Center (R).

Tabella 1. Parametri del metodo IC secondo la monografia USP «Sodium Nitrite» [4].

Colonna con impaccamento L105	Metrosep A Supp 4 - 250/4.0
Eluent	2.7 mmol/L sodium carbonate 0.3 mmol/L sodium bicarbonate
Flow rate	1.5 mL/min
Column temp.	ambient
Injection volume	25 L
Detection	Conducibilità con soppressione sequenziale

ANALISI

I componenti anionici sono stati separati in modo isocratico su una colonna Metrosep A Supp 4 - 250/4.0, che contiene materiale di impaccamento L105. Il segnale di conducibilità è stato rilevato dopo la soppressione sequenziale. Nitriti e nitrati eluiti in meno di cinque minuti. Tuttavia, in base ai requisiti

USP, il tempo di funzionamento totale deve essere impostato su almeno quattro volte il tempo di ritenzione dei nitriti. Per lo studio di equivalenza della colonna, sono stati valutati l'idoneità del sistema (ad es. ripetibilità, fattori di scodamento) e i recuperi dei campioni (**Tabella 2**).

Nitrito e nitrato sono stati quantificati in sali di nitrito di sodio disciolti (**Figura 2**). La determinazione del componente principale nitrito e dell'impurità nitrato nel nitrito di sodio è stata condotta secondo il USP General Chapter <621>, Chromatography [5]. È stato eseguito uno studio di equivalenza della colonna e tutti i criteri di accettazione (ad es. ripetibilità, risoluzione, fattore di scodamento e accuratezza) sono stati soddisfatti. La colonna

Metrosep A Supp 4 - 250/4.0 era efficiente (4000 piastre teoriche) e il nitrito veniva eluito come un picco simmetrico (fattore di scodamento 1,06) con elevata ripetibilità (deviazione standard relativa dello 0,08% per l'area del picco del nitrito nella soluzione standard). La risoluzione tra i picchi di nitriti e nitrati era 4,2. In tutti i campioni analizzati, i recuperi di nitriti sono stati del 101% e il contenuto di nitrati era <0,2% (**Tabella 2**).

RISULTATI

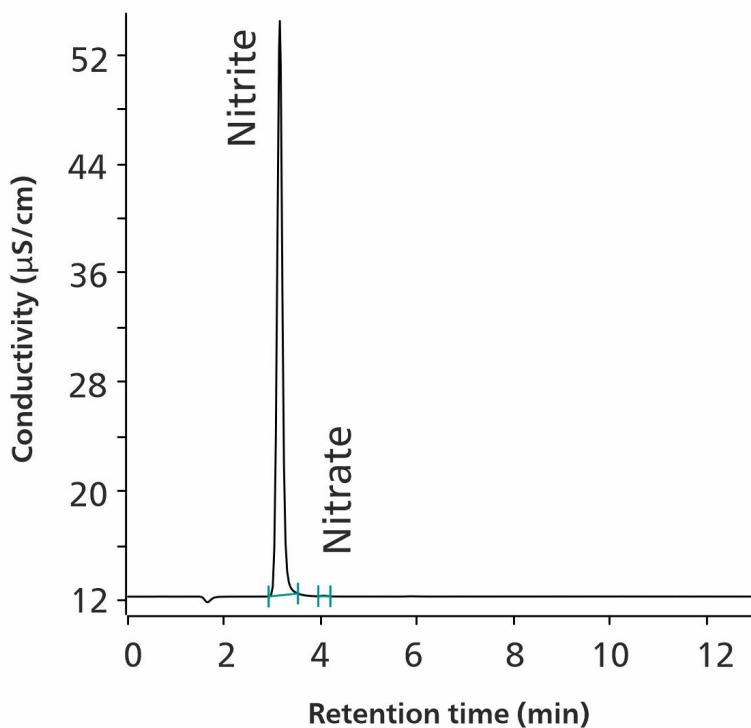


Figura 2. Cromatogramma che mostra l'analisi di nitrito e tracce di nitrato in una soluzione campione di nitrito di sodio contenente 0,121 mg/mL di nitrito (recupero 100,8%).

Tabella 2. Caratteristiche prestazionali selezionate.

Caratteristiche di performance	Criteri di accettazione	Risultati
Tailing factor	Tailing factors (asimmetria) per il picco del fosfato sono NMT 2.0	1.06
Column efficiency	NLT 3000 tavole teoriche	4000
Repeatability	La deviazione standard relativa per l'area del picco di nitrito nella soluzione standard è NMT 1,5% per cinque repliche	0.08%
Resolution	Risoluzione tra picco nitrito e nitrato nella soluzione campione	4.2
Accuracy	Il recupero % medio dovrebbe essere compreso tra il 98,0 e il 102,0% del valore CoA del produttore	100.8 %
Impurity	Limite di nitrato di sodio NMT 0,4%	0.2%

CONCLUSIONE

Il metodo IC presentato per la determinazione di nitriti e nitrati nel nitrito di sodio con la colonna Metrosep A Supp 4 (materiale di imballaggio L105) è ufficialmente incluso nell'USP. La robustezza e l'affidabilità del metodo sono state dimostrate

all'interno dello studio di equivalenza della colonna seguendo le linee guida del Capitolo Generale USP <621> [5]. La configurazione è adatta per quantificare il nitrito e l'impurità nitrato nel sodio secondo i requisiti USP.

RIFERIMENTI

[1] Bebarta, 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/lab

<el/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. *M o n o g r a p h*. 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 Italiana Srl
Via G. Di Vittorio, 5
21040 Origgio (VA)

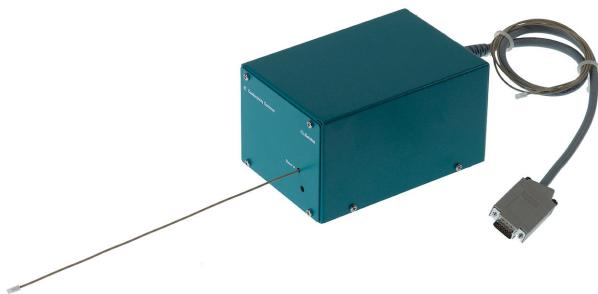
info@metrohm.it

CONFIGURAZIONE



Metrosep A Supp 4 - 250/4,0

La Metrosep A Supp 4 - 250/4,0 è una colonna estremamente robusta con eccellenti proprietà di separazione. La fase di separazione consiste di particelle di polivinilalcole con un diametro di 9 m, ricoperte di gruppi ammonici quaternari. Questa struttura garantisce un'elevata stabilità e una grande tollerabilità al particolato che può attraversare il filtro integrato sulla colonna. La Metrosep A Supp 4 - 250/4,0 ha una media capacità di scambio ionico; il solfato eluisce dopo 12,5 min. Il numero di piatti di questa colonna è più alto di quelli della colonna di separazione Metrosep Anion Dual 2 - 75/4,6. La Metrosep A Supp 4 - 250/4,0 è particolarmente adatta per tutte le richieste di routine nell'analisi delle acque.



IC Conductivity Detector

Rilevatore della conducibilità ad alte prestazioni compatto e intelligente per gli strumenti IC intelligenti. Eccellente stabilità di temperatura, la completa elaborazione del segnale all'interno del blocco del rivelatore protetto e DSP – Digital Signal Processing – di ultima generazione garantiscono la massima precisione della misura. Grazie al range dinamico di lavoro non sono necessari cambiamenti (anche non automatici) del range di misura.