

过程放行RTR或实时检测RTT的方法验证

--同类型的桥接研究应用于实时检测过程验证

应用文献

介绍

在线型总有机碳（TOC）和电导率测量仪器用途广泛，包括过程监测、过程控制、过程放行等。为确保仪器及其所采用的方法可靠，每种应用均有具体的验证要求。因此，需要对在线型 TOC 和电导率测量仪器进行安装、运行和性能确认（IOPQ），以验证其在过程监测和控制应用中是否能按预期使用。如果在线型 TOC 和电导率测量仪器用于过程放行或实时检测（RTT），则必须另外完成附加的过程验证步骤。

长久以来，超纯水（UPW）和注射用水（WFI）放行检测均在实验室环境中进行。如果实验室型仪器用于生产用水放行，则 IOPQ 确认必须满足 USP <643>、USP <645>和 USP <1225>的所有要求。ASTM E2656 为生产放行从实验室环境过渡至在线环境提供实时检测过程验证方面的指导原则。

对于实时检测的过程验证，需要完成附加的步骤，包括方法转移、方法等效性和用水点（POU）可比性。本文件将重点讨论方法转移和方法等效性两方面。方法转移是指确定仪器未来的方法适合性。方法等效性是指验证仪器未来是否“等效于或优于”ASTM E2656 要求的现状。⁵

方法转移和方法等效性的背景

仪器从现状过渡至未来的最简单方法转移是同类技术。“同类”是指相对于现状和未来，TOC 和电导率的检测方法相同（或非常相似）。方法转移可以通过系统适用性、准确度、精确度、稳固性、专属性、检测限、定量限、线性的现状和未来性能标准进行考核。如果验证标准不能确定现状与未来之间的关系，则可通过下文所述的桥接研究为现状向未来的过渡提供支持。

方法等效性依赖的是有机碳和电导率的未来读数低于有记录的已验证仪器。在从现状过渡至未来为同类技术过渡的情况下，如果方法之间存在相异性，则会对上述陈述的解释造成影响。最常见的同类技术过渡是 TOC 检测从在线/在位（online/inline）直接电导率法（DC）过渡至膜电导率法（MC），而直接电导率法和膜电导率法均涉及闭路系统。在闭路系统中，大气 TOC 污染有限（此项污染通常适用于从实验室过渡至在线的情况）。对于从直接电导率法过渡至膜电导率法的“等效于或优于”标准，需要了解仪器的相对性能，以及方法在定量检测还是限度检测的可靠性。

USP <643>的限度检测要求注射用水和超纯水的 TOC 含量低于 500 ppb。对于用于进行此项

限度检测的仪器，因为必须具有“区分和检测”碳的能力，所以需要能生成定量数据。⁶ 换言之，如果 TOC 仪器用于药典用水的放行，则必须能区分无机碳与有机碳，而且不发生离子干扰。直接电导率法传感器不能对无机碳与有机碳进行区分，因此会发生离子干扰现象。由于存在上述缺点，直接电导率法传感器只能用于限度检测，而不应用于放行应用。ASTM E2656 要求：“为使用定性数据进行在线系统的实时控制、趋势分析和监测以及水放行，分析方法要求使用定量数据，因此分析方法应根据定量检测的要求进行验证”。⁵ 因此，对于实时检测应用，TOC 仪器必须具有定量能力。

“为使用定量数据进行在线系统的实时控制、趋势分析和监测以及水放行，分析方法要求使用定量数据，因此分析方法应根据定量检测的要求进行验证。”⁵

对于药典用水检测，电导率用于衡量水样在已知电压下传导离子促使产生电流的程度。电导率等于电流密度除所产生的电场强度。可采用离线型台式电导率仪和探头或在位电导率传感器测量电导率。⁴ 水分子在温度和 pH 值的影响下解离为固有离子，因此电导率可预测。如果存在外部离子，则会对水样的电导率产生影响，而且可能对水的化学纯度及其在制药应用中的适合性造成明显影响。

因此，全球协调药典对于测量电导率确定制药适合性有规范性的专著。对于电导率测量仪器以及合格标准各不相同的三个阶段（包括在线检测和离线检测），USP <645>提出相关的具体要求。第 1 阶段检测是最早需要实施的阶段，但其合格标准最为严格。第 2 阶段和第 3 阶段检测需要实验室技术人员进行费时的离线台面检测。对于制药行业，最需要实施的是第 1 阶段（离线或在线）。⁷ USP <645>的第 1 阶段程序要求，如果温度不高于水样的测量温度，则无温度补偿的电导率测量值应与温度的相应限值进行比较，以确保符合药典规定的限值。⁷ 然而，为方便比较以及不依赖限度检测的相应最大值确定数据质量是否等效或更佳，本次研究所采用的数据均为经过温度补偿的电导率数据。

本文件将详细说明 M500 膜电导率法 TOC 分析仪与非同类现状仪器之间的桥接研究。此外，本文件另提供方法等效性数据，以确定同类仪器数据的总体稳定性。

现状与未来的比较

关于现状药典用水检测，因为与 TOC 和电导率质量特性相关，所以存在多种组合方式（如表 1 所示）。非色散红外法（NDIR）和膜电导率法均属于定量法，而传感器法即直接电导率法，适用于限度检测。因为非色散红外法和膜电导率法均为定量法，所以两者可视为同类。然而，在对非色散红外法或膜电导率法与直接电导率法进行比较时，因为适用于不同的应用（分别为定量和限度检测），所以两者视为同类。

现状

实验室		在线	
TOC	电导率	TOC	电导率
无	无	无	无
膜电导率法	无	无	在位
膜电导率法	膜电导率法	传感器	传感器
膜电导率法	探头	传感器	在位
非色散红外法	无	膜电导率法	膜电导率法
非色散红外法	探头	膜电导率法	在位
传感器	传感器		

表 1：实施 TOC 和电导率实时检测之前客户可能的现状

本桥接研究重点关注从传感器 TOC 技术转移至膜电导率法分析仪以及从电导率探头转移至 M500 分析仪的电导率功能，原因在于上述两种情况均涉及同类技术的现状向未来转移。

方法转移

方法转移的内容包括两种仪器技术的比较及其历史验证数据的比较。对历史验证数据进行评审和比较，以帮助确定不同 TOC 方法之间的可比性程度。为确保与行业指引和最佳实践一致，需要研究以下关键分析特性：系统适用性、准确度、精确度、线性、专属性、稳固性、检测限和定量限。¹¹ 与此同时，进行关键质量特性（准确度和精确度）的检验，以有效实现方法转移。¹⁰

根据 ICH Q2 (R1)、USP <1225> 和美国食品药品监督管理局《过程和方法验证》的要求，杂质检测的确认和验证特征和检测过程可分为以下两种类型：1) 杂质限度检测；2) 杂质定量检测。^{9, 11} 表 2 所列的特征为按照 ASTM E2656 要求，各类型仪器方法验证和检验时评估使用的一般特征。⁵

杂质检测方法验证和检验的类型	准确度	精确度	线性	专属性	范围	检测限	定量限
限度检测	否	否	否	是	否	是	否
定量检测	是	是	是	是	是	否	是

表 2：杂质检测方法验证和确认的分类：限度检测与定量检测的比较

在使用杂质定量检测的历史验证数据进行方法转移时，可进行历史验证数据比较，以确定仪器的系统适用性、准确度、精确度、稳固性、专属性、检测限、定量限和线性是否符合方法转移的相同标准。如果现状仪器和未来仪器的验证特征并不相似，则需要进行桥接研究以帮助验证/确认方法转移。如果现状仪器并不符合定量验证检测的标准，则为完成从现状仪器的方法转移，现状仪器必须至少符合 USP <643> 要求的系统适用性准则，从而对现状仪器所得的历史数据与未来仪器进行比较。

表 3 所示为以下 TOC 研究所比较各仪器的历史数据验证评估特征。表 4 所示为电导率的验证

评估特征。电导率验证的复杂程度低于 TOC 验证，原因在于对于电导率仪器而言，分析仪器定性的复杂程度低于按 USP <1058>划分的仪器复杂程度。

分析仪型号	系统适用性	TOC 准确度	TOC 精确度	线性	专属性	稳固性	检测限	定量限
M500 在线型分析仪	是	是	是	是	是	是	是	是
M9 实验室型分析仪	是	是	是	是	是	是	是	是
在线型直接电导率法 TOC 传感器	是	是	否	否	否	否	是	是

表 3：TOC 验证（按仪器和方法）

分析仪型号	电导率准确度	电导率精确度	线性	检测限	定量限
M500 在线型分析仪	是	是	是	是	是
M9 实验室型分析仪	是	是	是	是	是
在线型电导率传感器	是	是	否	是	是

表 4：电导率验证（按仪器和方法）

方法等效性

如果在线法用于实时放行检测，则在线法所得的分析数据质量必须等效于或优于现状放行实践的数据质量。使用平均值和标准偏差的统计参数反映数据等效性并确定采样过程的变化性。平均值通过过程的反复测量进行确定，其中需要考虑制药用水本身、采样过程以及分析仪固有准确度对 TOC 的影响。通过现状仪器和未来仪器的并行数据收集，两种系统的工艺用水变化性仍相同。除此之外，仪器的固有准确度仍相同。

实验室 TOC 和电导率分析

对于实时放行检测，在从实验室型仪器转移至在线型仪器时，在线测量值与实验室测量值的平均值之差可用于确定实验室采样过程的 TOC 平均值影响。标准偏差用于评估各测量系统的变化性，包括采样过程和分析仪本身的变化情况。确定分析仪之间等效。因此，标准偏差 SD 用于衡量检测系统所造成的变化性。检测限可通过标准偏差值算出。它是该方法从检测系统的噪音中区分工艺水的 TOC 的真实变化的能力的衡量指标。

比较在线型和实验室型 TOC 仪器的并行采样分析 TOC 数据确定所发现的变化主要由两种来源引起：1) 仪器进样所使用的采样过程；2) 分析方法的固有能力和能力。表 5、图 1 和图 2 所示的数据用于定量分析水系统所产生 TOC 浓度下的采样过程变化，其通常比验证分析方法所用的 TOC 标准浓度低一个数量级。在上述较低的 TOC 浓度下，采样过程的变化最为显著。

TOC 样品的瞬时采样存在重要的误差源。在环境中存在大量的有机碳源，会在采样期间对样品造成污染。在使用在线方法时，因为分析仪在物理上介入工艺用水流进行连续监测，所以能尽量减少或甚至消除采样过程所引起的变化性。一般情况下，对于相同的样品，在实验室型仪

器所得的 TOC 数据中，TOC 和电导率水平高于在线型 TOC 仪器，但是精确度相对较低。

重复	M500 在线型分析仪			M9 实验室型分析仪		
	时间（小时：分钟）	TOC（ppb）	温度补偿电导率（ $\mu\text{S}/\text{cm}$ ）	时间（小时：分钟）	TOC（ppb）	温度补偿电导率（ $\mu\text{S}/\text{cm}$ ）
1	16:49	3.96	0.090	16:50	29.70	0.963
2	16:52	4.01	0.088	16:53	15.50	0.622
3	16:55	4.16	0.088	16:56	10.90	0.637
4	16:58	4.21	0.085	16:59	13.80	0.612
5	17:01	4.25	0.084	17:02	10.30	0.551
6	17:04	4.29	0.084	17:05	8.87	0.450
7	17:07	4.23	0.083	17:08	14.30	0.404
8	17:10	4.21	0.083	17:11	9.30	0.382
9	17:13	4.14	0.083	17:14	12.10	0.432
10	17:16	4.12	0.084	17:17	13.60	0.372
平均值	不适用	4.16	0.085	不适用	13.84	0.543
标准偏差	不适用	0.11	0.003	不适用	6.00	0.180

表 5: TOC 和电导率数据（按仪器）

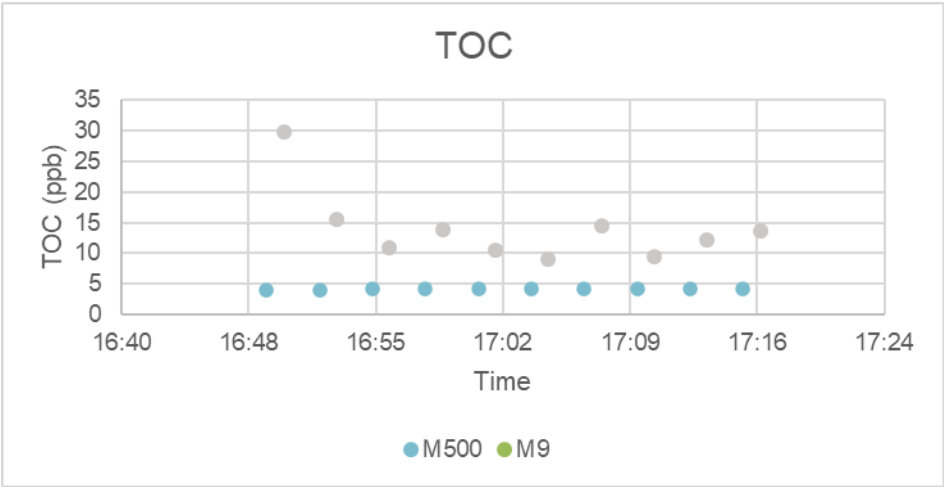


图 1: M500 在线型分析仪与 M9 实验室型分析仪的 TOC 方法比较

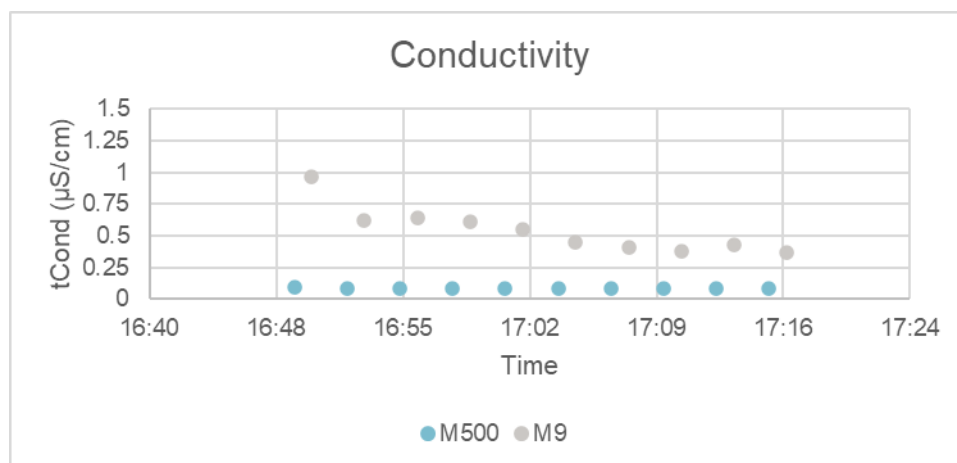


图 2：M500 在线型分析仪与 M9 实验室型分析仪的电导率方法比较

为验证 TOC 数据的质量，对平均值之差的置信度上限进行比较。对于用水点数据，置信度上限的计算值应低于药典无菌水下限的 50%（25 ppb）。

同理，电导率数据的质量采用平均值之差的置信度上限进行比较。对于用水点数据，置信度上限的计算值应低于药典无菌水温度补偿下限的 50%（0.65 $\mu\text{S}/\text{cm}$ ）。

使用传感器的在线 TOC 和电导率分析

在线型直接电导率法传感器通过紫外线氧化前后的电导率测量值测量 TOC。氧化后的电导率值减氧化前的电导率值得出电导率变化，从而得出溶液中的 TOC 值。此方法的假设条件是导致样品在经过紫外线氧化之后电导率变化的原因仅为 TOC 转化为二氧化碳。因为紫外线氧化会产生电导性的副产物，所以副产物的离子电荷会导致在氧化之后电导率值发生变化，从而导致 TOC 读数偏低或偏高，因此上述假设条件对直接电导率法的稳固性造成限制。

有多种化合物（例如 RX 等）会对直接电导率法造成干扰，因此在发生超常事件时会导致直接电导率法传感器不可靠。图 3 所示为本次研究中 M500 分析仪和在线直接电导率法传感器对于 500 ppb 浓度常见有机化合物的 TOC 响应数据。¹ 直接电导率法传感器的准确度取决于化合物，因此直接电导率法传感器对于在线 TOC 分析并不可靠，因此不适用于定量实时放行检测。根据 USP <1225>和 ICH Q2（R1）的要求，直接电导率法不能验证用于杂质定量检测，因此不属于定量方法，而且不能用于实时放行检测。为此，过程检测必须向定量在线方法过渡。

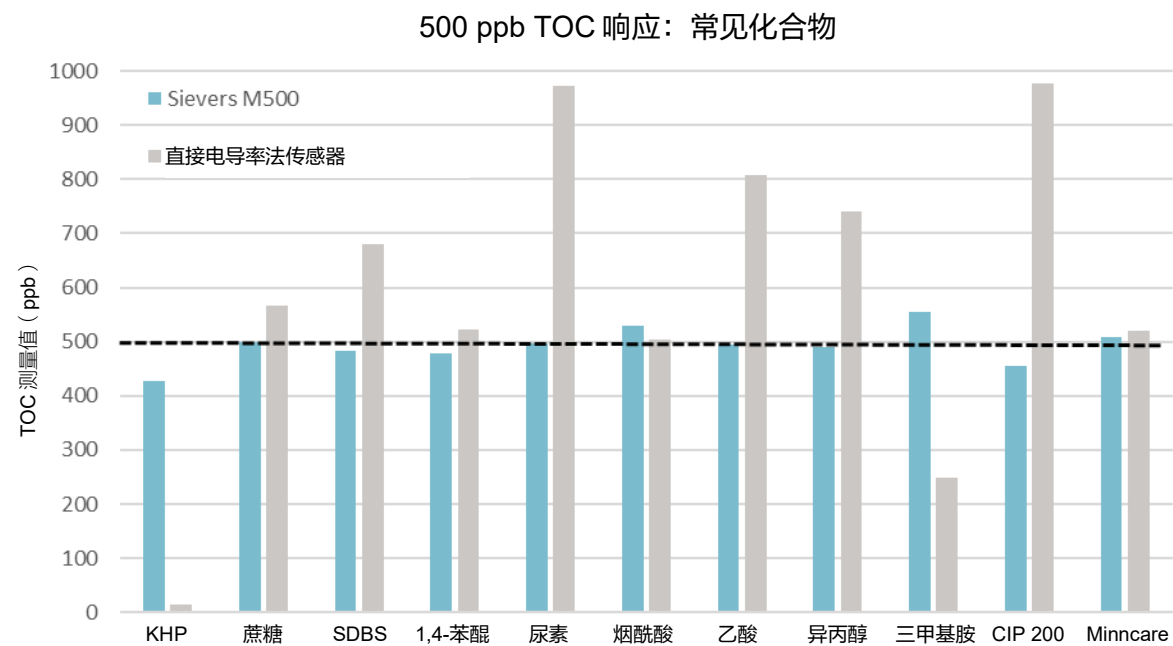


图 3：M500 在线型分析仪和在线直接电导率法（DC）传感器对于制药用水系统常见有机化合物的 TOC 响应

如果 TOC 分析的现状质量检测方法为使用直接电导率法 TOC 传感器在线检测，则现状仪器和 M500 分析仪均无等效方法，也不能进行等效验证。仍可以遵循方法等效性规程，对不相似仪器进行现状与未来比较，但是并不能证明仪器在实时放行检测应用中监测 TOC 和电导率的能力等效。反而，方法等效性规程可证明在限度检测方面，M500 分析仪的性能等效于或优于客户现状仪器的性能。因此，M500 分析仪的定量验证可证明对于实时放行检测，客户需要调整为适合的方法。数据如表 6 和图 4 所示。

重复	M500 在线型分析仪			在线型直接电导率法 TOC 传感器		
	时间（小时：分钟）	TOC（ppb）	温度补偿电导率（ $\mu\text{S}/\text{cm}$ ）	时间（小时：分钟）	TOC（ppb）	温度补偿电导率（ $\mu\text{S}/\text{cm}$ ）
1	16:49	4.05	0.09	16:49	5.61	0.085
2	16:52	4.03	0.088	16:52	5.29	0.082
3	16:55	4.05	0.088	16:55	5.10	0.079
4	16:58	4.05	0.085	16:58	4.83	0.076
5	17:01	4.05	0.084	17:01	4.62	0.074
6	17:04	4.03	0.084	17:04	4.38	0.072
7	17:07	4.05	0.083	17:07	4.25	0.071
8	17:10	4.03	0.083	17:10	4.18	0.070
9	17:13	3.79	0.083	17:13	4.10	0.070
10	17:16	4.1	0.084	17:16	4.02	0.070
平均值	不适用	4.02	0.085	不适用	4.64	0.075
标准偏差	不适用	0.08	0.003	不适用	0.55	0.005

表 6：M500 在线型分析仪与在线型直接电导率法 TOC 传感器的 TOC 和温度补偿电导率方法比较

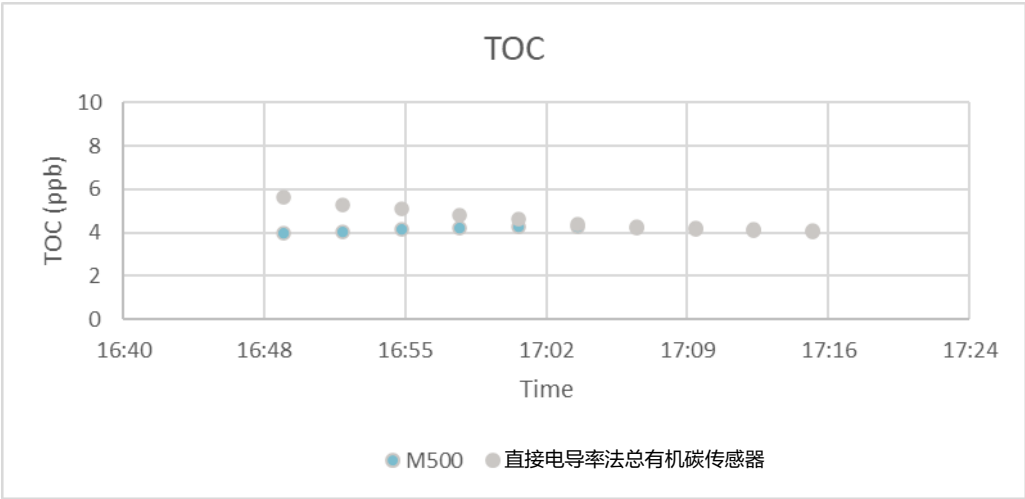


图 4：M500 在线型分析仪与在线型直接电导率法传感器的 TOC 方法比较

为验证数据的质量，对平均值之差的置信度上限进行比较。对于用水点数据，置信度上限的计算值应低于药典下限的 50%（25 ppb）。

对于过往数据所使用的在线型直接电导率法 TOC 传感器，并无规程可用于检验电导率性能。因此，一台可确认的在线电导率传感器与 M500 分析仪进行比较。数据如表 7 和图 5 所示。

重复	M500 在线型分析仪			在线型电导率传感器		
	时间（小时：分钟）	TOC（ppb）	温度补偿电导率（ $\mu\text{S}/\text{cm}$ ）	时间（小时：分钟）	TOC（ppb）	温度补偿电导率（ $\mu\text{S}/\text{cm}$ ）
1	16:01	4.04	0.069	16:01	不适用	0.055
2	16:04	4.05	0.069	16:04	不适用	0.055
3	16:07	4.02	0.067	16:07	不适用	0.055
4	16:10	4.02	0.067	16:10	不适用	0.055
5	16:13	3.93	0.068	16:13	不适用	0.055
6	16:16	3.82	0.069	16:16	不适用	0.055
7	16:19	3.78	0.07	16:19	不适用	0.055
8	16:22	3.79	0.07	16:22	不适用	0.055
9	16:25	3.77	0.071	16:25	不适用	0.055
10	16:28	3.79	0.07	16:28	不适用	0.055
平均值	不适用	3.90	0.069	不适用	不适用	0.055
标准偏差	不适用	0.12	0.001	不适用	不适用	0.000

表 7：M500 在线型分析仪与在线型电导率传感器的温度补偿电导率方法比较

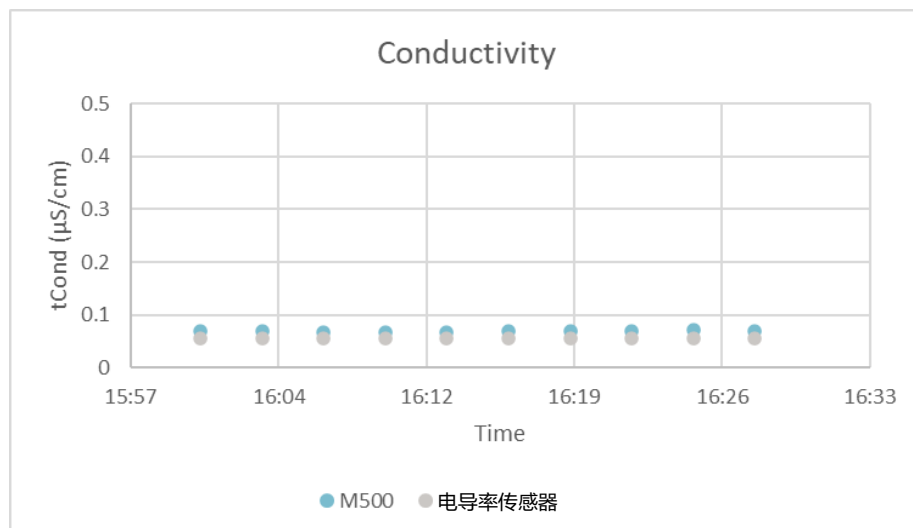


图 5：M500 在线型分析仪与在线型电导率传感器的温度补偿电导率方法比较

同理，电导率数据的质量采用平均值之差的置信度上限进行比较。对于用水点数据，置信度上限的计算值应低于药典无菌水温度补偿下限的 50%（ $0.65 \mu\text{S/cm}$ ）。

实验室型探头

对于很多制药公司而言，测量药典用水样品电导率的现状是使用台式电导率仪和探头进行第 1 阶段或第 2 阶段离线检测。台式电导率仪和探头存在多种不良但不可避免的特性，包括数据完整性不足、样品完整性有限、环境暴露、即时分析资源部署效率低等。测量药典用水样品电导率所需的未来是在完全符合 21 CFR PART 11 要求的安全数据库中自动实时进行第 1 阶段电导率检测以及进行 TOC 的实时放行检测。

方法转移采用 $100 \mu\text{S/cm}$ 氯化钾储备液在 30 毫升电导率与 TOC 两用样品瓶（DUCT）中采用良好的采样方法分别稀释为 100、75、50、25、12.5、10、5、2.5、1.25 和 $1 \mu\text{S/cm}$ 的浓度。³ 图 6 和图 7 所示分别为台式电导率仪和探头以及 M9 分析仪的响应测量值和响应预期值。² 对响应值拟合线性趋势曲线，以确定 R^2 值以及方法比较的斜率。两种方法的线性表明两种方法均适用于测量药典用水样品的第 1 阶段电导率。两种方法所收集的数据表明 M9 分析仪的 R^2 值和斜率响应稍高于台式电导率仪和探头。本次桥接研究所得的数据确定在位电导率技术具有方法等效性，而且数据置信度较高。

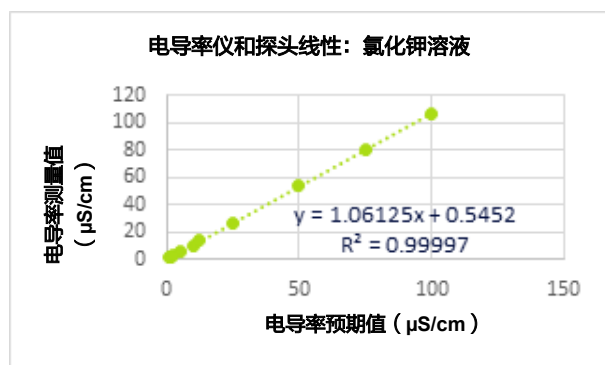


图 6：

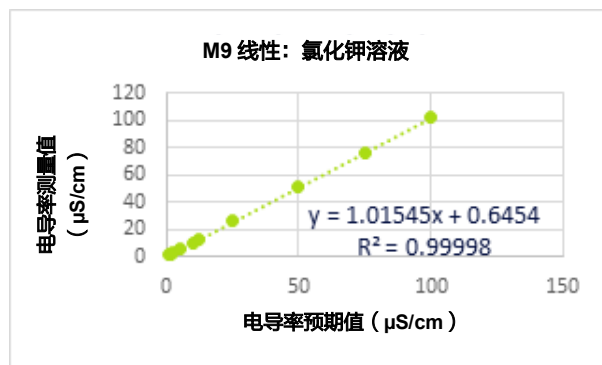


图 7:

M500 和 M9 的在位电导率技术等效。因为 M500 为完全在线型，所以所得的测量值能避免台式探头和 M9 采样方法固有实验室采样过程所产生的常见的电导率贡献的影响。此外，无需考虑 USP <645>所述电导率检测的合适容器。

结论

如果在线仪器用于实时放行，而非标准监测和控制应用，则必须了解测量机理和仪器性能是否适用于法规应用。虽然最理想是同类技术的现状与未来过渡，但是在同类过渡时，方法转移和方法等效性过程验证均需要有额外的定量和定性支持。如果现状仪器并不符合定量验证检测的标准，则为完成从现状仪器的方法转移，现状仪器必须至少符合 USP <643>要求的系统适用性准则，从而对现状仪器所得的历史数据与未来仪器进行比较。

为确保方法等效性，ASTM E2656 要求未来仪器的性能“等效于或优于”现状仪器的性能，即需要考虑以下两个问题：1）在线仪器的读数必须低于现状仪器的读数；2）未来仪器提供的是定量数据还是限度检测数据。如果第二个问题是提供定量数据，而且未来仪器的性能“等效于或优于”现状仪器的性能，则支持从同类 TOC 方法过渡至电导率检测方法。总之，必须了解 TOC 和电导率实时检测的相关法规和指南才能验证和确保同类技术之间顺利过渡。

参考文献

- 1) 300 00084. “Online TOC Comparison: Sensors and Analyzers.” Sievers Instruments, 2021.
- 2) 300 00122. “Conductivity Bridge Study: From Benchtop Meter and Probe to Automated Sievers M9.” Sievers Instruments, 2021.
- 3) 300 00297. “DUCT Vial Performance and Stability.” Sievers Instruments, 2018.
- 4) 300 40030. “Sievers Lean Lab: Simultaneous Stage 1 Conductivity and TOC Lab Testing of Pharmaceutical Water.” Sievers Instruments, 2018.
- 5) ASTM Standard E2656, 2016, "Standard Practice for Real-Time Release Testing of Pharmaceutical Water for the Total Organic Carbon Attribute," ASTM International, West Conshohocken, PA, 2010.

- 6) *United States Pharmacopeia and National Formulary* (USPNF 2021 Issue 3). USP <643> Total Organic Carbon. United States Pharmacopeial Convention; 2016.
- 7) *United States Pharmacopeia and National Formulary* (USP 41-NF 36). USP <645> Water Conductivity. United States Pharmacopeial Convention; 2016.
- 8) *United States Pharmacopeia and National Formulary* (USP 41-NF 36). USP <1058> Analytical Instrument Qualification. United States Pharmacopeial Convention; 2016.
- 9) *United States Pharmacopeia and National Formulary* (USP 41-NF 36). USP <1225> Validation of Compendial Procedures. United States Pharmacopeial Convention; 2016.
- 10) QSO 78100-03, 2022. "Real-Time Testing Validation Support Package for Sievers M500 Analyzers." Sievers Instruments, 2022.
- 11) Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2(R1). ICH Harmonized Tripartite Guideline. U.S. Food and Drug Administration, 2005.

Water Technologies

请与我们联系:

xhn@yaojian.com.cn

北京新恒能分析仪器有限公司

<http://www.yaojian.com.cn>

服务热线: 010-59602317 59602519

更多信息, 请扫描二维码关注微信公众号

