

五味子生产过程精馏乙醇质量评价研究

岳洪水, 张艳惠, 李海燕*, 鞠爱春*

天津天士力之骄药业有限公司, 天津 300410

摘要: 目的 建立中药生产过程乙醇精制后质量评价方法, 评估精馏乙醇再利用的可能性。方法 以天津天士力之骄药业有限公司五味子提取过程中用的乙醇经回收、精制得到的精馏乙醇为例, 采用气相-质谱法 (GC-MS)、液相-质谱 (LC-MS) 法、气相色谱 (GC) 法、超高效液相色谱 (UPLC) 法、紫外-可见分光光度法等多个分析手段, 评价精馏乙醇与相应新醇质量的差异, 评估精馏乙醇的再利用风险, 建立精馏乙醇的质量控制指标。结果 采用 GC-MS、GC 方法, 对挥发性杂质分析, GC-MS 发现新的杂质, 由于含量低, 在 GC 中未检出; 采用 LC-MS、UPLC、吸光度方法, 对不挥发性杂质综合分析, 有个别批次 UPLC 方法可检出新的杂质, 为控制新增未知杂质, 筛选一个低毒、出峰时间适宜、且与乙醇中各色谱峰分离度较好的苯乙烯作为对照物, 建立未知峰的半定量液相测定方法及限制, 用于日常的质量控制。结论 通过多维度质量评价及风险评估, 建立精馏乙醇质量评价模式。

关键词: 五味子; 乙醇; 精馏; 气相-质谱; 液相-质谱; 气相色谱; 超高效液相色谱

中图分类号: R926 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2020) 08-1592-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2020.08.021

Study on ethanol reuse in extraction process of *Schisandra chinensis*

YUE Hongshui, ZHANG Yanhui, LI Haiyan, JU Aichun

Tianjin Tasly Pride Pharmaceutical Co., Ltd., Tianjin 300410, China

Abstract: Objective To establish the quality evaluation method of the refining ethanol in the extraction process of traditional Chinese medicine and to evaluate the possibility of reuse of the refining ethanol. **Method** Taking the ethanol used in the process of extracting *Schisandra chinensis* from Tianjin Tasly Pride Pharmaceutical Co., Ltd. as an example. Evaluate the difference between the quality of refining ethanol and the corresponding fresh ethanol by the methods of Gas chromatography-mass spectrometry, liquid-mass spectrometry, gas chromatography, liquid chromatography, UV-Vis spectrophotometry and so on, and to evaluate the risk of reuse of refining ethanol. Establish quality specification of refining ethanol. **Results** GC-MS and GC methods were used to analyze volatile impurities. New impurities were found in GC-MS, but they were not detected in GC due to their low content; LC-MS, UPLC and absorbance methods were used for comprehensive analysis of non-volatile impurities, and some batches of UPLC method could detect new impurities. In order to control the new unknown impurities, a low toxicity, suitable peak time, and the resolution of each chromatographic peak in ethanol was selected. The method and limit of semi quantitative liquid phase determination of unknown peak were established for routine quality control. **Conclusion** Establish the model of refining ethanol quality evaluation through multi-dimensional quality evaluation and risk assessment.

Key words: *Schisandra chinensis*; ethanol; reuse; GC-MS; LC-MS; GC; UPLC

乙醇作为中药提取过程中常用的溶媒, 大量品种的中药生产工艺都需要乙醇作为溶剂, 进行醇提、醇沉、大孔树脂吸附乙醇洗脱等工序生产, 乙醇

的使用量很大, 并且乙醇作为生产危险性极高的化学物质, 本着节约资源, 降低安全隐患, 保护环境等方面考虑, 乙醇的回收、精制、再利用是各大药厂讨

收稿日期: 2020-04-23

基金项目: 天津市科技计划项目 (18YFCZCC00430)

第一作者: 岳洪水 (1975—), 男, 高级工程师, 研究方向为中药注射剂工艺开发、质量研究及技术提升等。Tel: (022) 86342036 E-mail: yuehs@tasly.com

*通信作者: 鞠爱春, 正高级工程师, 研究方向为中药注射剂工艺及质量控制。Tel: (022) 86342096 E-mail: juach@tasly.com
李海燕, 高级工程师。Tel: (022) 86342030 E-mail: lihyl@tasly.com

论和研究的焦点^[1-5]。

精制后乙醇的质量不得对产品的质量和安全性有不利影响,由于中药成分复杂,未知成分多,精馏后乙醇可能含有一些未知成分,这些未知成分的研究成为精馏乙醇的质量评价重点,《中国药典》2015版第2部^[6]记载的乙醇标准中酸碱度、溶液的澄清度与颜色、吸光度、挥发性杂质、不挥发物都是为了控制杂质,除挥发性杂质采用气相色谱法定量控制杂质外,其他项均是控制杂质的总量,仅采用药典方法不能评估新杂质的风险,因此,开发新的方法以评估精馏乙醇的质量至关重要。注射用益气复脉(冻干)是由红参、麦冬、五味子3种中药材经提取、纯化得到提取物,3个提取物再经配制、超滤等工序制成的中药复方制剂。其中五味子经水提取后乙醇纯化得到五味子提取物,本课题以五味子提取物生产过程中使用的乙醇为例,对五味子精馏乙醇质量开展系统研究,通过挥发性杂质、不挥发杂质、吸光度等多个角度评估五味子精馏乙醇与对应新乙醇质量的差异,为评价精馏乙醇再利用和制定质量控制策略提供科学依据。

1 仪器与试剂

UPLC-Q-TOF 液质联用仪(Waters公司); TQ8030型气相色谱-质谱联用仪(岛津公司); ACQUITY型超高效液相色谱仪(Waters公司); 6890N型气相色谱仪(Agilent公司); 2450型紫外-可见分光光度计(岛津公司)。

乙腈(Merck, 质谱级); 甲醇(Merck, 色谱级); 新乙醇(安徽安特食品股份有限公司, 批号20181201, 质量分数95%以上); 五味子精馏乙醇(自制, WWZ-RE-20181205, 质量分数95%以上)。

2 方法与结果

2.1 回收乙醇的精制(精馏乙醇)

乙醇常用精馏塔进行纯化^[7],得到的精馏乙醇纯度高,此方法是利用混合物中各组分挥发温度不同而将各组分加以分离的一种分离过程,精馏塔中气液两相通过逆流接触,进行相际传热传质,液相中的易挥发组分进入气相,气相中的难挥发组分转入液相,于是在塔顶可得到几乎纯的易挥发组分,从塔顶引出的蒸气经冷凝,一部分凝液作为回流液从塔顶返回精馏塔,其余馏出液即为乙醇产品。本研究五味子精馏乙醇通过对精馏过程的精馏塔温度、精馏循环速率、精馏出液速率3个参数的控制,得到质量分数95%以上的乙醇。

得到的精馏乙醇,对挥发性、不挥发性2大类杂质,分别采用气相-质谱色谱(GC-MS)、液相-质谱色谱(LC-MS)、气相色谱(GC)、超高效液相色谱(UPLC)等多种分析手段评估精馏乙醇与乙醇的质量差异。考虑到杂质浓度因素,采用浓缩后溶液,使用吸光度方法评估不挥发杂质。

2.2 挥发性杂质研究

2.2.1 GC 根据《中国药典》2015版第2部^[2]记载的乙醇标准中挥发性杂质的相关方法,分别对甲醇、乙醛和乙缩醛、苯和其他各杂质峰总和检测外,又建立了一套GC法,主要用于与GC-MS对比分析新的杂质,具体方法如下。

测定色谱条件:色谱柱为Agilent VF-624MS毛细管色谱柱(30 m×0.32 mm×1.8 μm);进样口温度200 °C;检测器温度280 °C;分流比10:1;柱体积流量为2.0 mL/min;进样体积2 μL;色谱柱升温程序:初始温度40 °C,维持5 min,以10 °C/min的速度升温至240 °C,维持10 min。精馏乙醇、对应新乙醇直接作为供试品,分别进2 μL,进行分析。

通过多批次五味子精馏乙醇与相对应新乙醇的挥发性成分对比分析,如图1,五味子精馏乙醇中未发现新增杂质(2.283、2.375、9.843 min出峰物质分别为已知杂质乙醛、甲醇、乙缩醛),五味子回收乙醇经2.1项下方法得到的精馏乙醇,符合药典中乙醇挥发性杂质要求,与对应新醇对比没有新杂质出现。

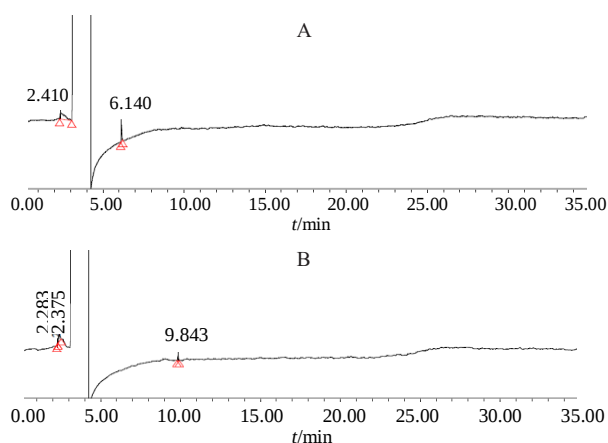


图1 新醇(A)、精馏乙醇(B)GC图

Fig. 1 GC of new ethanol (A) and distilled ethanol (B)

2.2.2 GC-MS 根据“2.2.1”项建立的GC法,建立GC-MS法,对精馏乙醇与对应新乙醇进行对比分析。

测定色谱条件:色谱柱Agilent VF-624MS毛细管色谱柱(30 m×0.32 mm×1.8 μm);柱温箱升温程

序:起始温度 40 °C,维持 5 min,以 10 °C/min 的速度升温至 240 °C,维持 10 min;进样口温度 200 °C;进样方式:分流,分流比 10:1;进样体积 2 μ L;初始压力 500~900 kPa;载气 He;流量控制方式:线速度,总流量 25.0 mL/min;柱流量 2.0 mL/min;吹扫流量 3.0 mL/min;离子源温度 230 °C(EI 源);接口温度 250 °C;分析器:三重四级杆;检测器采集程序:1.9 min 检测器关,4 min 检测器开。精馏乙醇、对应新乙醇直接作为供试品,分别进 2 μ L,进行分析。

通过多批次五味子精馏乙醇与相对应新乙醇的总离子流图比较分析,如图 2,精馏乙醇在 7.813 min 有较小的未知峰出现(8.304 min 出峰物质为已知杂质乙缩醛),因离子峰很小,无法鉴定出结构,因此,参考乙醇的药典方法建立了以 4-甲基-2-戊醇为对照,对未知峰进行半定量,限度与苯一致。

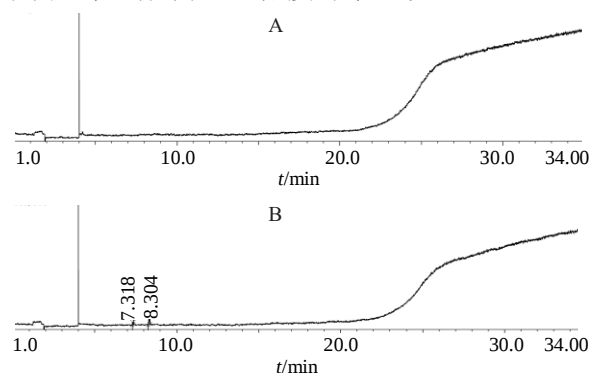


图 2 新醇(A)、精馏乙醇(B)总离子流图

Fig. 2 Total ion chromatography of new ethanol (A) and distilled ethanol (B)

2.3 不挥发性杂质研究

对不挥发性杂质,通过 LC-MS、UPLC、紫外分光光度法、不挥发物等多个分析手段评价精馏乙醇与新醇的质量是否存在差异,并建立相应的单个杂质定量分析方法。

2.3.1 LC-MS 通过 LC-MS 正离子模式下的总离子流图及 UV 图对比研究,分析精馏乙醇是否有新增杂质出现,具体方法如下。

测定色谱条件:色谱柱 ACQUITY BEH C_{18} 色谱柱(100 $\times$ 2.1 mm, 1.7 μ m);柱温 30 °C;检测波长 210~400 nm;质谱检测模式:正离子模式;离子源:ESI 源;毛细管电压:3.0 KV;锥孔电压:40 V;萃取电压:3.0 V;离子源温度:110 °C;脱溶剂气温度:350 °C;锥孔气体积流量 50 L/h;脱溶剂气体积流量 800 L/h;分析器:三重四级杆串联飞行时间质谱。流动相选择方面,有机相由 5% 缓慢升高到 95%,此梯度能够将极性到非极性物质冲出,流动相梯度见表 1。精馏乙醇、对应新乙醇直接作为供试品,分别

表 1 流动相梯度

Table 1 Gradient of mobile phase

t/min	体积流量/(mL·min ⁻¹)	乙腈/%	水/%
0	0.4	5	95
0.6	0.4	15	85
4.1	0.4	65	35
6.8	0.4	95	5
9.0	0.4	95	5
9.5	0.4	5	95
12	0.4	5	95

进 10 μ L,进行分析。

通过多批次五味子精馏乙醇与相对应新乙醇的 UV 图谱与总离子流图比较,见图 3、4,总离子流图基本一致,五味子精馏乙醇未发现新增杂质。

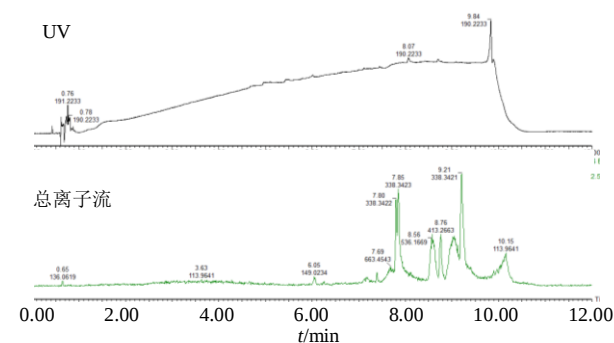


图 3 新醇 UV 图和总离子流图

Fig. 3 UV Chromatography and Total Ion Chromatography of new ethanol

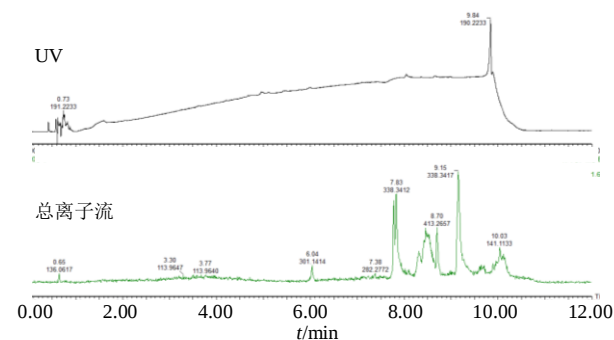


图 4 精馏乙醇 UV 图和总离子流图

Fig. 4 UV Chromatography and Total Ion Chromatography of distilled ethanol

2.3.2 UPLC 测定色谱条件:ACQUITY BEH C_{18} 色谱柱(100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.7 μ m);检测波长 190~400 nm 扫描;柱温 30 °C;流动相梯度见表 2。精馏乙醇、对应新乙醇直接作为供试品,分别进 10 μ L,进行分析。提取不同波长下的图谱,见图 5、6,200、205 nm 基线漂移,210 nm 基线较平稳,200、205、

表2 流动相梯度

Table 2 gradient of mobile phase

时间/min	体积流量/(mL·min ⁻¹)	乙腈/%	水/%
0	0.4	5	95
0.6	0.4	15	85
4.1	0.4	65	35
6.8	0.4	95	5
9.0	0.4	95	5
9.5	0.4	5	95
12	0.4	5	95

210 nm 下测定的成分个数及吸收强度基本一致, 210~360 nm, 随着波长的增加, 可测定成分逐渐减少, 240 nm 之后基本没有色谱峰。选择 210 nm 作为检测波长。

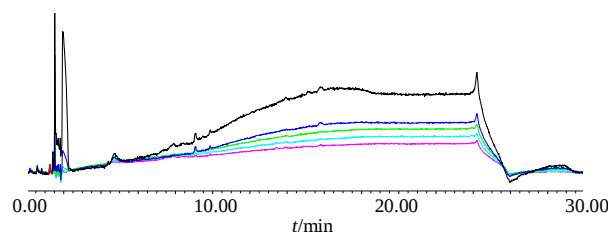


图5 不同波长(从上至下分别为200、205、210、215、220 nm)下的UPLC图谱

Fig. 5 UPLC spectra at different wavelengths (200, 205, 210, 215 and 220 nm from top to bottom)

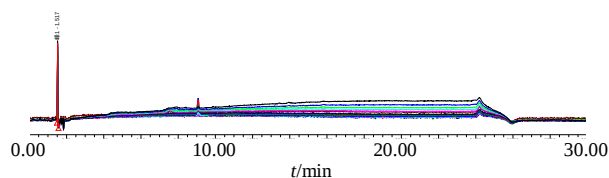


图6 不同波长(从上至下分别为225、230、235、240、245、250、260、270、280、290、300、310、320、330、340、350 nm)下的UPLC图谱

Fig. 6 UPLC spectra at different wavelengths (225, 230, 235, 240, 245, 250, 260, 270, 280, 290, 300, 310, 320, 330, 340, 350 nm from top to bottom)

通过多批次五味子精馏乙醇与相对应新乙醇的图谱对比可见, 仅有个别批次有新增未知杂质, 但峰面积很小, 在 LC-MS 总离子流图中未检测出, 为控制新增未知杂质, 筛选一个低毒、出峰时间合适、与其他色谱峰的分度度较好的物质, 建立未知峰的半定量液相测定方法用于日常的质量控制, 通过专属性、最低检测限等方法学考察, 确定采用苯乙炔作为半定量液相测定方法的对照品, 计算新增杂质含量, 限度为 0.000 2%。

2.3.3 吸光度研究 根据《中国药典》2015 版第 2

部^[6]收载的乙醇标准中吸光度方法, 精馏乙醇与对应新乙醇分别进行 190~400 nm 范围吸光度扫描, 比较全波长下精馏乙醇与新乙醇扫描图谱的吸收轮廓是否一致。

通过多批次的精馏乙醇与对应新乙醇图谱比较, 两者吸收轮廓一致, 结果表明两者的成分一致, 见图 7。

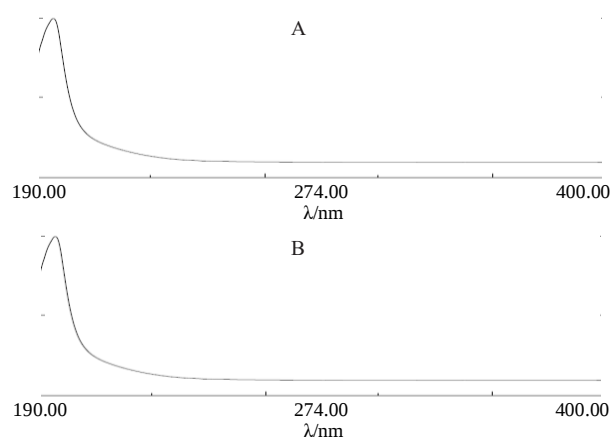


图7 新醇(A)、精馏乙醇(B)扫描图谱

Fig. 7 Scanning chromatogram of new ethanol (A) and distilled ethanol (B)

考虑到杂质浓度因素, 采用浓缩后溶液, 对精馏乙醇与对应新乙醇不挥发杂质进一步研究。取精馏乙醇与对应新乙醇各 100 mL, 水浴蒸干, 分别用对应批次的乙醇 10 mL 溶解, 作为浓缩样品, 进行 190~400 nm 范围吸光度扫描, 比较全波长下精馏乙醇与新乙醇扫描图谱的吸收轮廓是否一致。

通过多批次的精馏乙醇与对应新乙醇图谱比较, 两者吸收轮廓一致, 结果表明两者的成分一致, 见图 8。

3 讨论

采用“2.1”项下的精馏方式得到的五味子精馏乙醇, 采用 GC-MS、GC 方法, 对挥发性杂质分析, GC-MS 发现新的杂质, 由于含量低, 在 GC 中未检出; 采用 LC-MS、UPLC、吸光度方法, 对不挥发性杂质综合分析, 有个别批次 UPLC 方法可检出新的杂质, 通过多批次的数据积累, 建立了挥发性、不挥发性杂质的 GC、LC 日常监测方法, 并根据风险评估, 制定新的挥发性、不挥发性杂质的鉴定阈值为 0.000 2%, 超出此鉴定阈值应进行结构鉴定并制定相应的限度, 满足此要求的五味子精馏乙醇可以应用于五味子的提取。

根据乙醇应用品种特性, 对产品、生产过程、乙醇精制过程中等可能引入的杂质开展研究, 因为回

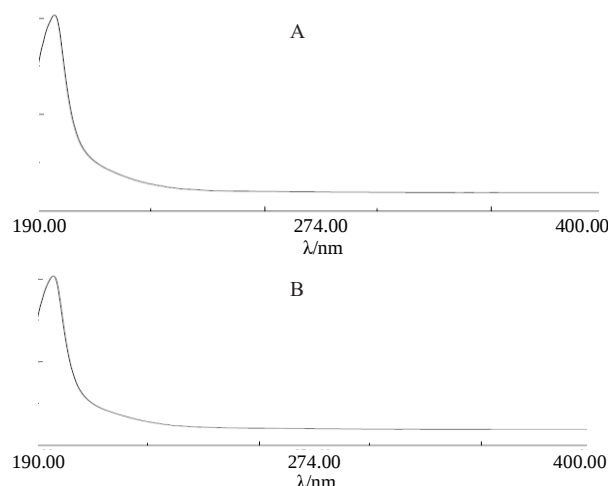


图8 新醇(A)、精馏乙醇(B)浓缩样品扫描图谱
Fig. 8 Scanning chromatogram of new ethanol (A) and distilled ethanol (B) Concentrate sample

收乙醇的精制过程不同会产生不同性质的杂质,所以要根据杂质性质建立不同的检测方法,由于杂质未知,要从多个角度进行研究,相互佐证研究结果。本课题研究的五味子精馏乙醇是五味子药材水提醇沉后的回收乙醇,经过精馏塔蒸馏,精馏温度控制80℃而得到精馏乙醇,因此可能引入的杂质应多为挥发性杂质,可能含有少量的半挥发性杂质,在方法研究时根据杂质的挥发性质不同,采用LC-MS、UPLC、GC、GC-MS检测方法,对精馏乙醇与对应新醇进行对比研究,确定是否产生新的杂质,根据新的杂质性质及多批次的数据积累,建立了相应的日常质量监测方法,如LC、GC等日常常用方法。

在精馏乙醇研究中,应制定一个鉴定阈值,超出此鉴定阈值应进行结构鉴定并制定特定杂质的限度。特定杂质可参考ICHQ3A^[8]、ICHQ3B^[9]、ICHQ3C^[10]、《中国药典》2015版第4部0861残留溶剂测定法^[11]进行评估,制定一个合理的限度,此限度作为安全阈值,保证产品的安全。如五味子精馏乙醇的不挥发性杂质研究中,有个别批次有新生成未知杂质,但峰面积很小,在LC-MS总离子流图中未检出,为控制新增未知杂质,筛选一个低毒、出峰时间适宜、且与乙醇中各色谱峰分离度较好的苯乙烯作为对照物,建立未知峰的半定量液相测定方法

及限制,用于日常的质量控制。

本课题研究的五味子回收乙醇经精馏塔温度、精馏循环速率、精馏出液速率过程参数控制,得到的精馏乙醇在满足《中国药典》2015版第2部^[2]收载的乙醇标准基础上,通过多种分析技术评估精馏乙醇与对应新乙醇杂质成分的差异,并根据研究结果及精馏乙醇的用途,制定了相应的检测方法及安全阈值,以控制精馏乙醇质量。

由于中药成分复杂,不同品种的药材提取过程中得到的回收乙醇成分不同,经精制得到的精馏乙醇中未知杂质成分可能不一致,虽控制未知杂质的限度,但为了防止不同品种的相互污染,建议不同品种精馏乙醇不能混用。在生产过程中,乙醇的循环使用需建立一个完整管理体系,根据工艺以及各个工序特点进行合理地回收、精准使用,做到既能满足产品质量要求,又能更好地节约成本。

参考文献

- [1] 宋竹田. 中药提取过程中乙醇的回收和套用 [J]. 化工与医药工程, 2016, 37(6): 34-36.
- [2] 段树卿, 宋佳, 徐苗苗, 等. 八味益肾丸制备中的回收乙醇的质量研究 [J]. 中国医院用药评价与分析, 2017, 17(5): 661-663.
- [3] 马建智, 李璟, 李超. 低压三效乙醇精馏回收工艺的研究 [J]. 广州化工, 2016, 44(9): 77-78.
- [4] 于琴, 朱米卫, 卢济洪, 等. 氯氮平工艺中回收乙醇的质量研究 [J]. 生物化工, 2019, 5(5): 80-82.
- [5] 王英龙, 孟庆信, 彭涛. 乙醇回收塔的动态特性分析与控制研究 [J]. 当代化工, 2014, 43(9): 1762-1764.
- [6] 中国药典 [S]. 二部. 2015.
- [7] 任庚清. 乙醇精馏实训装置的设计及实训项目的开发研究 [D]. 济南: 齐鲁工业大学, 2014.
- [8] ICH. Q3 (A). Guideline on impurities in Drug Substances [S]. 2014.
- [9] ICH. Q3(B). Guideline on impurities in Drug Products [S]. 2014.
- [10] ICH. Q3(C). Guideline on impurities Residual Solvents [S]. 2014.
- [11] 中国药典 [S]. 四部. 2015.