水分活度在枫蓼肠胃康制剂微生物控制策略中的应用

李国琼[1]，林昌文[1*]，黄有兴[2]，黄杨叶[2]，张海伦[3]
（1. 海南省药品查验中心，海南海口 570216；2. 海南海灵化学制药有限公司，海南海口 570311；
3. 海口市制药厂有限公司，海南海口 570311）

摘要：由于非无菌药品的质量和安全性受微生物污染影响，因此控制微生物污染是保障药品安全性的重要措施。水分活度是影响微生物生长和繁殖的关键物理化学参数，具有测定简便、准确、快速等优势。控制水分活度在适宜范围内，有助于抑制微生物的生长和繁殖。该研究通过测定枫蓼肠胃康制剂中药材和辅料、中间产品以及成品的水分活度，结合生产过程的风险评估，建立了枫蓼肠胃康制剂的微生物控制策略，为非无菌药品的微生物控制和标准制定提供了新的思路。

关键词：水分活度；枫蓼肠胃康制剂；水分吸附等温曲线；微生物控制；质量控制
中图分类号：R917；R932　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1001-8255(2024)04-0578-06
DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2024.04.020

Application of Water Activity to Microbial Control Strategy of *Fengliao Changweikang* Preparations

LI Guoqiong[1], LIN Chengwen[1*], HUANG Yuoxing[2], HUANG Yangye[2], ZHANG Hailun[3]
(*1. Hainan Center for Drug Inspection, Haikou 570216; 2. Hainan Hailing Chemipharma Co., Haikou 570311; 3. Haikou Pharmaceutical Factory Co., Ltd., Haikou 570311*)

ABSTRACT: The quality and safety of non-sterile pharmaceutical products are affected by microbial contamination, so the microbial contamination control is an important measure to ensure the safety of pharmaceuticals. Water activity is a key physicochemical parameter that affects the growth and reproduction of microorganisms, and it can be easily, accurately and rapidly determined. Controling the water activity in an appropriate range would help to inhibit the growth and reproduction of microorganisms. This study established a microbial control strategy by determining water activity values of herbs and excipients, intermediate products, and final products of *Fengliao Changweikang* preparations, and combining with the risk assessment of the production process. This study provided a new idea for the microbial control of non-sterile pharmaceutical products and the development of standards.

Key Words: water activity; *Fengliao Changweikang* preparation; isothermal curve of water adsorption; microbial control; quality control

对于非无菌药品及其原辅料，微生物限度是反映产品安全性和质量可控性的重要指标之一[1]。2020 年版 ChP 四部通则 1105、1106、1107 规定了非无菌药品微生物限度的检查方法和判定标准，是开展微生物限度检验和控制的主要依据。然而，传统的微生物限度检查方法存在操作烦琐、耗时长、结果滞后、溯源调查相对困难、检验依赖人员的技术经验等局限，制约了非无菌药品的质量控制和放行周期。探索快速、简便的在线方法进行微生物的过程控制，对于提升非无菌药品的质量控制水平具

收稿日期：2023-10-24
基金项目：海南省自然科学基金面上项目（821MS0817）、海口市重点科技创新项目（HKGX01）
作者简介：李国琼（1970—），女，高级工程师，从事药品检查、监督管理工作。
通信作者：林昌文（1975—），男，高级工程师，从事药品检查、监督管理工作。
E-mail：419167464@qq.com

有现实意义[2]。

水分活度（water activity，A_w），指产品中微生物可利用水的量度[3]，是影响微生物生长的关键因素，也是用于控制微生物所致变质的一个重要参数。A_w 值越低越有利于抑制微生物生长繁殖。USP 率先将 A_w 应用于制药领域的微生物控制，代表了非无菌药品的微生物控制由微生物限度测试逐渐向微生物风险评估下的参数放行转变的发展趋势，理念更为科学、合理，控制方法更为简便、灵活[4]。

枫蓼肠胃康制剂源于海南传统黎药，临床疗效和患者口碑佳，是临床治疗急慢性肠胃病常用药[5]。现有含糖型枫蓼肠胃康颗粒（以下简称颗粒①）、无糖型枫蓼肠胃康颗粒（以下简称颗粒②）以及枫蓼肠胃康片（以下简称片剂）等剂型。本研究针对枫蓼肠胃康制剂的特点，对制剂所用的药材和辅料、中间产品以及成品的 A_w 进行研究，探讨应用 A_w 实现枫蓼肠胃康制剂中微生物控制的方法。通过测定各样品水分含量与 A_w 的关系曲线图，确定水分控制标准，并建立枫蓼肠胃康制剂的微生物污染控制策略，为非无菌药品更合理的微生物控制和标准制定提供新的思路。

1 仪器和试药

AquaLab 4TE 型温控水分活度仪和 AquaLab VSA 型动态水分吸附仪均购于美国 Meter Group 公司；CP225D 型电子天平（德国 Sartorius 公司）；DHG-9035A 型电热恒温干燥箱（上海一恒科学仪器有限公司）。

牛耳枫（产地广西桂林，批号 GL20220101、GL20220201、GL20220301）和辣蓼（产地广西桂林，批号 GL20211101、GL20220101、GL20220301）由海口市制药厂有限公司高级工程师张海伦鉴定。甘露醇（批号 F659E、F649E、F669E）、糊精（批号 EH01020221106、EH01020221107、EH01020221110）、颗粒①（批号 02220603、02220605、02220628）、颗粒②（批号 02220508、02220902、02221101）、片剂（批号 02220207、02221001、0222120）、颗粒①浸膏（批号 GL220102WTKL、GL220901WTKL、GL221001WTKL）、颗粒②干膏（批号 GL211201PJ、GL221001PJ、GL221101PJ）、片剂干膏（批号 02220513、02220602、02220613）、颗粒①中间颗粒（批号 YX220402、YX220403、YX220404）、颗粒②中间颗粒（批号 02230201A、02230202A、02230203A）、片剂颗粒（批号 02230205A、02230206A、02230207A）、片剂素片（批号 02230205B、02230207B、02230209B）均由海口市制药厂有限公司提供。

2 方法与结果

2.1 产品水分控制的标准依据

A_w 代表了物质中自由水的含量，与物质支持微生物生长的能力紧密相关[6]。USP <1112> 中列出了不同微生物生长所需要的 A_w 值。革兰阴性菌生长繁殖需要 A_w>0.91；革兰阳性菌生长繁殖需要 A_w>0.86；霉菌生长繁殖需要 A_w>0.77；即使是耐受缺水环境的霉菌和酵母菌也无法在 A_w<0.60 的条件下生长。因此，如果药品的 A_w<0.77，则不支持微生物的生长和繁殖，微生物污染的风险很低[7]，而控制 A_w<0.60 时，微生物则无法生长和繁殖。综上所述，可通过测定产品吸附等温曲线，查找 A_w<0.6 对应的水分含量值，以确定产品水分控制的合理限值，从而降低产品受到微生物污染的风险。

2.2 供试品 A_w 值的测定

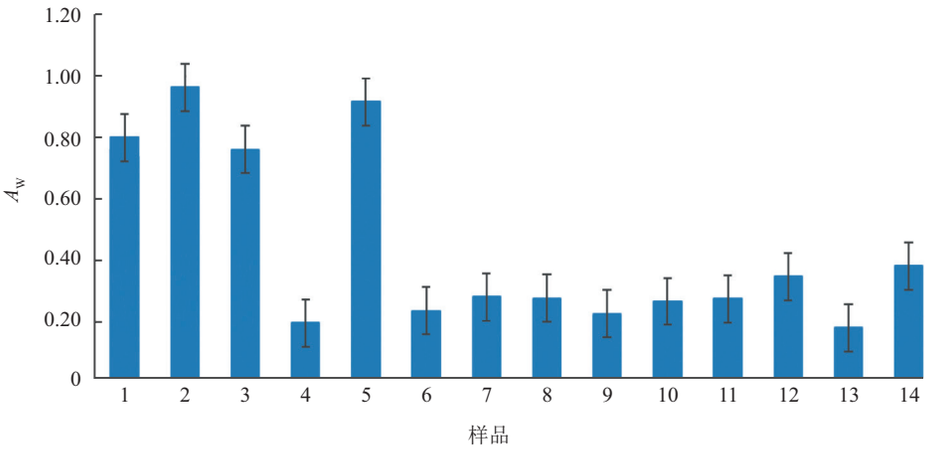
采用温控水分活度仪，按镜面露点冷凝法[7—8]分别测定枫蓼肠胃康制剂所用的各批次药材、辅料、中间产品及成品的 A_w 值。试验前采用仪器配备的活度标准溶液进行校准，每个样品测定 5 次，取均值，测定温度为 25 ℃。结果如图 1 所示。

在枫蓼肠胃康制剂所用的药材、辅料和中间产品中，牛耳枫、辣蓼、甘露醇、颗粒①浸膏的 A_w>0.6，微生物污染风险较高；其他样品的 A_w<0.6，微生物污染风险较低。

2.3 吸湿等温曲线的检测

水分吸附 - 解吸附等温线（moisture sorption-desorption isotherms）指恒定温度下，非无菌产品中水分含量与水分活度的关系曲线，可用于研究非无菌产品水分与固体之间的相互作用关系，比较不同非无菌产品的吸湿特性差异以及确定产品的水分控制标准，是评价、预测影响药品质量关键水分活度的有力工具[9]。

取各组样品，在恒定温度（25 ℃）下，利用



1—牛耳枫；2—辣蓼；3—甘露醇；4—糊精；5—颗粒①浸膏；6—颗粒②干膏；7—片剂浸膏；8—颗粒①中间颗粒；9—颗粒②中间颗粒；10—片剂颗粒；11—片剂素片；12—颗粒①；13—颗粒②；14—片剂。

图 1　不同样品的 A_w 值（n=5）

Fig.1　A_w Values of Different Samples (n=5)

动态水分吸附仪，采用动态露点等温线（dynamic dewpoint isotherm，DDI）模式[10]，分别测定颗粒①、颗粒②、片剂的中间产品和成品的 A_w 及其水分含量吸附等温曲线。

中药提取物的 A_w 及其水分含量吸附等温曲线如图 2 所示。可见，控制颗粒②干膏的水分含量 <13%、片剂干膏的水分含量 <12%，可使 A_w<0.6。

各中间产品的 A_w 及其水分含量吸附等温曲线如图 3 所示。可见，分别控制颗粒①中间颗粒的水分含量 <1.01%、颗粒②中间颗粒的水分含量 <7.12%、片剂颗粒水分含量 <14.08%、片剂素片水分含量 <10.82%，可满足 A_w<0.6 的要求。

枫蓼肠胃康制剂成品的 A_w 值及其水分水含吸附等温曲线如图 4 所示。可见，分别控制颗粒①水分含量 <1.38%、颗粒②水分含量 <7.83%、片剂产品水分含量 <11.90%，可满足 A_w<0.6 的要求。

2.4　枫蓼肠胃康制剂的微生物控制策略

综合上述试验结果，分别对药材及辅料、中间产品和终产品的微生物控制策略进行介绍，如表 1、2、3 所示。

3　总结与讨论

为控制枫蓼肠胃康制剂的微生物污染风险，限制微生物的生长繁殖，本研究通过测定枫蓼肠胃康制剂中各物料及终产品的吸附等温曲线，查找 A_w<0.6（微生物生长繁殖的拐点）时相应的水分含量值，确定了各物料水分控制的合理限值，可以为微生物限度检查频次的确定以及包装材料的选择等提供参考。

3.1　微生物限度检查频率

当产品的 A_w<0.77，不支持微生物的生长和繁殖。如果产品采用逐批检测，在多批次微生物限度检测数据均符合要求的情况下，可根据风险评估结果调整为定期检测；终产品生产过程中无阻止微生物生长和繁殖工序的，应对控制菌进行逐批检测。贮存条件湿度若无偏差，则复验期不需检微生物限度。

当产品的 A_w>0.91，存在霉菌和酵母菌生长和繁殖的风险。若终产品中无抑菌成分、生产过程无阻止微生物生长和繁殖工序的，应对霉菌和酵母菌、需氧菌、控制菌进行逐批检测。复验期需对微生物限度进行检测。

如果产品采用定期检测，但个别批次产品出现微生物检测结果大于可接受标准（或检出常见指示菌）的情况，或微生物增长趋势明显时，应及时进行原因调查并将控制策略调整为逐批检测。

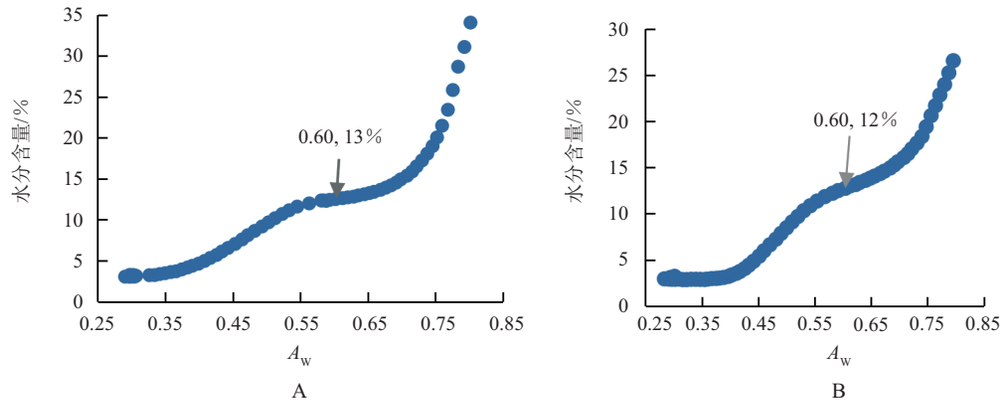


图 2 颗粒②干膏（A）和片剂干膏（B）的 A_w 值和水分含量吸附等温曲线

Fig.2 A_w Values and Moisture Sorption-desorption Isotherms of Dry Extract of Granule ②（A）and Tablets（B）

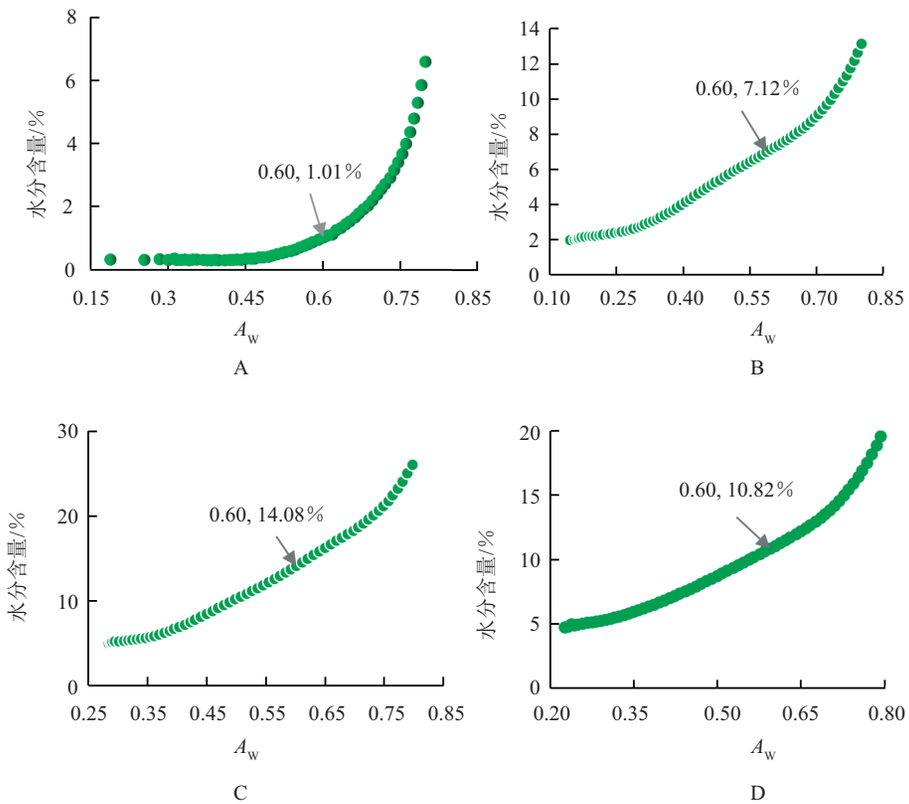


图 3 颗粒①中间颗粒（A）、颗粒②中间颗粒（B）、片剂颗粒（C）和片剂素片（D）的 A_w 和水分含量吸附等温曲线

Fig.3 A_w Values and Moisture Sorption-desorption Isotherms of Middle Granules of Granule ①（A）, Middle Granules of Granule ②（B）, Middle Granules of Tablets（C）and Plain Tablets（D）

应充分重视生产过程中微生物风险评估的结果，若出现物料、工艺、人员设备、生产环境等因素的偏差，也应及时将控制策略调整为逐批检测。若出现物料、工艺、人员设备、生产环境等因素的偏差，也应及时将控制策略调整为逐批检测。

3.2 生产过程的微生物污染控制

产品的生产工艺，通常包含中间产品的储存期

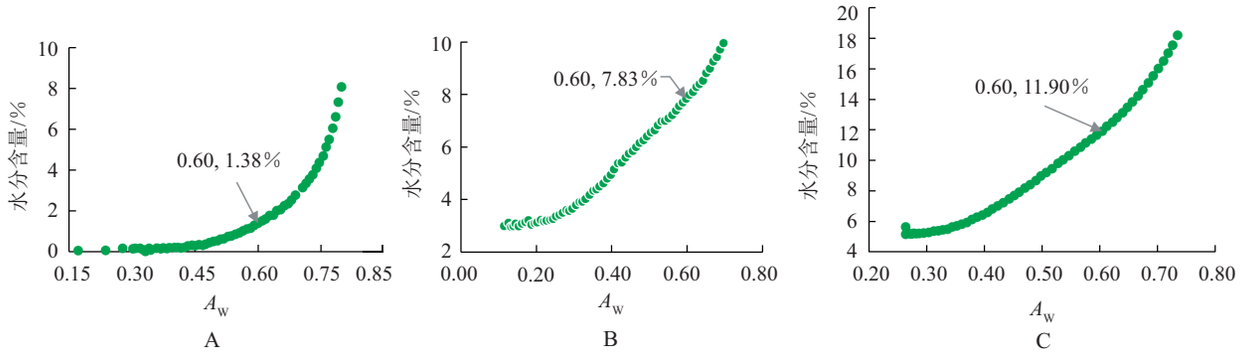


图 4　颗粒①（A）、颗粒②（B）和片剂（C）的 A_w 和水分含量吸附等温曲线

Fig.4　A_w Values and Moisture Sorption-desorption Isotherms of Granule ①（A）, Granule ②（B）and Tablets（C）

表 1　药材及辅料的微生物控制策略

Tab.1　Microbial Control Strategies for Herbs and Excipients

名称	A_w	微生物风险	制剂生产过程中的微生物污染风险	微生物控制策略
牛耳枫	0.91>A_w>0.86	霉菌和革兰阳性菌	药材的煎煮、提取过程能杀灭微生物，降低微生物负载	1．不需要制定微生物限度检查； 2．应建立药材内控标准，控制其水分含量，防止微生物生长和繁殖产生不良代谢物，同时控制微生物导致的变质
辣蓼	>0.91	霉菌、革兰阳性菌和革兰阴性菌		
甘露醇	0.77>A_w>0.60	霉菌、细菌	制剂生产中有热处理工序，但其温度和时间不足以杀灭微生物	1．需要对霉菌进行逐批检测； 2．制订生产物料的储存时限和储存条件。储存过程中生物负载的监测和控制将有助于终产品微生物限度控制策略的制定
糊精	<0.60	无		1．不需要制定微生物限度检查； 2．关注原辅料的初始生物负载，如较高，某些耐受性较强的微生物仍可能存活并引入到终产品中

表 2　中间产品的水分控制和微生物控制策略 [1)]

Tab.2　Microbial Control Strategies and Moisture Control of Intermediate Products

名称	A_w	微生物风险	水分含量控制	微生物控制策略
颗粒①浸膏	>0.91	霉菌、革兰阳性菌和革兰阴性菌	吸湿趋向于饱和状态，不必测定；浸膏水分含量由工艺决定，按注册工艺参数控制	1．需制定微生物限度检查； 2．需制订生产物料的储存时限和储存条件。储存过程中生物负载的监测和控制将有助于最终产品微生物限度控制策略的制定
颗粒②干膏	<0.60	无	<13.00%	1．不需要制定微生物限度检查； 2．需严格控制包装容器的密封性，需控制干膏水分 <13.00%
片剂干膏	<0.60	无	<12.00%	1．不需要制定微生物限度检查； 2．需严格控制包装容器的密封性，需控制产品水分 <12.00%
颗粒①中间颗粒	<0.60	无	<1.01%	1．不需要制定微生物限度检查； 2．需严格控制包装容器的密封性，需控制产品水分 <1.01%
颗粒②中间颗粒	<0.60	无	<7.12%	1．不需要制定微生物限度检查； 2．需严格控制包装容器的密封性，需控制产品水分 <7.12%
片剂颗粒	<0.60	无	<14.08%	1．不需要制定微生物限度检查； 2．需严格控制包装容器的密封性，需控制产品水分 <14.08%
片剂素片	<0.60	无	<10.82%	1．不需要制定微生物限度检查； 2．需严格控制包装容器的密封性，需控制产品水分 <10.82%

注：[1)] 生产过程中有热处理工序，但其温度和时间不足以杀灭各剂型产品的中间产品中的微生物，因此存在污染风险。

限设置。该期限多与微生物的污染风险相关。在确定储存期限时，A_w 也是评估的一项重要手段。对于干燥的中间产品，包括称量后的物料、干燥后的颗粒、素片等，微生物污染风险低，储存期限可适当延长。而对于 A_w 值高的中间产品，如制粒溶液、包衣液等，微生物污染风险高，则不宜长时间储存。

微生物清洁验证不同于传统的基于活性成分残留的清洁验证。微生物清洁验证主要考察生产设备

表 3 终产品的微生物控制策略 [1)]

Tab.3 Microbial Control Strategies of Final Products

名称	A_w	微生物风险	水分含量控制/%	微生物控制策略
颗粒①	<0.6		<1.38	1．在风险评估的基础上可以减少微生物限度检查频次； 2．需控制产品水分 <1.38%
颗粒②	<0.6	无	<7.83	1．在风险评估的基础上可以减少微生物限度检查频次； 2．需控制产品水分 <7.83%
片剂	<0.6		<11.90	1．在风险评估的基础上可以减少微生物限度检查频次； 2．需控制产品水分 <11.90%

注：[1)] 生产过程中有热处理工序，但其温度和时间不足以杀灭各剂型产品中的微生物，因此存在污染风险。

的微生物污染风险，包括验证生产设备可连续生产批次、连续生产时间、生产结束后清洁前的放置时间（dirty holding time，DHT）、清洁后的放置时间（clean holding time，CHT）等[11]。在进行这些验证时，无需对每一产品逐一验证，可通过选择最差产品、最差设备进行验证。其中，A_w 也可作为一项重要的评估手段（非唯一手段），用于选择最差产品。如果产品 A_w 值较高，设备的微生物污染负荷就较大，清洁难度也大。

3.3 环境监控

非无菌产品生产区的环境监控策略可通过 A_w 进行评估[12]。环境监控程序评估的重要依据是产品微生物污染风险。对于 A_w 值低、不易被污染的产品，环境监控的频率和标准可适当放宽；而对于 A_w 值较高的产品，则环境监控的频率和标准则需要适当严格。

可根据产品的 A_w 值，在科学、合理的风险评估基础上，针对不同微生物风险的产品制定个性化微生物控制方案（例如，需要更全面的微生物限度检查，或可以减少微生物限度检查测试的次数），从而实现产品微生物控制的精细化管理，减少不必要的检测成本[13]，同时提高生产效率。国家药典委员会于 2023 年 4 月发布了关于非无菌药品微生物控制中水分活度应用指导原则草案的公示[9]，对于推动我国药品的微生物过程控制，进一步实现药品质量控制管理的科学化、合理化、国际化具有重要意义。

参考文献：

[1] 国家药品监督管理局药品审评中心．非无菌化学药品及原辅料微生物限度研究技术指导原则（试行）[EB/OL]．(2023-02-21) [2023-10-12]．https://www．cde．org．cn/main/att/download/6630df37ae78f15e3da938c5172b447c．

[2] 李 辉，马仕洪，王似锦，等．基于水分活度的非无菌中药制剂微生物控制策略研究 [J]．中国现代应用药学，2022, **39**(1)：55-60．

[3] SCOTT V N，CLAVERO R S，TROLLER J A．Measurement of water activity (A_w)，acidity，and brix [M]//FRANCES P D，KEITH I．Compendium of Methods for The Microbiological Examination of Foods．4th Ed, Washington D．C: American Public Health Association，2001：649．

[4] 绳金房，李 辉，马仕洪，等．浅析水分活度测定在非无菌制剂微生物控制中的应用 [J]．药物分析杂志，2018，**38**(10)：5．

[5] 海南海药枫蓼肠胃康颗粒：经典黎药在传承中创新发展 [EB/OL]．(2022-12-13) [2024-03-07]．https://baijiahao．baidu．com/s?id=1752065767109853399&wfr=spider&for=pc．

[6] 李秀珍，刘风琴，李婷婷，等．水分活度用于中药饮片微生物污染控制的探讨 [J]．中国药事，2021, **35**(5)：552-557．

[7] FONTANA A J．Dewpoint method for the determination of water activity [M]//Current protocols in food analytical chemistry．New York: John Wiley & Sons Inc., 2001．

[8] 何 欣，唐敏然，戴 红，等．水分活度仪的校准 [J]．化学分析计量，2021, **30**(3)：72-76．

[9] 国家药典委员会．关于非无菌药品微生物控制中水分活度应用指导原则草案的公示 [EB/OL]．(2023-05-31) [2024-03-07]．https://www．instrument．com．cn/news/20230531/667837．shtml．

[10] CARTER B P, CAMPBELL G S, FONTANA A J．Novel dynamic dewpoint isotherm method for creation of moisture sorption isotherms [C]//AAPS Annual Meeting．Atlanta: GA, 2008．

[11] 王正会，张黄梅，刘 兴．基于清洁验证的阶段性生产方式的持续验证状态管理研究 [J]．山东化工，2022, **51**(10)：163-164．

[12] 马英英，王似锦，马仕洪，等．非无菌药品中不可接受微生物的检验控制策略 [J]．中国药事，2023, **37**(4)：389-395．

[13] 艾威科技．水分活度 —— 药品质量控制的重要参数 [EB/OL]．(2019-01-23) [2023-10-18]．https://www．instrument．com．cn/netshow/SH101186/news_479323．htm．