

蛋白质样品的清洁验证中TOC分析器的比较

燃烧/NDIR方法与UV/过硫酸盐膜方法的比较
电导技术分析牛血清白蛋白

总有机碳 (Total Organic Carbon, TOC) 一般理论 所有TOC分析器都具有两种功能:

将水中有机碳氧化成二氧化碳 (CO₂) 和测量所产生的 CO₂。TOC 可用于对未正确清洁的仪器中的杂质和残留物进行定量, 以及测量所有含碳化合物: 药物活性成分 (Active Pharmaceutical Ingredients, API)、清洁剂、蛋白质和中间产物。用来测量 TOC 的分析技术有着相同的目标: 把有机分子完全氧化成 CO₂, 测量所生成的 CO₂, 并以碳浓度表示。所有方法都必须区分无机碳和有机碳, 无机碳可能来自水中溶解的 CO₂ 和重碳酸盐, 而有机碳则是由样品中有机分子氧化而成的。总碳 (TC) 是有机碳与无机碳之和, 因此测得的总碳 (TC) 减去测得的无机碳 (IC) 的值就是 TOC:
 $TOC = TC - IC$ ¹

各种 TOC 分析器的不同之处在于氧化水样品中有机物的方法, 以及检测样品中所生成 CO₂ 浓度的方法。不同的检测方法对样品分析的准确度有很大影响, 进而影响清洁验证测试程序。

TOC 氧化技术

市面上所有 TOC 分析器都使用以下两种方法之一来氧化有机化合物并将之转换为 CO₂ 气体: 燃烧, 或紫外 (UV) 灯过硫酸盐 (法)。

燃烧技术使用氮气、氧气或空气流, 温度在 600°C 以上。燃烧方法在氧化步骤中也使用催化剂。该类方法中常用的催化剂有氧化铜、氧化钴或铂。

UV 过硫酸盐氧化方法利用 UV 光使有机物完全氧化为 CO₂。将样品暴露在设备内汞蒸汽灯的 UV 光之下, 将样品内的有机物转化为 CO₂ 气体。对于浓度大于 1ppm 的样品或化合物, 则在样品流中加入过硫酸盐并混合均匀, 从而利用接受照射的样品生成的负价氢氧 (HO⁻) 基来确保氧化过程顺利进行。过硫酸盐是一种强氧化剂, 在 UV 辐射下生成硫酸盐和氢氧基, 可将有机化合物完全氧化为 CO₂。

TOC 检测方法

为检测 CO₂ 浓度, 分析器需要使用检测方法以区分样品中的 CO₂ 和其他分子。现有两种检测方法: 非分光红外 (Non-Dispersive Infrared, NDIR) 或电导测量。

用于气体测量的 NDIR 技术依靠各种气体在红外光谱范围内的能量吸收特征来判别分子类型。运用 NDIR 技术的 TOC 分析器使红外线穿过两根完全相同的导管射入检测器。第一个导管作为参比池, 充满无红外吸收的气体, 如氮气。第二个导管 (池) 用于气体样品的测量。

电导检测方法使用电导传感器, 通过计算电导率确定 CO₂ 的浓度。为计算 TOC, 水溶液通过两个电导传感器, 其中一个测量总碳 (TC) 浓度而另一个测量无机碳 (IC) 浓度。根据测量结果, 计算出样品的 TOC 浓度。



NDIR方法可对含碳范围在0.004–50,000 ppm的样品进行定量，而电导率方法可以进行十亿分之一(part per billion, ppb)级的定量。总体而言，NDIR和电导率检测器对于低浓度的TOC有足够的灵敏度，但会受到离子干扰。使用只允许CO₂选择性透过的半透膜可减轻此因素的影响。

Sievers* TOC技术与与众不同的特点

结合使用UV过硫酸盐氧化与独特的选择性CO₂膜技术，是Sievers系列TOC分析器优于常规TOC技术（如燃烧NDIR技术）的众多要素之一。Sievers技术能持续为用户提供更为精确的TOC读数。

在Sievers的基于膜的电导方法中，CO₂传送模块中的选择性CO₂膜可阻止离子进入，在使CO₂无阻通过的同时，排除了干扰化合物和氧化副产物。选择性CO₂膜消除了背景干扰，并防止非碳基化合物和副产物聚集。

清洁验证带来了一种充满挑战的局面，因为各种样品的TOC浓度有时是未知的，因此最佳的分析条件很难达到。以下几点卓越之处确保了UV过硫酸盐膜电导技术无可比拟的分析结果。

试剂自适应功能保证完全氧化

为使清洁验证样品完全氧化，Sievers 900系列的分析器具有试剂自适应功能，可优化酸和过硫酸盐氧化剂的流量。

非催化燃烧方法

非催化燃烧方法消除了向燃烧反应器中添加催化剂的定量（根据样品中碳浓度而定）时的人为误差。燃烧氧化方法会产生毒性气体。如清洁验证样品中含氯化物，则燃烧可能生成对人体有潜在危害的气体，某些TOC分析器不吸收这类气体。

无需NDIR检测器

NDIR检测器需要一定的时间来预热（30到45分钟），因此造成更多的停工时间和样品积压。NDIR技术需要经常进行校正（每小时或每天），由清洁验证样品的碳浓度决定。这类检测器经常出现校正漂移现象。校正时间占NDIR仪器运行时间的6%到10%。

不用载气

NDIR检测器的载气价格不菲，并且泄漏和不稳定的校正通常引起高TOC背景。载气污染也可能造成测量困难和引起碳的高背景。

出色的灵敏度和高回收率

Sievers TOC分析器的电导池由高纯度石英制成，提供更佳的稳定性和0.03ppb级别的检测。图1和表1从灵敏度和TOC回收率两个方面，就牛血清蛋白(Bovine Serum Albumin, BSA)对Sievers TOC与传统燃烧-NDIR TOC技术进行比较。

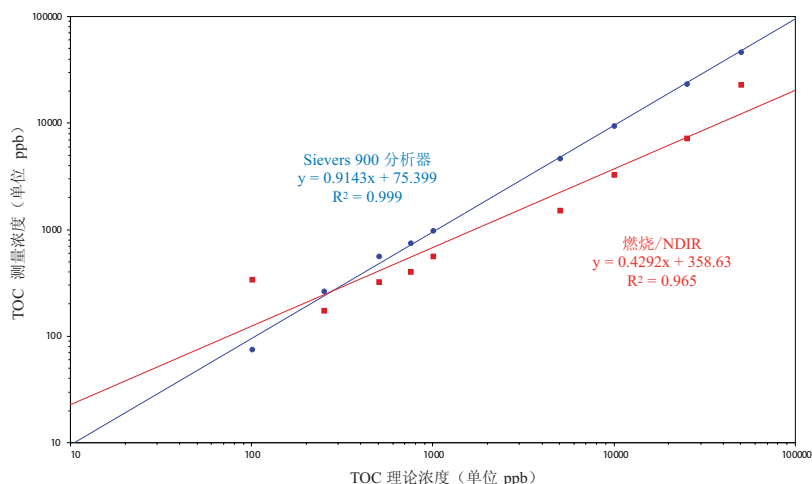


图 1. Bovine Serum Albumin (BSA) TOC 回收百分比对比研究

表 1. Bovine Serum Albumin (BSA) TOC 回收百分比对比研究**

TOC 理论浓度 (单位 ppb)	Sievers* 900 结果: TOC 回收 百分比平均值	燃烧/NDIR 结果 NPOC 回收 百分比平均值
100 ppb	74.7 ppb = 75%	339.7 ppb = 340%
250 ppb	264.7 ppb = 105%	173.0 ppb = 70%
500 ppb	564.3 ppb = 113%	323.8 ppb = 64%
750 ppb	751.2 ppb = 100%	402.1 ppb = 54%
1000 ppb	968.7 ppb = 97%	556.3 ppb = 56%
5000 ppb	4646.7 ppb = 93%	1508 ppb = 30%
10000 ppb	9190 ppb = 94%	3285 ppb = 33%
25000 ppb	23266.7 ppb = 93%	7183 ppb = 29%
50000 ppb	46000 ppb = 92%	23025 ppb = 46%

**该对比研究使用完全校正后的仪器。分析之前,先进行并通过系统适应性测试。对两种仪器,制备并使用同一BSA储备溶液。研究在可控的环境中进行;分析期间,仪器未出现偏差。

为什么说现在正是改用 Sievers TOC 进行清洁验证的时候
HPLC分析很漫长，增加了实验室清洁验证分析所需时间。使用HPLC将导致数小时或数天的停工，造成高额成本并减少了提供给患者的产品数量。有例子表明，某些制药企业单日停工损失超过100万美元。表2将Sievers 900 TOC分析与燃烧/催化NDIR和燃烧NDIR进行了详细比较，其中包括估算的月运行成本。

TOC是一种用于低浓度级别有机化合物检测的、简单快速的分析方法，并且可以用于无法使用HPLC检测的污染物。与常规方法相比，TOC已被证明可减少75%以上停工时间和方法验证时间。FDA最近出台了新的指导方针—21世纪现行药物生产质量管理规范(*cGMP's for the 21st Century*)，旨在加强和更新药物制造规则，使用TOC分析进行清洁验证，与特异性分析方法相比(如HPLC)在质量和效率上的优势已引发越来越多的关注。²

参考文献

¹ USP <643> Total Organic Carbon.

² Andrew W. Walsh 为本应用摘要提供了内容。

表 2. TOC 方法比较

用于清洁验证的 TOC 分析器	Sievers* 900	燃烧/催化剂 NDIR	燃烧 NDIR
氧化方法	UV 过硫酸盐	燃烧 (680-1,000° C) 催化剂氧化	680° C 燃烧氧化
检测方法	膜电导	NDIR	NDIR
检测范围	0.03 ppb - 50 ppm	TC: 0-25,000 ppm IC: 0-30,000 ppm	4ppb - 25,000ppm (TOC) 4ppb - 4,000ppm (TC-IC)
检出限	0.03 ppb	4ppb	4ppb
准确度	±2%	CV ±1.5%	--
精密度	1% RSD	--	--
测量项目	TOC, TC, IC	TC, IC, TOC, NPOC	TOC (NPOC), TC-IC, TC, IC
样品量	0.5 微升/分	10-2,000 微升	小于 2 毫升
分析时间	4 分钟	TC: 3 分钟及以上 IC: 3 分钟及以上	9-12 分钟
校正周期	一年	小时/日/周	小时/日/周
校正执行时间	单点: 1.5 小时 多点: 5.5 小时	3 小时	5 小时
每年校正耗时	单点: 1.5 小时 多点: 5.5 小时	150 小时	250 小时
载气	不适用	高纯空气 1,440L/mo. (假设 8H/D x 5D/W)	高纯空气 (>99.98%) 或 干燥高纯氮气
试剂	酸 氧化剂	盐酸 IC 试剂	盐酸
在线测量	是	否	否
离线测量	是	是	是
可携带	是	否	否
消耗品	酸 氧化剂 UV 灯 DI 树脂床 泵管路	催化剂 (铂) 载气 酸 IC 试剂 等	载气 酸 等

* 通用电气公司的商标，可能在一个或多个国家/地区注册。

有关详细信息，请访问 www.geinstruments.com，在“Contact Us”（联系我们）部分寻找所在地的销售合作伙伴。



美国
GE Analytical Instruments
6060 Spine Road
Boulder, CO 80301-3687 USA
电话: +1 800 255 6964
电话: +1 303 444 2009
传真: +1 303 444 9543
geai@ge.com
www.geinstruments.com

中国
GE上海办事处
服务热线
电话: +44 (0) 161 864 6800
传真: +44 (0) 161 864 6829
generaluk.instruments@ge.com