

Carbono orgânico total: metodologia analítica e aplicações para indústria farmacêutica

Total organic carbon: analytical methodology and its applications in pharmaceutical industry

Maria Roseane dos Anjos Clementino¹, Pedro José Rolim Neto² & João Rui Barbosa de Alencar³

RESUMO – Até bem recente a água purificada para fins farmacêuticos era monitorada basicamente no aspecto inorgânico e no aspecto microbiológico. A partir da edição da Farmacopéia Americana - USP XXIII – passou-se a ser exigido o monitoramento dos níveis de carbono orgânico total (TOC) para água com fins farmacêuticos, seja ela purificada (PW) ou água para injetáveis (WFI). O parâmetro foi inicialmente limitado em 500ppb para água PW ou 50ppb para água WFI. O objetivo deste trabalho foi apresentar uma metodologia de determinação de carbono orgânico total e as aplicações decorrentes dessa metodologia na indústria farmacêutica. A validação do sistema de tratamento de água purificada e a validação de limpeza do processo de fabricação de formas farmacêuticas líquidas do Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco S/A – LAFEPE[®] (Recife-PE, Brasil) foram as aplicações estudadas. A metodologia se apresenta como uma de baixo nível de detecção (ppb), baixo tempo de análise, baixo custo analítico quando comparado a outros métodos e pode detectar toda fonte de carbono residual. Os resultados obtidos demonstram a adequação dos processos ao rigor da nova metodologia analítica.

PALAVRAS-CHAVE – Carbono Orgânico Total, água purificada, validação de limpeza de equipamentos.

SUMMARY – In the past, the purified water in the pharmaceutical industry was monitored basically in the inorganic and microbiologic aspect. With the American Pharmacopoeia - USP XXIII edition - the levels of total organic carbon (TOC) passed to be demanded. The parameter was limited initially in 500ppb for Purified Water (PW) or 50ppb for Water for Injection (WFI). The objective of this work was to present the total organic carbon methodology determination and its current applications in the pharmaceutical industry. The purified water treatment and cleaning validation system in process production to liquid pharmaceutical forms equipment at the Pernambuco State's Pharmaceutical Laboratory - LAFEPE[®] (Recife-PE, Brazil) was the studied applications. The TOC has low level detection (ppb), low time analysis; low cost as compared to other methods and can detect all carbon-based residuals. The results demonstrate an adequate processes adaptation to the rigidity of the new analytical methodology.

KEYWORDS – Total organic carbon, purified water, cleaning equipments validation.

1. INTRODUÇÃO

Diferentemente de outras indústrias de processo onde a água é utilizada como uma utilidade, na indústria farmacêutica, ela é a substância mais largamente utilizada e a sua produção é tida como uma operação extremamente delicada, pois, trata-se de um componente principal na preparação de diversas formas farmacêuticas líquidas, sejam elas de uso oral ou parenteral. Possivelmente, nenhuma área dos processos de fabricação farmacêutica asséptica esteja tão suscetível potencialmente para problemas de contaminação físico-química e microbiológica como o é o sistema de fornecimento de água. Sua utilização é também imprescindível na granulação de formas sólidas, preparação de soluções de revestimento, assim como, na preparação de formas semi-sólidas e outras formulações líquidas intermediárias. Não menos importante é sua utilização nas operações de esterilização, troca térmica e limpeza de ambientes, equipamentos e

vidrarias extremamente necessárias ao cumprimento das boas práticas de fabricação. Imprescindível, se faz a validação do processo de produção de água para essa indústria.

Nas indústrias de um modo geral, as tecnologias de tratamento de água têm evoluído bastante. Para garantir água com elevado grau de pureza, os processos atualmente mais utilizados vão desde osmose reversa em duplo passo, sistemas de deionização, eletrodeionização, destilação e bi-destilação, ultrafiltração, associados ou não, a diversos outros sistemas de pré-tratamento como cloração, abrandamento, decarboxinação, filtração, clarificação, etc.; porém, nenhum desses sistemas é capaz de garantir totalmente a qualidade da água produzida no tratamento. Pelo contrário, o dimensionamento, construção, montagem, operação e manutenção inadequada desses sistemas podem se tornar uma fonte de contaminação e, conseqüentemente, comprometem a segurança requerida pelo processo (Collentro, 1998).

Recebido em 13/8/2007

¹M.Sc. em Ciências Farmacêuticas pela UFPE, Farmacêutica Industrial do LAFEPE S/A

²D.Sc. em Ciências Farmacêuticas pela Université Montpellier, França, Prof. Adjunto da UFPE

³Engenheiro Químico, D.Sc. em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos pela EQ/UFRRJ

Até bem recente, a água purificada para fins farmacêuticos era monitorada basicamente no aspecto inorgânico, através da determinação da quantidade de sais dissolvidos e parâmetros qualitativos, como teste de substâncias oxidáveis e no aspecto microbiológico, pela quantidade de microorganismos presentes na água. A partir da edição da Farmacopéia Americana - USP XXIII – passou a ser exigido o monitoramento dos níveis de carbono orgânico total (TOC) para água com fins farmacêuticos, seja ela purificada (PW) ou água para injetáveis (WFI). O parâmetro foi inicialmente limitado em 500 ppb (partes por bilhão) ou 0,5mg/L para água purificada (PW) e 50 ppb para água para injetáveis (WFI). Para a maioria dos compostos orgânicos encontrados em água farmacêutica, esse novo padrão foi considerado de sensibilidade muito rigorosa que aquele, permitido anteriormente no teste de substâncias oxidáveis e que utilizava o método por via titulométrica. A submissão dos processos à nova técnica analítica tem obrigado os fabricantes a mudar seus processos de modo a garantir a nova especificação.

O objetivo deste trabalho foi apresentar uma metodologia de determinação de carbono orgânico total e as aplicações decorrentes dessa metodologia na indústria farmacêutica, no caso, o sistema de tratamento de água purificada e a validação de limpeza do processo de fabricação de formas farmacêuticas líquidas do Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco S/A – LAFEPE® (Recife-PE, Brasil).

2. Métodos para determinação de carbono orgânico total (TOC)

Em geral, o carbono se apresenta na forma de carbono inorgânico (IC) e carbono orgânico (OC). Em água potável, o carbono inorgânico se apresenta nas formas do dióxido de carbono, ácido carbônico e suas formas dissociadas. Formas particuladas na forma de minerais como calcita, também podem estar presentes. Já o carbono orgânico é em grande parte originado pela matéria orgânica presente na água, bem como, resultante da sua reação com produtos desinfetantes. Por sinal, o nível de exposição da população aos subprodutos dessas reações passou a ser monitorado nos Estados Unidos a partir do ano 2000 na água destinada ao consumo humano, tendo em vista o potencial carcinogênico e de outros efeitos danosos à saúde da população. A agência de proteção ao meio ambiente daquele país estabeleceu que o monitoramento desses subprodutos passasse a ser feito através da análise do nível de carbono orgânico total presente na água. (Wallace *et al.*, 2002; Bisutti *et al.*, 2004)

A medição de TOC é obtida de forma direta e indireta. A idéia é converter todas as diferentes formas de carbono na forma simples de dióxido de carbono detectando e quantificando o gás resultante dessa conversão. Para qualquer uma das técnicas utilizadas a remoção e medida do carbono inorgânico é uma etapa prévia. No método direto, o carbono orgânico presente na amostra é medido de duas formas; na primeira, o carbono inorgânico (IC) é removido por meio de um tratamento ácido, normalmente com HCl, H₃PO₄, H₂SO₃ ou H₂SO₄, assumindo-se que todo IC está na forma de carbonatos e que esses reagem rápida e completamente com o meio ácido produzindo CO₂. O gás produzido é arrastado com um gás inerte sendo quantificado depois de captado em detectores

específicos. Compostos orgânicos voláteis podem ser arrastados (purgados) nessa corrente de arraste, porém, nas águas para consumo humano, normalmente, esses compostos são desprezíveis. Nesse caso, a fração não purgável de carbono orgânico (NPOC) é equivalente ao carbono orgânico total, isto é, se NPOC for representado pela equação NPOC = TOC - POC, e POC for desprezível, resulta em NPOC = TOC, onde POC é a fração purgada junto com o gás de arraste.

Após a acidificação e remoção do IC, o OC não volatilizado (purgado) remanescente na amostra é submetido a um método de oxidação que pode ser térmica ou química ou ainda por raios ultravioletas, sendo o CO₂ produzido nesta oxidação, novamente arrastado por um gás inerte até um detector específico onde é efetuada a leitura e finalmente, através de uma curva de calibração, obtido o resultado dos níveis TOC.

No método indireto, o carbono orgânico (OC) é obtido por meio da subtração do carbono inorgânico (IC) do conteúdo total de carbono presente na amostra, determinados isoladamente, isto é, OC = TC - IC. O carbono inorgânico é obtido pela acidificação da amostra a exemplo do método anterior, sendo o IC quantificado. Em outra amostra, o carbono total é obtido pela oxidação química com persulfatos conjuntamente com raios ultravioleta ou persulfatos sob aquecimento, seguindo-se com o arraste, com um gás inerte do CO₂ resultante da reação. Outra técnica de oxidação para o carbono total é a via termocatalítica onde a amostra é submetida a temperaturas da ordem de 680°C ou maiores.

A forma de detecção do CO₂ produzido das etapas de oxidação também difere de equipamento para equipamento. Os mais comumente utilizados são os detectores de condutividade para os processos de oxidação a baixas temperaturas, detectores não dispersível de infravermelho (NDIR) e os detectores de condutividade térmica para os processos de oxidação com temperaturas elevadas. (Wallace *et al.*, 2002; Bisutti *et al.*, 2004).

3. MATERIAIS & MÉTODOS

3.1. Analisador de Carbono Orgânico Total (TOC)

O analisador de carbono orgânico total utilizado neste trabalho foi da marca Shimadzu®, modelo TOC-VCPH. Adaptado para atender às exigências da Farmacopéia Americana - USP 29 - Método 643, este utiliza o método de oxidação por combustão catalítica em temperaturas próximas a 680°C e dotado de detector de infravermelho não dispersível (NDIR). O

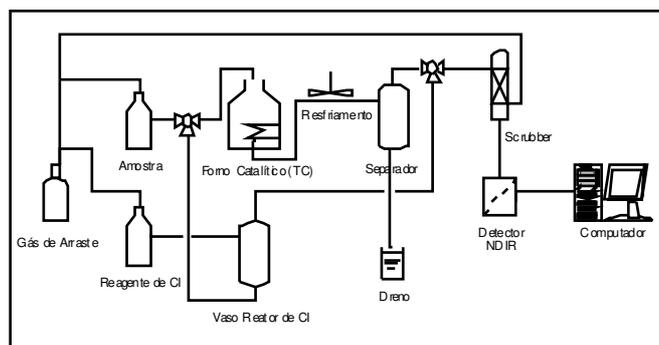


FIG. 1 - Fluxograma esquemático simplificado do sistema analítico utilizado.

equipamento é capaz de analisar amostras aquosas carbono total (TC), carbono inorgânico (IC), carbono orgânico total (TOC) e carbono orgânico não purgável (NPOC) em concentrações na faixa de 4,0µg/L a 25.000mg/L dependendo da configuração do equipamento e dos acessórios instalados. Uma representação simplificada do sistema analítico utilizado está representada na **Figura 1**.

3.2. Materiais e Reagentes

Para as análises de adequação do sistema, foram utilizadas as substâncias químicas de referência Sacarose, lote 1623637 e 1,4-Benzoquinona, lote 1056504, ambas certificadas pela fabricante USP®. Para construção das curvas de calibração foram utilizadas as substâncias químicas de referência carbonato de sódio anidro, lote M4N1995, bicarbonato de sódio, lote M4P2860 e hidrogenoftalato de potássio, lote M4N1775, todos do fabricante Nacalai Tesque®.

A água utilizada no preparo das soluções foi classificada como ultrapura (TOC < 100 ppb) e obtida por sistema Milli-Q da Millipore®. O gás de arraste utilizado foi oxigênio de alta pureza (mínimo 99,9%) fornecido pela White Martins e com vazão ajustada para as análises de 150 mL/min. As pesagens das substâncias foram realizadas em balança analítica da marca Ohaus, modelo Adventurer, com precisão de pesagem de 0,00001g e a vidraria típica para preparação dos padrões, sendo inicialmente pré-condicionadas por uma lavagem com uma solução a 30% de ácido nítrico e lavadas com água ultra pura no início de cada ciclo de análises.

3.3. Metodologia Analítica

A adequação do sistema analítico à finalidade a que se destina é determinada através da verificação da resposta do sistema a concentrações conhecidas de soluções padrão de sacarose e 1,4-benzoquinona. Tal verificação é conhecida como *System Suitability Test* e prevê o preparo de soluções padrão contendo 500ppb de sacarose e 500ppb de 1,4-benzoquinona. A adequação do sistema é medida através da Equação 1, sendo, r_w , r_{ss} e r_s a média das áreas resposta para a água, 1,4-benzoquinona e sacarose, respectivamente. O critério de aceitação para o sistema é que o parâmetro %R esteja dentro dos limites 100% ± 15% (USP, 2002).

$$\%R = \frac{(r_{ss} - r_w)}{(r_s - r_w)} \cdot 100 \quad (1)$$

As soluções foram preparadas conforme recomendações da Farmacopéia Americana USP 29. Para a solução de sacarose, pesou-se exatamente 1,20mg desse reagente dissolvendo-se em 1 litro de água ultra pura, obtendo-se uma solução com 500ppb de carbono em sacarose. Para a obtenção da solução contendo 500ppb de carbono em 1,4-benzoquinona, pesou-se exatamente 0,75mg da substância em 1 Litro de água ultra pura.

3.3.1. Curvas de calibração

Os métodos TOC e NPOC requerem curvas de calibração para as análises das amostras. Na calibração das curvas, o hidrogenoftalato de potássio - $C_8H_5O_4K$ - representa a solução padrão de carbono total. Hidrogenoftalato de potássio é um padrão primário e, por

ser representativo de um grande número de moléculas que são oxidadas quimicamente em condições energéticas, é utilizado como padrão para medidas de DQO (Demanda Química de Oxigênio) e TOC. Essas características físico-químicas lhes permitem serem usadas como molécula modelo para estudos de adsorção e em estudos de reações fotocatalisadas. A solução do carbono inorgânico é representada pela solução padrão de carbonato de sódio anidro - Na_2CO_3 - e bicarbonato de sódio - $NaHCO_3$. (Bisutti *et al.*, 2004).

3.3.1.1. Solução de Carbono Total (TC)

- Pesaram-se exatamente 2,125g do reagente hidrogenoftalato de potássio previamente seco a 105-120°C por uma hora e esfriado no dessecador.

- Transfere-se então para um balão volumétrico de 1L onde é dissolvido em água ultrapura. Completa-se com água ultrapura até a marca de 1L protegendo a solução com papel alumínio. Ao final, espera-se obter dessa solução uma concentração de carbono de 10.000mg/L de carbono. O equipamento de análise foi programado para a diluição automática dessa solução, de acordo com as concentrações requeridas para as curvas de calibração.

3.3.1.2. Solução de Carbono Inorgânico (IC)

- Pesaram-se exatamente 3,50g do reagente de bicarbonato de sódio previamente seco por 2 horas em dessecador de sílica gel e 4,41g de carbonato de sódio previamente seco por uma hora a 280°C-290°C e esfriado no dessecador.

- Esses materiais foram transferidos para um balão volumétrico de 1L, adicionando-se água ultrapura até completar a marca de 1L, protegendo o recipiente com papel alumínio. A concentração de carbono dessa solução padrão foi de 1000µg/L.

3.3.1.3. Solução de Carbono Orgânico Não Purgável (NPOC)

Foi preparada uma solução 10.000µg/L de sacarose dissolvendo 2,40mg da substância sacarose em 1L de água ultrapura.

3.3.2. Procedimento Analítico

As análises de TC, IC, NPOC são realizadas distintamente. No caso do TC, a amostra é injetada no forno catalítico e toda matéria orgânica (composta, neste caso, de TOC e IC) é oxidada para formar CO_2 . O gás de arraste conduz o CO_2 e os demais produtos da combustão para um recipiente separador onde são retidos os produtos que foram liquefeitos, dentre os quais, água. O gás que sai na parte superior desse vaso é conduzido para uma célula de um detector de infravermelho não dispersível que gera um sinal proporcional ao conteúdo de carbono total pela quantidade de CO_2 presente na amostra, o qual é registrado na forma da área de um pico. Considerando que as curvas de calibração, previamente obtidas e armazenadas no próprio equipamento expressam a relação entre a área do pico e a concentração de carbono total, esta pode ser determinada a partir da respectiva área obtida para cada amostra analisada.

Para o IC o procedimento é similar. A amostra, ao invés de ser alimentada no forno catalítico é desviada para o vaso reator de carbono inorgânico onde reagirá com ácido fosfórico, esperando-se que todo o carbono inorgânico seja convertido na forma de CO_2 . A partir da reação, os produtos de reação são conduzidos pelo

gás de arraste para um vaso separador onde são retidas as frações liquefeitas. Daí em diante, a fração não retida é conduzida para a célula detectora de infravermelho não dispersível a exemplo do TC. Com o auxílio da curva de calibração previamente construída, determina-se o teor do carbono inorgânico da amostra.

Como já descrito, o conteúdo de carbono orgânico total presente na amostra é determinado pela subtração da fração de carbono inorgânico do conteúdo do carbono total, isto é, $TOC = TC - IC$.

No método do NPOC aqui empregado, permite-se que o TOC seja determinado diretamente. Após a prévia acidificação da amostra e conseqüente eliminação do CO_2 proveniente da matéria inorgânica, a amostra é injetada no equipamento, seguindo-se a técnica igual à determinação do TC. Nesse caso, os picos obtidos são devidos ao NPOC que é igual ao TOC.

4. APLICAÇÕES NA INDÚSTRIA FARMACÊUTICA

As aplicações da metodologia de carbono orgânico total na indústria são reservadas, principalmente, ao monitoramento dos sistemas de produção de água para fins farmacêuticos e na validação de limpeza de equipamentos.

4.1. Monitoramento da Água Industrial

Em trabalho anterior ALENCAR *et al*, (2004) apresentou uma estratégia de validação de sistemas de tratamento de água. Naquele trabalho, o processo industrial estudado, para ser considerado validado, foi submetido ao rigor de uma bateria de testes quantitativos e qualitativos, físico-químicos e microbiológicos, visando atender às exigências regulatórias da época. Naquela oportunidade, muito raramente se dispunha, numa rotina industrial, do teste de carbono orgânico total para a liberação de água na produção farmacêutica. Com a inclusão do teste na Farmacopéia Americana, a produção de água na indústria passa a possuir nas suas especificações o limite superior de 500ppb de TOC para água purificada e 50ppb para água para injetáveis, substituindo os testes de impurezas, acidez e alcalinidade e resíduo pela evaporação.

Neste trabalho, apresenta-se o monitoramento dos níveis de carbono orgânico total, no período de janeiro a junho de 2006, num sistema de produção de água purificada do Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco S/A – LAFEPE® (Recife-PE, Brasil), onde esse sistema destina a água purificada à produção de formas farmacêuticas sólidas, sólidas anti-retrovirais,

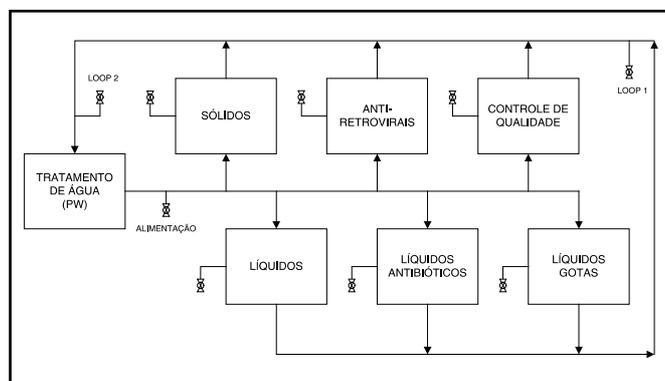


FIG. 2 - Pontos de amostragem para monitoramento do TOC em sistema de água purificada.

líquidas, líquidas antibióticas e líquidas na forma de gotas e ao laboratório de controle de qualidade.

O monitoramento foi realizado diariamente no início das atividades, tendo sido definido a realização dos testes em 9 pontos de amostragem. Esses pontos contemplam desde o *header* de alimentação dos setores produtivos, às válvulas principais dentro de cada setor produtivo e controle de qualidade, bem como, dois pontos nas linhas de retorno (*loops*). A identificação dos pontos de amostragem está representada na Figura 2.

4.2. Validação de limpeza de equipamentos

A validação de limpeza é parte integrante do conjunto de normas que compõem as boas práticas de fabricação de medicamentos. Trata-se de uma sistemática utilizada para assegurar que os procedimentos de limpeza de equipamentos, efetivamente, removam os resíduos existentes até um nível de aceitação pré-determinado.

Em trabalhos anteriores, Alencar *et al*, (2004, 2006a, 2006b) apresentaram várias estratégias para validação de limpeza de equipamentos de vários setores produtivos. Em cada uma dessas estratégias controlava-se a concentração residual do princípio ativo do último produto fabricado presente nas superfícies dos equipamentos ou nas águas de enxágüe, em função de um critério de aceitação previamente justificado. Este, ainda que bastante confiável do ponto de vista de garantia da não contaminação do produto subsequente a ser fabricado, possui a desvantagem de utilizar métodos analíticos específicos que captam, quase sempre, só a presença do princípio ativo, quando se sabe que, em muitos processos de limpeza, são utilizados vários produtos químicos como soluções detergentes, agentes tensoativos, desinfetantes, etc, além de excipientes e microorganismos. Dessa forma, faz-se necessário a utilização de um método inespecífico como é o de carbono orgânico total, capaz de captar a presença de toda a matéria orgânica remanescente na superfície dos equipamentos, além daquela presente na água purificada já utilizada neste processo.

Atualmente alguns trabalhos já vêm sendo desenvolvidos utilizando a determinação de carbono orgânico total para demonstrar a validação de limpeza de equipamentos em indústrias farmacêuticas (Clark, 2001; Jenkins *et al*, 1996).

Neste trabalho utilizou-se a técnica de carbono orgânico total para avaliar a limpeza dos equipamentos após a produção do produto Paracetamol, solução oral 100mg/mL apresentado em frascos gotejadores de 10mL, produzido na linha de gotas do Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco S/A – LAFEPE® (Recife-PE, Brasil). Trata-se de um produto de baixa solubilidade em água e conseqüente, maior grau de dificuldade na limpeza dos equipamentos.

Um aspecto essencial na validação de limpeza é determinar quanto de limpeza é suficiente. Apesar de, oficialmente, não endossar critérios adotados por indústrias farmacêuticas, o FDA (*Food Drug Administration*) dos Estados Unidos da América, faz referência a critérios adotados pela empresa *Eli Lilly* que estabelece os seguintes critérios (LeBlanc, 1999):

- O equipamento deve estar visualmente limpo;
- Qualquer agente ativo do produto após a limpeza deve estar presente em níveis máximos de 10ppm ou 10mg/mL do produto após a limpeza em relação ao produto subsequente, ou

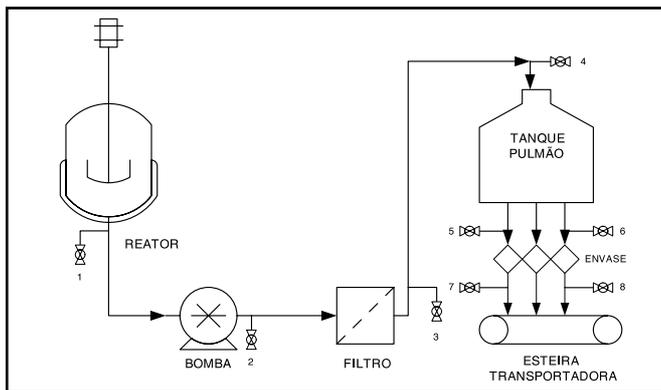


FIG. 3 - Fluxograma do processo e pontos de amostragem da validação de limpeza.

- Qualquer agente ativo do produto após a limpeza deve estar presente em níveis máximos de 1/1000 da dose mínima diária da substância ativa em relação à dose máxima diária do produto subsequente.

Em se tratando de avaliar a limpeza de equipamentos utilizando a metodologia de carbono orgânico total, também não existem regras fixas. LeBlanc (2003) destaca que tais limites são obtidos na prática e muitas vezes são arbitrados, sendo 1-10ppm de TOC valores típicos. Neste trabalho, em se tratando de uma aplicação inicial foi adotado um critério de aceitação de 10ppm de TOC.

O procedimento de limpeza foi executado ao final de cada lote industrial, tendo sido feita a verificação em 3 lotes industriais. O procedimento de limpeza utiliza além de água purificada, agentes químicos como detergentes e álcool etílico. A técnica de amostragem utilizada foi a coleta de água de enxágüe ou água de lavagem que se faz coletando uma porção do fluido usado na última operação do procedimento de limpeza de cada porção de equipamento e logo após submetê-la à análise. Os pontos de amostragem que foram avaliados neste trabalho estão indicados na Figura 3.

5.1. System Suitability Test

As análises iniciais foram feitas no sentido de condicionar e avaliar o sistema analítico no que concerne a presença de interferentes previamente existentes. Tal condicionamento envolve a análise da água ultra pura utilizada na preparação das soluções da curva de calibração no que concerne à presença de TOC. Foram realizadas 5 injeções sendo os valores obtidos mostrados na Tabela I. Observa-se que uma média das áreas de 4,092, um desvio padrão de 0,04852 e um coeficiente de variação de 1,06%.

Repetindo-se o procedimento para as soluções padrão de sacarose e 1,4-benzoquinona, cujas concentrações das soluções foram preparadas com 500ppb de carbono, obteve-se uma média das áreas das 5 injeções de 36,68 com desvio padrão de 0,3915 e coeficiente de variação de 1,07% para a 1,4-benzoquinona. No caso da sacarose, os valores obtidos foram 35,67 de média das áreas dos picos, desvio padrão de 0,3044 e coeficiente de variação de 0,85%.

De posse dos valores acima obtidos, calculou-se o parâmetro %R definido na Equação 1 que qualifica o sistema analítico como apto ou não à realização das análises de TOC, desde que o valor obtido para este esteja dentro dos limites de 100%±15%, conforme requisito da Farmacopéia Americana. Aplicando os va-

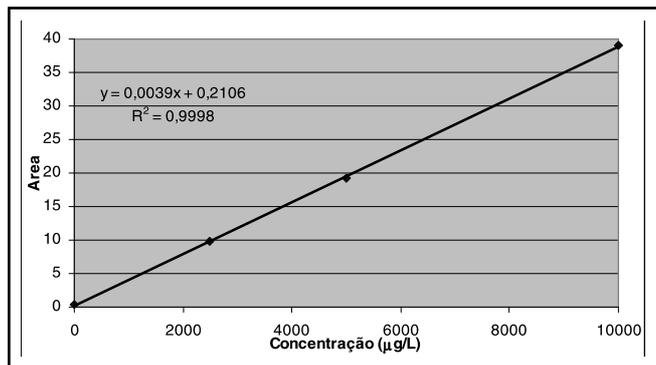


FIG. 4 - Curva de calibração com a solução TC de hidrogenoftalato de potássio.

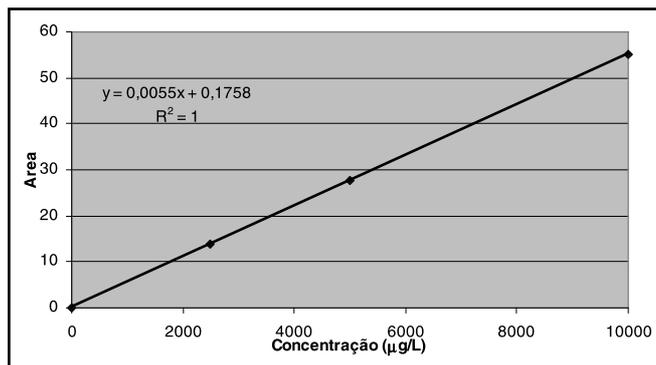


FIG. 5 - Curva de calibração com a solução padrão IC de bicarbonato e carbonato de sódio.

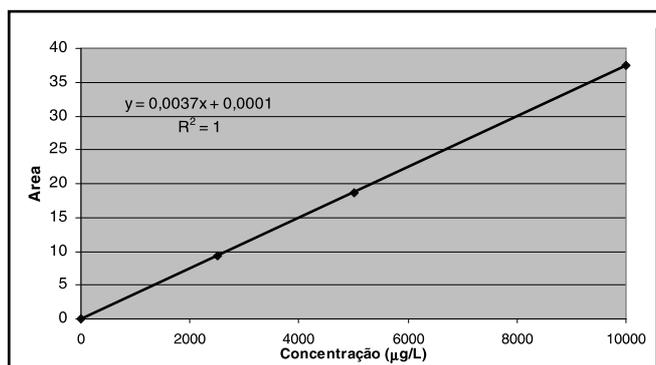


FIG. 6 - Curva de calibração da solução padrão de sacarose, pelo método NPOC.

lores da referida equação obtém-se o valor de %R = 103,2% qualificando o sistema analítico para as análises de TOC.

$$\%R = \frac{(r_{ss} - r_w)}{(r_s - r_w)} \cdot 100 = \frac{(36,68 - 4,092)}{(35,67 - 4,092)} \cdot 100 = 103,2\%$$

5.2. Curvas de calibração

As curvas de calibração foram preparadas a partir das soluções padrão, utilizando auto-diluições sucessivas e com 5 injeções para cada concentração, utilizando o método do NPOC.

A curva do TC foi obtida a partir da solução padrão de hidrogenoftalato de potássio, com diluições sucessivas para as concentrações 2500mg/L, 5000mg/L. Os demais pontos da curva foram obtidos utilizando a resposta para água ultrapura e a própria resposta da solução sem diluição. A curva de calibração obtida está representada na Figura 4.

TABELA I
Resultados de TOC para validação de limpeza dos equipamentos

Pontos de Amostragem	TOC (ppb) Lote 1	TOC (ppb) Lote 2	TOC (ppb) Lote 3	CV
1 – Saída do Reator	265,7	1.093	385,7	33,8%
2 – Saída da Bomba	226,1	566	402,6	42,6%
3 – Saída do Filtro	247,3	763	409,7	55,7%
4 – Entrada do Tq. Pulmão	267,7	1.000	771,8	57,6%
5– Saída do Tq. Pulmão	404,6	2.378	605,1	27,1%
6 - Saída do Tq. Pulmão	442,2	2.160	615,3	89,5%
7 – Bico de Envase	6.286	16.232	1.773	91,4%
8 – Bico de Envase	1.793	12.478	1.270	122,1%

A análise de regressão linear demonstrou um coeficiente de correlação muito próximo da unidade, $R^2 = 0,999819$, mostrando que há forte correlação entre área e concentração, o que significa que 99,98% da variação total em torno da média é explicada pela regressão, restando 0,02% para ser explicado pelos resíduos.

Para o IC o procedimento foi similar. A partir da solução-mãe-padrão de bicarbonato e carbonato de sódio, programaram-se autodiluições da solução para as concentrações de 2500µg/L e 5000µg/L. Da mesma forma, os demais pontos da curva foram obtidos utilizando a resposta para água ultrapura e a própria resposta da solução sem diluição. A curva de calibração obtida está representada na Figura 5.

A análise de regressão linear demonstrou um coeficiente de correlação muito próximo da unidade, $R^2 = 0,999992$, afirmando que há forte correlação entre a área e concentração, o que significa que 99,99% da variação total em torno da média é explicada pela regressão, restando 0,01% para ser explicado pelos resíduos. O coeficiente angular apresentou 0,00551.

Para o método NPOC, o procedimento foi similar aos anteriores, obtendo-se a curva de calibração mostrada na Figura 6. Para esta, a análise de regressão linear demonstrou um coeficiente de correlação muito próximo da unidade, $R^2 = 0,999956$, afirmando que há correlação linear entre as variáveis X e Y, o que significa que 99,99% da variação total em torno da média é explicada pela regressão, restando 0,01% para ser explicado pelos resíduos.

5.3. Aplicações para indústria farmacêutica

5.3.1. Monitoramento da água industrial

O monitoramento dos resultados da quantificação do TOC envolveu 97 dias de monitoramento, julgados suficientes para avaliar a consistência do tratamento.

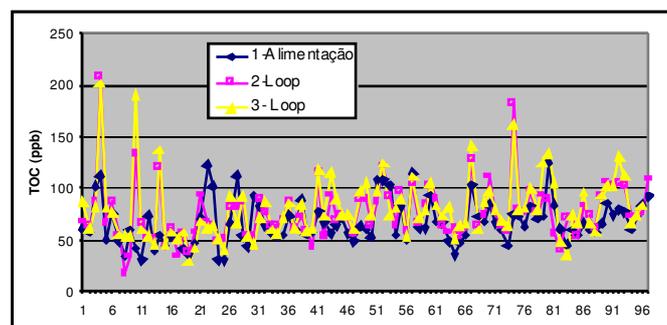


FIG. 7 - Monitoramento do TOC na distribuição e retorno de água purificada.

TABELA II
Resultados de resíduos de paracetamol por método espectrofotométrico

Pontos de Amostragem	Paracetamol (ppm)-Lote 1	Paracetamol (ppm)-Lote 2	Paracetamol (ppm)-Lote 3	CV
1 – Saída do Reator	0,1707	0,2317	0,2088	14,7%
2 – Saída da Bomba	0,1631	0,2393	0,2546	18,3%
3 – Saída do Filtro	0,2088	0,1783	0,1479	16,9%
4 – Entrada do Tq. Pulmão	0,2240	0,2164	0,1783	9,7%
5– Saída do Tq. Pulmão	0,1859	0,5899	0,2241	66,1%
6 - Saída do Tq. Pulmão	0,2088	0,5442	0,2850	49,1%
7 – Bico de Envase	0,4375	4,3551	3,7911	73,8%
8 – Bico de Envase	0,3460	0,9862	1,3521	55,9%

As Figuras 7, 8 e 9 apresentam o resultado dos níveis de TOC para os 9 pontos de amostragem descritos anteriormente. Observa-se da Figura 6 que o fornecimento de água purificada é feito quase sempre com um nível de TOC abaixo de 100ppb o que representa uma excelente qualidade de água equiparada à água ultrapura obtida do aparelho Milli-Q.

Nas Figuras 8 e 9 observa-se que os níveis de TOC nos setores produtivos já não são tão bem comportados apresentando valores de TOC com frequência próximos de 300ppb. No caso do controle de qualidade, os valores já são bem comportados a exemplo do header de alimentação dos setores produtivos. Vale destacar que apesar das variações, todos os pontos de amostragem apresentaram valores de TOC abaixo de 500ppb o que qualifica o sistema de tratamento e que juntamente com os demais requisitos que não foram objeto do presente estudo, pode ser considerado validado.

5.3.2. Análises para validação de limpeza

Após a coleta de cada amostra nos pontos indicados na Figura 3, estas foram submetidas à determina-

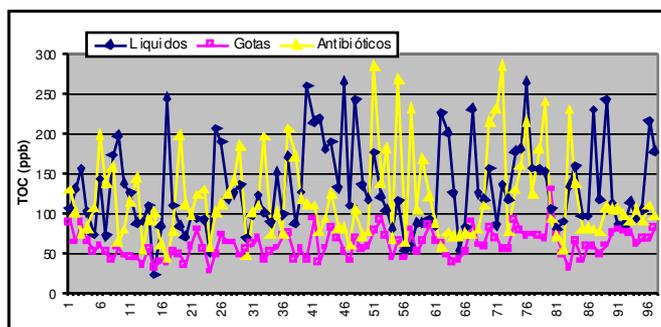


FIG. 8 - Monitoramento do TOC nos setores produtivos: líquidos, antibióticos e gotas.

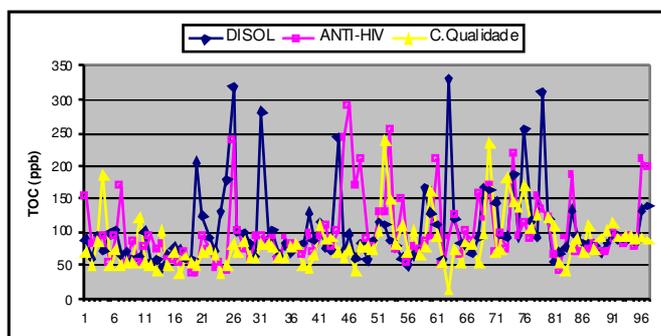


FIG. 9 - Monitoramento do TOC nos setores sólidos, anti-retrovirais e Controle de Qualidade.

ção do carbono orgânico total pelo método do NPOC. Os valores obtidos em cada um dos pontos estão mostrados na **Tabela I**.

Observa-se que apesar da grande variabilidade entre um ponto de amostragem e outro, assim como entre lotes, os níveis de TOC se mostraram inferiores a 10ppm (10.000ppb), máximo permitido para aceitação da limpeza.

Por outro lado, no lote 2, na seção dos bicos da máquina de envase, os níveis de TOC foram superiores ao máximo permitido de 10ppm. As amostras coletadas foram submetidas também à determinação dos resíduos do princípio ativo do produto fabricado - paracetamol - utilizando para tal, metodologia por espectrofotometria devidamente validada (Nóbrega, 2003). Os resultados dessas análises são mostrados na **Tabela II**. Observam-se desses números, que também há uma grande variabilidade entre pontos e entre lotes para os níveis de princípio ativo, mas que, porém, baseados nessa outra metodologia, a limpeza dos equipamentos atende aos critérios de aceitação de 10ppm para todos os pontos analisados. Esta observação leva a concluir que o teste do TOC é de uma sensibilidade muito maior, o que era de se esperar, uma vez que, trata-se de um método inespecífico que capta não só a presença do princípio ativo, como também, todo o carbono orgânico presente e dissolvido na água.

Desta forma, para que seja posta em marcha a metodologia de carbono orgânico total para validação de limpeza, faz-se necessário uma revisão do procedimento de limpeza, especificamente da máquina de envase, tendo em vista que foram os pontos de controle de maior variabilidade e que se apresentaram fora do limite para que a limpeza fosse considerada aceita.

6. CONCLUSÕES

Apesar de ser uma metodologia relativamente nova, a análise de carbono orgânico total veio preencher uma lacuna da não quantificação de compostos orgânicos presente nas águas de uma maneira geral. Para a indústria farmacêutica que utilizava métodos qualitativos de pouca sensibilidade para verificação da presença de compostos orgânicos nas águas purificadas e para injetáveis, a inclusão do teste de carbono orgânico total veio revelar a presença de compostos orgânicos nessas águas trazendo consigo um novo desafio, o de adequar seus processos para produção de água com limites de 500ppb de carbono orgânico no caso da água purificada e 50ppb no caso da água para injetáveis. Algumas tecnologias analíticas para determinação de TOC já estão disponíveis no mercado.

Neste trabalho utilizou-se o analisador de TOC Shimadzu® para demonstrar essa metodologia e com ela submeter alguns processos em curso numa indústria farmacêutica ao rigor da nova técnica.

O monitoramento de um sistema de produção de água purificada e os processos de limpeza de equipamentos de uma linha de produção de formas farmacêuticas líquidas na forma de gotas foi analisado. Para ambas as aplicações os processos se mostraram satisfatórios. A técnica de análise de TOC traz consigo van-

tagens de ser uma técnica de resposta rápida, de ser extremamente sensível, além de se constituir num método inespecífico capaz de captar compostos orgânicos de natureza diversa, como os originados por agentes de limpeza, excipientes e microorganismos em processo de decomposição. Altos custos de aquisição dos equipamentos representam uma de suas desvantagens; porém, o custo analítico é considerado baixo quando comparados a outras metodologias.

7. REFERÊNCIAS

1. Alencar, J. R. B., Pinto, P. M. D. V., Victor Neto, P. P., Oliveira, A. T. C., Medeiros, F. P. M., Ramos, S. V. V., Rolim Neto, P. J., Estratégia para validação do sistema de tratamento de água de uma indústria farmacêutica, *Revista Brasileira de Farmácia*, 85(3), p.85-88, 2004.
2. Alencar, J. R. B., Machado, L. B., Oliveira, A. T. C., Medeiros, F. P. M., Rolim Neto, P. J. Validação de processos de limpeza de zidovudina: estratégia aplicada ao processo de fabricação de medicamentos anti-retrovirais, *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 40 (1), p. 1-8, 2004.
3. Alencar, J. R. B., Lima, L. G., Ramos, S. V. V., Oliveira, A. T. C., Moura, F. N., Terrani, O. J., Validação de limpeza de equipamentos de formas farmacêuticas sólidas: estudo de caso do mebendazol comprimidos, *Revista Brasileira de Farmácia*, 87(2), p.35-41, 2006a.
4. Alencar, J. R. B., Jimenez, R. C. C., Santos, R., Ramos, S. V. V., Oliveira, M. O. O., Oliveira, A. T. C., Lima, L. G., Rolim Neto, P. J., Validação de limpeza de equipamentos multipropósito para formas farmacêuticas líquidas: caso da zidovudina xarope, *Acta Farmacêutica Bonaerense*, 25(1), p.35-42, 2006b.
5. Bisutti, I., Hilke, I., Raessler, M., Determination of Total Organic Carbon – An Overview of Current Methods, *Trends in Analytical Chemistry*, Vol.23, No.10-11, 2004.
6. Clark, K. How to develop and validate a total organic carbon method for cleaning applications, *Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, V.55 (5), 290-294, 2001
7. Colletto, W. V., Pharmaceutical water: system design, operation, and validation, Informal Healthcare Edith, 1998
8. Jenkins, M.K.; Armstrong, J.A. Application of total organic carbon analysis to cleaning validation. *Journal of Pharmaceutical Science & Technology*, Vol.50 (1), Febr 1996
9. LeBlanc, D.A., Definição de critérios de Aceitação Cientificamente Justificados na Validação de Protocolos Farmacêuticos, *Pharmaceutical Technology*. Brasil, Fevereiro, pp 34-38, 1999.
10. LeBlanc, What's really different about biotech? Cleaning validation memos, May 2003, available in www.cleaningvalidation.com, acesso em Julho de 2004.
11. Nóbrega, D.L., Validação de metodologia analítica para paracetamol gotas, monografia de conclusão de curso de farmácia industrial, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, 2003.
12. USP, The United States Pharmacopeia. 29 Ed. Rockville: The United Pharmacopeia Conventional, 2002
13. Wallace, B., Purcell, M., Furlong, J., Total organic carbon analysis as a precursor to disinfection byproducts in potable water: oxidation technique considerations, *Journal of Environmental Monitoring*, 4, pp. 35-42, 2002.

Contatos

Maria Roseane dos Anjos Clementino
Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco S/A- LAFEPE
Largo de Dois Irmãos 1117, Dois Irmãos – CEP 52171.010 – Recife - PE
Fone: 81.32671161]

e-mail: roseane.clementino@lafepe.pe.gov.br

Pedro José Rolim Neto

Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

Depto. Ciências Farmacêuticas

Av. Prof. Artur de Sá, S/N – Cidade Universitária – 50740.521 – Recife – PE-
Brasil

e-mail: prolim@ufpe.br

Correspondência

João Rui Barbosa de Alencar

Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Centro de Tecnologia,

Escola de Química

Ilha do Fundão, Bloco E, Sala 207 – CEP 21949-900,

Rio de Janeiro - RJ - Brasil

Fone: 21.25627636, Fax: 21.2562.7616

E-mail: rui.alencar@yahoo.com.br