

# 运用曲线下面积计算 $F_0$ 值

第二军医大学药理学系药剂教研室 谈一中

灭菌操作是保证注射液质量的重要环节之一，英国药典1980年版对灭菌温度与相应的时间，作出了明确的规定，如115~118℃保持30分钟、121~124℃保持15分钟……等；而美国药典X X版(1980年)则规定了灭菌方法的 $F_0$ 值 $\geq 8$  (1)，对具体的灭菌温度及相应的时间并不加以规定，现就 $F_0$ 值的意

义及计算的方法介绍如下：

国外曾有利用三种曲线来研究微生物死亡速率的报道，即微生物残存曲线、耐热性曲线及热致死时间曲线，前两种曲线可应用于大多数灭菌方法(过滤灭菌法除外)，后一种曲线仅适用于湿热灭菌或干热灭菌(2)(6)。

表1 用于正确灭菌的死亡率曲线

曲线名称	作图类型	纵座标	横座标	斜率
残存	半对数	$\log N$	时间	D值
热耐受性	半对数	$\log D$	温度、剂量、浓度	E值
热死亡时间	直线型	$10^{\frac{T-T_0}{E}}$	时间	F值*

\* F值是以 $10^{\frac{T-T_0}{E}} - t$ 曲线下面积计算求得

## 1. D 值:

将微生物或芽孢制成混悬液，在一定温度下进行灭菌，按一定间隔时间采样，测定其灭菌后的残存微生物细胞或芽孢数( $N_t$ )，以 $\log N_t$ 对灭菌时间 $t$ 作图(即微生物残存曲线)得一直线，与 $y$ 轴相交处(截距)为 $N_0$ ，斜率 $= \frac{-K}{2.303}$ ，见图(1)。表示在一定的灭菌温度下，灭菌后微生物的残存数随灭菌时间的延长而降低，属一级反应动力学。

$$\therefore \log N_t = \log N_0 - \frac{K}{2.303} t \dots\dots (1)$$

式中 $N_t = t$ 时间测得的残存微生物数

$N_0 =$  灭菌前污染的微生物数

$K =$  常数

$$\text{整理之: } K = \frac{2.303}{t} \log \frac{N_0}{N_t}$$

$$\text{或 } K = \frac{\log N_0 - \log N_t}{t} \times 2.303 \dots (2)$$

此处 $K$ 为时间单位的倒数(如分 $^{-1}$ )，为避

免处理倒数时的混乱与麻烦，故引进了D值的概念(3)。

$$\text{令 } D = \frac{2.033}{K}$$

$$\text{则 } D = \frac{t}{\log N_0 - \log N_t} \dots\dots (3)$$

此处D值用时间单位的正值，从(3)式可以看出，D值是用那段灭菌时间内微生物被杀灭的对数值除灭菌时间的结果。

如微生物被杀灭的对数值(即 $\log N_0 - \log N_t$ )为1时，则 $D = \frac{t}{1} = t$ ，即D值表示每杀灭一个对数值的微生物或芽孢所需的时间，当杀灭90%微生物或芽孢时即减少了一个对数值。

例如，在一定温度下加热2分钟微生物为100个细胞，加热4分钟为10个细胞，则

$$D = \frac{4 - 2}{\log 100 - \log 10} = \frac{2}{1} = 2 \text{ (分钟)}$$

各种微生物在不同环境、不同温度下的D值，均不相同（见表2）。

D值的大小与微生物的耐热性能有关，

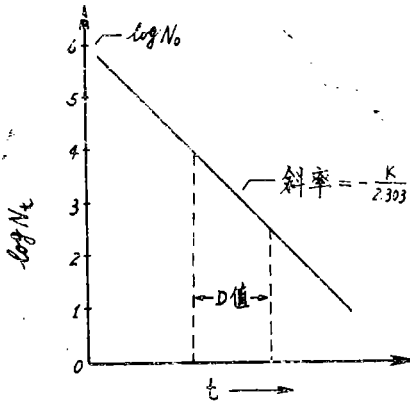


图1 残存微生物-时间曲线

D值越大，其耐热性愈强，所需杀灭微生物、芽孢的时间就愈长。

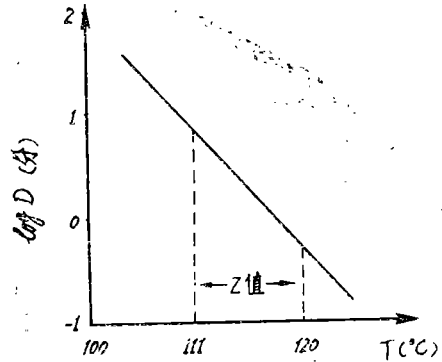


图2 耐热性曲线图

表2 不同微生物对不同灭菌方法的D值

灭菌方法	微生物	温度或其它条件 (°C)	介质	D值(分)
蒸汽	嗜热脂肪芽孢杆菌	105	5%葡萄糖溶液	87.8
" "	" "	110	" "	32.0
" "	" "	115	" "	11.7
" "	" "	121	" "	2.4
" "	" "	121	5%葡萄糖乳酸林格氏液	2.1
" "	" "	121	注射用水	3.0
" "	羧状芽孢杆菌	105	5%葡萄糖溶液	1.3
" "	" "	105	注射用水	13.7
" "	" "	115	" "	2.1
干热	枯草杆菌	115	不锈钢管道	24.2
" "	" "	135	" "	2.7
" "	" "	135	纸条	16.6
" "	" "	120	滤纸条	38~55秒
红外线	枯草杆菌	140	玻璃培养皿	2.7
" "	" "	160	" "	18秒
" "	" "	180	" "	2.7秒
钴60照射	短小杆菌	—	干纸	0.19毫拉德
钴60照射	大肠杆菌	—	磷酸盐缓冲液	0.009毫拉德

## 2. E 值

将某种微生物在某种溶液或环境中，按不同时间间隔测得的log D对灭菌温度T作图，可得一耐热性曲线，这曲线在温度变化不大的范围内呈线性关系（见图2），该直

线的斜率可表示为（4）式。

$$\text{斜率} = \frac{\log D_2 - \log D_1}{T_2 - T_1} \dots\dots\dots (4)$$

（4）式中D<sub>2</sub> = 温度T<sub>2</sub>时的D值，D<sub>1</sub> = 温度T<sub>1</sub>时的D值。因D值随温度的升高而降

低，故斜率为负数。为避免处理负值，故引进了E值的概念。

$$\text{令 } E = \frac{1}{\text{斜率}}, \text{ 取正值}$$

$$\text{则 } E = \frac{T_1 - T_2}{\log D_2 - \log D_1} \dots\dots (5)$$

故E值为D值降低一个对数值时所需温度的升高值<sup>(4)</sup>。D值从30分钟(D<sub>1</sub>)降到3分钟(D<sub>2</sub>)即为一个对数值。

在图3(半对数坐标图)中三条直线于D=1及温度121°C处相交。如E=10°C,则D值在110°C时为12.5分钟,而E=7°C时,直线的倾斜度增加,110°C的D值为36分钟,故E=7°C时,在110°C的致死率比E=10°C时为小。表明E值愈小,灭菌效力也小;E值愈大,对微生物的杀伤力愈好,同一微生物在不同介质中的E值也不相同(见表3)。

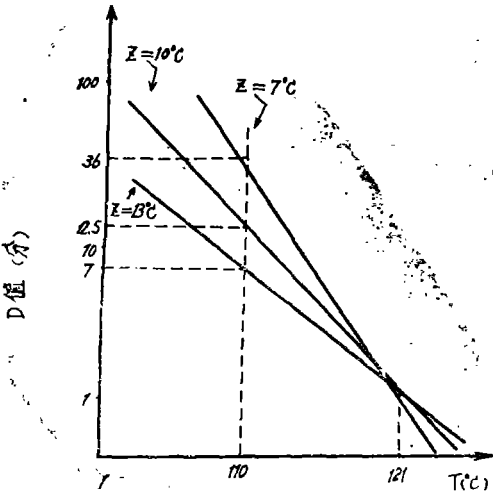


图3 不同E值时的耐热曲线及110°C时E值对D值的影响

表3 嗜热脂肪芽胞杆菌在不同介质中的E值

溶 液	E值(°C)
5%葡萄糖溶液	10.3
注射用水	8.4
5%葡萄糖乳酸林格氏液	11.3
pH 7 磷酸缓冲液	7.6

### 3. F 值

是在给定的E值(假设E=10°C)下,灭菌温度T产生与121°C 1分钟等效杀菌力所需的时间(分钟)。如果理想的灭菌温度为121°C,则方程式(5)变为:

$$E = \frac{121 - T_2}{\log D_2 - \log D_{121}} \dots\dots\dots (6)$$

整理之:

$$\log \frac{D_2}{D_{121}} = \frac{121 - T_2}{E}$$

$$\text{或 } \frac{D_2}{D_{121}} = 10^{\frac{121 - T}{E}} \dots\dots (7)$$

DT与FT成比例, ∴ D<sub>T</sub> = kF<sub>T</sub>, 式中k为微生物被杀灭的对数值,即log N<sub>0</sub> - log N<sub>t</sub>, 如微生物被杀灭一个对数值,则D<sub>T</sub> = F<sub>T</sub>

$$(7) \text{式变为: } \frac{F_T}{F_{121}} = 10^{\frac{121 - T}{E}} \dots\dots (8)$$

即表示在E=10°C时,灭菌温度T产生与121°C 1分钟相等致死率所必需延长或缩短的时间,同样,如果灭菌的时间相等,也可以从其倒数求得灭菌温度T时的致死率L<sup>(5)</sup>

$$\therefore L = 10^{\frac{T - 121}{E}} \dots\dots\dots (9)$$

例如灭菌温度为112°C, E=6.8°C, 则 L = 10 <sup>$\frac{112 - 121}{6.8}$</sup>  = 0.0475 (分)。表3表明E=10°C时,各种温度与121°C比较,对微生物致死率间的关系。表内110°C与121°C致死率的比较,其差别为:110°C 12.6分钟与121°C 1分钟产生的致死率相等(F值);或者说,在相同的灭菌时间内,110°C的致死率是121°C的7.9%(L值)。

### 4. F. 值

在E=10°C时,将不同灭菌温度换算成与121°C相等效力的当量灭菌值,此时药液所受的当量热力杀菌值用F.值表示(以分钟计)。F.值是T=121°C, E=10°C时的F<sub>T</sub>值。F.值的计算,是把各种灭菌温度下的致死率换算成121°C 1分钟的致死率,计算公

式如下<sup>16</sup>：

$$F_0 = \int_{0}^t 10^{\frac{T-121}{E}} dt \dots \dots \dots (10)$$

$$\text{或 } F_0 = \Delta t \sum 10^{\frac{T-121}{E}} = t \sum \Delta L \dots (11)$$

$\Delta t$  = 测量温度时的时间间隔

T = 每个 $\Delta t$ 时的灭菌温度

E = 10°C

(10) 式表示 $F_0$ 值为 $L \left( 10^{\frac{T-121}{E}} \right)$ 对t

表 4 不同灭菌温度与 121°C 灭菌效力间的关系 (E=10°C)

温 度 (°C)	$10^{\frac{T-121}{E}}$ (L值) [a]	$10^{\frac{T-121}{E}}$ (F值) [b]	温 度 (°C)	$10^{\frac{T-121}{E}}$ (L值) [a]	$10^{\frac{T-121}{E}}$ (F值) [b]
100	0.008	125.89	113	0.158	6.310
101	0.010	100.00	114	0.200	5.012
102	0.013	79.43	115	0.251	3.981
103	0.016	63.10	116	0.316	3.162
104	0.020	50.12	117	0.398	2.512
105	0.025	39.81	118	0.501	1.995
106	0.032	31.62	119	0.631	1.585
107	0.040	25.12	120	0.794	1.259
108	0.050	19.95	121	1.000	1.000
109	0.063	15.85	122	1.257	0.794
110	0.079	12.59	123	1.585	0.631
111	0.100	10.00	124	1.995	0.501
112	0.126	1.943	125	2.512	0.398

[a]L值：灭菌温度T的致死率（杀菌效力）与121°C产生的杀菌效力间的关系。

[b]F值：温度T与121°C 1分钟产生相同杀菌效力所需的时间。

表 5 灭菌过程中 $F_0$ 值的计算

时间(分) $\Delta t$	温度(°c) T	致死率 L	$\Delta tL$	累计致死 率值(分) $F_0$					
1	100	0.008	0.008	0.008	2	109	0.063	0.126	0.525
1	101	0.010	0.010	0.018	1	110	0.079	0.079	0.604
1	102	0.013	0.013	0.031	1	111	0.100	0.100	0.704
1	103	0.016	0.016	0.047	2	112	0.126	0.252	0.956
2	104	0.020	0.040	0.087	4	113	0.158	0.632	1.588
4	105	0.025	0.100	0.187	3	114	0.200	0.600	2.188
1	106	0.032	0.032	0.219	25	115	0.251	6.275	8.463
2	107	0.040	0.080	0.299	1	111	0.100	0.100	8.563
2	108	0.050	0.100	0.399	1	106	0.032	0.032	8.595
					1	102	0.013	0.013	8.608
					1	100	0.008	0.008	8.616

作图时的曲线下总面积，曲线下面积可用梯形法、求积仪或借助电子计算机加以计算。

(11) 式表示，在灭菌过程中，当按一定间隔时间用校准过的热电偶温度计测得药液的温度后，按表（4）中该温度的L值，累积计算出 $F_0$ 值（详见表5），表中 $F_0$ 值为8.616 > 8。

早先,一般认为 $F_T = KD_T$ , 常数K表明理想的致死率或芽孢杀灭对数值(即 $K = \log N_0 - \log N_t$ ); 因此 $F_0$ 值被定义为:

$$F_0 = D_{121} (\log N_0 - \log N_t) \dots (12)$$

已知 $D_{121}$ 是灭菌时抵抗微生物时最好的条件, 知道原物的细菌数( $N_0$ )及理想的灭菌水平(通常灭菌后的残存微生物数 $N_t = 10^{-6}$ )即可以计算达到此灭菌水平的 $F_0$ 值。例如, 如果5%葡萄糖液中的嗜热脂肪芽孢杆菌在121°C的D值为2.42分钟, 每瓶原物微生物污染200个芽孢, 理想的灭菌水平为 $1 \times 10^{-6}$ , 需要的 $F_0$ 值为:

$$F_0 = 2.42 (\log 200 - \log 10^{-6})$$

$$F_0 = 2.42 [2.31 - (-6)]$$

$$F_0 = 2.42 [8.31]$$

$$F_0 = 20.11 \text{ 分钟}$$

此 $F_0$ 值必须保证“最坏情况”的消毒作用。

可以采取两种预防措施以提高理想的灭菌水平。一种措施是在最后灭菌前所采取的步骤尽量减少污染、使初始微生物数达到最低限度, 充分清洗设备及包装, 溶液的过滤从开始到终端均采用灭菌操作技术, 使微生

物污染数降低到每单位10个或少于10个( $\log N_0 \leq 1$ )。另一种措施是延长灭菌周期, 增加50%或更大的安全因素, 以保证达到所给定的可能的灭菌程度, 例如, 如果灭菌周期产生一个 $F_0$ 值=8分钟, 则实际操作周期规定能产生12分钟的 $F_0$ 值的周期时间。

### 参 考 文 献

- [1] The United States Pharmacopeia, 20th Rev. p. 1037, 1980
- [2] Akers, M.J.; J. Parenter Drug Assoc., 33 (6) : 372, 1979
- [3] Molin, G.; Principles and practice of Disinfection, preservation and Sterilization, 2nd Ed, p. 454, 1982
- [4] Pflug, I.J.; "Heat sterilization" in Industrial sterilization, P. 255, 1973
- [5] Korczynski, M.S.; J. Parenter Drug Assoc., 34 (4) : 277, 1980
- [6] Pflug, I.J. et al; "Principles of thermal destruction of microorganisms", in Disinfection, sterilization, and preservation, p. 933~994, 1977

## 药物的结晶状态及其在药学上的应用 (一)

福州军医学校 贺金山

药物的结晶现象、晶型的变化对药品的质量与临床疗效的影响, 从50年代末才引起医药学界的注意。随着现代科学技术的飞跃发展, 大量科研成果的应用, 药物晶型的研究已成了药学领域蓬勃发展的新兴课题之一。60年代以来, 国内外研究进展很快<sup>(1-5)</sup>。70年代后, 为了控制药品质量, 保证临床疗效, 晶型鉴定已作为某些药品的法定标准而载入药典。1970年, 美国《国家药方集》(NFX III) 最先增添X-射线衍射法, 并载有个别药物多晶型的X-射线衍射图谱。1975

年, USP XIX版则正式在通则中列入X-射线衍射法。1980年, USP XX版在鉴定应用上又增加了一些药物品种。K. Florey所编辑的药物分析数据汇编的各卷中, 几乎所有的药物都有X-射线衍射的数据。另外国外的产品指出需要那一种晶型的药物。英国1977年版《本特利药剂学》教科书中已新增了药物多晶型一章; 苏联于1981年出版了《药物多晶型》专著; 在日本有些医院药房也开展了这方面工作。1980年上海药品标准对氯霉素的晶型作了规定; 1985年版中国药