

冷冻干燥参数对塌陷温度的影响分析*

左建国 李维仲 翁林崇

(大连理工大学能源与动力工程学院, 大连 116024)

【摘要】 利用冻干显微镜研究了溶液冷冻干燥过程中降温速率、升华压力、溶液质量分数对干燥层塌陷温度 T_c 的影响,采用差示扫描量热法测量了溶液的玻璃化转变温度 T'_g 。实验结果表明,对于10%蔗糖/水二元溶液,降温速率虽然能改变冰晶大小,但对塌陷温度没有明显的影响。而对于10%叔丁醇/10%蔗糖/水三元溶液, T'_g 和 T_c 均随降温速率增大而显著降低。压力对塌陷温度影响不大。溶液质量分数不同,塌陷温度略有变化。

关键词: 冷冻干燥 塌陷温度 冻干显微镜 玻璃化转变 差示扫描量热法

中图分类号: TQ028.6⁺3 文献标识码: A 文章编号: 1000-1298(2011)02-0126-04

Effect of Freeze-drying Factors on Collapse Temperature

Zuo Jianguo Li Weizhong Weng Lindong

(School of Energy and Power Engineering, Dalian University of Technology, Dalian 116024, China)

Abstract

Freeze-drying microscopy was used to investigate the effect of freezing rate, pressure and mass fraction on the collapse temperature (T_c) during freeze-drying of aqueous solutions, and differential scanning calorimetry was used to investigate the glass transition temperature (T'_g) of the maximally freeze concentrated solution. The experimental results showed that for 10% sucrose/water binary solution, the freezing rate had little effect on T_c although it could affect the size of ice crystals. For 10% tertiary butyl alcohol/10% sucrose/water ternary solution, both T'_g and T_c decreased with the increase of freezing rate. Few variations in collapse temperatures could be expected when varying the pressure. For sucrose aqueous solutions at different mass fractions (5% ~ 25%), the variation of collapse temperature was less than 1℃.

Key words Freeze-drying, Collapse temperature, Freeze-drying microscopy, Glass transition, Differential scanning calorimetry

引言

冷冻干燥目前广泛用于生物制品的保存^[1~4]。但是存在升华干燥速率低、整个冻干过程时间长、能耗大等不足,因此优化和改进冻干过程是当前面临的重要问题^[5]。干燥过程中应尽量提高样品温度,因为样品温度每升高1℃,升华干燥时间将缩短13%^[6]。大多数生物制品降温时发生玻璃化转变,干燥过程中样品温度过高会引起塌陷,进而导致干燥层的多孔结构丧失、残余水分增多、复水时间延

长,更严重的将导致生物制品活性丧失^[7]。因此,塌陷温度在冻干过程中是一个非常重要的参数。塌陷与许多因素有关,既有材料本身物性参数的影响又有加工参数的影响。然而,目前冻干文献中报道的绝大多数都是关于玻璃化转变温度 T'_g 的数据^[8~10],关于塌陷温度 T_c 的数据很少,尤其是冻干参数的改变对塌陷温度的影响。玻璃化转变温度与塌陷温度的测试环境不同,前者通常是在封闭环境下测得的;而后者是在真正的冷冻干燥过程中测得的,更能真实地反映产品特性。因此,本文利用冻干

收稿日期: 2010-04-30 修回日期: 2010-05-31

* 国家自然科学基金资助项目(50736001)和辽宁省科学技术基金资助项目(2007010124)

作者简介: 左建国,副教授,主要从事冷冻干燥和传热传质研究, E-mail: jgzuo@dlut.edu.cn

显微镜研究蔗糖水溶液的冷冻干燥特性和塌陷行为,着重分析降温速率、压力和溶液质量分数对塌陷温度的影响。

1 材料和方法

实验中蔗糖为分析纯试剂(国药集团化学试剂有限公司),叔丁醇为色谱试剂(美国 Tedia 公司)。溶液组成均以质量分数表示。

差示扫描量热仪为功率补偿型(Diamond DSC, PerkinElmer),冷却方式为机械制冷(Intracooler II, PerkinElmer),样品冲洗气体为高纯度氮气(纯度大于 99.999%),流量 20 mL/min 并保持不变。温度标定采用正癸烷和铟(熔点分别为 -29.66℃ 和 156.60℃)。样品皿为标准液体铝皿,用液体压片机压制。样品质量取 5 mg 左右,精确到 0.1 mg。在参比侧放置与样品皿相同的空皿。如果没有特殊说明,样品均以 10℃/min 从 25℃ 降温至 -50℃,等温 5 min,然后以 10℃/min 升温至 25℃。在升温扫描时读取数据,玻璃化转变温度 T_g' 取半比热外推温度(half cp extrapolated)。每个实验重复 3 次,取平均值。

塌陷温度的测量采用冻干显微镜(FDCS196, Linkam),配有液氮冷却系统(LNP94/2)、可编程温度控制器(TMS94V)和真空泵(E2M1.5, Edwards)。加热和冷却速率可控制在 0.01 ~ 130℃/min,压力最低可达 0.5 Pa。温度标定采用氯化镁、氯化钠和氯化钾(共晶熔融温度分别为 -33.6℃、-21.1℃ 和 -11.1℃)。如果没有特殊说明,样品均以 10℃/min 从 25℃ 降温至玻璃化转变温度以下,抽真空,使压力保持在 1 Pa,然后以 0.5℃/min 升温。由于玻璃体发生粘性流动是一个过程,所以升温速率会对塌陷温度的测量产生很大影响。但是据国外一些学者的实验研究以及本研究先前的测试结果,0.1 ~ 0.5℃/min 之间的升温速率对塌陷温度的测量结果影响很小。图像采集使用彩色高敏感度冷 CCD(Retiga 2000R, QImaging)。本文中的塌陷温度 T_c 均取样品结构局部丧失时的温度^[11]。每个实验重复 3 次,取平均值。

2 结果与讨论

2.1 降温速率

差示扫描量热实验表明,对于 10% 蔗糖/水二元溶液,降温速率对玻璃化转变温度的影响很小, T_g' 保持不变,为 -32.6℃,如表 1 所示。冻干显微实验表明,降温速率能够改变冰晶大小,采用 1℃/min 降温时的冰晶要比 10℃/min 降温时粗大一些(图 1),但塌陷温度均为 -31.1℃。

然而对于 10% 叔丁醇/10% 蔗糖/水三元溶液,情况却有所不同。1℃/min 降温时, T_g' 和 T_c 分别为 -34.9℃ 和 -33.2℃。10℃/min 降温时, T_g' 明显下降,为 -42℃,升温时在 -30℃ 还发生反玻璃化结晶,表明快速降温时叔丁醇结晶不充分^[10]。相应地, T_c 也下降到 -35.4℃,与 T_g' 相差 6.6℃,此时如果以 T_g' 作为升华干燥时的临界温度,则会大大降低干燥速率。

通常认为,冻干过程中,慢冻会形成粗大冰晶,升华时传质阻力小,干燥速率大,因而塌陷温度升高。但本实验结果表明,对于降温时充分结晶的物料,塌陷温度不受降温速率的影响,这可能是由于冰晶大小所引起的升华速率的变化很小,不足以对塌陷温度产生影响。但是,当降温速率增大,导致结晶不充分时,塌陷温度则会大大降低。

表 1 溶液的玻璃化转变温度 T_g' 和塌陷温度 T_c
Tab. 1 T_g' and T_c of solutions

样品	降温速率 /℃·min ⁻¹	T_g' /℃	T_c /℃
10% 蔗糖/水	1	-32.6	-31.1
	10	-32.6	-31.1
10% 叔丁醇/10% 蔗糖/水	1	-34.9	-33.2
	10	-42.0	-35.4

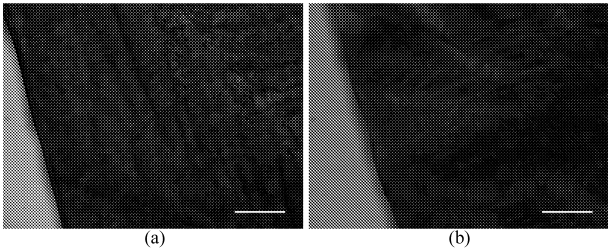


图 1 降温速率对 10% 蔗糖水溶液冰晶形态的影响
(标尺:100 μm)

Fig. 1 Effect of freezing rate on the ice crystal of 10% sucrose aqueous solution (scale: 100 μm)
(a) 1℃/min (b) 10℃/min

2.2 压力

压力是冷冻干燥中的一个重要加工参数,它影响着干燥过程中的热质传递。压力过高促进传热但不利于传质,压力过低促进传质但不利于传热。冷冻干燥过程中,压力一般控制在 30 Pa 以下。样品不同,冷冻干燥时采用的压力也有所不同。然而对于冻干显微系统,由于样品与冷台面之间不存在空气层,因此压力只影响传质而不影响台面向样品传热。

为了研究压力对塌陷温度的影响,对于 10% 蔗糖水溶液,分别采用不同的升华压力,结果如表 2 所

示。从表中可以看出,压力在 0.5 ~ 100 Pa 范围内变化时,塌陷温度变化很小。考虑到测量误差,可以认为压力对塌陷温度没有影响。

表 2 压力对 10% 蔗糖水溶液塌陷温度 T_c 的影响
Tab.2 Effect of pressure on the collapse temperature T_c for 10% sucrose aqueous solution

压力/Pa	0.5	1	2	5	10	100
$T_c/^\circ\text{C}$	-31.1	-31.1	-30.8	-31.1	-31.1	-31.2

2.3 溶液质量分数

冻干溶液通常为低质量分数溶液,Knopp 等^[12]通过实验发现 5% 和 10% 蔗糖溶液的塌陷温度相同,均为 -37.7℃。然而,Meister 等^[13]认为,随着溶液质量分数增大,塌陷温度将明显增大。为了研究质量分数变化对塌陷温度的影响,本文测量了 5%、10%、15%、20%、25% 蔗糖/水二元溶液的塌陷温度,如图 2 所示。由图可知,当质量分数小于 15% 时,塌陷温度随着质量分数的增大而增大。5% 和 10% 蔗糖溶液的塌陷温度分别为 -31.6℃ 和 -31.1℃,大大高于 Knopp 测量值。15% 蔗糖溶液

的塌陷温度为 -30.5℃,之后随着质量分数增大,塌陷温度先减小之后又增大。另外,随着蔗糖溶液质量分数增大,冰晶逐渐减小。图 3 为 25% 蔗糖水溶液的冻干图像,与图 1b 相比,冻结区的冰晶更加细小,因此升华界面也更加明显。-33.6℃ 时,干燥区和冻结区结构都保持完好,没有塌陷发生(图 3a);当样品温度升高到 -30.6℃ 时,干燥区贴近升华界面处发生微塌陷,局部出现了小的孔洞(图 3b);随着温度不断升高,孔洞逐渐变大,并连成一片,当温度升高到 -29.4℃ 时,干燥区靠近升华界面处整体都发生了塌陷(图 3c)。

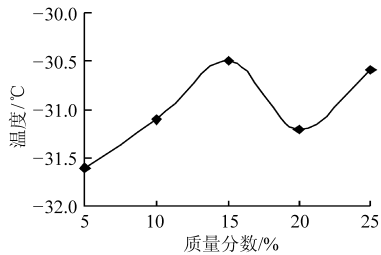


图 2 蔗糖水溶液质量分数对塌陷温度的影响
Fig.2 Effect of mass fraction of sucrose aqueous solution on the collapse temperature

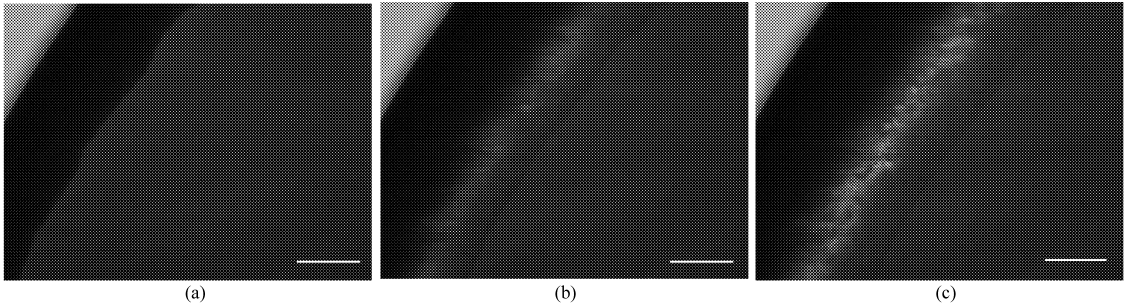


图 3 25% 蔗糖水溶液的冻干显微图像(标尺:100 μm)
Fig.3 Microscopic observations of freeze-drying of 25% sucrose aqueous solution (scale: 100 μm)
(a) -33.6℃ (b) -30.6℃ (c) -29.4℃

3 结束语

塌陷温度与玻璃化转变温度不同。对于 10% 蔗糖/水二元溶液,塌陷温度 T_c 比玻璃化转变温度 T'_g 高出 1.5℃,降温速率虽然会改变冰晶大小,但对塌陷温度没有明显的影响;而对于 10% 叔丁醇/

10% 蔗糖/水三元溶液,快速降温会导致结晶不充分,塌陷温度大大降低。在冷冻干燥常用的压力范围内,升华压力对塌陷温度的影响可以忽略。对于低质量分数的蔗糖水溶液,质量分数不同,塌陷温度略有变化。质量分数在 5% ~ 25% 之间时,塌陷温度变化在 1℃ 范围内。

参 考 文 献

1 Rey L, May J C. Freeze-drying/lyophilization of pharmaceutical and biological products [M]. New York: Marcel Dekker, Inc., 2004: 2 ~ 4.
2 Reinisalo M, Urtti A, Honkakoski P. Freeze-drying of cationic polymer DNA complexes enables their long-term storage and reverse transfection of post-mitotic cells[J]. Journal of Controlled Release, 2006, 110(2): 437 ~ 443.
3 Heikal A, Box K, Rothnie A, et al. The stabilisation of purified, reconstituted P-glycoprotein by freeze drying with disaccharides [J]. Cryobiology, 2009, 58 (1): 37 ~ 44.
4 Anhorn M G, Mahler H C, Langer K. Freeze drying of human serum albumin (HSA) nanoparticles with different excipients [J]. International Journal of Pharmaceutics, 2008, 363 (1 ~ 2): 162 ~ 169.

- 5 Frank F. Effective freeze-drying;a combination of physics, chemistry, engineering and economics [C] // Proceedings of the Institute of Refrigeration, 1994, 91: 32 ~ 39.
 - 6 Pikal M J. Use of laboratory data in freeze drying process design: heat and mass transfer coefficients and the computer simulation of freeze drying [J]. Journal of Parenteral Science and Technology, 1985, 39(3): 115 ~ 138.
 - 7 Carpenter J F, Pikal M J, Chang B S, et al. Rational design of stable lyophilized protein formulations: some practical advice [J]. Pharmaceutical Research, 1997, 14(8): 969 ~ 975.
 - 8 Duddu S P, Dal Monte P R. Effect of glass transition temperature on the stability of lyophilized formulations containing a chimeric therapeutic monoclonal antibody [J]. Pharmaceutical Research, 1997, 14(5): 591 ~ 595.
 - 9 Hutchinson J M. Studying the glass transition by DSC and TMDSC[J]. J. Therm. Anal. Cal., 2003, 72(2): 619 ~ 629.
 - 10 Zuo J G, Hua T C, Liu B L, et al. Thermal analysis of tertiary butyl alcohol/sucrose/water ternary system [J]. CryoLetters, 2005, 26 (5): 289 ~ 296.
 - 11 左建国,李维仲,翁林崇. 冷冻干燥中升华界面的临界温度实验[J]. 农业机械学报,2010,41(10):126 ~ 128.
Zuo Jianguo,Li Weizhong,Weng Lindong. Critical temperature of sublimation interface in freeze-drying[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2010,41(10):126 ~ 128. (in Chinese)
 - 12 Knopp S A, Chongprasert S, Nail S L. The relationship between the TMDSC curve of frozen sucrose solutions and collapse during freeze-drying [J]. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 1998, 54(2): 659 ~ 672.
 - 13 Meister E, Šaišć S, Gieseler H. Freeze-dry microscopy: impact of nucleation temperature and excipient concentration on collapse temperature data [J]. AAPS Pharm Sci. Tech., 2009, 10(2): 582 ~ 588.
-

(上接第 114 页)

- 12 韩志刚. 无模型控制器理论与应用的进展[J]. 自动化技术与应用, 2004, 23(2): 1 ~ 6.
Han Zhigang. The progress of theory and application of model free controller[J]. Techniques of Automation and Application, 2004, 23(2): 1 ~ 6. (in Chinese)
- 13 曹荣敏,侯忠生,白雪峰,等. 基于无模型自适应控制方法的直流电机调速系统[J]. 电气传动, 2008, 38(7): 26 ~ 30.
Cao Rongmin, Hou Zhongsheng, Bai Xuefeng, et al. DC motor speed regularting control system based on the model-free adaptive control method[J]. Electric Drive, 2008, 38(7): 26 ~ 30. (in Chinese)
- 14 范钦珊,殷雅俊. 材料力学[M]. 2 版. 北京: 清华大学出版社, 2008.
- 15 Laino David J, Hansen A Craig. User's guide to the wind turbine dynamics computer program YawDyn[R]. Salt Lake City: Windward Engineering, LC, 2003.
- 16 Bossanyi E A. GH bladed[R]. Bristol: Garrad Hassan and Partners, 2005.
- 17 Jonkman Jason M, Jr Marshall L Buhl. FAST user's guide[R]. National Renewable Energy Laboratory, 2005.