

· 实验研究 ·

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2019.05.004

非淀粉型结晶果糖注射液高温高压灭菌前后 5-羟甲基糠醛及 pH 的变化*

梁美婷, 贝家欣, 王可欣, 杨亚军, 吴铁[△]

(广东医科大学药学院, 广东 湛江 524023)

摘要:目的 探讨永青非淀粉型结晶果糖与淀粉型结晶果糖原料所配制的 5% 果糖注射液经过 3 种不同条件的高温高压灭菌后 5-羟甲基糠醛(5-HMF)、pH 的变化差异。方法 选择永青非淀粉型结晶果糖和国内外不同厂家生产的淀粉型结晶果糖配制 5% 果糖注射液, 分别采用 115 °C 30 min、120 °C 20 min、120 °C 30 min 3 种高温高压灭菌方案对各注射液样品进行灭菌, 利用紫外分光光度法、pH 计等检测灭菌前后各种样品溶液中的 5-HMF 含量和 pH。结果 随着灭菌时间的延长或灭菌温度的增加, 非淀粉型结晶果糖注射液与淀粉型结晶果糖注射液中 5-HMF 含量均升高, 但非淀粉型结晶果糖原料所配制的 5% 果糖注射液的 5-HMF 升幅及 pH 降幅均较国内外淀粉型结晶果糖小。结论 非淀粉型结晶果糖的化学稳定性或热稳定性比淀粉型结晶果糖更好, 遇高温不易变质, 更有利于果糖类注射液的质量控制。

关键词:非淀粉型; 结晶果糖; 果糖注射液; 5-羟甲基糠醛; pH; 稳定性试验

中图分类号: R917; TQ464.1

文献标识码: A

文章编号: 1006-4931(2019)05-0011-04

Changes of 5-Hydroxymethyl Furfural and pH of Non-Starch Type Crystalline Fructose Injection Before and After Sterilization by High-Temperature and High-Pressure

LIANG Meiting, BEI Jiaxin, WANG Kexin, YANG Yajun, WU Tie

(School of Pharmacy, Guangdong Medical University, Zhanjiang, Guangdong, China 524023)

Abstract: Objective To investigate the changes of 5-hydroxymethyl furfural(5-HMF) and pH between 5% fructose injection prepared by Yongqing non-starch type crystalline fructose and 5% fructose injection prepared by starch type crystalline fructose after sterilization under three different conditions. **Methods** 5% fructose injections were prepared with Yongqing non-starch type crystalline fructose or starch type crystalline fructose from different manufacturers at home and abroad. Three types of high-temperature and high-pressure sterilization schemes were adopted at 115 °C for 30 min, 120 °C for 20 min and 120 °C for 30 min respectively. The 5-HMF content and pH in the injection samples were detected by UV Spectrometer and pH meter before and after sterilization. **Results** With the prolongation of sterilization time or the increase of sterilization temperature, the 5-HMF content in non-starch type crystalline fructose injection and starch type crystalline fructose injection increased. However, the increased range of 5-HMF and the decreased range of pH in 5% fructose injection prepared by non-starch type crystalline fructose were smaller than those of starch type crystalline fructose at home and abroad. **Conclusion** The chemical stability or thermal stability of non-starch type crystalline fructose is better than that of starch type crystalline fructose. It is not easy to metamorphism at high temperature, and it is more beneficial to the quality control of fructose injection.

Key words: non-starch type; crystalline fructose; fructose injection; 5-hydroxymethyl furfural; pH; stability test

果糖注射液是以结晶果糖为主要成分配制的一种可作为静脉营养输液, 临床用于烧伤、术后及感染等胰岛素抵抗状态下或不适宜使用葡萄糖时需补充水分或能源的患者的补液, 还可作为注射剂的稀释剂。果糖注射液的代谢不依赖胰岛素, 进入血液后即使在无胰岛素情况下也能迅速转化为肝糖原, 参与代谢, 可有效降低血糖波动, 适用于糖尿病患者。果糖与葡萄糖相比代谢快、供能迅速、更易被机体吸收利用, 故果糖注射液起效快, 作用迅速。果糖注射液还能用于产生应激性高血糖手术患者的术后恢复及各类严重创伤的外科手术^[1-5]。

果糖在高温或酸性条件下可脱水生成 5-羟甲基糠醛(5-HMF)^[6-8], 其对眼睛、黏膜、皮肤均有刺激性, 过量食用会引起中毒, 造成动物横纹肌麻痹和内脏损害^[9-10]。2015 年版《中国药典(二部)》规定果糖原料药溶液(50 g/L)在 284 nm 波长处吸光度不得超过 0.32^[11]。原国家食品药品监督管理总局药品标准制订件^[12](简称《标准制订件》)规定 5% 果糖注射液在 284 nm 波长处吸光度不得超过 0.25, 以限定杂质 5-HMF 的含量。目前, 市售果糖注射液主要是由淀粉经过酶解、分离、转化、结晶得到的果糖(淀粉型结晶果糖)配制而来, 其分

*基金项目: 2016 年度国家自然科学基金[81673814]。

第一作者: 梁美婷, 硕士研究生, 研究方向为药理学, (电子信箱)656242956@qq.com。

[△]通信作者: 吴铁, 硕士研究生, 教授, 研究方向为新药开发, (电子信箱)wtutie2@163.com。

离工序复杂、杂质多、生产效率低、价格偏高^[5]。现研发出的非淀粉型结晶果糖是直接由蔗糖原料经过非酶水解后,再通过分离提纯、结晶等一系列工艺而得,具有杂质少、稳定性强、生产效率高、价格低廉等优点。本试验中以不同来源的结晶果糖为原料配制 5% 果糖注射液,按常规灭菌方法,设定 3 种不同的灭菌方案,比较国内外不同厂家生产的果糖原料制成 5% 果糖注射液中 5-HMF 的含量水平和 pH 变化,探讨用非淀粉型结晶果糖所配制的果糖注射液与淀粉型结晶果糖所配制的果糖注射液在 pH 和 5-HMF 的质量控制方面的差异,为新型非淀粉型结晶果糖的开发与利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

仪器:UY-2250 型紫外分光光度计(江苏岛津仪器有限公司);数显式 pH 计(上海三信仪表厂);LDZF-50KB 型立式高温高压灭菌器(上海申安医疗器械厂);WZZ-2S 型数字式自动旋光仪(上海仪电物光学仪器有限公司);真空干燥器。

试剂:非淀粉型结晶果糖(广东永青生物科技有限公司,批号分别为 1605201,16101801,17050801);格素姆结晶果糖(以色列,GALAM);Sigma 果糖对照品(Sigma 标准品,批号为 BCBT2460,质量浓度为 99%)、国产华旭结晶果糖原料药(河北华旭药业有限责任公司,批号为 1610003);国产正大结晶果糖原料药(江苏正大丰海制药有限公司,批号为 H1607009);国产丰原结晶果糖原料药(蚌埠丰原涂山制药有限公司,批号为 170219-1)。

1.2 方法

5% 果糖注射液配制:先取果糖样品及果糖对照品各 50 g,于真空干燥箱内 70 ℃ 干燥 4 h,密封后保存,再精密称取干燥后的各厂家果糖原料 20.0 g,置烧杯中,灭菌注射用水溶解,定容至 400 mL,即得 5% 果糖注射液。

5% 果糖注射液高压灭菌方案:分别取上述 5% 果糖注射液 100 mL,置洁净玻璃瓶内,牛皮纸封口,置立式高温高压灭菌器中,分别在方案 1(灭菌温度 115 ℃ 灭菌时间 30 min)、方案 2(灭菌温度 120 ℃ 灭菌时间 20 min)、方案 3(灭菌温度 120 ℃ 灭菌时间 30 min)的灭菌条件下进行灭菌。

不同来源结晶果糖原料药真空干燥后含量比较:根据 2015 年版《中国药典(二部)》果糖原料含量测定指导原则测定果糖原料药含量。取果糖样品 10 g,精密称定,置烧杯中,加灭菌注射用水适量,后加 0.2 mL 氨试液,溶解后转移至 100 mL 容量瓶中,定容,摇匀,静置 30 min 后,在室温 25 ℃ 时用自动旋光仪依法测定旋光度(《中国药典(二部)》通则 0621),所得旋光度值与 1.124 相

乘,即得供试品中果糖的质量(g),多次平行测定,取平均值^[11]。

5% 果糖注射液灭菌前后 pH 检测:取高温高压灭菌前后的 5% 果糖注射液 10 mL,加入饱和氯化钾溶液 0.03 mL,摇匀,采用数显式 pH 计测定 pH,多次平行测定,取其平均值^[12]。

5% 果糖注射液灭菌前后 5-HMF 紫外分光光度法检测:取高温高压灭菌前后的 5% 果糖注射液,用移液管精密量取 1 mL,定容至 25 mL,即得质量浓度为 2 g/L 的果糖溶液,取适量置石英比色皿中,用紫外分光光度计检测于 284 nm 波长处的吸光度,多次平行测定,取平均值^[12]。

2 结果

永青非淀粉型结晶果糖与其他淀粉型结晶果糖含量比较见表 1。可见,非淀粉型结晶果糖与淀粉型结晶果糖的含量差异不大,均接近 99%。

表 1 永青非淀粉型结晶果糖与不同来源结晶型果糖的含量($\bar{X} \pm s, \%$)

来源	含量	来源	含量
Sigma	98.92 ± 0.476	丰原	99.38 ± 0.921
格素姆	99.43 ± 0.596	永青(批号为 1605201)	98.70 ± 1.68
华旭	100.09 ± 0.104	永青(批号为 16101801)	98.71 ± 0.134
正大	100.69 ± 0.930	永青(批号为 17050801)	100.05 ± 0.084

5% 果糖注射液在 3 种不同条件高温高压灭菌前后 pH 及变化值(Δ pH)见表 2。可见,灭菌前,除永青(批号为 16101801)所配制的 5% 果糖注射液 pH 为 3.0~5.5 外,其余均不符合《标准制订件》对 5% 果糖注射液 pH 的限定。但经不同条件的高温、高压灭菌后,不同厂家来源果糖配制的 5% 果糖注射液 pH 均符合标准(3.0~5.5);永青生产的非淀粉型结晶果糖所配制的 5% 果糖注射液灭菌前后 Δ pH 均比其他厂家的淀粉型结晶果糖低。

表 2 灭菌前后各厂家果糖原料配制的 5% 果糖注射液 pH 及变化值

来源	灭菌前	115 ℃ 30 min		120 ℃ 20 min		120 ℃ 30 min	
		pH	Δ pH	pH	Δ pH	pH	Δ pH
Sigma	5.6	4.5	1.1	4.5	1.1	4.0	1.6
格素姆	6.7	3.8	2.9	3.7	3.0	3.7	3.0
华旭	6.8	4.3	2.5	4.3	2.5	4.7	2.7
正大	6.4	4.1	2.3	4.1	2.3	3.9	2.5
丰原	6.4	4.4	2.0	4.1	2.3	4.0	2.4
永青(批号为 1605201)	5.8	4.2	1.6	4.4	1.4	4.1	1.7
永青(批号为 16101801)	5.3	5.3	0	4.4	0.9	4.3	1.0
永青(批号为 17050801)	5.9	4.3	1.6	4.2	1.7	4.1	1.8

5% 果糖注射液在 3 种不同条件高温高压灭菌前后 284 nm 波长处的紫外吸光度及升幅结果见表 3。可见,在灭菌前,各厂家果糖原料所配制的果糖注射液中 5-HMF 在 284 nm 波长处的吸光度均符合《标准制订

表3 各厂家果糖原料配制的5%果糖注射液灭菌前后284 nm波长处的紫外吸光度及其增长倍数

来源	灭菌前	115 ℃ 30 min		120 ℃ 20 min		120 ℃ 30 min	
		5-HMF	增长倍数	5-HMF	增长倍数	5-HMF	增长倍数
Sigma	0.008 ± 0.005 0	0.080 ± 0.030	9.000	0.219 ± 0.032 0	26.375	0.294 ± 0.000 8	35.750
格素姆	0.005 ± 0.000 3	0.131 ± 0.030	24.192	0.244 ± 0.037 0	45.923	0.332 ± 0.076 0	62.846
华旭	0.004 ± 0.002 0	0.100 ± 0.034	24.000	0.245 ± 0.010 0	60.250	0.326 ± 0.004 0	80.500
正大	0.005 ± 0.001 4	0.078 ± 0.040	14.918	0.234 ± 0.000 9	46.755	0.304 ± 0.027 0	61.041
丰原	0.004 ± 0.002 5	0.078 ± 0.040	17.140	0.234 ± 0.000 9	53.419	0.304 ± 0.027 0	69.698
永青(批号为1605201)	0.009 ± 0.001 0	0.080 ± 0.030	7.889	0.214 ± 0.004 0	22.778	0.290 ± 0.040 0	31.222
永青(批号为16101801)	0.014 ± 0.007 0	0.087 ± 0.025	5.214	0.226 ± 0.008 0	15.143	0.326 ± 0.027 0	22.286
永青(批号为17050801)	0.014 ± 0.008 0	0.091 ± 0.010	5.500	0.240 ± 0.032 0	16.143	0.330 ± 0.053 0	22.571

注:增长倍数=(灭菌后吸光度-未灭菌吸光度)/未灭菌吸光度。

件》的限度要求0.25。经115 ℃ 30 min灭菌后,各厂家果糖原料所配制的果糖注射液中5-HMF的含量仍符合标准,120 ℃ 30 min灭菌后,各果糖注射液中5-HMF含量均超出了标准,尝试减少灭菌时间,经过120 ℃ 20 min灭菌后,各厂家果糖原料所配置的果糖注射液中5-HMF含量仍符合标准,但华旭、正大、丰原、格素姆组的果糖注射液中5-HMF含量均接近最大限度0.25,永青各批次果糖所配制的5%果糖注射液稍低。经过3种不同条件的高温高压灭菌,各厂家果糖原料配制的果糖注射液中5-HMF含量均呈倍数增长,当灭菌温度超过120 ℃后均呈大幅增长趋势。其中,永青非淀粉型结晶果糖原料所配制的5%果糖注射液的5-HMF增长倍数均比国内外淀粉型结晶果糖所配制的5%果糖注射液低许多。

3 讨论

由表1可见,非淀粉型结晶果糖与淀粉型结晶果糖的含量无太大差异,表明非淀粉结晶果糖的生产工艺所生产的结晶果糖纯度可达到结晶型果糖的高纯度。由表2可见,各厂家果糖原料配制的果糖注射液经不同条件的高温高压灭菌后pH都有不同程度下降,但永青生产的非淀粉型结晶果糖所配置的5%果糖注射液的pH均比其他厂家低,可能是由于该企业生产的非淀粉型结晶果糖用非酶法的工艺条件,使其结晶果糖受热后降解产生的酸性产物比其他用酶发酵生产的结晶果糖更少。由表3可见,在灭菌方案1、灭菌方案2条件下,各厂家果糖原料配制的果糖注射液中5-HMF含量均符合标准,在灭菌方案3条件下,所有样品中5-HMF含量均超过标准上限,但以永青生产的非淀粉型结晶果糖所配制的5%果糖注射液经过3种不同条件的灭菌方法后其受热降解产生的5-HMF的含量增长倍数始终低于华旭、正大、丰原及格素姆,这也可能是该企业用非酶法的工艺条件生产的结晶果糖受热后化学稳定性较淀粉型结晶果糖强,因此更不容易被高温降解。

有报道称,果糖在103 ℃以上即开始分解成5-HMF,与温度、压力成正相关递进关系,温度的变化比pH的变化对果糖分解的影响更大,若同时处于酸性条件则分解更迅速^[13-16],此物可进一步分解为乙酰丙酸和甲酸或聚合有色物等,这是导致果糖注射液加热变黄,产生混浊或细微絮状物沉淀及pH下降的主要原因^[17]。本研究发现,永青非淀粉型结晶果糖的纯度高,在3种灭菌条件下,永青非淀粉型结晶果糖所配的5%果糖注射液的ΔpH与5-HMF增长倍数均比国内外其他厂家的淀粉型结晶果糖所配制5%果糖注射液低,而ΔpH上升大者5-HMF的升幅也相应较大,ΔpH下降幅度大者其5-HMF含量增长也大,故pH与5-HMF产生之间的联系有待进一步深究。果糖的热稳定性不如葡萄糖,灭菌后,5-HMF含量增加幅度较大,在运输、贮存过程中容易超标,稳定性较差。临床使用的5%果糖注射液均由淀粉型结晶果糖配制而来,本研究结果表明,永青非淀粉型结晶果糖所配制的5%果糖注射液的化学稳定性或热稳定性比淀粉型结晶果糖更好,故采用非淀粉型结晶果糖配制5%果糖注射液在生产、贮存、运输过程中可能较淀粉型结晶果糖更不易产生变化,性质更稳定,更有利于果糖注射液的质量控制。

参考文献:

- [1] 岳丰婕. 果糖注射液在临床应用上的注意事项[J]. 中国卫生产业, 2015(15): 133-134.
- [2] 缪珩, 金有豫. 胰岛素抵抗患者基础用药——果糖注射液[J]. 中国医院用药评价与分析, 2016, 16(3): 289-291.
- [3] 史长城, 朱慧, 李亚芳. 临床常用药物与果糖注射液配伍稳定性的文献分析[J]. 中国药房, 2015, 26(5): 718-720.
- [4] 王海平, 胡卡芬, 陈雪华, 等. 果糖注射液临床使用合理性分析[J]. 中国执业药师, 2015, 12(11): 51-54.
- [5] 高振鹏, 岳田利, 袁亚宏, 等. 果糖生产技术和应用研究进展[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2003, 31(S1): 187-190.
- [6] 孔祥虹, 李小军, 何强, 等. 高效液相色谱法测定浓缩果汁及