

## 水活度测定及其在制药工业的应用

聂少勇

(Pharmaceutical Product Development(PPD)股份有限公司, Middleton, WI 53562, USA)

**摘要:** 制药工业中通常使用水含量来控制药品的化学、物理或微生物特性,水含量的测定通常使用卡氏水分测定。但是,水含量与药品的化学、物理或微生物特性的相关性并不明显,而水活度能够提供更好的相关性。在制药工业中,由于药事法规的要求较晚,水活度的应用较少。美国药典与欧洲药典分别于2006年(第29版)和2011年(第7版)推出了关于水活度的章节。ICH的指导原则中关于微生物生长的控制使用了“干燥”词汇,关于稳定性试验要求不同湿度条件下的贮存检验,这些要求均与水活度测定相关。所以,在制药工业中应用水活度,对于制药产品的质量提高大有裨益。水活度的测定不具破坏性,且省时省力、设备简单价廉,对于制药产品的研发、生产环境的控制、包装材料的选择与药品成品的保存等都有十分重要的意义。

**关键词:** 水活度;微生物生长;产品质量;稳定性试验;药事法规

**中图分类号:** TQ460.6      **文献标志码:** A      **文章编号:** 1001-8255(2018)12-1710-06

**DOI:** 10.16522/j.cnki.cjph.2018.12.014

通常来说,产品中的水分有3种存在形式——游离水、吸附水和键合水。游离水存在于产品颗粒的缝隙以及产品颗粒的空洞中,其性质与用作溶剂的水没有区别,可以起分散剂的作用,也利于微生物的生长。吸附水通常是吸附在材料表面的水分。键合水是指通过氢键水合作用与物质结合的水分。键合水是分子表面的单层水分子,而吸附水分通常形成多层水分子<sup>[1]</sup>。另外,水分也会以结晶水的形式存在,但结晶水实质上也是键和水。还有一种是存在于聚合物凝胶结构中的水分。这种水分依靠氢键与聚合物连接构成凝胶的结构,本质上也是键合水,只是这种键合水也是凝胶结构的一部分<sup>[2]</sup>。

在这3种水分中,吸附水存在于物质表面且与物质表面有相互作用,键合水通过氢键水合作用与分子结合。虽然吸附水的吸附作用要小于键合水的氢键结合力,但吸附水和键合水都已经失去了它的水合作用,只有游离水仍可发生水合反应<sup>[1]</sup>。目前,在药典中占据主导地位的水分测定方法是卡氏滴定

法和干燥失重法。但是,这两种测定方法都无法区分游离水、吸附水和键合水,而是测定总水分。而水活度(water activity)则是用来描述与物质进行水合作用的水分的量<sup>[1]</sup>。

水活度可以定义为样品中可以用来发生水合作用的水分的量,类似于游离水的概念。理论上讲,水含量(water content)可以决定水活度,反之亦然。但实际上,这种可能性非常有限。水活度与水分含量还需依据解决问题的需要来分别测定<sup>[6]</sup>。实际上,水分与食品腐败微生物生长的关系早在二十世纪五十年代就得到了研究,结果表明,不是存在于食品中的水分总量与微生物的生长相关,而是与食品中能够供给微生物生长的水分含量有关。能够供给微生物生长的水分即是游离水。游离水的量就用水活度来度量<sup>[3]</sup>。

美国FDA自1980年代起在食品生产中采用水活度检测对微生物进行控制,但直到现在,美国FDA仍旧没有针对药品或化妆品采用水活度测定的法律法规或指导原则。

虽然美国药典不是法律法规,但在制药工业的应用中具有良好的声誉,其检测标准与方法也获得了美国FDA的认可,它的研究工作一直在制药工业质量标准的研究中处于领导作用。对于水活度

收稿日期: 2017-12-11

作者简介: 聂少勇(1967—),男,美国PPD公司首席科学家(principal scientist),主要从事生物药研发的药学研究(CMC)工作。

Tel: 1-608-473-4132

E-mail: pharma-bridge001@outlook.com

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0927-373X>

的测定方法及其在制药工业中的应用,美国药典也首先于2006年8月第29版正式颁布美国药典方法<1112>,水活度测定在非无菌药品上的应用,明确指出水活度的基本概念、测定方法以及可应用的领域。随后,具有法律效力的欧洲药典于2011年4月欧洲药典第7版正式颁布2.9.39节,水分固体相互作用:等温吸附解吸和水活度测定<sup>[4]</sup>,这清晰表明了水活度概念已经开始在药品生产中应用。因此,理解水活度概念,了解水活度的测定方法,以及通晓水活度在制药工业中的应用领域,对于把握药政法规的潜在发展和提高药品生产质量均有裨益。

## 1 水活度测定及应用

水分含量影响了产品的许多物理化学性质,但水分含量与产品特性的关系一直难于建立,如产品稳定性与水分含量的关系等,因此,水活度的概念应运而生。其物理意义是指水分含量中的活性水分,即可参与影响产品物理化学性质的水分含量,也即通常所说的游离水的含量。理论上讲,水分含量可以用来确定水活度,反之亦然。但在实践中,这种可能性却很小。水分含量与水活度分别是在解决不同的实际问题时测定的参数<sup>[4]</sup>。

水活度也可以称作是等效相对湿度(equilibrium relative humidity, ERH),是用来表示产品中的活性水分,或是说游离水含量的参数。在食品工业与造纸工业中,水活度的测定已经得到了充分的应用。制药工业和化学工业界也对水活度的测定逐渐表现出越来越浓厚的兴趣。

### 1.1 水活度理论

一个封闭系统中的水的热力学能量状态即水活度,如果简单地将水活度描述为系统中“可用”的水的量,虽在科学上不太准确,但却能直观地理解水活度的概念。水活度是表示产品中存在的以及类似的纯水的量的指标。水活度降低表明产品中的水的能量的降低,也就是“可用”于微生物增长、化学反应、水分迁移,甚至于作为溶剂的水的量的降低<sup>[5]</sup>。

样品中存在的水的能量决定了样品中的水能不能转移到气相,所以,样品上的蒸汽压就与水活度

直接相关。因此,水活度定义为在相同温度下,产品的蒸汽压( $p$ )与纯水的蒸汽压( $p_0$ )的比值。空气相对湿度是空气中的蒸汽压与饱和蒸汽压的比值,如果达到蒸汽和温度的平衡,样品的水活度就等同于样品所处的密闭环境中的空气相对湿度。水活度乘以100即可得到以百分比表示的等效相对湿度<sup>[6]</sup>。

$$\text{水活度} = \frac{p}{p_0} = \frac{\text{ERH}(\%)}{100}$$

水活度值是一比值,没有单位。如果用小数来表示,范围是从绝对干燥的0到纯水的1.0。

### 1.2 影响水活度的因素

系统中的几种因素能够影响样品的水活度。首先,样品中的溶质(如盐分或糖分)与水分子通过取向力作用、离子间力作用以及氢键的相互作用等影响样品的水活度,溶质的数量也影响样品水活度。其次,毛细管效应形成的液面凹陷影响了弯曲水表面的水分子间的氢键作用,使得凹面上的蒸汽压小于没有弯曲的理想纯水平面上的蒸汽压。还有,样品表面与水分子的相互作用也影响到样品的水活度,这些相互作用包括水分子与未溶解成分表面官能团通过取向力、离子键( $\text{H}_3\text{O}^+$ 或 $\text{OH}^-$ )、范德华力以及氢键的直接相互作用<sup>[6]</sup>。

与纯水相比,样品中的水总是受到以上因素的综合影响,因此降低了样品的蒸汽压,而样品的水活度也随之降低。

### 1.3 水活度测定方法

水活度的测定即测定样品所在空间内的相对湿度,理论上讲,任何类型的湿度计均可用于测定相对湿度。从最早期的恒定相对湿度平衡测定方法,到采用各种类型的湿度计如毛发湿度计和等压湿度计等相对湿度传感器测定法,都可以直接用来测定水活度<sup>[7-8]</sup>。而间接测定水活度的方法也有冰点下降、蒸汽压压力计和冷镜露点等测定方法<sup>[8]</sup>。

将样品置于一个较小的密闭容器,其顶空体积相比于样品体积要足够小,以消除样品测定过程中吸附状态的变化。达到平衡的热力学过程通常需要较长时间,使用容器内循环可促使尽快达到平衡。由于水活度值与测定时的温度直接相关,所以测定

水活度的同时须测定温度，这就要求仪器有灵敏的温度测定功能，而且测定容器须热绝缘良好以保证恒温测定。顶空湿度测定传感器是测定设备的核心部件。虽然任何类型的湿度仪均可用于测定相对湿度，但从分析角度考虑，小型化和稳定耐用是首要考虑的因素。

美国药典第 29 版正式颁布的第 1112 章及欧洲药典第 7 版颁布的 2.9.39 节均指定采用冷镜露点方法来测定水活度。这种测定方法源自于 AOAC International 的方法 978.18<sup>[9]</sup>。将抛光冷冻镜面作为凝结表面，冷却系统与接收镜面反射光的光电单元相连接，达到湿度平衡的气流直接流向镜面，并在镜面凝结。凝结起始的温度即为露点温度，并由此得到平衡相对湿度。

采用冷镜露点法的实用仪器在用于水活度测定前须评估系统适应性并校正。通常使用饱和盐溶液在 25 °C 下进行仪器校正。可用作仪器校正的饱和盐溶液的水活度： $K_2SO_4$  (0.973)、 $BaCl_2$  (0.902)、 $NaCl$  (0.753)、 $Mg(NO_3)_2$  (0.529)、 $MgCl_2$  (0.328) 等。

## 2 水活度在制药工业的应用

水活度并不是个新概念，在食品工业中已经应用于微生物生长的控制。但由于药事法规中很少有在药品质量控制中应用水活度的要求，与制药工业分析实验室中的常规分析技术如液相色谱、气相色谱等相比，水活度的测定不受重视。但在制药工业的实际研究生产中，水活度对药品中活性成分的变化及其在制剂配方研究中的有效作用的研究工作一直在持续进行。

水活度的控制对于控制制药产品中活性成分的稳定性，降低非无菌产品染菌风险，优化制剂配方，减少结块和凝结，以及控制水分迁移都有裨益。简而言之，水活度的控制与研究对提高批量生产产品的质量十分重要，是制药产品质量控制的重要质量参数<sup>[10]</sup>。

药品质量与水活度的关系可以从两个方面来考虑。第一，水迁移，水活度在不同成分间的迁移变化；第二，水吸收，等温条件下水的吸收导致水活度变化而对产品所起的作用。

### 2.1 水迁移

当两种物料混合时，水就开始从高的区域向低的区域迁移。但迁移并不一定是从水含量高的部分移向水含量低的部分。实际上，在日常中可能注意到的一个现象就是干燥的部分更加干燥，而潮湿的部分更加潮湿。能够迁移的水分子是活性水分子，所以影响水分子迁移的是水活度<sup>[11]</sup>。

在制药工业中，药品如是有外包衣的片剂或是有填充物的胶囊以及软胶囊，均会受到水迁移的影响。如软胶囊变硬变脆或是变得太软，或是有外包衣的片剂外包衣剥落，或是在包装内药片崩解等现象，都与水迁移有密切关系。以软胶囊为例，从将软胶囊内容物加入软胶囊的一刻起，如果不同组分的水活度不同，水分即在不同组分间开始迁移，直到水活度达到平衡。实际上，包装与软胶囊一起形成了一个四相系统，外环境、包装内环境、软胶囊外壳和软胶囊内容物。在这个四相系统中，存在有 3 个水扩散转移步骤。第一，水在包装内外的气相中的扩散转移；第二，水在包装内的气相与软胶囊壳间的扩散转移；第三，水在软胶囊壳及内容物间的扩散转移。由于外环境与包装内气相，包装内气相与软胶囊壳间的扩散转移在长时间的贮存时已经达到了平衡，因此第三步的扩散转移——水在软胶囊壳与内容物间的扩散转移则至关重要。例如某种软胶囊壳的水活度是 0.85，其内容物的水活度是 0.2，在一定时间之后，整体软胶囊的水活度即达到平衡值 0.53。软胶囊壳的水活度降低造成软胶囊壳的干燥和脆裂，对产品质量造成隐患。而且由于水分自软胶囊壳迁移至内容物，如果活性成分的水溶性较差，就有可能造成活性成分的析出，使得产品质量无法保证。

解决由于水活度的不同而造成的水迁移问题，要在制剂配方研究起始时就开始考虑，改变软胶囊壳及内容物的配方来消除或减少由水迁移引起的质量隐患。

许多实例也已经证明，与溶解度和配方研究一起详细研究水活度可以对产品质量的提高起到促进作用。除了在胶囊壳与内容物间的水迁移外，环境

中的水分迁移至包装容器内的情况也需密切注意。这种水迁移会造成药品微环境的变化,从而导致水分迁移至软胶囊壳并连锁引起内容物水活度的变化,由此产生产品质量问题。

## 2.2 水吸收

水分吸收在药品生产过程中早已存在。不同剂型的固态药品,其物理化学特性也会受水分吸收的影响。药品中的活性成分在有效期内应该保持一致,特别应该避免的是在生产过程中以及在最终成品药中的活性成分的化学降解以及物理结构的变化。要保证生产以及成品药的活性成分的一致性,须避免诸如潮解、玻璃化、毛细管冷凝导致的结块和凝结、重结晶,以及降解等破坏性的因素。了解水活度与水含量的关系就显得十分重要<sup>[11]</sup>。

## 3 药政法规和水活度

在药品研发过程中建立合适的产品质量控制程序非常具有挑战性。人用药品注册技术要求国际协调组织(ICH)的目的是对产品质量检验和生产批次放行程序提供指导,它强调质量检验程序是基于风险评估和科学证据的支持。ICH指导原则Q6A提供了制定药品放行检验程序和适用规格标准的指导<sup>[12]</sup>。其6号和8号决策树给出了测定微生物特性的最佳方法的指导。在这2个决策树中,微生物限量检测的需求是建立在产品是否可以保持足够“干燥”的前提下,足够“干燥”的产品是不支持微生物的生长的。

制药工业中使用水分含量或产品中的总水量来表示“干燥”程度,通常使用卡氏水分来测定。但是,食品工业中关于水与微生物生长关系的研究表明,水活度是微生物生长的最好指标,是水活度或水的能量而不是产品中水的含量,即系统中的微生物可使用的水的量,决定了微生物的生长<sup>[3]</sup>。一个产品可能含有相对较多的水分,但如果水已经化学“键合”保湿剂或溶质如盐分、糖,或是其他多羟基类化合物,则这些水就不可以作为支持微生物生长的水。

水活度的概念已被微生物学家及食品学家应用多年,是最常用于食品安全和食品质量的标准之一。

每一种微生物都有其特定的水活度,低于此水活度,则此种微生物不能生长。长期的研究实践表明,水含量与微生物的生长没有直接关系<sup>[3]</sup>。因此,ICH指导原则Q6A中所指出的用于减少微生物检测的“干燥”条件仅可由水活度来决定,决策树中的“干燥”指的是水活度的测定而不是产品中的水含量的测定。

另外,ICH指导原则Q1A(R2)关于药品稳定性试验的指导,要求药品必须有在不同湿度条件下的贮存检验<sup>[13]</sup>。这在本质上与要求产品必须保存在不同水活度水平的检验是一致的,因为水活度和等效相对湿度是相同的测量,而湿度在稳定性试验中至关重要,因为湿度能够影响产品的水活度,而水活度或相对湿度极大地影响产品的稳定性。

美国药典第29版正式颁布的第1112章及欧洲药典第7版正式颁布的2.9.39节均提供了更进一步的科学依据证明水活度有必要成为基于风险评估的药品批次放行质量标准,从而保证微生物生长的安全性以及产品的质量。美国药典第1112章明确指出,水活度的测定可以在四个方面帮助提高非无菌制药产品的质量控制,第一,优化产品配方,提高防腐系统的抗菌效力;第二,减少配方中易受化学水解影响的活性成分的降解;第三,减少配方的微生物污染的可能性,特别是液体、油膏、乳液以及乳膏制剂等;第四,提供减少微生物限量检验的原理依据,包括减少产品批次放行检验和稳定性试验。

与水活度的测定相比较,水含量的测定准确度较差且测定费时较长,特别是对于制药产品。有时,制药化合物的水含量低至0.05%,在这个范围,测定水含量比较困难且需要精密天平。但对于这种化合物,小到0.02%的水含量的变化,则对应于水活度0.2的变化。因此,使用水活度的测定,可以对制药产品的质量进行更加严格的控制。

## 4 结语

水活度已经在食品工业中用作微生物生长控制的质量标准。在制药工业中,由于早前的药事法规中没有硬性规定,水活度的应用被忽视。但是,水活度在药品配方研究、稳定性研究、包装材料的研

究以及早已应用于食品工业的微生物生长的控制等方面有重要作用,水活度的概念也可以在制药工业中广泛使用。

相比于在制药工业中广泛采用的水含量的物理意义,水活度更有助于理解制药产品的相关领域的科学内涵。美国药典和欧洲药典已经意识到了水活度及其应用的重要性,先后推出了水活度的药典章节。ICH 指导原则中没有明确提出水活度的概念,但在微生物的控制要求中,使用了“干燥”的词语,在稳定性试验中提出了不同湿度的贮存条件以检验活性成分的稳定性,其本质与水活度并无差异。

不管药事法规中是否有水活度的要求,水活度对于制药产品的研发、生产环境的控制、包装材料的选择以及药品成品的贮存都有意义。所以,在制药工业中应用水活度对制药产品的质量提高大有裨益,相信药事法规对于水活度也在认真核查过程中。

#### 参考文献:

- [1] SNIDER B, LIANG P, PEARSON N. Implementation of water activity testing to replace Karl Fischer water testing for solid oral-dosage forms [J]. *Pharm Technol*, 2007, 31(2): 56-71.
- [2] MAQUET J, THEVENEAU H, DJABOUROV M, *et al.* State of water in gelation solutions and gels: An <sup>1</sup>H NMR investigation [J]. *Polymer*, 1986, 27(7): 1103-1110.
- [3] SCOTT W J. Water relations of food spoilage microorganisms [M]. 7th ed. New York: Elsevier Inc., 1957: 83-127.
- [4] ROTRONIC. The significance and measurement of water activity (ERH) [EB/OL]. [2017-09-11]. [http://elema.no/produkter/vannaktivitet/content\\_1/text\\_15df3ddb-20cc-40ae-8cc4-9634bda71ab5/1347644418212/water\\_activity\\_theory.pdf](http://elema.no/produkter/vannaktivitet/content_1/text_15df3ddb-20cc-40ae-8cc4-9634bda71ab5/1347644418212/water_activity_theory.pdf).
- [5] DECAGON DEVICES. The role of water activity in ICH guidelines and QbD in the pharmaceutical market [EB/OL]. [2017-09-11]. [http://manuals.decagon.com/Application%20Notes/13972\\_Role%20of%20Water%20Activity%20in%20ICH%20Guidelines%20and%20QbD%20in%20Pharmaceutical%20Market\\_Print.pdf](http://manuals.decagon.com/Application%20Notes/13972_Role%20of%20Water%20Activity%20in%20ICH%20Guidelines%20and%20QbD%20in%20Pharmaceutical%20Market_Print.pdf).
- [6] FONTANA A J. Water Activity's Role in Food Safety and Quality [EB/OL]. [2017-09-11]. <http://www.foodsafetymagazine.com/magazine-archive1/februarymarch-2001/water-activitye28099s-role-in-food-safety-and-quality/>.
- [7] STOKES R H. The measurement of vapor pressures of aqueous solutions by bithermal equilibration through the vapor phase [J]. *J Am Chem Soc*, 1947, 69: 1291-1296.
- [8] TROLLER J. Methods to measure water activity [J]. *J Food Prot*, 1983, 46(2): 129-134.
- [9] AOAC International Official Method 978. 18, Water Activity of Canned Vegetables [M]. 17th ed. Gaithersburg, Maryland: AOAC International.
- [10] NOVASINA A G. Water Activity in Pharma [EB/OL]. [2017-09-11]. <http://www.novatron.co.uk/wp-content/uploads/2016/02/Water-Activity-in-Pharma.pdf>.
- [11] FONTANA A J. Pharmaceutical Application for Water Activity [EB/OL]. [2017-09-11]. <https://www.pharmaceuticalonline.com/doc/pharmaceutical-applications-for-water-activit-0001>.
- [12] ICH Q6A. Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for New Drug Substances and New Drug Products: Chemical Substances [EB/OL]. [2017-09-11]. [http://www.ich.org/fileadmin/Public\\_Web\\_Site/ICH\\_Products/Guidelines/Quality/Q6A/Step4/Q6Astep4.pdf](http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q6A/Step4/Q6Astep4.pdf).
- [13] ICH Q1A (R2). Stability Testing of New Drug Substances and Products [EB/OL]. [2017-09-11]. [http://www.ich.org/fileadmin/Public\\_Web\\_Site/ICH\\_Products/Guidelines/Quality/Q1A\\_R2/Step4/Q1A\\_R2\\_Guideline.pdf](http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q1A_R2/Step4/Q1A_R2_Guideline.pdf).

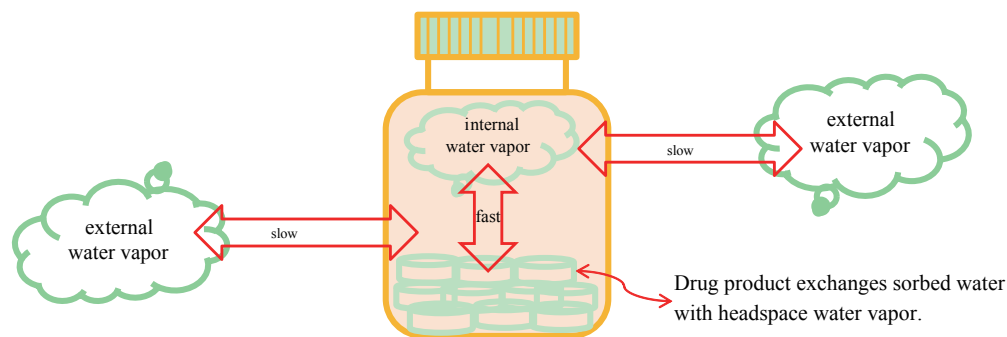
## Water Activity Measurement and Its Application in Pharmaceutical Industry

NIE Shaoyong

(Pharmaceutical Product Development (PPD) Inc., Middleton, WI 53562, USA)

**ABSTRACT:** In pharmaceutical industry, water content was usually used to control chemical, physical, and microbiological properties of pharmaceutical product. Water content is usually measured by Karl Fischer (KF) titration. However, there is no significant correlation between water content and the chemical, physical, and microbiological properties of pharmaceutical product. Actually, water activity measurement provides a better correlation of water with the changes in chemical, physical, and microbiological properties than KF technique. In pharmaceutical industry, water activity was overlooked due to late regulatory obligation for pharmaceutical industry. The United States Pharmacopoeia and the European Pharmacopoeia published official chapter and/or section of water activity in the year 2006 (29<sup>th</sup> Edition) and 2011 (7<sup>th</sup> Edition), respectively. ICH Guidelines use word “dryness” in the sections about the control of microbiological growth, and the stability testing is required to hold in different humidity levels. All of these requirements relate with water activity. Therefore, application of water activity in pharmaceutical industry could improve the quality of pharmaceutical product significantly. Water activity measurements are nondestructive, require little labor and time, and the equipment required is generally inexpensive. Overall, water activity is very helpful for pharmaceutical research and development, control of the manufacturing environment, selection of packaging material, and the storage of pharmaceutical product and so on.

**Key Words:** water activity; microbiological growth; product quality; stability test; regulatory obligation



Humidity Migration in a Bottle