

# 冷冻干燥技术及其在中药研究中的应用

闫家福<sup>1,2</sup>, 全燕<sup>1\*</sup>, 王锦玉<sup>1</sup>, 张锴镔<sup>3</sup>, 马振山<sup>1</sup>, 王琳<sup>1</sup>, 王智民<sup>1</sup>

(1. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700;

2. 江西中医学院, 江西 南昌 330004; 3. 北京振东光明药物研究院, 北京 100011)

[摘要] 对冷冻干燥技术的原理及特点进行了介绍, 详细分析了干燥过程的技术指标及干燥后产品的质量评价, 最后对冻干技术在中药领域中的应用进行了综述。

[关键词] 冷冻干燥; 原理特点; 技术指标; 质量评价; 中药应用

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2006)12-0065-05

## Freeze-Drying and Its Application in Traditional Chinese Medicine Researches

YAN Jiafu<sup>1,2</sup>, TONG Yan<sup>1\*</sup>, WANG Jin-yu<sup>1</sup>, ZHANG Kai-bin<sup>3</sup>, MA Zhen-shan<sup>1</sup>, WANG Lin<sup>1</sup>, WANG Zhi-min<sup>1</sup>

(1. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medicinal Sciences, Beijing 100700, China;

2. Jiangxi College of TCM, Nanchang 330004, China;

3. Beijing Zhendong Guangming Research Institute of Medicine, Beijing 100011, China)

[Abstract] This paper introduced the principle and characteristics of freeze-drying, and analyzed the influence factors of drying process and the quality evaluation of the dried product. Finally, this paper reviewed the application of freeze-drying in the TCM.

[Key words] freeze-drying; principle and characteristics; specification; quality evaluation; application in TCM

冷冻干燥(Freeze-Drying)全名为真空冷冻干燥(Vacuum Freeze Drying),简称冻干,又名升华干燥(Drying by Sublimation),是将被干燥液体物料冷冻成固体,在低温减压条件下利用冰的升华性能,使物料低温脱水而达到干燥目的的一种方法<sup>[1]</sup>。冷冻干燥是一门综合性专业技术,属于边缘学科,涉及到物理学、化学、生物学等知识,包括机械、制冷、真空、电工、电子、仪表等技术。

### 1 冻干技术原理及其特点

**1.1 冻干技术原理** 冷冻干燥的机理就是将需干燥的物料在低温下先行冻结至其共熔点以下,使物料中的水分变成固态的冰,然后在适当的真空环境下,通过加热,使冰直接升华为水蒸气而除去,从而获得干燥的制品。

**1.2 冻干技术特点** 冻干是一种使物料在低温低压下脱水的干燥工艺,与其他干燥方法相比,具有药品不变质、易长期储存、药剂定量准确、脱水彻底、易复水再生、易进行无菌操作、利于热敏性药物保持活性、挥发成分损失少等优点<sup>[2-4]</sup>;但也存在设备要求高、投资大、干燥速率低、时间长、能耗高、产品成本高等缺点和不足<sup>[5]</sup>。

### 2 冻干过程的技术指标

**2.1 产品的预冻** 预冻主要为了固定产品,形成有利于升华的结晶,保证全部产品获得相同细微结构。预冻不仅影响干燥速率,而且影响冻干产品质量。因此在冻结过程中必须考虑配方、冻结速率、冻结方式、冻结时间以及是否退火等问题。

**2.1.1 配方的影响** 如果配方中固体含量太少,冻干药品结构的机械性能不稳定,外观可能会塌陷。尤其在干燥过程中,药品微粒不能粘在基质上,逸出的水蒸气会把这些微粒带到小瓶的塞子上,甚至会

[收稿日期] 2006-07-04

[通讯作者] \* 全燕, Tel: (010) 84027721

带到真空室中<sup>[6]</sup>。若用量太多,除增加成本外,还会影响到配制过程,如溶解度问题、冻干后的复溶等。为获得均匀一致、表面光滑、稳定的产品,配方中须有填充剂、赋形剂、稳定剂等保护剂,文献<sup>[7-9]</sup>对不同的保护剂进行了详尽的研究。

**2.1.2 冻结方式的影响** 冻结方式不同,产生的冰晶形态大小不同,干燥速率也不同。冻结分为全域过冷结晶和定向结晶两类<sup>[10]</sup>,全域过冷结晶指全部药液处于相同或相近的过冷度下进行冻结的方式,分慢速冻结(制品每分钟降温 1 °C)和快速冻结(制品每分钟降温 10~15 °C)<sup>[11]</sup>。速冻的冰晶细小,没有冻结浓缩现象,但升华阻力大,存在不完全冻结现象。而慢冻晶格较大,存在冻结浓缩的现象<sup>[12]</sup>。定向结晶指一小部分药液处于过冷状态下进行冻结的方式。Thomas<sup>[13]</sup>将溶液用湿冰冷却,瓶底用干冰冷却,形成晶核,然后放到-50 °C的搁板上冻结得到了表面无冻结浓缩层,结构均一的样品。Martin<sup>[14]</sup>在真空为 0.1 kPa,搁板温度为+10 °C的条件下,让溶液开始表面冻结,形成 1~3 mm 的冰晶薄层。然后解除真空,降低搁板温度到结晶温度以下进行冻结,同样实现了定向冻结。实验证明,定向结晶冻结的干燥速率比全域过冷结晶的快。

**2.1.3 预冻速率的影响** 预冻过程产生的机械效应和溶质效应会对生物细胞产生一定的破坏作用并引起生化药品失活或变性<sup>[15]</sup>。对这种现象可采用下列措施解决:①预冻采用速冻法,先将搁板温度降至-45 °C,再放入产品急速冷冻,形成细微冰晶,使其来不及产生机械效应和溶质效应。②缓冲液要选用溶解度相当的缓冲配对盐。③加入产品保护剂<sup>[16,17]</sup>。实验证明,快速冻结导致升华速率低,解吸速率快;慢速冻结导致升华速率快,解吸速率慢<sup>[18]</sup>。

**2.1.4 最低冻结温度的影响** 最低冻结温度和所冻样品的共熔点有关,安全的冻结温度低于共熔点 10 °C 左右。若温度太低,则会造成能源浪费。

**2.1.5 冻结时间的影响** 适宜的冻结时间可以确保抽真空之前所有的产品都能冻实,避免因抽真空而喷瓶。由于物体的传热先表后里,冻干箱内的产品存在一定的温度梯度,因此需要相应的保温时间和改善传热效率来缩小温差。

**2.1.6 退火** 退火是指把冻结药品升温接近共熔点,保温一段时间,再降低到冻结温度的过程<sup>[19]</sup>。增加退火的原因:①强化结晶<sup>[20]</sup>。在冻结特别是快

速冻结过程中,配方中结晶成分往来不及完全结晶,冻结浓缩液中还会有一部分水达不到最大浓缩状态。当退火的温度高于配方的最大浓缩玻璃化转变温度  $T_g'$  时,会促进再结晶的形成使结晶成分和未冻结水结晶完全<sup>[21,22]</sup>。②提高非晶相的最大浓缩液玻璃化转变温度。从非晶相中除去  $T_g'$  较低的结晶成分,能够提高非晶相的  $T_g'$ 。Barry<sup>[23]</sup>在研究非晶态碳水化合物水合物结晶规律时发现,经过退火之后的海藻糖干燥溶液的  $T_g'$  由 31 °C 上升到 79 °C,大大提高了稳定作用。③改变冰晶形态和大小分布,提高干燥效率。James<sup>[21]</sup>认为不同成核温度产生不同的冰晶形态和粒径大小,继而导致升华干燥的速率不均匀。而一个过程中的干燥速率是由最慢的干燥药品确定的,因此不均匀的干燥速率会影响药品质量和生产经济性。退火过程中的相行为和重结晶可以减小由于成核温度差异造成的冰晶尺寸差异及干燥速率的不均匀性,提高干燥效率和药品均匀性。但由于目前实验手段不够先进和理论知识缺乏,退火机理尚有疑问,加热速率、退火温度、退火时间等参数的选取还没有依据。

**2.2 升华干燥的干燥特性及干燥结束的判断方式**<sup>[24]</sup>

**2.2.1 升华干燥的干燥特性** 升华从物料表面开始到物料内部,水蒸气必经过已干物料表层,所以干燥过程的快慢不仅依赖于冰物料所必需的升华热,而且依赖于整个冻干系统水蒸气的传递和排出速率。干燥过程中升华所需的热量以对流、传导及辐射的方式提供,干燥箱内的压力随着温度变化而变化<sup>[25]</sup>。在升华进行一段时间后,物料表面不再需要升华热,需要热量的是物料的冰核心层。冰核心随着升华的进行而缩小,最后缩小至物料中心。由于干层的导热能力差,可能使干燥过程局部热传递不畅,导致物料干层温度升高,所以必须使提供给冰核心表层的热量与其升华所需的热量保持平衡,避免因升华面的任何过热使物料损坏。

**2.2.2 升华时温度的限制** 产品升华主要受下列几种温度限制:①产品冻结部分的温度应低于产品共熔点;②产品干燥部分的温度必须低于其崩解温度<sup>[26]</sup>或容许的最高温度(不烧焦或变形);③最高搁板温度<sup>[27]</sup>。

**2.2.3 升华干燥结束判断方法** ①使用温度传感器监测物料温度以判断物料中的冰是否全部升华;

②压力升判定法; ③目测法即视窗观察升华交界面;  
④冷凝器温度下降至升华前的状态; ⑤冻干箱的压力下降至接近冷凝器的压力<sup>[28]</sup>。

### 2.3 解析干燥的干燥特性及干后处理

**2.3.1 解析干燥的干燥特性** 升华干燥结束后, 物料中还存有约10%的结合水。要除去结合水, 必须增大温度梯度, 克服水的结合力。同时严格控制热量输入, 防止产品过干。

**2.3.2 判断冻干物料干燥程度的经验** 关闭冻干箱与冷凝器之间的真空阀, 观察在1 min内, 冻干箱内压力的回升情况(箱体没有泄漏), 如果压力没有明显的升高, 则可以结束冻干。一般关闭1 min压力上升< 1 Pa, 残余水分约在1~2%之间<sup>[29]</sup>。

**2.3.3 干后处理** 因干燥产品表面积大, 极易吸潮, 所以解析干燥结束后的干后处理非常重要。干燥产品在出箱前必须迅速封口或加塞, 这一过程需在真空或特定气体的环境下进行, 具体的应用方法根据产品种类的不同而异。特别在放空干燥箱时最好先将干燥的氮气或惰性气体充入箱内, 而不能将高湿度的空气直接放入。

**2.4 冻干曲线<sup>[30,31]</sup>** 冻干曲线是冻干箱板温与时间之间的关系曲线。一般以温度为纵坐标, 时间为横坐标, 还可以有产品温度、冷凝器温度、真空度曲线。根据冻干产品的不同性质、冻干机的不同性能, 制订出适宜的冻干曲线, 既是手工操作冻干机的依据, 也是全自动控制冻干机操作的依据。冻干曲线的制定应主要确定以下参数: 预冻速率、预冻温度、预冻时间、水汽凝结器的降温时间与温度、升华速率和干燥时间、共熔点的测试等。其中预冻速率的快慢, 对产品冻结中晶粒大小、活菌的存活率和升华速度均有直接影响。慢冻冰晶粒大, 产品外观粗糙, 不易损伤活菌, 速冻则相反<sup>[32]</sup>。共熔点测定方法主要有: 电阻检测法、差热分析扫描法、低温显微镜直接观察法、数学公式理论推算法等。其中电阻检测法方便易行, 是目前应用最多的一种<sup>[33]</sup>。

## 3 冻干的质量评价

不同制品有不同的质量要求, 例如外观、复水性、含水率、pH值、有效成分含量、稳定性等。若是将药品制成毫微粒冻干粉还需要考察其再分散性、形态、粒径、包封率、载药量、体外释药特性等。

**3.1 外观** 理想的冻干产品外形应不塌陷, 不皱缩、表面光洁, 保持冻干体积不变, 形成海绵状团块

结构。可整块脱落但不散碎为佳, 色泽应均匀, 无花斑, 质地细腻。

**3.2 含水率** 含水量视产品种类的要求而定, 一般控制在1~5%之间。残留水分过多, 则为细菌提供了生长繁殖的条件而发生腐败, 生化活性物质易失活, 降低稳定性。含水率太低, 对于生物制品来说会因细胞中结合水被抽出, 使细胞破裂, 细胞质浓缩而干萎死亡。

**3.3 稳定性** 冻干制品的稳定性可采用差示热分析、差示热扫描、热重法等方法。如翁幼武等<sup>[34]</sup>采用差示热分析法对去氢骆驼蓬碱明胶微球的热解稳定性进行了探讨。

**3.4 热原检查** 药典规定中药注射剂的热原检查应采用家兔实验法, 冯文军等<sup>[35]</sup>通过与家兔实验法对比, 证实了鲎试验法在丹参粉针剂细菌内毒素检查中的可行性。苟虹等<sup>[36]</sup>对参麦冻干粉针剂中细菌内毒素检查干扰试验进行了研究, 也说明了细菌内毒素检查法(BET)的可行性。

## 4 冻干技术在中药领域中的应用

**4.1 在中药材中的应用** 中药在炮制加工过程中, 植物蛋白、挥发油等有效成分会受到破坏。中药饮片易受运输、仓储、保存等因素的影响而降低临床疗效, 进而使以饮片为原材料的中成药的质量受到制约。由于真空冷冻干燥制品能良好地保存加工原料的营养保健成份以及色、香、味、形, 故其在人参、西洋参、冬虫夏草、山药、枸杞、鹿茸等中药材中得到了广泛应用。

**4.2 在中药半成品中的应用** 中药提取液的浓缩方法目前多采用真空低温浓缩技术及薄膜蒸发浓缩技术, 以减少有效成分的损失。而浓缩液的干燥也多选择冷冻干燥方法, 尤其在对照品的干燥上应用较广。

**4.3 在中成药中的应用** 随着中药现代化的发展, 冻干技术已被广泛应用于植物药现代化剂型的研究和开发。很多临床治疗效果良好的中药注射剂因其不稳定性, 临床应用受到局限并且储藏和运输不便。而将其制成冻干粉针后, 稳定性大大增强, 所得产品具备冻干制品的各种优点。唐岚等<sup>[37]</sup>对参附青注射液进行了冻干研究, 结果参附青冻干粉针成型性、水溶性好, 较注射液稳定。因此中药水针改粉针已成为近年来剂型改制的热点, 特别对于需静脉注射但在水中不稳定的复方或单体中药来说, 冻干粉针

的研制和应用使很多问题迎刃而解。同时,冻干技术也是制备各种脂质体、毫微粒、纳米乳的常用方法。

**4.4 发展前景** 中药是中华民族宝贵遗产,已经和正在为维护我们民族的健康昌盛发挥重要作用。中药的炮制有其独特的工艺,冻干工艺的出现又为传统中药的炮制提供了一种新的现代化的技术手段。中药注射用粉针剂在临床上也日益发挥出优势作用,它也是中药产业发展和中药现代化的方向之一。冻干脂质体既可单独制备、储存,又可有效地延长药品在体内的作用时间,降低药品的毒副作用,提高药品在体内的有效生物利用度。因此,冻干技术又使脂质体原有作为药物载体的优点进一步扩大,也为药物研发开辟了一个崭新的空间<sup>[38]</sup>。总之,真空冷冻干燥作为一种新兴的技术手段,在中药的研究和开发上必然有着广阔而美好的前景。

#### [参考文献]

[1] 范碧亭. 中药药剂学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1998. 138.

[2] 李艳萍. 冻干技术研究进展[J]. 微生物学免疫学进展, 1994, 22(4): 48.

[3] 贺素艳, 李云飞. 冻干工艺中升华结束点和残余水分测量方法简述[J]. 真空与低温, 2002, 8(3): 135.

[4] 谭涛, 刘景俊. 如何减少冻干粉针制品中的萎缩不良品[J]. 齐鲁药事, 2005, 24(8): 489.

[5] 于志江, 陈旭, 欧阳藩. 冷冻干燥技术在基因工程药物中的应用[J]. 生物加工过程, 2005, 3(2): 59.

[6] Hanna Willemer. Experimental freeze-drying: procedures and equipment [A]. Rey L, May J C (Eds.). FreezeDrying/Lyophilization of Pharmaceutical and Biological Products[J]. New York: Marcel Dekker, 1999, 96: 79-122.

[7] Ken-ichi Izutsu, Shigeo Kojima. freeze concentration separates protein and polymer excipients into different amorphous phase [J]. Pharm. Res., 2000, 17(10): 1316-1322.

[8] Abira Pyne, Rahul Surana, Raj Suryanarayanan. Crystallization of mannitol below Tg' during freeze-drying in binary and ternary aqueous [J]. Pharm. Res., 2002, 19(6): 901-908.

[9] 刘占杰, 华泽钊, 陶乐仁, 等. 不同保护剂浓度和不同降温速率对脂质体玻璃化转变温度的影响[J]. 低温工程, 2000, (6): 1-5.

[10] James A Searles, John F Carpenter, Theodore W Randolph. The ice nucleation temperature determines the primary drying

rate of lyophilization for samples frozen on a temperature-controlled shelf [J]. J. Pharm. Sci., 2001, 90(2): 860-871.

[11] 李京平. 消除冻干过程中的异常现象 有效发挥冻干机制效能[J]. 制药机械, 2004, (4): 19-21.

[12] Louis Rey. Glimpse into the realm of Freeze-Drying: Classical issues and new ventures [A]. Rey L, May J C (Eds.). Freeze-Drying/Lyophilization of Pharmaceutical and Biological products [C]. New York: Marcel Dekker. 1999, 96: 1-30.

[13] Thomas W Patapoff, David E Overcashier. The Importance of freezing on lyophilization cycle development [J]. Biopharm., 2002, (3): 16-21.

[14] Martin Kramer, Bernd Sennhenn, Geoffrey Lee. Freeze-drying using vacuum induced surface freezing [J]. J. Pharm. Sci., 2002, 91(2): 433-443.

[15] W L J Hinrichs, M G Prinsen, H W Frijlink. Inulin Glasses for the stabilization of therapeutic proteins [J]. Int. J. Pharm., 2001, 215: 163-174.

[16] 郑国爱. 生化药品冷冻干燥技术的探讨 [J]. 广东药学, 1999, 9(1): 19.

[17] 郭玺权, 李宁, 陈宁. 冻干制剂工艺的探索 [J]. 药学进展, 1999, 23(4): 234-236.

[18] M Kochs, Ch Korber, B Nunner, Heschel. The Influence of the freezing process on vapour transport during sublimation in vacuum freeze-drying [J]. Int. J. Heat Mass Transfer., 1991, 34(9): 2395-2408.

[19] 陈光明. 蛋白质药品冷冻干燥技术研究进展 [J]. 制冷空调与电力机械, 2003, 24(2): 2-4.

[20] Wei Wang. Lyophilization and development of solid Protein pharmaceuticals [J]. Int. J. Pharm., 2000, 203: 1-60.

[21] James A. Searles. John F Carpenter. Theodore W Randolph. Annealing to optimize the primary drying rate, reduce freeze-induced drying rate heterogeneity, and determine Tg' in pharmaceutical lyophilization [J]. J. Pharm. Sci., 2001, 90(2): 872-887.

[22] Nathaniel Milton, Steven L Nail, Michael J Akers. The crystallization kinetics of glycine hydrochloride from 'frozen solution' [J]. Cryo-Letters, 1997, 18: 335-342.

[23] Barry J Aldous, Anthony D Auffret, Felix Franks. The crystallization of hydrates from amorphous carbohydrates [J]. Cryo-Letters, 1995, 16: 181-186.

[24] 鲍明慧, 宋爱刚, 牟希全. 冻干技术及其在药品生产中的应用 [J]. 化工装备技术, 2002, 23(6): 7.

[25] 孟涛, 周华, 张业勇, 等. 生物制品冻干技术的进展 [J]. 中国生物制品学杂志, 2003, 16(4): 253.

[26] 曹永梅, 张颢, 许时婴. 保护剂在冷冻干燥双歧杆菌中的应用 [J]. 食品与微生物发酵, 2000, 26(2): 40-45.

- [27] 姚祖华, 李亦德. 生态制品的冻干及保护剂的应用[J]. 中国微生态杂志, 1997, 9(6): 48-49.
- [28] 曾军. 冷冻干燥的设备性能选择以及配方研究、冻干工艺经验[J]. 海峡药学, 2001, 13(1): 100.
- [29] 黄诚, 杨小兵, 孙宁, 等. 冻干原理与技术[J]. 工业科技, 2003, 32(6): 46.
- [30] 周永安. 冻干机测量与控制系统的的设计分析[J]. 真空, 1999, 3: 21-22.
- [31] 赵新先主编. 中药注射剂学[M]. 广州: 广东科技出版社, 2000, 261.
- [32] 赵鹤皋. 食品的冷冻干燥及其经济效益分析[J]. 食品科学, 1995, 16(3): 63-66.
- [33] 赵鹤皋, 林秀成. 冷冻干燥技术[M]. 广州: 华中理工大学出版社, 1990.
- [34] 翁幼武, 李岩, 孙殿甲. 去氢骆驼蓬碱明胶微球药物含量及热解稳定性研究[J]. 中国药房, 2003, 14(1): 15.
- [35] 冯文军, 张瑞芬, 陈亚强, 等. 丹参粉针剂的细菌内毒素检查方法研究[J]. 中医药信息, 2002, 19(2): 61.
- [36] 苟虹, 程一帆. 参麦冻干粉针剂中细菌内毒素检查干扰试验[J]. 中草药, 2004, 35(3): 266-268.
- [37] 唐岚, 刘力, 徐德生. 参附青冻干粉针成型工艺研究[J]. 中成药, 2005, 27(5): 512-514.
- [38] 蔡明志, 王昆, 黄复生. 温度对冻干脂质体物理化学稳定性的影响研究[J]. 第三军医大学学报, 2004, 26(6): 552-554.