

# 大乳粒检测方法专题

## 大乳粒检测方法各国药典的规定

### 【中国药典 2010 版】

目前中国药典对于乳剂中乳粒粒径的检测仅使用光散射法测试平均粒径。要求：平均粒径 < 0.4 微米。

### 【中国药典 2015 公式稿】

丙泊酚注射用脂肪乳：大乳粒照粒度和粒度分布测定法（中国药典 2010 年版二部附录 IX E 第三法）检查，平均粒径应为 0.18~0.27 $\mu\text{m}$ ，90% 累计粒径不得过 0.4 $\mu\text{m}$ ；大于 1 $\mu\text{m}$  的乳粒数不得过 2%，并不得检出大于 3 $\mu\text{m}$  的乳粒。

脂肪乳注射液(C14~24):大乳粒粒度和粒度分布测定法（中国药典 2010 年版二部附录 IX E 第三法）或照动态光散射法检查，体积平均粒径或光强平均粒径不得过 0.50 $\mu\text{m}$ ；另取本品，照基于单粒子光学传感技术的光阻法测定，大于 5 $\mu\text{m}$  的乳粒加权总体积不得过油相体积的 0.05%。

中/长链脂肪乳注射液:大乳粒照粒度和粒度分布测定法(中国药典 2010 年版二部附录 IX E 第三法) 或照动态光散射法检查，体积平均粒径或光强平均粒径不得过 0.50 $\mu\text{m}$ ；另取本品，照基于单粒子光学传感技术的光阻法测定，大于 5 $\mu\text{m}$  的乳粒加权总体积不得过油相（大豆油与中链甘油三酸酯）体积的 0.05%。

### 【美国药典】< USP36 > Chapter 729

美国药典对于乳剂中乳粒粒径的检测有

方法 I：动态光散射法，要求：平均粒径 0.5 微米

方法 II：光阻法，大于 5 微米的乳粒(PFAT5)体积占比 0.05%。

## USP729 起源

美国曾发生过注射脂肪乳大粒子引起的医疗事故，这也是促成美国药典委员会对大粒子关注的起因。1994 年，美国 FDA（美国食品药品监督管理局）宣布，有两例因注射了肠外营养脂肪乳（简称“TNP”）而引起的死亡案例，直至 1996 年经过大量详细的病因调查，结果发现 TNP 营养混合液中外加的有机钙和无机磷酸（ $\text{CaHPO}_4$ ）颗粒粒径过大而堵塞了人体血管，最终导致病人死亡。（人体微血管径：4~9 $\mu\text{m}$ ，细动脉管径：20 $\mu\text{m}$ 。）

经过大量数据研究和佐证，Dr. DAVID F. DRISCOLL 发表了大量数据证明了这是因为乳剂中存在大于 5 微米的乳粒引起的。而且探索了如何精确检测大于 5 微米乳粒（英文简写为 PFAT5）的方法。

注射脂肪乳中大颗粒的危害

- (1) 注射脂肪乳中的大颗粒会伴随着注射过程进入人体肺部，造成肺部形成肉芽肿；
- (2) 大颗粒进入血管可以引起血管肉芽肿、静脉炎及血栓等；
- (3) 大颗粒伴随血液循环可进入到身体的其他器官，如肝、肾等都有损害；
- (4) 大颗粒的存在会影响注射液本身的稳定性。

## USP729 的变迁

2004 年 10 月由美国药典发布了 USP<729>Vol. 30(6) : Globule Size Distribution in Lipid Injectable Emulsions. 在全新的 USP<729>章节里公布了注射脂肪乳的粒度测试要求。

Concentration of Dispersed Phase (% w/v)			
	10	20	30
MDD (nm)	300	400	500

方法一：采用动态光散射或者米氏散射原理测试脂肪乳平均粒径(MDD)，规定强度径 Int-Weight:

方法二：采用光阻法(Light Obscuration)测得 PFAT5 值：统计 1.8 $\mu$ m-50 $\mu$ m 的脂肪乳颗粒体积在油相体积中的比例。测试时间为 120s,180s,240s，其中每个时段测试三次。PFAT5 值不得超过 0.05%。

**【2007 年 11 月】**美国药典 USP<729>30 - NF25 在方法一中做了变动，不限测试油相的浓度，平均强度粒径 INT-Weight MDD 值小于 0.5 $\mu$ m 或者 500nm。

**【2010 年】**美国药典 USP<729>34-NF29 既 USP30 版改动后，在方法二中将测试时间改为一个测试的因素，延长测试时间，运行两次样品，PFAT5 值均不得超过 0.05%。

**【2013 年 11 月】**美国药典 USP<729>36-NF 基本与 36 版一致。

## USP729 的主要内容

在 USP729 中对注射脂肪乳中乳滴粒度分布做了明确的规定，颗粒粒度分布的两个主要因素：颗粒平均粒径和大颗粒尾部分布必须限制在规定的范围内。

### 检测项 I:

脂肪乳乳滴平均粒径分布(动态光散射原理) 0.5 $\mu$ m

### 检测项 II:

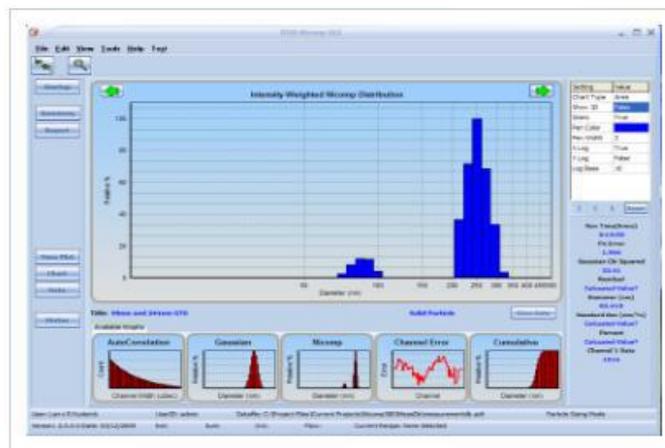
脂肪乳尾端大于 5 $\mu$ m 的乳滴 (PFAT5) 占油相体积比例(光阻法)0.05%

左图表示了动态光散射法只能测出样品的平均粒径，但是对于“尾部”PFAT5 来说，其所占的比例极低，普通的光散射方法不能检测出，所以使用光阻法来检测 PFAT5 值。

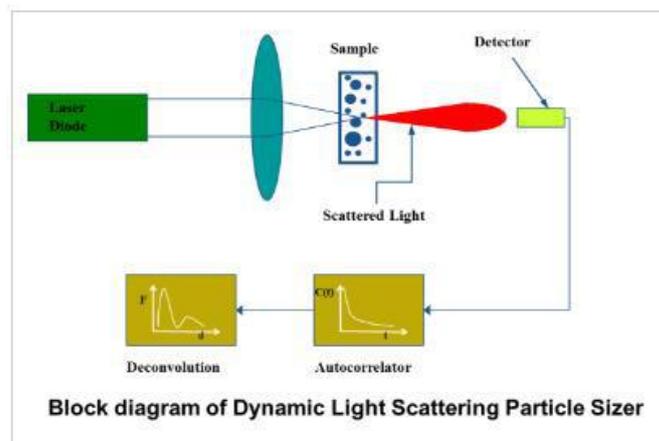
## 中国乳剂行业对乳剂粒径的关注

1. 中国药典委员会很早就对脂肪乳的大粒子进行了研究。
2. 中国仿制药一致性评价工作已经开展，2015 年会启动注射剂的评价工作。
3. 国内企业和药典委员会已经对某些品种进行了质量标准的提高，如丙泊酚乳剂注射液。
4. 药典公式稿关于提高脂肪乳的标准已经结束公示，即将进入药典。

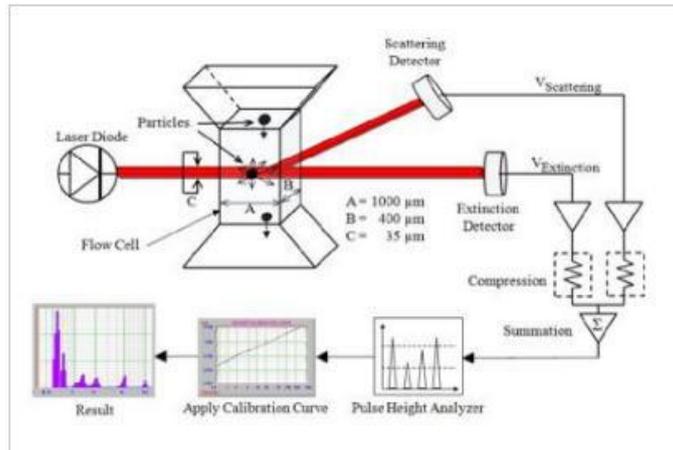
## 美国 PSS 粒度仪公司检测乳剂粒径仪器介绍



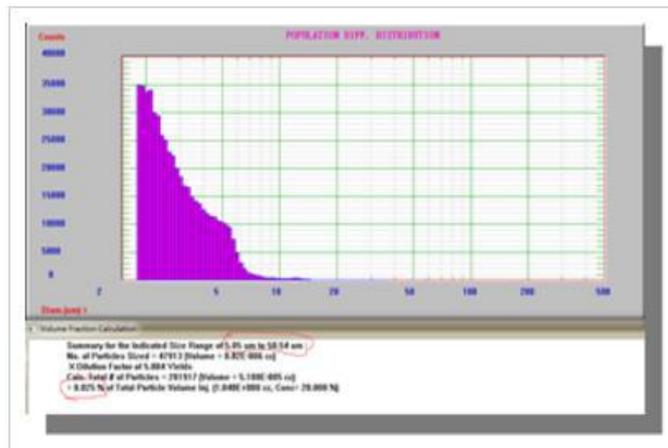
利用 USP729 方法I可以得到如图 1 的一个正态分布图，由于图中  $>5\mu\text{m}$  的部分含量很少，很多仪器无法测出。所以引入了 USP729 方法II来测量分布图中尾部大颗粒的含量。



利用 USP729 方法I可以得到如图 1 的一个正态分布图，由于图中  $>5\mu\text{m}$  的部分含量很少，很多仪器无法测出。所以引入了 USP729 方法II来测量分布图中尾部大颗粒的含量。



利用 USP729 方法I可以得到如图 1 的一个正态分布图，由于图中  $>5\mu\text{m}$  的部分含量很少，很多仪器无法测出。所以引入了 USP729 方法II来测量分布图中尾部大颗粒的含量。



利用 USP729 方法I可以得到如图 1 的一个正态分布图，由于图中  $>5\mu\text{m}$  的部分含量很少，很多仪器无法测出。所以引入了 USP729 方法II来测量分布图中尾部大颗粒的含量。

## 常见问题与解答

Q1、PFAT 5 是计算体积还是数量比例的？

答：PFAT5——美国药典对乳剂大颗粒尾部(Large- Diameter Tail)分布规定,指待测样品的粒径值(X)在  $5\ \mu\text{m} < X < 50\ \mu\text{m}$  的体积占所测样品油相体积的百分比,其数值小于 0.05%属于合格。 AccuSizer 780 系列产品的操作软件中有 Volume Fraction calculation 计算模块,此模块符合方法 II 的规范。。

<p>Summary for the Indicated Size Range of 5.05 <math>\mu\text{m}</math> to 50.54 <math>\mu\text{m}</math> : No. of Particles Sized = 10882 (Volume = 1.07E-006 cc) X Dilution Factor of 12.206 Yields Calc. Total # of Particles = 132821 (Volume = 1.307E-005 cc) = 0.013 % of Total Particle Volume Inj. (1.020E+000 cc, Conc= 10.000 %)</p>
---

根据上述计算模块中的统计,此样品的 PFAT5 值是 0.013%,符合美国药典要求的合格之。

Q2、PFAT 5 的计算方法?

答：注射脂肪乳尾部大颗粒 (Large-Diameter Tail) 分布规定,其待测样品中颗粒的粒径 (X)在  $5\ \mu\text{m} < X < 50\ \mu\text{m}$  之间的体积占所测油相总体积百分比要小于 0.05%。

Q3、为什么要探究 PFAT5 值?

答：超过 PFAT5 限度值的乳剂会危害人体健康,甚至造成死亡。另外,FPAT5 是影响脂肪乳稳定性的一个重要指标。

Q4、测试样品时间的取定?

答：经过大量试验和数据表明,一般情况下,120 秒是比较合适的测试时间。在此测试时间内,基本上所得的数据是稳定有效的。如果不确定,可以延长测试时间(比如 180 秒),如果延长测试时间和在 120 秒得出的结果一致,基本可以判定 120 秒是合适的检测时间。

## 应用案例

### DLS 和 SPOS 技术在检测脂肪乳丙泊酚的应用

一、摘要：

脂肪乳在生产过程中通常要经过高压均质化处理,但均质化过程却并不总是很稳定的。使用相同原料、相同均质工艺可以得到满足质量要求的稳定乳液,但有些时候却不理想。即使几个大乳液滴都有可能破坏乳液的稳定性而在投放市场之前即出现相分离。此外,过度均质化处理更易破坏脂肪乳的稳定性如何检测乳剂的尾端稳定性。需要及时检测乳液中大粒子的含量。

关键词: 脂肪乳 DLS 动态光散射 SPOS USP<729>PFAT5 值

二、客户遇到的问题:

某医药研发公司研发的脂肪乳丙泊酚,一直不稳定,通过粒径分析仪分析平均粒径参照标准也没发现有异常。该公司判断是大颗粒很多,需要找到大颗粒的含量来判断该脂肪乳是否稳定合格。

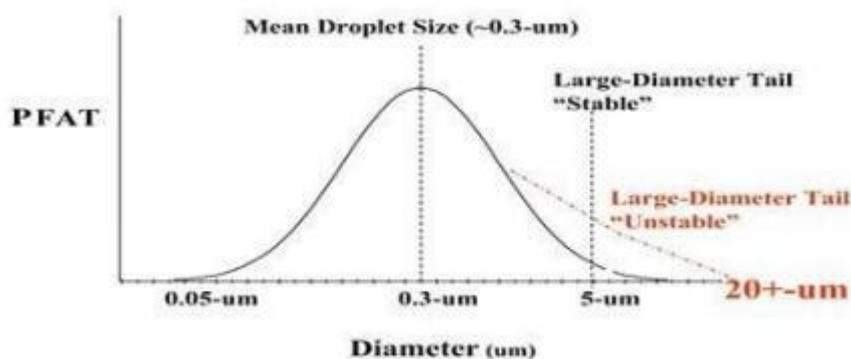
三、解决方案:

根据美国药典 USP<729>分别用 Method I 测试平均粒径 (MDD) 和 MethodII 测试 PFAT5 值。

Method I: 颗粒平均粒径的测定, 利用动态光散射法 (DLS) 原理测定样品可以得到图一结果, 显示出其平均粒径大小和乳滴分布。

Method II: 大颗粒尾部分布的测定, 利用 SPOS 单颗粒光学传感技术原理来测定图一中 Large-Diameter Tail 部分。

PFAT5 值是指大颗粒尾部 (Large-Diameter Tail) 分布绑定

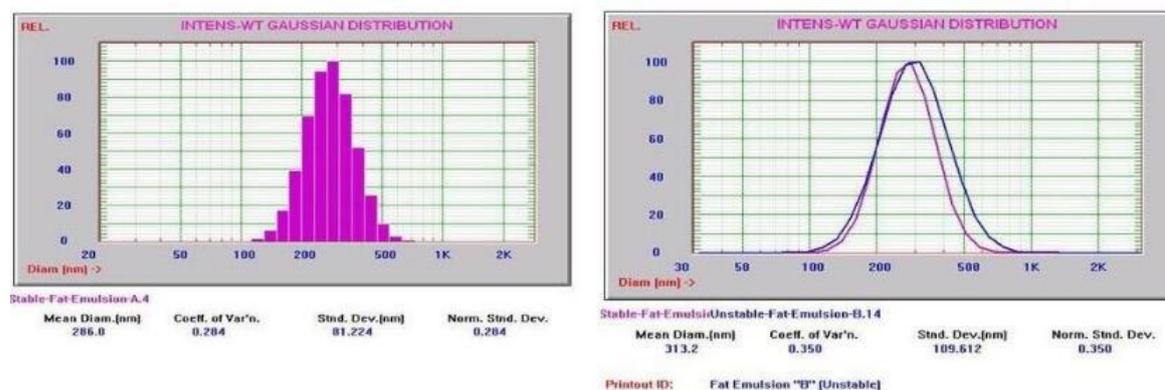


PFAT5 值是指

大颗粒尾部 (Large-Diameter Tail) 分布规定, 其待测样品中颗粒的体积粒径值(X) 在  $5\mu\text{m} < X < 50\mu\text{m}$  之间的比例占总的所测体积径的百分比要小于 0.05%。

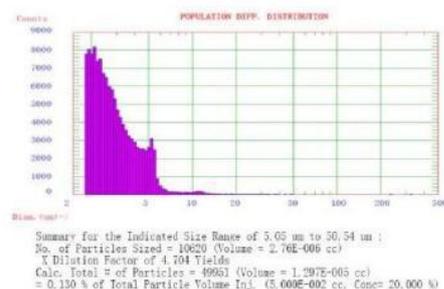
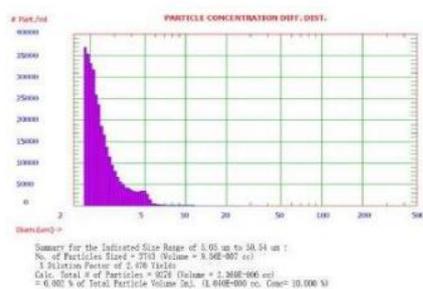
用 NICOMP 380 和 AccuSizer 780 APS 分别测试稳定的脂肪乳丙泊酚成品 A 和不稳定的脂肪乳 B (油相 20%)。图 2 和图 3 是 NICOMP 380 检测丙泊酚平均粒径分布。图 4 和图 5 为 AccuSizer 780APS 全自动颗粒计数分析仪测试分析该两份丙泊酚样品的尾端分布。

下图: NICOMP 380 将稳定的样品 A 和不稳定的样品 B 进行叠加对比, 发现平均粒径并没有很大改变, 虽然观察到有大颗粒存在, 但是大于  $5\mu\text{m}$  的颗粒很难判定出含量。



下方左图: 为丙泊酚脂肪乳成品 A。PFAT: 为丙泊酚脂肪乳成品 A。PFAT 5 值=0.002%<0.05%, 该成品 A 稳定, 通过 USP729 要求。下方右图: 为不稳定的脂肪乳 B。PFAT 5 值=0.130%>0.05%, 该脂肪乳 B 不稳定, 大颗粒(>

5 $\mu$ m)含量超标。



#### 四、结果：

最终该公司在生产工艺中找到了产生大颗粒的原因，及时采取措施提高了产品的质量。

#### 五、结论：

DLS 动态光散射方法给出了样品的平均粒径分布，SPOS 单颗粒技术给出了尾端大颗粒的真实分布信息，将两者结合起来测试脂肪乳的稳定性。样品的粒度分析。虽然激光衍射仪器有着宽广的测试范围和快速测试的优势，但是其本身原理太依赖于光学部件，在 2 $\mu$ m 处的衍射环分辨率不高。SPOS 单颗粒光学传感技术不仅给出了颗粒粒径的分布情况，还对粒子数目有着真实的检测计数。用来检测过滤效率，既精确，又一目了然。