

低总有机碳（TOC）测定的试管准备准则

目的

建议的美国药典USP23要求，对于纯化水（PW）和注射用水（WFI），应使用总有机碳含量（TOC）测定替代当前的易氧化物测试。为支持使用自动进样器在实验室测量TOC的建议要求，最小化并去除来自试管及样品准备过程的背景碳，是非常关键的。

适用范围

本文设计用于协助制药公司遵循水质量的建议规格。本文检验了几种不同的试管和玻璃器皿清洗方法。

在试管中进行总碳分析时，背景污染可有多种不同的来源。最大的潜在背景碳含量来源之一，可以直接来自用于试管漂洗和样品制备的水源。为了进行此测定，可使用诸如本研究所用的Sievers* 800型等在线TOC分析仪直接测量水源中的总有机碳（TOC）含量。如果水源是商品瓶装水，则应从容器直接取样进行该分析。如果水源为实验室水系统，充注1升干净的玻璃烧瓶并从该烧瓶取样进行分析。表1显示了使用这些技术在Sievers分析仪得到的结果。

表1 不同低TOC水及取样方法比较

HPLC等级的水	15.76 ± 0.72 ppb
烧瓶中的Sievers**水	9.13 ± 0.26 ppb
在线连接到仪器的Sievers**水	2.38 ± 0.064 ppb

**Sievers分析仪

当水转移到烧瓶和试管内时很容易被污染，正如以上所示，Sievers分析仪的水转移到烧瓶中的TOC含量更高。如果可能的话，检验所选水源类型，以显示其具有稳定的低TOC。

污染的第二个主要来源可来自试管和清洗步骤。为了测定TOC背景污染的初始程度，请使用强烈的清洗步骤。在科学界广泛使用的清洗实验室玻璃器皿

的方法是铬酸溶液（Sievers分析仪技术方案914-80005），已经被从美国药典的实验室玻璃器皿清洗<1051>章中去除。使用该步骤清洗的试管和其他玻璃器皿将获得较低的TOC背景污染。在获得较低的背景污染之后，需要慎重检验更温和的清洗步骤以获得同样的结果。这里所检验的腐蚀性最小的化学清洗步骤是CIP-100洗涤剂。作为清洗剂的替代方案，可使用马弗炉清洗玻璃器皿。马弗炉工艺需要的人工更少，但初始设备成本巨大。如表2所示，硫酸清洗、马弗炉和CIP-100洗涤剂清洗过程与铬酸清洗过程的结果相当。CIP-100洗涤剂的一个优点是只需要10次漂洗，而与之相比，其他清洗剂需要15或20次漂洗。Alconox实验室洗涤剂不建议作为低TOC工作的清洗剂。

当表2中所使用的试管，加入足够的苯醇醚（Octoxynol）（Triton X-100），形成当充满去离子水时50 ppm（以碳计）的溶液，这时的清洗是有挑战性的。使这些标准添加溶液在各试管中干燥，然后进行各种清洗步骤。

当细菌污染成为问题时，微生物群落存在类似的情况。在这里开发了无菌化技术，以应对微生物工作中遇到的交叉污染问题。

此概念可部分适用于碳样品的制备。例如，适合碳样品制备的无菌化概念为：

- 1) 避免直接接触垫片、移液管、自动取样器针和其他与样品直接接触的设备，
- 2) 制备样品时时避免对着它们呼吸，
- 3) 避免采集前几毫升的样品流，采集样品前等待，直到一些体积经过并净化管道后，并且
- 4) 当将试管载入自动取样器时避免接触覆盖试管的隔膜。

第二种意见是仅使用新试管进行TOC分析。这种做法费钱费力，因为这些新试管需要进行15次漂洗的准备步骤。使用此方法获得的TOC值列在表3中。

而另一种方法是购买制造商预清洗的试管。然而此处列出的试管，供应商没有直接测试其 TOC，而是测试其挥发性有机化合物。因此，没有保证其最大 TOC 含量。这些预清洗的试管充注 Sievers 低有机物质去离子水，并在仪器上进行分析。结果如图 4 所示。

减小背景碳污染的第三步是遵守严格的制备技术。特别小心地处理与样品接触的试剂和设备，因为碳污染无处不在。

例如，储存在塑料袋中的垫片，如果手伸入内部时，可能受到残留的手纹油的污染。表 5 显示了使用故

意被手纹直接污染的隔膜时更高的 TOC 含量。右列显示了在样品制备时上下表面皆有触摸的隔膜。碳污染量是样品制备时与脏手或表面接触程度的反映。

结论

在样品制备的三个方面叙述了背景碳的潜在原因。要在低碳背景污染下获得稳定的 TOC 结果，水、试管和样品制备方法都必须仔细地监控。

表2 试管清洗的不同清洗方案比较

914-80005 铬酸清洗	914-80007 Alconox 清洗	914-80016 马弗炉	914-80002 硫酸清洗	914-80015 CIP-100 洗涤剂
11.6 ppb	68.8 ppb	15.8 ppb	36.6 ppb	18.8 ppb
11.1	78.8	14.1	20.9	14.6
19.7	41.0	14.0	13.6	15.1
24.7	45.7	15.7	21.4	16.8
15.6	99.8	15.3	16.2	18.3
18.1	95.2	22.2	23.6	21.9
22.5	90.6	24.0	25.8	24.6
-----	-----	-----	-----	-----
17.6	74.3	17.3	22.6	18.59 平均值, ppb
±5.2	±23.6	±4.06	±7.5	±3.6 标准偏差, ppb

表3 新试管的漂洗与测试

充满前 15 次漂洗 VWR Cat #60826-202
17.8 ppb
15.8
24.7
32.9
33.5
42.2
27.8 平均值, ppb
±10.2 标准偏差, ppb

表4 预清洁试管充满并测试

I-Chem Series 300 VWR Cat #IRT336-0040	Eagle Picher Eagle Picher Cat #140
18.9 ppb	24.9 ppb
18.5	18.4
20.5	27.6
24.5	19.9
17.2	22.7
19.2	19.7
19.8 平均值,ppb	22.2 平均值,ppb
±2.5 标准偏差,ppb	±3.5 标准偏差,ppb

表5 样品制备时无菌相对非无菌化垫片触摸

无菌化	非无菌化
10.6 ppb	104.4 ppb
13.8	52.1
19.2	66.9
16.4	82.4
12.6	85.0
17.4	128.7
5.0 ± 3.2 平均, 标准偏差, ppb	86.6 ± 27.2 平均, 标准偏差, ppb



扫二维码，
关注 Sievers 分析仪官方微信。