

**关键字**

总有机碳  
制药用水  
TOC 分析仪

在 1994 年匹兹堡分析  
化学和应用实验室光谱会  
议上展出, 2 月  
28 日到 3 月 4 日



# 采用总有机碳分析检测制药用水中的有机污染物

**简介**

随着对产品和生产过程质量的持续关注, 制药行业正在努力要求任何新的生产技术必须满足能够用于操作的严格的判据。关注质量的核心之一是原料的质量, 包括过程中使用的水是格外需要关注的。氧化物质测试 (OST) 用于确认制药用水的质量。在生产过程中, 需要而且必须保证清洁验证, 以确认生产设备的清洁。在 OST 和清洁验证过程中一些分析仪器已经起到了巨大的帮助作用。这篇文章谈论这样一种分析仪器, 总有机碳 (TOC) 分析仪, 用于在制药应用中检测残留物质和其它污染物的清洁度。

**TOC 的历史**

在二十世纪六十年代, 相对于以前的生化需氧量 (BOD) 和化学需氧量 (COD), TOC 分析仪提供了另外一种方法。BOD 和 COD 能够用于分析环境样品, 但是其存在干扰, 结果的准确度很差而且分析时间长得让人不能接受。而 TOC 分析仪, 不存在 BOD 和 COD 所固有的干扰问题, 成为一种更加准确而且分析速度快得多的技术。

历史上的第一台 TOC 分析仪, 采用燃烧技术, 用于定量检测样品中的有机物参数。这种分析仪对于含有高浓度有机碳的样品提供了极其准确的、快速的分析结果。虽然如此, 由于氯化物会干扰燃烧的过程, 导致燃烧技术不能够准确地分析海水。因此, 海洋化学家开发湿法化学方法。除了能够分析海水, 湿法化学 TOC 方法的优势还在于能够检测极低浓度的有机碳污染物。与所有其它技术一样, 很多年来这种方法和分析仪也在不断地发展和改进。当前销售的各种采用可接受方法进行 TOC 分析的仪器都既有优点, 又会存在缺点。这些方法和分析仪的多功能性, 使 TOC 的分析能够根据分析样品的类型具有广泛的应用。从很高浓度的 TOC (以%计) 到超低浓度的 TOC (极低的 ppb 范围) 的样品, 都能够被快速、便捷地分析。

**TOC 的方法**

所有的水, 不论是否清洁, 都会含有一些碳。水样中碳的总量称为总碳 (TC)。总碳包含两部分的碳: 总无机碳 (TIC) 和总有机碳 (TOC)。TIC 以这些形态之一存在: 溶解的二氧化碳、碳酸氢根离子或者碳酸根离子。

但是，TOC 不能以其是什么做定义，而只能以其如何被检测进行定义：TOC 是在总无机碳被去掉或减去之后，有机物质中的碳转化为二氧化碳的量。因此存在如下的关系式：

$$TC = TIC + TOC$$

TOC 可以表示为可吹出的有机碳（POC）和不可吹出的有机碳（NPOC）。

$$TOC = POC + NPOC$$

对于海洋化学家，TOC 可以表示为溶解的有机碳（DOC）和悬浮的有机碳（SOC）。

$$TOC = DOC + SOC$$

这篇文章主要关注总有机碳，因此请注意这个关系式：TC = TIC + TOC。

TOC 的检测方法有很多种，所有这些方法的基础就是：将有机碳转化为二氧化碳，然后检测这个二氧化碳（见图 1）。

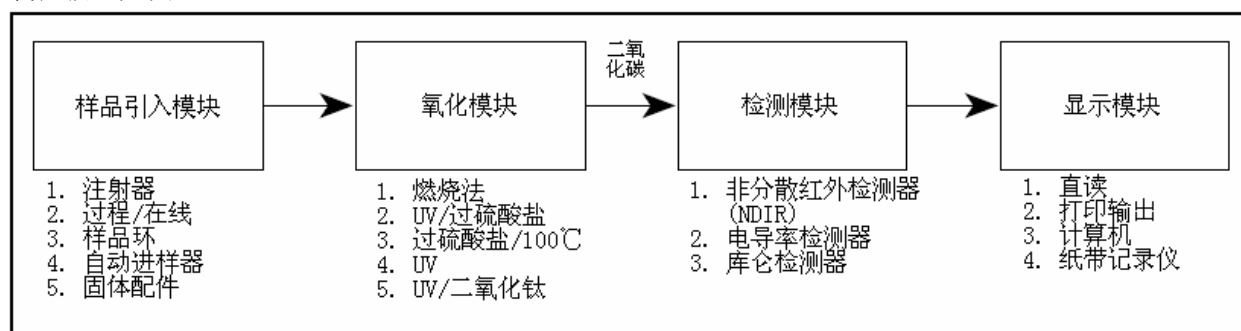


图 1 总有机碳分析仪的基本模块

二氧化碳采用非分散红外检测器（NDIR）或电导率检测器进行测量。虽然如此，按照上面的定义，在 TOC 被检测之前，必须首先去除 TIC。可以通过酸化样品以降低其 pH，样品中的 TIC 以二氧化碳的形式释放出来。由 TIC 生成的二氧化碳从样品中被吹扫出来，然后被排放或被检测。当 TIC 被去除之后，可以按照下列的方法之一执行 TOC 的分析：

- 1) 燃烧法 - 样品在 680 至 1000℃ 的富氧条件下进行燃烧，使碳生成二氧化碳并被 NDIR 检测。
- 2) 紫外裂解过硫酸盐氧化 - 在一个紫外裂解容器中，将过硫酸盐（钾或者钠）加入到样品中，导致有机碳转化为二氧化碳，由 NDIR 或电导率检测器检测。
- 3) 100℃/过硫酸盐氧化 - 在一个被加热到 95–100℃ 的容器中，将过硫酸盐（钾或钠）加入到样品中，有机碳被转化为二氧化碳，由 NDIR 检测器进行检测。
- 4) 紫外裂解 - 样品中的有机物在紫外光照射下被转化为二氧化碳。有机物的浓度由电导率的改变进行检测。

每种方法都有其优势和弱点，因此，应用的场合将影响分析方法的选择。表 1 显示了这些方法以及

相关的 EPA、ASTM、标准和 AOAC 方法的编号。

| 方法         | EPA 方法        | ASTM 方法        | 标准方法   | AOAC 方法 |
|------------|---------------|----------------|--------|---------|
| 燃烧法        | 415.1<br>9060 | D2579          | 5310 B | 973.47  |
| UV/过硫酸盐    | 415.2<br>9060 | D4779<br>D4839 | 5310 C | 无       |
| 过硫酸盐/100°C | 415.2<br>9060 | D4779<br>D4839 | 5310 D | 无       |
| UV         | 无             | 无              | 无      | 无       |
| UV/二氧化钛    | 无             | 无              | 无      | 无       |

表 1 TOC 的方法

### TOC 与制药行业

制药行业已经在两个场合开始使用 TOC 分析，一个是用于替代氧化物质测试 (OST)，另一个是用于清洁验证。下面分别谈论这两种应用。

### 氧化物质测试

OST 用于测试纯化水 (PW)、注射用水 (WFI) 和其它等级制药用水的纯度。OST 过程包括煮沸一份含有指定量高锰酸钾的酸化水样。如果在 10 分钟之后仍然能够维持粉色，那么这个水样就通过 OST。

对于 OST，有一些需要考虑的问题。其一，因为它依赖于操作人员来识别颜色是否存在，因此缺乏客观性；其二，对于不同的有机物质，OST 缺乏一致的灵敏度；而且，因为它不能提供定量的响应，因此 OST 不能够用于检测水的纯度。

在以前的文献 (1) 中已经显示：TOC 分析完全能够替代 OST。TOC 分析是对于目标物质的响应，因此它消除了操作者识别颜色改变的缺点。而且对于各种各样的样品类型，TOC 分析都能够提供一致的灵敏度。最后，对比于 OST 方法的通过和不通过测试，TOC 能够提供定量的输出，因此能够用于监测水的纯度。

美国药典 (USP) 已经批准了 OST 的替代方法，内容为采用一个浓度为 500 ppbC 的蔗糖溶液校准 TOC 分析仪。一旦校准完毕，制备一个浓度也是 500 ppbC 的系统适应性标准，并采用分析仪进行分析。这个系统适应性标准的回收率的最低要求为 85%。曾经测试过一些物质作为这个标准，部分物质显示于表 2 (注意：这个替代方法尚未完成)。

**设备：**700 型总有机碳分析仪，配置在线采样选项和打印机，OI 分析仪器公司，College Station，得克萨斯州。

**操作条件：**

样品体积：10 mL 样品环  
 样品填充时间：16 秒钟  
 酸体积：200  $\mu$  L  
 氧化剂体积：1000  $\mu$  L  
 消解块温度：100  $^{\circ}$ C  
 TIC/TOC 分析时间：8 分钟

标准：蔗糖，500 ppbC

| 物质                      | 理论浓度     | 测量到的浓度(X)   | 标准偏差   | % 回收率  |
|-------------------------|----------|-------------|--------|--------|
| Nonoxynol-9<br>(壬苯醇醚-9) | 500 ppbC | 458.08 ppbC | 15.259 | 91.62% |
| Tromethamine<br>(氨基丁三醇) | 500 ppbC | 498.18 ppbC | 2.403  | 99.64% |
| Octoxynol-9<br>(辛苯聚糖)   | 500 ppbC | 438.06 ppbC | 22.846 | 87.61% |

Octoxynol-9 的测试

| 在样品环内的停留时间 * | 理论浓度     | 测量到的浓度 (X)  | % 回收率  |
|--------------|----------|-------------|--------|
| 7 分钟         | 500 ppbC | 372.50 ppbC | 74.50% |
| 10 秒钟        | 500 ppbC | 438.06 ppbC | 87.61% |
| 0 秒钟         | 500 ppbC | 490.67 ppbC | 98.13% |

\* 请注意在 Octoxynol-9 测试中的一件很有意思的事情，如果 Octoxynol-9 停留在样品环内的时间越长，分析结果的回收率将越差。这是由于 Octoxynol-9 溶液会粘附在样品环的内壁上。相反，如果样品环填充之后立即注入到消解罐，回收率将会增加。

| 瓶号 | 浓度          | 标准偏差  | 在规定的范围内 |
|----|-------------|-------|---------|
| #1 | 503.74 ppbC | 2.718 | + 0.75% |
| #2 | 434.81 ppbC | 3.532 | -13.04% |
| #3 | 580.70 ppbC | 4.383 | - 3.86% |

表 3 WFI 的分析

根据提议的 OST 替代方法，USP 对于 WFI 和 PW 的可接受的浓度为 500 ppbC。采用同一台分析仪分析装在不同瓶子中的注射用水的结果列于上面的表 3。所有的瓶子来自于一个供应商，并且属于同一个批号。

### 清洁验证

清洁验证是一个需要具有完备证明文件的过程，证明制药行业生产设备的清洁是有效的和一致的。清洁验证策略的必要性已经要求去寻找一个定量的、精确的方法，确定制药生产过程中的污染物或者清

洁残渣是否存在。已经证实：TOC 分析仪能够有效并且快速、简便地分析这些潜在的污染物质 (3)。

当前有两种清洁验证方法需要采用 TOC 分析：棉签技术和清洗水技术。下面是这两个方法的主要叙述。

### **棉签技术**

棉签技术需要一些棉花，聚酯、聚亚安酯或者 Teflon® 的棉签，采集制药生产罐内部某些区域的样品。这些区域可以是罐的内壁，也可以是一个称作“试样”的小板（在生产过程中，这个小板悬浮在产品的表面，作为生产用罐清洁和清洗程度的标志物）。棉签放置于要采样的表面，擦拭整个样品表面。擦拭的方向和压力在清洁标准操作规程（SOP）中作了定义。然后萃取这个采样过的棉签。将棉签放入一个装有酸性溶液的小瓶中，然后执行超声波或者离心处理，最后分析此酸性溶液的 TOC 浓度。

也可以通过将棉签放入一个密封的、装有 5% 磷酸和 100 克/升过硫酸钠溶液的玻璃安瓿瓶中，之后分析这个棉签浸取液。无机碳形式的二氧化碳被吹扫到环境中，然后密封这个玻璃瓶。玻璃瓶被加热到 100℃ 并保存指定的时间。最终，打开玻璃瓶，TOC 以二氧化碳的形式被吹出并进行检测。

由于这个步骤的快速和简便，萃取小瓶中的棉签浸取液是最普遍的技术。虽然如此，不论采用哪些步骤，这个过程的关键因素在于采样技术的一致性。

棉签技术存在一些疑问，例如：

- 1) 棉签浸取液是否能够被完全萃取，以提供生产罐清洁度的精确分析呢？
- 2) 这个小板是否能够精确地表达生产罐的清洁度呢？尤其是如果生产罐的材料与小板的材料不同的时候。
- 3) 棉签是否加入了污染呢，换句话说，它们能否作为真正的“空白”呢？
- 4) 棉签擦拭表面的次数是否影响最终的分析结果呢？

即使存在这些疑问，棉签技术具有直接接触表面的优点。而这种接触能够提供比清洗水方法更加准确的污染物的状态。

### **清洗水方法**

这个过程包括：在产品生产之前分析取自设备的清洗水，然后在清洁和清洗了生产设备之后再次分析这个清洗水。比较两次的分析结果以证实设备的清洁度。

这个方法的关注点之一在于：清洗水是否能够从生产设备表面去除污染物；关注点之二在于：采用抓样方式或者在线取样方式测量的清洗水是否能够代表整个清洗过程。虽然如此，清洗水直接含有污染物的概率是很高的。

### **清洁验证中 TOC 分析的缺点**

TOC 分析的关注点之一在于：其是否能够检测所有需要分析的物质。根本在于，TOC 分析仪只能检测碳，这些需要分析的物质必须包含能够检出浓度的碳从而完成分析。

准确的 TOC 分析需要气体和试剂。如果某些实验室不能够方便地得到气体的话，他们需要做一些投资。如果一些实验室不能够制备以及混合化学试剂，而需要购买昂贵的、配制好的试剂的话，这也是需

要面临的一个问题。而且，试剂也需要进行验证。

虽然 TOC 分析仪可以很快的掌握而且便于操作，但它毕竟是一台分析仪器，为了操作它，技术人员需要接受必须的操作和维护培训。

### **清洁验证中 TOC 分析的优势**

TOC 分析具有检测原材料、生物制品、清洗物质、清洁剂和其它有机污染物等很多应用场合。TOC 的结果是重复的以及定量的，并且不会受到特定物质的干扰。这使 TOC 的结果能够被快速地进行准确无误的验证。

TOC 的分析便于理解和执行。这使操作者的培训时间短，避免了长时间的学习周期，就能使仪器在安装之后很快地提供必要的信息。而且具有大量的文档，使 TOC 的应用能够得到充足的支持。

TOC 的分析相对于其它方法具有极高的分析速度，例如相关酶的免疫吸收剂的化验（ELISA）以及 Lowry 蛋白质的化验(3)。采用当前的技术，TOC 分析能够快速、便捷地运行。现在的仪器制造商已经意识到时间是重要的因素，因此设计他们的产品使其能够提供更加快速的分析时间。分析速度的提高得益于自动进样器和基于计算机的数据处理系统。

### **结论**

通过快速和准确的分析，TOC 分析仪能够检测制药行业生产水中大量的有机污染物。在 TOC 分析的广泛的应用中，OST 和清洁验证只是其中的两项应用。随着法规条例的不断补充，TOC 分析像其它方法和技术一样，其重要性将不断地提高。虽然如此，需要做更多的研究，使 TOC 的分析在制药行业发挥最大的效率。

### **参考书目**

1. OI 分析仪器公司的高价值的应用文档#0440，“比较在纯水测试中的总有机碳分析和美国药典的氧化物质测试”，1993 年 6 月。
2. 美国药典开放同盟的文章，Col. Springs，科罗拉多州，1993 年 7 月；“制药用水等级的更新需要：总有机碳”；草拟提案 1.11©，1993 年。The United States Pharmacopeial Convention Inc.
3. Baffi, R.; Dolch, G.; Garnick, R.; Huang, Y.F.; Mar, B.; Matsuhira, D.; Niepelt, B.; Parra, C.; Stephan, M. *注射药物科技杂志*，1991 年，45(1)，13-19。（请参考 OI 分析仪器公司的应用文档#0354）。



P.O. Box 9010  
College Station, Texas 77842-9010  
Tel: (979) 690-1711 • FAX: (979) 690-0440 • www.oico.com